

Avaliação *in vitro* da influência do polimento superficial de resina acrílica para aparelhos ortodônticos na adesão e remoção de *Streptococcus mutans**

Selma Sano Suga**, Antonio Carlos Guedes-Pinto***, Maria Regina L. Simionato****

Resumo

No presente estudo, foi realizada análise microbiológica *in vitro* da superfície interna de placas para arcadas superiores, confeccionadas em resina acrílica utilizadas em aparelhos ortodônticos. Procurou-se avaliar se o fator polimento químico e polimento mecânico estavam associados à adesão microbiana de *Streptococcus mutans*. Também foi analisada a limpeza química e mecânica dos aparelhos. Na pesquisa, foram examinados 48 aparelhos, divididos em 3 grupos, sendo que cada grupo foi subdividido em 2 subgrupos, referente aos tipos distintos de polimento. O Grupo 1 serviu como controle; no Grupo 2 foi realizada a higienização mecânica das placas em resina acrílica, através da limpeza com escova para prótese total (Denture Brush, Kolynos) e no Grupo 3 realizou-se a higienização dos aparelhos através de 30 minutos de imersão em solução de perborato de sódio (Limpador Efervescente de Próteses e Aparelhos Ortodônticos, Farmácia Fórmula & Ação). Pelos resultados estatísticos, através de análise descritiva, conclui-se que o tipo de polimento realizado na face interna da resina acrílica não influencia a adesão de *Streptococcus mutans*. A análise inferencial, realizada através de comparações entre os grupos avaliados, indica que houve redução na remoção do biofilme formado pela contaminação por *Streptococcus mutans* nos grupos, sendo que a utilização do limpador químico foi mais eficiente do que a limpeza mecânica através da escovação. Não houve, entretanto, diferenças entre os subgrupos, o que confirma que o tipo de polimento (químico e mecânico) não interfere na adesão e remoção de *Streptococcus mutans*.

Palavras-chave: Resina acrílica. Aparelhos ortodônticos removíveis. *Streptococcus mutans*.

INTRODUÇÃO

É do conhecimento dos cirurgiões-dentistas que o biofilme dental é fator necessário para o desenvolvimento da doença cárie e que a presença de áreas retentivas de superfícies sólidas consti-

tuem-se em regiões preferenciais de colonização de determinados microorganismos. Com isto, o uso de aparelhos ortodônticos e protéticos favorece a retenção de biofilme e alimentos.

Vários fatores físicos são importantes na colo-

*Dissertação (Mestrado)

** Especialista (UNISA), Mestre e Doutoranda (FOUSP) em Odontopediatria; Professora Adjunta das disciplinas de Odontopediatria e Ortodontia - Ortopedia Facial - UNICSUL.

*** Professor Titular da Disciplina de Odontopediatria - FOUSP.

**** Professora do Departamento de Microbiologia Oral - ICB II USP - São Paulo.

nização microbiana de superfícies sólidas, como rugosidade da superfície, energia superficial livre, tensão superficial, hidrofobicidade e afinidade com a absorção de substâncias dissolvidas e polímeros¹¹. As propriedades superficiais da base da resina acrílica (polimetilmetacrilato) favorecem uma rápida colonização microbiana devido à hidrofobicidade e ao alto teor de energia superficial livre.

As crianças infectadas precocemente por *Streptococcus mutans* desenvolvem consideravelmente mais cáries do que aquelas infectadas mais tardiamente^{4,19} e, segundo Scheie et al.³³, o tratamento com aparelhos ortodônticos pode alterar a ecologia da cavidade oral pela introdução de novas áreas retentivas disponíveis para a colonização bacteriana e retenção de substratos. Os aparelhos ortodônticos também podem interferir na higiene oral e cobrir partes consideráveis das superfícies dos dentes com material resinoso, levando a um aumento local na população de microorganismos total, alterando a homeostase microbiológica. Rose et al.²⁸ observaram que os materiais acrílicos usados em Ortodontia para a confecção de aparelhos removíveis estão sujeitos a processos de mudanças na cavidade oral que influenciam as suas propriedades físicas, mecânicas e biológicas. Devido a isso, os autores verificaram que é essencial que cada novo material desenvolvido deva ser analisado em termos de seus valores clínicos.

Considerando-se que a utilização das resinas acrílicas no tratamento das correções ortodônticas, anomalias congênitas ou próteses removíveis pode interferir na possibilidade do paciente desenvolver lesões de cárie, decorrentes do aumento de sítios colonizáveis pelas bactérias cariogênicas, torna-se imprescindível a necessidade de limpeza destas superfícies somada à higienização dentária. Assim, justifica-se a necessidade de estudos científicos que determinem métodos eficazes, mecânicos e/ou químicos, para o controle e remoção dos depósitos bacterianos e resíduos alimentares. O objetivo deste estudo foi avaliar, *in vitro*, a influência do polimento superficial de resina acrílica para aparelhos ortodônticos na adesão e remoção de *Streptococcus mutans*.

REVISÃO DE LITERATURA

Addy et al.³ verificaram que a prevalência de densidade intrabucal de *Cândida* em todas as áreas aumentaram significativamente nos grupos analisados com aparelhos fixo e removível. Portanto, aparelhos ortodônticos podem predispor a proliferação oral de *Cândida*. Entretanto, os resultados não permitem concluir que os aparelhos possam mudar de não portador de *Cândida* para portador. A distribuição de placa foi alterada significativamente naqueles que usavam aparelhos removíveis quando comparado com aqueles sem aparelho, através de aumento de placa bacteriana no palato. Esses achados enfatizam a necessidade de instrução de higiene oral em pacientes que usam aparelhos ortodônticos ou próteses removíveis.

Requa-Clark²⁷ classifica os produtos para limpeza de próteses em: limpadores do tipo pasta, limpadores do tipo oxidante (hipocloritos, peróxidos e monopersulfatos), ácidos e enzimas. Os limpadores do tipo pasta são formulados com abrasivos suaves como pó de carbonato de cálcio para auxiliar na remoção mecânica de placa bacteriana e manchas, através da escovação, sem danificar o acrílico da prótese. Os hipocloritos alcalinos dissolvem ou solubilizam a matéria ou matriz orgânica (mucina e albuminas) sobre a qual o tártaro se forma, e têm ação desinfetante; sua melhor indicação é para a remoção de manchas, geralmente causado por chá, nicotina, sangue ou resíduos alimentares. Peróxidos são combinações de liberadores de oxigênio como o perborato de sódio ou percarbonato e um detergente alcalino como o fosfato trisódico. Quando esses agentes são acidionados na água, produzem uma solução alcalina de peróxido de hidrogênio. Mais recentemente, monopersulfato ou potássio triclosene são usados em várias formulações como suplementos ou substitutos dos perboratos ou percarbonatos. Esses produtos apresentam efeito de limpeza de manchas (podem clarear material plástico) e ação antibactericida. As informações dos fabricantes indicam que ocorre placa residual após o uso dos limpadores do tipo peróxido, mas esse resíduo é baixo na viabilidade de microorganismos (a redução dos organismos na pla-

ca é de mais de 99% após 15 minutos de imersão, segundo o fabricante, mas esses dados não foram confirmados em publicações). Ácidos diluídos (ácido clorídrico - 3 a 5%) agem dissolvendo fosfato (cálcio) inorgânico e não atuam sobre matéria orgânica como os hipocloritos. Devido aos cuidados necessários à manipulação e rápida ação, seu uso é apenas profissional. Limpadores ultra-sônicos utilizam ácido fosfórico a aproximadamente 30%. Os limpadores do tipo enzimas proteolíticas (protease e mutanase), desnaturam proteínas e polissacarídeos da placa dental das próteses. O autor relata que há a necessidade de mais estudos clínicos com os diversos materiais disponíveis no mercado, para avaliar a eficácia desses produtos, e que a efetividade na remoção da placa aumenta se for efetuada uma escovação mecânica após os uso de produtos para imersão.

