

Artigo Original de Pesquisa

Aderência de *Candida albicans* em ligas de titânio e cobalto-cromo, com diferentes desgastes

Adherence of *Candida albicans* in cobalto-chromium and titanium alloys, with different sandpapering

Sidnei MARCACCI*
Roberta LAMPING*
Lilian Eiko MAEKAWA**
Carlos Augusto PAVANELLI***
Lafayette NOGUEIRA JUNIOR***
Cristiane Yumi KOGA-ITO****

Endereço para correspondência:

Lilian Eiko Maekawa
Rua Evolução, 692 – Vila Brasilina
São Paulo – SP – CEP 04163-001
E-mail: lilian.maekawa@uol.com.br

* Estagiários da disciplina de Prótese Parcial Removível – UNESP, São José dos Campos.

** Doutoranda em Odontologia Restauradora, com especialidade em Endodontia – UNESP, São José dos Campos.

*** Professores Doutores da disciplina de Prótese Parcial Removível – UNESP, São José dos Campos.

**** Professora Doutora da disciplina de Microbiologia Oral – UNESP, São José dos Campos.

Recebido em 24/8/07. Aceito em 14/10/07.

Palavras-chave:

titânio; *Candida albicans*;
prótese parcial removível.

Resumo

Introdução: A capacidade de aderência de *Candida albicans* é um dos seus principais fatores de virulência. Superfícies de materiais diferentes podem propiciar condições para maior ou menor aderência e maior virulência dos microrganismos. **Objetivo:** Avaliar a aderência de *Candida albicans* em ligas de titânio e cobalto-cromo, com diferentes desgastes. **Material e métodos:** Foram confeccionados 24 corpos-de-prova (CPs) cilíndricos, 12 de titânio e 12 de cobalto-cromo, divididos em 4 grupos de seis. Todos foram polidos de forma habitual pelo mesmo técnico. Os CPs foram lixados em torno de alta rotação por 15 segundos cada lixa, por toda a sua superfície. Um grupo de cada metal foi lixado

apenas com lixa para metal número 80. Os dois outros grupos foram lixados conforme a seqüência (granulação decrescente): 80, 150 e 220. Os CPs foram esterilizados e posicionados em placas de cultura de células. Em cada poço da placa foi adicionada quantidade padronizada de caldo Sabouraud e suspensão contendo 10^6 céls./mL de *C. albicans* (ATCC 18804). Após incubação, o número de células aderidas por mm^2 foi obtido pelo método de semeadura em placa de Petri. Os valores encontrados foram tabulados e submetidos aos testes de ANOVA e Tukey, com nível de significância de 5%. **Resultados:** Houve diferença estatística para a granulação de lixas, e não houve diferença quando foram comparados os metais. **Conclusão:** Quanto maior é a granulação final da lixa maior é a aderência, e o tipo de metal não influenciou no resultado.

Keywords:

titanium alloys; *Candida albicans*; removable partial denture.

Abstract

Introduction: The capacity of *Candida albicans* adherence is one of its main factors of virulence. Surfaces of different materials can propitiate conditions for higher or lower adherence and greater virulence of the microorganisms. **Objective:** Evaluate the adherence of *Candida albicans* in cobalto-chromium and titanium alloys, with different sandpapering. **Material and methods:** Twenty-four cylindrical samples have been constructed, 12 of titanium and 12 of cobalt-chromium, divided in 4 groups of six. All have been polished in the habitual form by the same technician. Samples have been sandpapered at about high rotation for 15 seconds each sandpaper, on all its surface. A group of each metal was sandpapered only with sandpaper for metal number 80. The two other groups have been sandpapered in agreement with the sequence (decreasing granulation): 80, 150 and 220. Samples have been sterilized and located in plates of cells culture. In each well of the plate was added standardized amount of Sabouraud broth and suspension containing 10^6 cells per milliliter of *C. albicans* (ATCC 18804). After incubation, the number of adhered cells per mm^2 was obtained by the method of sowing in plate of Petri. The obtained values have been tabulated and submitted to the tests of ANOVA and Tukey, with level of significance of 5%. **Results:** There was statistical difference for the granulation of sandpapers, what not occurred when considering metals. **Conclusion:** The bigger the final granulation of sandpaper, the greater the adherence and the type of metal did not influence in the result.

