

UNIVERSIDADE SANTO AMARO
Mestrado em Odontologia com Área de Concentração em
Implantodontia

Antonia Alice Lima de Souza

**AVALIAÇÃO DA ADESÃO DO BIOFILME DE STREPTOCOCCUS
GORDONII EM SUPERFÍCIES DE ZIRCÔNIA E PEEK, SUBMETIDOS
OU NÃO À CLOREXIDINA: ESTUDO IN VITRO.**

São Paulo
2025

Antonia Alice Lima de Souza

**AVALIAÇÃO DA ADESÃO DO BIOFILME DE STREPTOCOCCUS
GORDONII EM SUPERFÍCIES DE ZIRCÔNIA E PEEK, SUBMETIDOS
OU NÃO À CLOREXIDINA: ESTUDO IN VITRO.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* da Universidade Santo Amaro – UNISA, como requisito para obtenção do título de Mestre em Odontologia com área de concentração em Implantodontia.

Orientadora: Profa. Dra. Heloisa Fonseca Maranhão.

São Paulo

2025

S713a

Souza, Antonia Alice Lima de

Avaliação da adesão do biofilme de *Streptococcus gordonii* em superfícies de zircônia e PEEK, submetidos ou não à clorexidina: estudo in vitro. / Antonia Alice Lima de Souza. - São Paulo, 2025.

55 p. : il; color.

Dissertação (Mestrado em Odontologia com Área de Concentração em Implantodontia) – Universidade Santo Amaro, 2025.

Orientadora: Prof.^a Dra. Heloisa Fonseca Marão.

Coorientadora: Prof.^a Dra. Marcia Hiromi Tanaka.

Bibliografia incluída

1. Zircônia. 2. Poliéter éter cetona (PEEK). 3. *Streptococcus gordonii*. 4. Clorexidina. 5. Adesão de biofilme. I. Marão, Heloisa Fonseca. II. Tanaka, Marcia Hiromi. III. Universidade Santo Amaro. IV. Título.

CDD 617.643

Antonia Alice Lima de Souza

**AVALIAÇÃO DA ADESÃO DO BIOFILME DE STREPTOCOCCUS
GORDONII EM SUPERFÍCIES DE ZIRCÔNIA E PEEK, SUBMETIDOS
OU NÃO À CLOREXIDINA: ESTUDO IN VITRO.**

Dissertação apresentada à Universidade Santo Amaro – UNISA, como requisito para obtenção do título de Mestre pelo curso de pós-graduação do programa de Mestrado em Odontologia com área de concentração em Implantodontia, com linha de pesquisa em biomateriais em Implantodontia.

Orientadora: Profa. Dra. Heloisa Fonseca Marão.

São Paulo, 15 de dezembro de 2025

Banca Examinadora

Profa. Dra. Heloisa Fonseca Marão

Profa. Dra. Flavia Gonçalves

Prof. Dr. Sergio Eduardo Tricta Quaresma

CONCEITO FINAL _____

Dedico esta dissertação às minhas filhas, meu esposo e meus pais por todo apoio e amor. Aos meus professores, que dedicaram seu tempo no meu aperfeiçoamento. Aos amigos, que durante esse período, sempre me incentivaram.

AGRADECIMENTOS

À minha família, que é presente de Deus. A minhas amadas filhas, Mariana e Gabriela, pelo incentivo e apoio incondicional nessa jornada e em toda minha vida. Ao meu esposo pelo apoio. Aos meus pais, pela vida, pelo amor, pelos valores morais transmitidos desde muito cedo, quanto a importância dos estudos e o valor da honestidade. Aos meus irmãos, minhas sobrinhas e sobrinhos, para quem sou fonte de inspiração. A minha tia Francisca *in memoriam*. Aos meus amigos e amigas queridos, que me ensinam todos os dias, o valor da amizade.

À Profa. Dra. Heloisa Fonseca Marão, minha orientadora, pela dedicação, e conhecimento compartilhado. Por seus valiosos comentários e sugestões que enriqueceram meu trabalho. À Doutora Marcia Hiromi Tanaka, minha coorientadora, por todo apoio e incentivo, pelo conhecimento compartilhado na condução da fase laboratorial, importante para desenvolvimento desse trabalho. À Professora Marina Tieme Shio e aos técnicos Sr. Juscelino e Srta. Ligia por todo auxílio no laboratório. Aos meus colegas Jasiel e Eduarda pela contribuição inestimável no laboratório.

Aos profs: Dra. Yeon Jung Kim, Rogerio Nagai, Alexandre Miyahira que foram fonte de inspiração para ingresso no mestrado. Ao Prof. Pedro Feitosa que abriu as portas do curso de especialização em Implantodontia. Ao Prof. Wilson Roberto Sendyk e Profa. Dra. Débora Pallos, pelos conhecimentos transmitidos através de suas magníficas aulas. A Profa. Dra. Fabiana Martins que me escolheu para caminhar junto no cuidado aos seus pacientes especiais. A todos os meus professores do mestrado, que com suas experiências e conhecimentos me inspiraram e me ensinaram como mestres. Ao Prof. Dr. Wilson Roberto Sendyk, pela oportunidade de ser agraciada com a bolsa de estudos da CAPES e por sua coordenação impecável junto aos mestres doutores, Profa. Dra. Angelica Castro Pimentel Profa. Prof. Dr. Caio Vinicius Roman Torres, Dra. Debora Pallos, Dra. Fabiana Martins e Martins de Almeida, Profa. Dra. Flavia Gonçalves, Prof. Dr. Gustavo Antonio Correa Momesso, Dra. Heloisa Fonseca Marão, Luana de Campos, Profa. Dra. Marcia Hiromi Tanaka Prof. Dr. Rafael Vitti, Prof. Dr. Willian Cunha Brandt e Profa. Dra. Yeon Jung Kim,

Aos amigos do Mestrado das turmas 2023, 2024 e 2025 e a todos, que direta ou indiretamente, me incentivaram e me apoiaram nessa jornada.