Para Jagger e Harrison¹⁸, os limpadores de próteses são essenciais para prevenir o mau odor, falta de estética e acúmulo de placa/cálculo com seus efeitos deletérios na mucosa. Os autores classificaram os limpadores mais utilizados naqueles que têm efeitos mecânicos e químicos para dentaduras, de acordo com os constituintes químicos e ação mecânica, em 5 grupos: peróxidos alcalinos, hipocloritos alcalinos, ácidos, desinfetantes (por exemplo clorexidina) e enzimas. Os resultados deste trabalho mostraram que muitas pessoas não sabem como limpar suas próteses satisfatoriamente.

Langwell²⁰ verificou que no peróxido alcalino, o agente ativo é usualmente o perborato de sódio; dissolvido em água torna-se uma solução alcalina de peróxido de hidrogênio que em contato com certas substâncias decompõe-se liberando bolhas de oxigênio que exercem ação mecânica de remoção de pequenos depósitos de tártaro. O autor verificou que os limpadores do tipo peróxido não apresentam a alta acidez do ácido clorídrico e nem a alta alcalinidade dos hipocloritos e são seguros quanto à manipulação, apesar de serem menos estáveis, e são ineficientes na remoção de tártaros. Mittelman²³ recomenda que a prótese deve ser imersa em uma solução de ácido clorídrico de 15% a 30%, que serve como um

excelente meio para a remoção de tártaros e manchas, após a neutralização em solução de bicarbonato de sódio. O autor afirma que este método, porém, não é seguro, mas é recomendado, exceto para próteses com dentes anteriores em porcelanas com pinos retentores em metal. MacCallum et al.²² verificaram que o método mais utilizado pelos pacientes para a limpeza de próteses foi a escova e pasta, porém 70% das próteses foram consideradas insatisfatoriamente higienizadas. Os autores desenvolveram um produto contendo enzimas para solubilização de proteínas e um agente quelante para a remoção de componentes inorgânicos, concluindo que tais produtos foram eficientes na remoção de placa bacteriana das próteses e preveniram a formação de cálculos, apresentando ação fungicida, sem danificar a estrutura metálica e a resina das próteses totais e próteses parciais removíveis. Connor et al.¹³ estudaram a eficiência de um produto para limpeza contendo enzimas proteolíticas e outro produto sem enzimas. A avaliação realizada em microscópio eletrônico de varredura demonstrou que não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois produtos após 15 minutos de imersão, tornando-se significativa após 8 horas de imersão, onde o produto contendo enzimas proteolíticas foi mais eficiente na remoção de placa. Dills et al.¹⁵ verificaram a eficiência de dois métodos populares de limpeza na remoção de placa microbiana de próteses *in vivo*, avaliando o uso de escova para prótese Curv-Clean (Brimms Inc., N.Y. USA) com o dentífrico Dentu-Cream (Block Drug Co., NJ. USA) e uma solução efervescente Efferdent, utilizados separadamente e em conjunto, comparados com um grupo controle que não recebeu tratamento. Foi avaliado o nível de colonização bacteriana das próteses e os resultados mostraram que tanto a imersão em solução efervescente quanto o tratamento combinado removeram significativamente mais microorganismos do que a escovação isolada. Os autores concluíram que a associação de escovação e imersão em produto químico é mais eficiente na limpeza de próteses.

Sesma et al.³⁵, avaliaram a eficiência de três métodos caseiros de higienização e limpeza de

próteses, através de uma análise em microscópio eletrônico de varredura. Participaram do trabalho 10 pacientes portadores de prótese parcial removível. Os autores observaram que o uso de escova de dentes e dentifrício não foi eficiente na remoção da placa bacteriana da superfície da prótese. A associação desse método mecânico com a imersão da prótese em um produto químico efervescente à base de peróxido alcalino (Limpador efervescente, da farmácia de manipulação Fórmula e Ação) melhorou a higienização, em comparação com ao método anterior. A aplicação de clorexidina a 2% na parte interna da sela da prótese associada ao método mecânico foi mais eficiente que os outros métodos.

Abelson² classificou os produtos de higienização de próteses em: pós e pastas abrasivas, produtos químicos para imersão, ácidos, enzimas, agentes antibacterianos e dispositivos ultra-sônicos. A literatura indicou que o uso de escovas de dentes associada a uma pasta abrasiva era o método mais comumente utilizado, entretanto, requer motivação e destreza para ser eficiente. Essa técnica pode ser combinada com a imersão em produtos químicos, sendo que os mais indicados para próteses com estruturas metálicas são os peróxidos alcalinos contendo enzimas. Caso a prótese seja totalmente de resina, os produtos mais efetivos são as soluções à base de hipoclorito alcalino. O autor concluiu que novos produtos devem ser testados *in vivo* com metodologias padronizadas, enfatizando que a orientação do paciente é fundamental e indispensável.

Pazzini et al.²⁵ observaram que em alguns pacientes formavam-se depósitos calcificados sobre as próteses com maior intensidade do que em outros, talvez devido ao pH da saliva. Os autores verificaram a eficiência da limpeza, descoloração e estabilidade dimensional das próteses quando submetidas a três produtos de higienização (2 peróxidos e 1 ácido); os produtos utilizados não foram eficientes na remoção de cálculo e foram relativamente eficientes na remoção de pigmentos; não foram detectadas alterações dimensionais nas próteses estudadas (auto e termopolimerizadas), concluindo-se que esses produtos

podem ser empregados como método auxiliar de higienização, com restrição para as resinas resilientes.

Abelson¹ em sua revisão de literatura sobre a natureza e eficiência dos produtos de higienização de próteses reportou que a placa bacteriana da superfície interna das próteses é inquestionavelmente o maior fator etiológico de estomatite protética, hiperplasia papilomatosa inflamatória e candidíase crônica. O autor comparou a limpeza promovida por um aparelho ultra-sônico com dois produtos efervescentes à base de peróxido alcalino Efferdent (Warner Lambert Co., NJ. USA) e Polident (Block Drug Co., NJ. USA). Constatou, através de evidenciador de placa bacteriana, que o ultra-sônico quando usado apenas com água, mostrou-se bem mais efetivo do que os outros dois produtos.