Introdução

A prótese parcial removível (PPR), como relatam os mais conceituados livros-texto, é a alternativa protética indicada para repor vários dentes perdidos, intercalados, em um mesmo arco. Esse tipo de prótese é constituído de três partes fundamentais: armação metálica, dentes artificiais e bases ou selas, que os suportam. A PPR como um todo deve interagir harmoniosamente com as estruturas de suporte (osso, fibromucosa e dentes remanescentes), sem provocar danos.

O simples uso de próteses não é razão para justificar aumento da profundidade do sulco gengival, da mobilidade dentária e do acúmulo de placa bacteriana, os quais freqüentemente têm origem na diminuição da qualidade dos procedimentos de higienização dos pacientes [8, 14, 16].

Grampos, apoios e bases de próteses parciais removíveis, pelo fato de causarem sobrecontorno da superfície dentária, podem interferir na eliminação fisiológica dos alimentos da cavidade bucal e introduzir novos sítios retentivos para adesão bacteriana [10].

A placa bacteriana desenvolvida na superfície de biomateriais, assim como na superfície dentária, começa com a formação de uma “película adquirida”. Esta absorve da saliva glicoproteínas específicas, dependendo da superfície química do material sobre o qual se aderiu [9]. A película adquirida permitirá a adesão seletiva de bactérias para a formação da placa bacteriana [7].

Superfícies químicas diferentes formam películas adquiridas contendo diferentes tipos de glicoproteínas.

A virulência de uma bactéria na cavidade bucal é proporcional à sua habilidade de adesão a uma superfície antes de colonizar e prejudicar os tecidos hospedeiros. O mecanismo de colonização é complexo e envolve os seguintes estágios: a) transporte da bactéria até a superfície pela saliva; b) interação eletrostática não específica entre as células bacterianas e o substrato; c) agregação entre diferentes espécies de bactérias [12].

Pesquisas realizadas *in vitro* mostraram menor crescimento bacteriano nas ligas de titânio do que em outras ligas, provavelmente pelo efeito antimicrobiano de liberação de íons metálicos do titânio [8]. Sua distribuição iônica torna-o diferente do esmalte [15].

A PPR favorece a instalação de placa bacteriana, constatada nas superfícies internas dos grampos, nas margens gengivais e nas superfícies voltadas para o espaço protético [8]. Esse fato é de grande relevância para a instalação e a progressão da doença periodontal.

Entretanto a literatura é pobre ao relacionar adesão de placa bacteriana e ligas metálicas, principalmente em PPR. O titânio, quando estudado, o é por fazer parte da composição das estruturas de implantes.

A proposta deste trabalho foi avaliar a aderência de *Candida albicans* em cilindros de ligas de cobalto-cromo e titânio tratados nas suas superfícies de modo semelhante com diferentes granulações de lixas, após 24 horas de imersão em solução de caldo com esses microrganismos.

Material e métodos

Foram confeccionados 12 corpos-de-prova (CPs) de cada liga analisada com as seguintes dimensões: 2 mm de diâmetro e 1 cm de comprimento. Totalizaram-se 24 corpos-de-prova (n=24). Esses CPs foram divididos em 4 grupos, com 6 CPs (n=06) da mesma liga. Os CPs foram lixados, conforme quadro I, em um torno de alta rotação por 15

segundos com cada lixa para metal em todas as suas superfícies.

Grupo 1 Co-Cr	Grupo 2 Titânio	Grupo 3 Co-Cr	Grupo 4 Titânio
Lixa 80	Lixa 80	Lixa 220	Lixa 220

Quadro I - Grupo X granulação final da lixa utilizada (μm)

Para os grupos 3 e 4 foi utilizada esta seqüência de lixas: 60, 180 e 220.

Após todos os grupos terem sido lixados, foram autoclavados e posteriormente submetidos ao teste de aderência de *C. albicans*.

Em seguida, os CPs foram acondicionados em uma placa estéril de cultura de células, com 24 orifícios. Foram adicionados 2 mL de caldo Sabouraud em cada orifício. Utilizou-se cultura 24 horas em caldo Sabouraud de *Candida albicans* (ATCC 18804).