Augsburger e Elahi⁷ avaliaram a eficiência do uso de 7 produtos de limpeza de próteses (peróxidos alcalinos e hipocloritos alcalinos) nas dentaduras superiores de resina acrílica de 110 pacientes. Após a evidenciação de placa das próteses, aquelas que apresentaram placa moderada (26 a 50% da área coberta), pesada (51 a 75%) e muito pesada (76 a 100%) foram colocadas nas soluções de limpeza efervescentes durante 10 minutos. Os autores concluíram que apenas imergir as próteses durante esse período nos produtos de limpeza não mostrou ser particularmente efetivo na remoção da placa, recomendando um período maior de imersão, além da escovação mecânica.

Gwinnett e Caputo¹⁶ compararam a eficiência de soluções efervescentes para imersão de próteses a um aparelho de ultra-som para a remoção de placa microbiana. As observações ao MEV permitiram uma avaliação da densidade e composição desta placa, e revelaram que o dispositivo Sonic Scrub (Clairol, Inc., Conn., USA) foi mais efetivo na eliminação de microorganismos que os produtos efervescentes.

Sharp e Varran³⁴ estudaram, *in vitro*, a eficiência de dois produtos peróxidos efervescentes para limpeza de próteses (Extradent Tablets, Stafford Miller Ltd, Hatfield, England e Steradent Tablets, Teckitt Dental Care Products, Hull, England) sobre a placa de *Streptococcus mutans*. Os resultados mostraram

que o tratamento com os dois produtos não apresentou efeito significativo em termos de diminuição na placa pré-formada. Entretanto, o tratamento de limpeza da resina acrílica com os produtos diminuiu significativamente a quantidade de placa formada; não foi observado diferenças entre os limpadores em termos de efeito sobre a placa formada, na remoção da placa pré-formada ou na prevenção de formação da placa subsequente. Os autores concordam que a escovação mecânica adicionada à imersão nos produtos de limpeza é o método mais efetivo na higienização de próteses.

O efeito de bochechos com clorexidina a 0,2% sobre a placa foi avaliado por Amitha e Munshi⁵ em crianças com aparelhos removíveis intrabucais. Houve um aumento estatisticamente significativo na placa isolada após a inserção do aparelho removível nas crianças, que diminuiu significativamente com o uso de 10ml de gluconato de clorexidina a 0,2%, em bochechos, duas vezes por dia. O estudo indicou que os espécimes de dentes deciduos e permanentes colocados no aparelho removível, *in situ*, apresentou placa similar aquele presente em regiões adjacentes à dentição natural e que o gluconato de clorexidina, usado como bochecho, foi uma terapia efetiva na redução da microflora da placa em crianças com aparelhos removíveis.

Os autores Sarlas e Ore³⁰ se interessaram em explorar a susceptibilidade de cáries criada pelo tratamento ortodôntico e colocação de aparelhos durante a infância. Todas as crianças receberam a orientação de higiene oral e manutenção de seus aparelhos. Amostras de saliva foram coletadas e usadas para inocular no meio Snyder após o aparelho ter sido usado por uma semana. Apesar de padrões variáveis de higiene oral, houve uma consistente e acelerada produção de ácido quando foi instalado um simples aparelho. Aparelhos ortodônticos removíveis superiores em resina acrílica produzem menos atividade de cárie do que aparelhos inferiores, com exceção daqueles que abrem a oclusão posterior. O grau de produção ácida na presença de aparelhos removíveis inferiores aumentou quando foram colocadas bandas

e acessórios fixos. Os aparelhos simples, com poucos acessórios metálicos resultaram em pouco ou nenhum potencial de produção ácida, ao contrário de aparelhos complexos, com muitos acessórios.

Davenport¹⁴ avaliou a textura superficial e a porosidade de acrílicos de próteses totais. Os resultados indicaram que uma textura fina e a ausência de porosidades na superfície das próteses, em condições normais, usualmente não permitem a fixação de microorganismos da placa pela penetração aos defeitos superficiais ou pelo mecanismo de travamento mecânico nas irregularidades superficiais. Isto indica que a placa bacteriana presente nas próteses pode ser removida pelos mecanismos simples de higiene, como escovação cuidadosa. Porém, o controle e a remoção efetiva da placa bacteriana de aparelhos ortodônticos removíveis é um procedimento difícil em condições normais. Como o acrílico, tanto na superfície voltado para o tecido de suporte quanto na superfície exposta do aparelho, é rugoso torna-se passível o acúmulo de placa bacteriana e formação de cálculos. Por isso, o paciente deve receber instruções especiais quanto aos cuidados e manutenção dos aparelhos³².

Taylor et al.³⁷ avaliaram a retenção de bactérias e fungos nas superfícies de resinas acrílicas polidas com lixas de diferentes graus de abrasividade, jateadas com ligas de cromo-cobalto com partículas de óxido de alumínio e eletropolidas em tanque de ataque eletrolítico. Foram aplicadas sobre os corpos de prova de resina acrílica e metal, suspensões de células de *C. albicans*, *Actinomyces viscosus* e *Streptococcus oralis*, que foram incubadas por 1 hora a 37°C. Os microorganismos foram contados e observados em microscópio epifluorescente e microscópio de varredura, onde os resultados mostraram que o aumento da rugosidade facilitou a retenção de fungos na resina acrílica e no metal. No entanto, as bactérias aderiram facilmente nos microdefeitos e em superfícies polidas. Os autores salientaram que as técnicas de polimento em laboratório não apresentam padronização e uma superfície considerada lisa visualmente, pode apresentar microretenções e favorecer a colonização microbiana.

Heintze et al.¹⁷ afirmam que os diferentes tipos de aparelhos ortodônticos removíveis apresentam a base em resina acrílica e elementos retentivos e ativos, usualmente confeccionados em metal. Devido às variações no tempo de uso de cada tipo de aparelho, é difícil de se estabelecer um padrão efetivo da prática de higiene aos pacientes que utilizam aparelhos ortodônticos removíveis. Os autores afirmam que a inflamação no palato ocorre mais freqüentemente em pacientes que usam aparelhos removíveis do que aqueles com aparelhos fixos, e que deve ser considerado o maior aumento no acúmulo de placa em materiais dentários do que no esmalte natural. Devido à microporosidade, a superfície da resina é rapidamente recoberta por *estreptococos* em particular e por bastonetes e leveduras gram-positivas e gram-negativas; o aumento nos microorganismos aumenta os riscos de lesões de cáries e estomatites protéticas.

MATERIAL E MÉTODO

Amostra estudada

Foram empregados 48 aparelhos ortodônticos removíveis confeccionados em resina acrílica auto polimerizante (Orto clas - Clássico); cada aparelho foi confeccionado em um modelo de gesso, todos da mesma criança (Fig. 1). As amostras foram divididas em 3 grupos com 16 aparelhos (G1, G2 e G3), sendo que cada grupo foi dividido em 2 subgrupos, na dependência do tipo de polimento recebido. Cada subgrupo foi composto por 8 amostras (Grupo-Químico e Grupo-Mecânico).



FIGURA 1 – Aparelhos ortodônticos removíveis – placas de resina acrílica auto polimerizante.

Os aparelhos ortodônticos de resina acrílica receberam 2 tipos de polimento na face interna (Fig. 2):

A) Químico (aparelhos cor de rosa)= após o acabamento, as placas receberam polimento químico (Polidora Química – PQ-9000 – TERMOTRON).

B) Mecânico (aparelhos azuis)= após o acabamento, as placas receberam polimento mecânico: escova e pedra pomes (SSWhite) seguido de feltro e branco espanha (K. Dent – Quimidrol) na politriz.

As placas de resina acrílica permaneceram durante 3 dias imersas em água para a liberação de monômeros residuais¹⁰. Após este período, foram secas, embaladas e esterilizadas através de radiação gama (fonte cobalto 60, com taxa de dose da fonte equivalente a 6,63 kilogray/hora).

Preparo e padronização dos inóculos bacterianos

Foi utilizada a cepa padrão *S. mutans* ATCC (American type culture collection) 25.175, conservada à temperatura de -20°C em Tryptic Soy Broth (TSB – Difco) acrescido de 40% de glicerol (Sigma Chemical Co., USA).

Uma alíquota de 50 μl da cepa de *S. mutans* foi transferida para 5 ml de TSB, incubada durante 24 horas, a 37°C em microaerofilia obtida pelo método da chama de vela.

A padronização do número de bactérias por mililitro de meio foi realizada através da medida da densidade óptica, utilizando comprimento de onda de 700nm em espectrofotômetro (Spectronic ® 20 Genesys TM USA). A absorbância adotada



FIGURA 2 – Face interna das placas acrílicas com polimento mecânico (azul) e químico (cor-de-rosa)

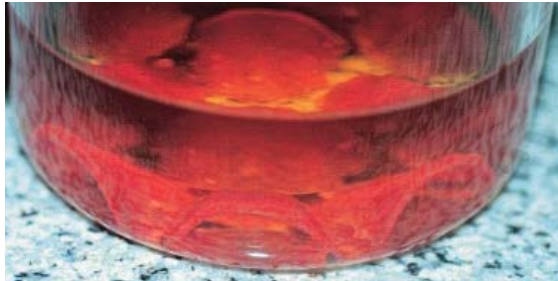


FIGURA 3 – Amostras dos aparelhos em resina acrílica, com polimento químico, antes e após o crescimento bacteriano de *S.mutans*.



FIGURA 4 – Amostras dos aparelhos em resina acrílica, com polimento mecânico, antes e após o crescimento bacteriano de *S.mutans*.



FIGURA 5 – Limpador efervescente de próteses e aparelhos ortodônticos (Farmácia Fórmula & Ação).

foi em média 0,655, correspondendo à concentração de $3,30 \times 10^7$ unidades formadoras de colônias de *S. mutans*/ml, determinada pela contagem de ufc de *S. mutans* em placas de Tryptic Soy Agar (TSA - Difco).

Meios utilizados para cultura bacteriana

A) Tryptic Soy Agar (TSA - Difco) - O meio foi preparado de acordo com as instruções do fabricante, esterilizado a 121°C durante 15 minutos

em autoclave e distribuído em placas de Petri descartáveis e esterilizadas.

B) Tryptic Soy Broth (TSB - Difco) – O meio foi preparado de acordo com as instruções do fabricante, esterilizado a 121°C durante 15 minutos em autoclave; a seguir, 250ml do meio foram distribuídos em cada um dos 6 recipientes e preparadas para receber 4 ml de solução com as cepas padronizadas e crescidas e as 8 amostras de cada subgrupo.

Contaminação das amostras

Para cada subgrupo, 4ml da suspensão bacteriana padronizada foram colocados em recipientes contendo cada um deles 250ml de TSB e 8 amostras dos aparelhos em resina acrílica (Fig. 3, 4). Os frascos foram então incubados a 37°C em microaerofilia durante 36 horas para permitir a contaminação das placas de resina acrílica.

Grupo G1

Após a contaminação, o material bacteriano aderido à face interna de cada placa de resina acrílica foi

coletado com “swab de Rayon” (Rayswab – Difco) esterilizado, friccionando-o energicamente durante 1 minuto por toda a superfície. A parte ativa do “swab”, contendo o material coletado, foi transferido para os tubos de ensaio contendo cada um deles 4,5 ml de água peptonada, homogeneizada em agitador de tubos (Thermolyne Maxi Mix II – Type 37600 mixer) durante 1 minuto e a partir dessa etapa, foram realizadas as diluições decimais em água peptonada (2,5g triptona, 2,5g peptona, 5,0g NaCl e água destilada). Das diluições decimais, alíquotas de 25 µl foram semeadas pelo método de Westergren e Krasse³⁹ em placas com TSA, incubadas a 37°C durante 48 horas em microaerofilia pelo método da chama de vela. Após a incubação, o número de unidades formadoras de colônias de *S. mutans*/ml foi avaliado com o auxílio de um microscópio estereoscópico (Carlzeiss- JENA). Os resultados foram expressos como a média das unidades formadoras de colônias (ufc) das 3 alíquotas semeadas.

Os componentes foram distribuídos em água destilada e o pH ajustado para 7,2. Alíquotas de 4,5ml foram distribuídas em tubos de ensaio, os quais foram autoclavados a 121°C durante 15 minutos.

Grupo G2

Após a contaminação, as placas de resina acrílica (previamente esterilizadas através de radiação gama - fonte cobalto 60 - durante 15 segundos) foram submetidas a limpeza mecânica com escovas para dentaduras (Denture Brush – Kolynos) também previamente esterilizadas através da radiação gama, em toda a superfície interna e foram lavadas com 8 ml de água destilada esterilizada em autoclave. A coleta do material foi realizada friccionando o “swab” energicamente durante 1 minuto por toda a superfície interna da placa acrílica. Novamente, a parte ativa do “swab”, contendo o material coletado, foi depositado em 4,5 ml de água peptonada, seguindo-se os passos das diluições decimais e semeadura.

Grupo G3

Após a contaminação, cada placa de resina acrí-

lica permaneceu imersa durante 30 minutos em um recipiente contendo o material do Limpador Efervescente de Próteses e Aparelhos Ortodônticos (Farmácia Fórmula & Ação) (Fig.5), cujo princípio ativo é o perborato de sódio; o produto foi dissolvido em 80ml de água destilada esterilizada em autoclave e morna (aproximadamente 45°C). As placas de resina acrílica foram transferidas para outro recipiente contendo 40 ml de água destilada esterilizada e permaneceram imersas durante 10 minutos para a remoção da solução de limpeza. Após esta etapa, friccionou-se o “swab” energicamente durante 1 minuto por toda a superfície interna da placa, e foram preparadas as diluições decimais e semeaduras conforme descrito anteriormente.

Para complementar os dados obtidos, que resultaram na não detecção de *S. mutans* em algumas amostras, o estudo desse grupo foi repetido, e após a coleta das amostras, as placas de resina acrílica foram novamente incubadas individualmente em recipientes contendo 30 ml de TSB, permanecendo durante 48 horas em microaerofilia pela técnica da chama de vela, a 37°C, para verificar a presença ou não de bactérias, e se essas bactérias seriam as mesmas antes e após o uso do limpador. Das amostras com novo crescimento bacteriano, foram realizados semeadura em estria (“loop” calibrado 1µl – INLAB Diagnóstica – esterilizado), análise de Gram e catalase e análise morfológica das colônias de bactérias através do microscópio estereoscópico (Carlzeiss - JENA), para verificar as bactérias presentes após o uso da solução de limpeza.