A placa foi fechada e colocada em um ambiente lacrado com fita adesiva e armazenada em estufa à temperatura de 37°C por 24 horas. Passado esse tempo, os CPs foram retirados em ambiente estéril (câmara de fluxo laminar), colocados em tubo de ensaio contendo pérolas de vidro e 2 mL de solução salina estéril de cloreto de sódio a 0,9% e agitados com auxílio de Vortex (modelo AP 56 – PHOENIX).

Após esse procedimento, por intermédio da solução inicial foram obtidas diluições decimais de 10^{-1} a 10^{-5} , de acordo com o método proposto por Jorge (1997) [5].

Para o teste 1, alíquotas de 0,1 mL de cada diluição foram semeadas em placas de Petri contendo ágar Sabouraud. As placas foram levadas à estufa a 37°C por 24 horas. Após 24 horas de incubação, as placas foram removidas, e observou-se em qual diluição seria possível realizar a contagem, visto que o número de colônias deve situar-se entre 30 e 300 UFC/mL⁵.

Resultados

Após realizados os testes, os dados obtidos foram submetidos a transformação logarítmica e tratados estatisticamente pelo teste ANOVA a 5% e mostraram que, quando comparadas as duas ligas com o mesmo tipo de desgaste, o grau de aderência de microrganismos foi estatisticamente insignificativo ($p=0,905$). Já ao comparar a graduação final da lixa, os grupos lixados com 3 lixas gradativas da maior para a menor apresentaram diferença estatística significativa, aderindo menor quantidade de microrganismos ($p=0,000$).

O gráfico 1 mostra os valores médios obtidos com os testes experimentais.

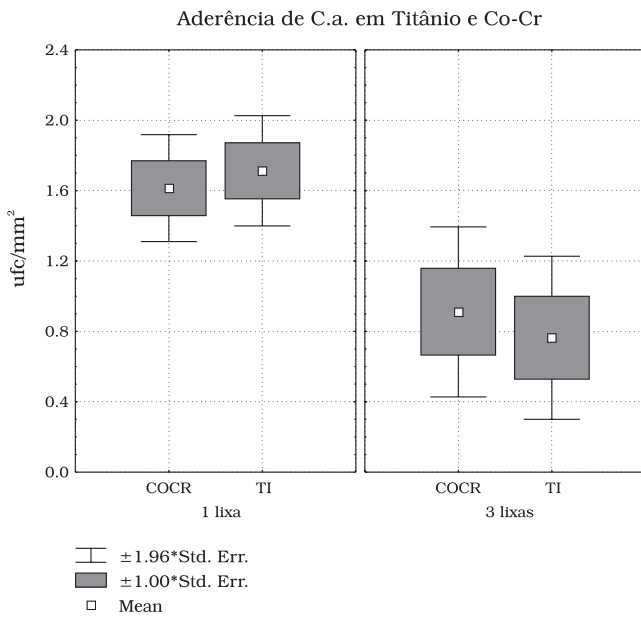


Gráfico 1 - Aderência de *Candida albicans* em titânio e cobalto-cromo

A tabela I expressa os valores da média e desvio-padrão dos resultados obtidos nos testes de aderência de *C. albicans*.

Tabela I - Média (\pm desvio-padrão) dos dados de *C. albicans* (valores em log UFC/mm²) obtidos para as ligas sob diferentes desgastes

Ligas	Desgaste		Linha (média \pm dp)
	Um	Três	
Ti	1,71 \pm 0,40	0,70 \pm 0,34	1,20 \pm 0,63
Co-Cr	1,68 \pm 0,32	0,93 \pm 0,58	1,31 \pm 0,59
Coluna (média \pm dp)	1,69 \pm 0,34	0,81 \pm 0,47	

n = 6

Discussão

Muito se estuda sobre a biocompatibilidade do titânio, em virtude principalmente de sua ampla utilização em implantes. Conforme levantamento bibliográfico pertinente a esse metal, observaram-se poucos dados quanto a sua relação com a aderência de *C. albicans*. Os resultados que encontramos com o uso da metodologia anteriormente descrita vão contra os obtidos por Sharma *et al.* (1981) [13] e Joshi e Eley (1988) [6], já que não houve diferença estatística significativa entre os dois metais utilizados.

Já a aspereza superficial promovida pelo método descrito produziu resultados que vão ao encontro dos obtidos por Aydin (1991) [1], Quiryneen (1994) [11], Capopreso (1999) [2], os quais

relataram que quanto melhor o polimento menor a aderência de microrganismos.