Análise estatística

Para a análise estatística dos resultados, com o intuito de verificar as diferenças na análise descritiva, foi utilizado o teste de Mann-Whitney para mediana.

O teste de Mann-Whitney é um teste não paramétrico, para a verificação de duas amostras independentes, segundo Siegel³⁶, com a finalidade de comparar os dois grupos controles (G1-Mecânico e G1-Químico) e os grupos experimentais (G2 e G3, Químico e Mecânico) entre si.

RESULTADOS

Análise Descritiva

Unidades formadoras de colônias de *S. mutans*/ml

Os 48 aparelhos confeccionados em resina acrílica e divididos em 3 grupos foram analisados após a contaminação (Grupo 1 – Químico e Mecânico), após a escovação (Grupo 2 – Químico e Mecânico) e após a imersão em solução de limpeza (Grupo 3 – Químico e Mecânico). A análise microbiana da superfície interna dos aparelhos após a coleta do material foi realizada através da média das unidades formadoras de colônias (ufc) das 3 alíquotas semeadas. Em algumas amostras do Grupo 3 não foi possível detectar a presença de unidades formadoras de colônias (ufc). Neste caso, atribuiu-se um valor irrisório (1) para a amostra ($1,00 \times 10^0$ ufc *S. mutans*/ml).

Os dados das médias, desvios padrão e mediana para os grupos analisados encontram-se na tabela 1.

Nas amostras do Grupo 3 - Químico não foram detectadas nenhuma ufc *S. mutans*/ml.

Para apresentar os resultados, foi realizado o gráfico 1, pelo qual podemos comparar os grupos. Pelo gráfico, podemos verificar que entre os Grupos 1, 2 e 3 existem diferenças, o que indica que os dois métodos utilizados para higienização (Grupo 2 e Grupo 3) diminuem as ufc *S. mutans*/ml, sendo que a limpeza realizada pela imersão em solução de peróxido alcalino foi mais eficiente. Comparados os tipos de acabamento (químico e mecânico), verificamos que para os Grupos 1 e 2 as diferenças das médias entre os acabamentos não é muito grande e que a variabilidade é relativamente grande. No Grupo 3 esta diferença é aparentemente significativa, apesar dos valores para o subgrupo Mecânico apresentarem variabilidade.

Análise Inferencial

Com o intuito de verificar se as diferenças verificadas na análise descritiva realmente são significativas, realizamos vários testes de Mann-Whitney para mediana.

O teste de Mann-Whitney é um teste não paramétrico que verifica se duas amostras têm a

mesma mediana ou não. Para fazermos os testes precisamos assumir que os dados são provenientes de amostras independentes de duas populações com a mesma forma.

Para aplicarmos o teste era necessário termos variabilidade dentro do grupo, ou seja, caso os valores de um grupo sejam todos iguais, não podemos utilizar o teste para este grupo.

No nosso trabalho, o Grupo 3 (Químico) apresentou todos os resultados sem a detecção de ufc *S. mutans*/ml. Na análise descritiva adotamos o valor 1 (um) para representar a não detecção de ufc. Para aplicarmos o teste de Mann-Whitney alteramos um dos valores para 1,1 e para compensar, fizemos o mesmo com uma das amostras do Grupo 3 (Mecânico).

Para verificarmos quais diferenças eram significativas aplicamos os teste em três seqüências:

- Diferenças entre os Grupos 1, 2 e 3 subgrupo Q;
- Diferenças entre os Grupos 1, 2 e 3 subgrupo M;
- Diferenças entre os subgrupos dentro de cada grupo.

Testando se existia diferenças significativas entre as medianas dos grupos 1, 2 e 3 para o acabamento químico obtivemos os resultados descritos na tabela 2.

Pelos níveis descritos na tabela concluímos que as medianas dos grupos são diferentes dois a dois.

Analogamente para o acabamento mecânico obtivemos resultados semelhantes ao do acabamento químico (Tab. 3).

Verificando as diferenças entre as medianas dos acabamentos Q e M para cada um dos grupos obtivemos os resultados descritos na tabela 4. Vale lembrar que para o Grupo 3 utilizamos o artifício de alterar o valor de uma das amostras de cada subgrupo (Químico e Mecânico).

Pelos resultados dos níveis descritivos apresentados nas tabelas concluímos que em nenhum dos casos temos diferenças significativas entre os subgrupos (tipos de acabamento químico e mecânico).

DISCUSSÃO

Analisando-se a literatura a respeito de adesão bacteriana em resina acrílica usadas em Ortodontia, verificamos a falta de metodologia padrão que

Tabela 1 - Médias, Desvio Padrão e Mediana das ufc *S. mutans*/ml recuperadas da superfície do aparelho.

Acabamento			
Grupo	Dados	Químico	Mecânico
1	Mediana	1,9x10 ⁷	1,5x10 ⁷
	Média	2,6x10 ⁷	2,2x10 ⁷
	Desvio Padrão	1,8x10 ⁷	1,4x10 ⁷
2	Mediana	4,0x10 ⁵	3,7x10 ⁵
	Média	5,1x10 ⁵	4,6x10 ⁵
	Desvio Padrão	3,7x10 ⁵	2,3x10 ⁵
3	Mediana	1,0x10 ⁰	1,0x10 ⁰
	Média	1,0x10 ⁰	29,0x10 ⁰
	Desvio Padrão	0,0x10 ⁰	53,0x10 ⁰

permita comparações quantitativas e qualitativas entre os diversos estudos.

O tratamento ortodôntico com aparelho fixo ou removível pode alterar a ecologia da cavidade oral pela introdução de novas áreas retentivas disponíveis para a colonização bacteriana e retenção de substratos. A quantidade e os tipos de acessórios, duração do tratamento e nível de infecção podem ser fatores importantes³³. Os aparelhos ortodônticos e ortopédicos também podem interferir na higiene oral e cobrir partes consideráveis das superfícies dos dentes com metal ou material resinoso. Essa mudança no meio bucal altera a natureza do biofilme dental levando a um aumento estatisticamente significativo da população microbiana de estreptococos e lactobacilos^{8,33,21}. Scheie et al.³³ também concluíram em seu estudo, que a criação de novas áreas retentivas favorecem a colonização e multiplicação de *S. mutans* e confirmam que o tratamento ortodôntico pode induzir ao aumento de colonização por *S. mutans*. Qualquer aparelho colocado na boca por um período considerável poderá ser colonizado por microorganismos, que poderão alterar a homeostase microbiológica. Addy et al.³ verificaram que a distribuição de placa foi alterada significativamente nos indivíduos que usavam aparelhos removíveis quando comparados com indivíduos sem aparelhos, através de aumento de placa no palato.

A colocação de diferentes tipos de aparelhos

Tabela 2 - Teste para mediana entre os grupos para o polimento químico.

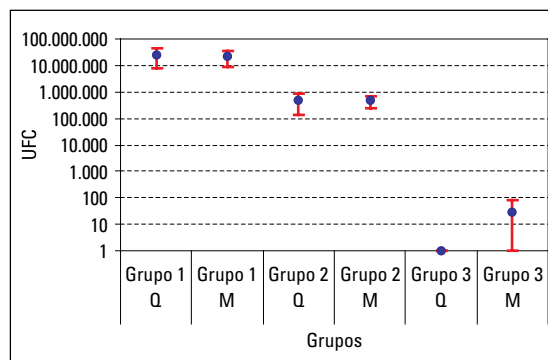
	estatística U	Nível descritivo
G1 x G2	0	0,0009
G1 x G3	0	0,0009
G2 x G3	0	0,0009

Tabela 3 - Teste para mediana entre os grupos para o polimento mecânico.

	estatística U	Nível descritivo
G1 x G2	0	0,0009
G1 x G3	0	0,0009
G2 x G3	0	0,0009

Tabela 4 - Teste para mediana entre os acabamentos para os Grupos 1, 2 e 3.

	estatística U	Nível descritivo
G1	26,0	0,5632
G2	31,5	1,0000
G3	23,0	0,3446

**Gráfico 1** – Representação gráfica das médias +/- 1 desvio padrão para os valores de ufc *S. mutans*/ml.

pode criar instabilidade e susceptibilidade a lesões de cárie, pois durante a infância e adolescência muitas crianças necessitam de tratamento ortodôntico preventivo, corretivo e protético³⁰. Arendorf e Addy⁶ demonstraram uma relação direta entre a presença de aparelho em acrílico e pH da saliva baixo. Após 7 dias de uso de aparelhos ortodônticos removíveis,

Amiyha e Munshi⁵ verificaram uma flora bacteriana complexa, consistindo principalmente de cocos Gram-positivos, bacilos Gram-positivos como *Actinomyces* e bacilos não filamentosos, como *Lactobacillos*, cocos Gram-negativos como *Veillonella* e bastonetes Gram-negativos como Bacteróides e Fusobacteria, e outras bactérias em baixas proporções, do gênero *Hemophilus* e *Borrelia*. Todos os valores desses microorganismos foram estatisticamente significantes, exceto o aumento de cocos Gram-positivos, onde não ocorreram diferenças significantes nas amostras do grupo estudado e no grupo controle. A criação de novas áreas retentivas, além de favorecerem a colonização e multiplicação de *S. mutans*, podem induzir o aumento de infecção por esses microorganismos³³. A adesão de bactérias e leveduras em resina acrílica de próteses totais tem sido objeto de estudos^{29,38}. Entretanto, os aspectos da adesão bacteriana em resina acrílica ortodôntica utilizada em aparelhos ortodônticos e ortopédicos, próteses infantis e obturadores palatinos para fissurados não foram analisados na bibliografia consultada, através de metodologias semelhantes à utilizada neste estudo.

Schlossberg³² verificou que o acrílico, tanto na superfície voltada para o tecido de suporte quanto na superfície exposta do aparelho, é rugoso tornando-se passível ao acúmulo de placa bacteriana e formação de cálculos. Em seu estudo, Taylor et al.³⁷ observaram que o aumento da rugosidade facilitou a retenção de fungos na resina acrílica e no metal, no entanto, as bactérias aderiram facilmente nos microdefeitos e em superfícies polidas. Para Heintze et al.¹⁷, a superfície da resina é rapidamente recoberta por estreptococos em particular e por bastonetes e leveduras Gram-positivas e Gram-negativas devido às microporosidades sendo que o aumento nos microorganismos aumenta os riscos de lesões de cáries e estomatites protéticas. Augsburg e Elahi⁷ notaram que as superfícies que pareciam ser lisas retinham menos placa, concordando com Davenport¹⁴ que verificou que uma textura fina e a ausência de porosidades na superfície da dentadura, em condições normais, usualmente não permite a fixação de microorganismos

da placa pela penetração aos defeitos superficiais ou pelo mecanismo de travamento mecânico nas irregularidades superficiais, indicando que a placa presente nas dentaduras podem ser removidas pelos mecanismos simples de higiene, como escovação cuidadosa. Nesta pesquisa, não realizamos uma análise sobre a superfície e microporosidades das resinas acrílicas após o polimento químico e mecânico.

Existem no mercado, vários produtos para a limpeza de próteses removíveis, que são essenciais para prevenir o mau odor e o acúmulo de placa e cálculos, que apresentam efeitos deletérios na mucosa¹⁸. Apesar da escassez de publicações científicas sobre o efeito desses produtos de limpeza em resina acrílica e fios ortodônticos, esses produtos também podem ser utilizados na limpeza de aparelhos ortodônticos, ortopédicos e próteses removíveis para Odontopediatria.

Concordamos com Sesma et al.³⁵, cuja opinião é que os pacientes devam ser melhor orientados com relação à melhor forma de higienização diária de suas próteses e necessitam retornos periódicos para verificar o controle da limpeza realizada. Esta mesma orientação deve ser feita aos pacientes que utilizam aparelhos ortodônticos removíveis. Schloosberg³¹ e Chaconas¹² afirmam que os aparelhos ortodônticos removíveis são facilmente removidos para a limpeza, mas o controle e a remoção efetiva da placa bacteriana de aparelhos ortodônticos é um procedimento difícil em condições normais, e essa tarefa se torna quase impossível para as crianças de pouca idade³¹.

Um limpador de próteses ideal deve ser simples de usar e efetivo na remoção de manchas e depósitos orgânicos e inorgânicos; deve ser compatível com todos os materiais da prótese e não ser tóxico ao indivíduo, permitindo um mínimo de sabor residual após o uso. Deve apresentar propriedades bactericidas e fungicidas, além de ser de baixo custo para estimular o uso regular^{18,35} e o mesmo deve ocorrer para um limpador de aparelhos ortodônticos removíveis.

Apesar das inúmeras publicações^{1,2,5,7,8,13,15,16,18,20,21,22,23,24,25,26,27,34,35}, Jagger e Harrison¹⁸ e Sesma et al.³⁵

afirmam que um produto com todas as características ideais ainda não foi desenvolvido. Tanto os métodos mecânicos quanto os químicos apresentam vantagens e desvantagens, e devido ao grande número de produtos comerciais para limpar próteses disponíveis no mercado, é difícil recomendar um limpador que preencha a maioria dos requisitos ideais.

O uso de pastas abrasivas associadas com escovas têm a vantagem de ser simples e relativamente barato. Entretanto, se o usuário escovar vigorosamente ou com técnica de escovação incorreta, pode causar danos na prótese, além da limitação na remoção de manchas persistentes. Esta técnica de limpeza mecânica também é limitada para usuários com problemas de destreza¹⁸. Para Sesma et al.³⁵, o uso de escova dental e dentifrícios não foi suficiente na remoção da placa bacteriana da superfície das próteses parciais removíveis quando analisados em microscópio eletrônico de varredura. Estes resultados estão de acordo com o nosso estudo, onde através da análise microbiológica verificamos uma redução no total de bactérias aderidas, apesar de termos utilizado apenas a escovação mecânica, e não com o auxílio de pastas abrasivas.