A semelhança dos resultados alcançados é a mesma do experimento realizado por Jang *et al.* (2001) [4]. Esses autores observaram que ligas de Co-Cr e titânio, após terem sido submetidas a polimentos, possuíam valores similares de tamanho de partícula superficial.

Quanto ao aspecto ótico, o titânio mostrou-se muito mais fácil de polir, pois apresentava superfície visualmente mais brilhante e lisa do que os corpos-de-prova de Co-Cr. Esse aspecto é semelhante ao observado no relato de Hirata *et al.* (2001) [3], em que, ao comparar metais diferentes, o metal menos duro obteve polimento muito melhor do que o outro.

Conclusão

Com base nos resultados obtidos, concluiu-se que não há diferença estatística quanto à aderência de *C. albicans* nas duas ligas estudadas quando comparadas entre si, mas o grau de polimento final influi diretamente na quantidade de unidades formadoras de colônias aderidas sobre esses metais.

Agradecimento

Este trabalho foi realizado com o auxílio da FUNDUNESP, processo 00851/03 - DFP.

Referências

1. Aydin AK. Evaluation of finishing and polishing techniques on surface roughness of chromium-cobalt castings. *J Prosthet Dent.* 1991;6(6):763-7.
2. Capopreso S. Bacterial adhesion for dental leagues: the paper of surface and composition. *Minerva Stomatol.* 1999;48(11):509-23.
3. Hirata T, Kanamura T, Takashima F, Maruyama T, Taira M, Takahashi J. Studies on polishing of Ti and AG-Pd-Cu-Au alloy with five dental abrasives. *J Oral Rehabilitation.* 2001;28(8):773-7.
4. Jang KS, Youn SJ, Kim YS. Comparison of cast ability and surface roughness of commercially pure titanium and cobalt-chromium denture frameworks. *J Prosthet Dent.* 2001;86(1):93-8.
5. Jorge AOC. *Microbiologia: atividades práticas.* São Paulo: Santos; 1997. 146 p.
6. Joshi RI, Eley A. The in vitro effect of a titanium implant on oral microflora: comparison with other metallic compounds. *J Oral Microbiol.* 1988;27:105-7.

7. Kohavi D, Klinger A, Steinberg D, Sela MN. Adsorption of salivary proteins onto prosthetic titanium components. *J Prosthet Dent*. 1995;74(5):531-4.
8. Leles CR, Melo M, Oliveira MMM. Avaliação clínica do efeito da prótese parcial removível sobre a condição dental e periodontal de desdentados parciais. *Robrac*. 1999;8(18):14-8.
9. Leonhardt A, Olsson J, Dahlén G. Bacterial colonization on titanium, hydroxyapatite, and amalgam surfaces in vivo. *J Dent Res*. 1995;74(9):1607-12.
10. Mihalow DM, Tinanoff N. The influence of removable partial dentures on the level of *Streptococcus mutans* in saliva. *J Prosthet Dent*. 1988;59(1):49-51.
11. Quirynen M. The clinical meaning of the surface roughness and the surface free energy of intra-oral hard substrata on the microbiology of the supra and subgingival plaque: results of in vitro and in vivo experiments. *J Dent*. 1994; 22 Suppl S13-S16.
12. Rimondi L, Faré S, Brambilla E, Felloni A, Consonni C, Brossa F et al. The effect of surface roughness on early in vivo plaque colonization on titanium. *J Periodontol*. 1997;68(6):556-62.
13. Sharma CP, Clark GCF, Williams DF. The adsorption of proteins on metal surfaces. *Engin in Med*. 1981;10:11-6.
14. Vanzeveren C, D'Hoore W, Bercy P. Influence of removable partial denture on periodontal indices and microbiological status. *J Oral Rehabilitation*. 2001;29(3):232-9.
15. Wolinsky LE, Camargo PM, Erard JC, Newman MG. A study of in vitro attachment of *Streptococcus sanguis* and *Actinomyces viscosus* to saliva-treated titanium. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1989;4(1):27-31.
16. Zlataric DK, Celebic A, Valentic-Peruzovic M. The effect of removable partial dentures on periodontal health of abutment and non-abutment teeth. *J Periodontol*. 2001;73(2):137-44.