A vantagem do método mecânico de higienização através da escovação é a rapidez na limpeza e a maior desvantagem é o difícil acesso a certas áreas das próteses parciais removíveis³⁵, o mesmo ocorrendo com os aparelhos ortodônticos e ortopédicos.

Quando as próteses estão afetadas por manchas e depósitos de tártaro, é necessário recorrer a métodos químicos para a limpeza²⁴. Os métodos químicos têm a vantagem de serem fáceis de usar. Entretanto, são dispendiosos e se não usados de acordo com as instruções do fabricante podem causar deteriorização da resina acrílica, na forma de descoloração ou corrosão do metal¹⁸.

A literatura consultada mostrou que os limpadores do tipo peróxidos alcalinos são largamente utilizados^{1,2,7,13,15,16,18,20,22,23,25,26,27,35}. Estes produtos têm efeito antibacteriano e juntamente com a limpeza química, apresentam uma ação mecânica devido às bolhas criadas pela liberação de oxigê-

nio. Uma outra vantagem desses produtos é que não há contra-indicações ao uso de peróxidos na resina acrílica de próteses¹⁸. Por este motivo, este limpador foi escolhido como material para esta pesquisa. O uso de hipocloritos alcalinos e limpadores ácidos não foi incluído devido à restrição de utilização em aparelhos ortodônticos e protéticos, devido ao potencial de danos ao metal²⁴.

Augsburger e Elahi⁷ imergiram as próteses durante 10 minutos nos produtos de limpeza do tipo peróxidos alcalinos e hipocloritos alcalinos, que não mostraram ser efetivos na remoção da placa bacteriana, recomendando um período maior de imersão, além da escovação mecânica. Para Neill²⁴, quando os produtos do tipo peróxidos alcalinos são usados regularmente e pelo tempo necessário, removem efetivamente a mucina e ajudam a remover restos alimentares. Em nosso estudo, verificamos que a imersão em solução de peróxido alcalino (perborato de sódio) durante 30 minutos, reduziu significativamente as ufc de *S. mutans* aderidas ao acrílico, sendo que o tipo de polimento realizado na superfície interna dos aparelhos (polimento químico e mecânico) não interferiu nos resultados.

Em nossa pesquisa, comparamos *in vitro* a escovação e uso de solução química do tipo peróxido alcalino utilizados separadamente e comparados com um grupo controle sem tratamento e verificamos que a imersão em solução efervescente removeu significativamente mais microorganismos do que a escovação isolada, concluindo que a imersão em produto químico foi mais eficiente para a limpeza dos aparelhos. Concordamos com Sharp³⁴, Varran³⁸, Dill et al.¹⁵, Sesma et al.³⁵, que a associação da limpeza mecânica, através da escovação e imersão em solução química efervescente deva ser recomendada na higienização de acessórios confeccionados em resina acrílica.

Um dos maiores desafios do cirurgião-dentista é motivar o paciente portador de aparelho ortodôntico/ortopédico para uma efetiva higiene bucal. Para isso, vários métodos devem ser utilizados

como recursos para motivação: evidenciação do biofilme dental e do acessório ortodôntico, orientação de escovação associada à imersão em produtos químicos, retornos periódicos e instruções por escrito.

Este trabalho, cujo objetivo inicial foi verificar se o tipo de polimento realizado em aparelhos ortodônticos intrabucais em crianças influenciaria na adesão de *Streptococcus mutans*, mostrou-nos que este capítulo deve ainda ser pesquisado de forma a nos levar a conclusões clínicas palpáveis que venham a beneficiar o cotidiano de nosso trabalho. Isto porque os resultados que obtivemos, ainda que cientificamente corretos, mostraram-nos a necessidade de pesquisas com outras variáveis para elucidar o que ainda não pudemos avaliar neste estudo.

CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos no presente estudo, pode-se concluir que:

- O tipo de polimento, químico ou mecânico, realizado na face interna da resina acrílica utilizada para confecção de aparelhos ortodônticos não influencia a adesão de *Streptococcus mutans*.

- O tipo de polimento realizado na face interna da resina acrílica não influencia a remoção de *Streptococcus mutans* através de limpeza química e mecânica.

- A limpeza química, através da imersão em solução de perborato de sódio, durante 30 minutos, é mais eficiente do que a limpeza mecânica, realizada pela escovação, na remoção de *Streptococcus mutans* aderidos na face interna da resina acrílica, sendo que o ideal seria conjugar os dois métodos de higienização.

Enviado em: Julho de 2003
Revisado e aceito: Outubro de 2003

In vitro evaluation of the influence of resin acrylic surface polishing for orthodontic appliances on adhesion and removal of *Streptococcus mutans*

Abstract

The aim of this *in vitro* microbiologic analysis was to evaluate the adhesion of microorganisms on the internal surface of intra oral removable plates made in acrylic resin for orthodontic and prosthetic appliances. The hypothesis to be tested was that there is an association between chemical or mechanical polishing and the microbiological adhesion of *Streptococcus mutans*. The chemical and mechanical cleansing of the appliances was also checked. Forty eight appliances were prepared and divided into 3 groups. Each group was subdivided in 2 groups, concerning the different types of polishing. Group 1) control; Group 2) mechanical brushing of the acrylic resin plates with Denture Brush, Kolynos; Group 3) hygiene (chemical cleansing) of the appliances by immersing them in sodium perborate solution for 30 minutes (Fizzy Cleanser of Prosthetic and Orthodontic Appliances, "Fórmula & Ação" Pharmacy). By the statistical results, obtained from the described analysis, it was concluded that the polishing type performed in the internal surface of acrylic resin did not influence the adhesion of *Streptococcus mutans*. The inferential analysis, implemented by comparing the assessed groups, determined that there was a reduction in the removal of biofilm formed by the contamination of *Streptococcus mutans* in the groups. The chemical cleanser was more efficient than the mechanical brushing. However there was no difference between the subgroups, confirming that polishing type (chemical or mechanical) did not influence the adhesion and removal of *Streptococcus mutans*.

Key words: Resin acrylic. Removable orthodontic appliance. *Streptococcus mutans*.

REFERÊNCIAS

1. ABELSON, D. C. Denture plaque and denture cleansers. **J Prosthet Dent**, St. Louis, v. 45, no. 4, p.376-679, Apr. 1981.
2. ABELSON, D. C. Denture plaque and denture cleansers: review of the literature. **Gerodontics**, Copenhagen, v.1, no. 5, p. 202-206, Oct. 1985.
3. ADDY, M. et al. The effect of orthodontic appliances on the distribution of *Candida* and plaque in adolescents. **Br J Orthod**, London, v. 9, no. 3, p.158-163, July 1982.
4. ALALUUSUA, S.; RENKONEN, O. U. *Streptococcus mutans* establishment and dental caries experience in children from 2 to 4 years old. **Scand J Dent Res**, Copenhagen, v. 91, no. 6, p. 453-457, Dec. 1983.
5. AMITHA, H.; MUNSHI, A. K. Effect of chlorhexidine gluconate mouth wash on the plaque microflora in children using intra oral appliances. **J Clin Pediatr Dent**, Birmingham, v. 20, no. 1, p. 23-29, Fall 1995.
6. ARENDORF, T.; ADDY, M. Candidal carriage and plaque distribution before, during and after removable orthodontic appliance therapy. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v. 12, no. 5, p. 360-368, May 1985.
7. AUGSBURGER, R. H.; ELAHI, J. M. Evaluation of seven denture cleansers. **J Prosthet Dent**, St. Louis, v. 47, no. 4, p. 356-359, Apr. 1982.
8. BALENSEIFEN, J. W.; MADONIA, J. V. Study of dental plaque in orthodontic patients. **J Dent Res**, Chicago, v. 49, no. 2, p. 320-324, Mar./Apr. 1970.
9. BERKOWITZ, R. J. et al. The early establishment of *Streptococcus mutans* in the mouths of infants. **Arch Oral Biol**, Oxford, v. 20, no. 2, p.171-174, Feb. 1975.
10. BRADEN, M. The absorption of water by acrylic resins and other materials. **J Prosthet Dent**, St. Louis, v.14, no. 2, p. 307-316, Mar./Apr. 1964.
11. BUDTZ-JÖRGENSEN, E.; KAABER, S. Clinical effects of glazing denture acrylic resin bases using an ultraviolet curing method. **Scand J Dent Res**, Copenhagen, v. 94, no. 6, p. 569-574, Dec. 1986.
12. CHACONAS, S. J. Removable orthodontic appliances. **J Clin Orthod**, Boulder, v. 5, no. 7, p. 363-375, July 1971.
13. CONNOR, J. N. E. et al. An evaluation of an enzyme denture cleanser. **J Prosthet Dent**, St. Louis, v. 37, no. 2, p.147-157, Feb. 1977.
14. DAVENPORT, J. C. The denture surface. **Br Dent J**, London, v. 133, no. 3, p.101-105, Aug. 1972.
15. DILLS, S. S. et al. Comparison of the antimicrobial capability of an abrasive paste and chemical-soak denture cleansers. **J Prosthet Dent**, St. Louis, v. 60, no. 4, p. 467-470, Oct. 1988.
16. GWINNWT, A. J.; CAPUTO, L. The effectiveness of ultrasonic denture cleaning: a scanning electron microscope study. **J Prosthet Dent**, St. Louis, v. 50, no.1, p. 20-25, July 1983.
17. HEINTZE, S. D. et al. **Oral health for the orthodontic patient**. 1st ed. Illinois: Quintessence Books, 1999.
18. JAGGER, D. C.; HARRISON, A. Denture cleansing. **Br Dent J**, London, v.178, no.11, p. 413-417, June 1995.
19. KÖHLER, B. et al. The effect of caries-preventive measures in mothers on dental caries and the oral presence of the bacteria *Streptococcus mutans* and *Lactobacilli* in their children. **Arch Oral Biol**, Oxford, v. 29, no.11, p. 879-883, Nov. 1984.
20. LANGWELL, W. H. The cleansing of artificial dentures. **Br Dent J**, London, v. 99, no.10, p. 337-339, Nov. 1955.
21. LUNDSTRÖM, F.; KRASSE, B. *Streptococcus mutans* and lactobacilli frequency in orthodontic patients; the effect of chlorhexidine treatments. **Eur J Orthod**, London, v. 9, no. 2, p.109-116, May 1987.
22. MacCALLUM, M. et al. Which cleanser? A report on a survey of denture cleansing routine and the development of a new denture cleanser. **Dent Pract Dent Rec**, Bristol, v. 19, no. 3, p. 83-89, Nov. 1968.
23. MITTELMAN, J. S. Denture cleansers. **J Am Dent Assoc**, Chicago, v. 56, no. 4, p. 561, Apr. 1958.
24. NEILL, D. J. A study of materials and methods employed in cleaning dentures. **Br Dent J**, London, v. 124, no. 3, p.107-115, Feb. 1968.
25. PAZZINI, N. et al. Higienizadores para dentaduras artificiais. **RGO**, Porto Alegre, v. 20, n. 4, p. 282-286, out./dez. 1972.
26. PETIT, H. et al. Disinfection of removable appliances. **J Clin Orthod**, Boulder, v.19, no. 4, p. 293-295, Apr. 1985.
27. REQUA-CLARK, B. Denture cleansers. **J Am Dent Assoc**, Chicago, v.106, no.1, p. 77-79, Jan. 1983.
28. ROSE, E. C. et al. Contribution to the biological assessment of orthodontic acrylic materials. **J Orolfac Orthop**, München, v. 61, no. 4, p. 246-257, Apr. 2000.
29. SAMARANAYAKE, L. P.; MacFARLANE, T. W. An in vitro study of the adherence of *Candida albicans* to acrylic surfaces. **Arch Oral Biol**, Oxford, v. 25, no. 8-9, p.603-609, Aug./Sept. 1980.
30. SARLAS, C. H.; ORE, D. E. Intraoral bacterial changes with various pedodontic-orthodontic appliances. **ASDC J Dent Child**, Chicago, v. 28, no. 6, p. 385-386, Nov./Dec. 1971.
31. SCHLOSSBERG, A. The removable orthodontic appliance. **Dent Clin North Am**, Philadelphia, v.16, no. 3, p. 487-496, July 1972.
32. SCHLOSSBERG, A. Problems associated with removable orthodontic appliances. **J Acad Gen Dent**, Chicago, v. 21, no. 3, p. 36-38, May/June 1973.
33. SCHEIE, A. A. et al. Effect of orthodontic treatment on prevalence of *Streptococcus mutans* in plaque and saliva. **Scand J Dent Res**, Copenhagen, v. 92, no. 3, p. 211-217, June 1984.
34. SHARP, E. W.; VARRAN, M. S. Denture cleansers and in vitro plaque. **J Prosthet Dent**, St. Louis, v. 53, no. 4, p. 584-585, Apr. 1985.
35. SESMA, N. et al. Eficiência de métodos caseiros de higienização e limpeza de próteses parciais removíveis. **Rev Assoc Paul Cir Dent**, São Paulo, v. 53, n. 6, p. 463-468, nov./dez. 1999.
36. SIEGEL, S. **Estatística não - paramétrica**: para as ciências do comportamento. 1. ed. São Paulo: McGraw-Hill, 1975.
37. TAYLOR, R. L. et al. The influence of substratum topography on bacterial adhesion to polymethyl methacrylate. **J Mater Sci Mater Med**, London, v.123, no. 9, p.17-22, June 1998.
38. VERRAN, J.; MOTTERAM, K. L. The effect of adherent oral streptococci on the subsequent adherence of *Candida albicans* to acrylic in vitro. **J Dent**, Bristol, v.15, no. 2, p. 73-76, Apr. 1987.
39. WESTERGREEN, G.; KRASSE, B. Evaluation of a micromethod for determination of *Streptococcus mutans* and *lactobacillus* infection. **J Clin Microbiol**, Washington, DC, v. 7, no. 1, p. 82-83, Jan. 1978.

Endereço para correspondência

Selma Sano Suga – Rua Tonelero, 510-93
 São Paulo – SP
 CEP: 05056-000
 E-mail: pssano@uol.com.br