A Deus por tudo na minha vida.

“Há um momento especial que acontece na vida de toda pessoa, um momento para o qual ela nasceu. Quando aproveitada essa oportunidade extraordinária, faz com que a pessoa cumpra sua missão, uma missão para a qual somente ela tem as qualificações necessárias.

Nesse momento, a pessoa encontra a grandeza. Esse é o nosso momento maravilhoso.”

Winston Churchill

RESUMO

A regeneração óssea guiada (ROG) constitui uma das principais técnicas para reconstrução de defeitos ósseos, e novos materiais têm sido investigados visando aumentar a previsibilidade e o sucesso clínico. Entre as barreiras não reabsorvíveis utilizadas em ROG, a zircônia e o PEEK podem sofrer exposição ao meio bucal, ficando suscetíveis à ação da saliva, à colonização bacteriana e à formação de biofilme. Diante da escassez de estudos que avaliem a interação dessas superfícies com microrganismos colonizadores iniciais, este estudo teve como objetivo analisar a adesão do biofilme de *Streptococcus gordonii* em corpos de prova de zircônia e PEEK, submetidos ou não à clorexidina. Foram confeccionados 36 corpos de prova por tecnologia CAD-CAM, devidamente polidos e esterilizados, sendo 18 de zircônia (Z) e 18 de PEEK (P). Cada material foi dividido em subgrupos controle (Z e P), tratados com soro fisiológico 0,9% estéril, e subgrupos experimentais (ZC e PC), tratados com clorexidina 0,12%, totalizando 9 corpos de prova por subgrupo. Para formação do biofilme, os espécimes foram inoculados com 200 µL de suspensão de *S. gordonii* (1×10^6 células/mL) e incubados a 37°C e 5% de CO₂ por 24 horas. Após lavagem conforme o protocolo de cada subgrupo, os biofilmes aderidos foram removidos, plaqueados em meio específico e incubados por 24 horas a 37°C para posterior contagem de colônias. Os dados foram analisados pelos testes de Shapiro–Wilk e Mann–Whitney com nível de significância de 5%. Os resultados indicaram que o grupo P apresentou maior UFC/mL em comparação ao grupo Z ($p = 0,0315$). A aplicação de clorexidina reduziu a adesão bacteriana em ambos os materiais e não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ZC e PC ($p = 0,1238$). Tanto zircônia quanto PEEK apresentaram maior UFC/mL nos grupos controle em relação aos grupos tratados ($p = 0,0001$). Conclui-se que o PEEK apresentou maior adesão de *S. gordonii* em comparação à zircônia, tanto na condição controle quanto após o tratamento com clorexidina.

Palavras-chave: Zircônia, Polímero, Regeneração óssea, Reabsorção óssea, *Streptococcus gordonii*.

ABSTRACT

Guided bone regeneration (GBR) is one of the main techniques for reconstructing bone defects, and new materials have been investigated to increase predictability and clinical success. Among the non-resorbable barriers used in GBR, zirconia and PEEK can be exposed to the oral environment, becoming susceptible to saliva, bacterial colonization, and biofilm formation. Given the scarcity of studies evaluating the interaction of these surfaces with initial colonizing microorganisms, this study aimed to analyze the adhesion of *Streptococcus gordonii* biofilm to zirconia and PEEK specimens, subjected or not to chlorhexidine. Thirty-six specimens were fabricated using CAD-CAM technology, duly polished and sterilized, 18 of zirconia (Z) and 18 of PEEK (P). Each material was divided into control subgroups (Z and P), treated with sterile 0.9% saline solution, and experimental subgroups (ZC and PC), treated with 0.12% chlorhexidine, totaling 9 specimens per subgroup. For biofilm formation, specimens were inoculated with 200 μ L of *S. gordonii* suspension (1×10^6 cells/mL) and incubated at 37°C and 5% CO₂ for 24 hours. After washing according to the protocol for each subgroup, the adhered biofilms were removed, plated on a specific medium, and incubated for 24 hours at 37°C for subsequent colony counting. Data were analyzed using the Shapiro-Wilk and Mann-Whitney tests with a significance level of 5%. The results indicated that group P presented a higher CFU/mL compared to group Z ($p = 0.0315$). The application of chlorhexidine reduced bacterial adhesion in both materials, and there was no statistically significant difference between the ZC and PC groups ($p = 0.1238$). Both zirconia and PEEK showed higher CFU/mL in the control groups compared to the treated groups ($p = 0.0001$). It is concluded that PEEK showed greater adhesion of *S. gordonii* compared to zirconia, both in the control condition and after treatment with chlorhexidine.

Keywords: Zirconia, PEEK, Bone regeneration, Barriers, Bone loss, *Streptococcus gordonii*.

LISTA DE ABREVIATURAS

BHI – Brain Heart Infusion

CAD/CAM – Computer Aided Design/Computer Aided Manufacturing

CaO – Óxido de Cálcio

Cél/mL – Células/mililitro

CeO – Óxido de Cério

CHX – Clorexidina

CO₂ – Dióxido de Carbono

DNA – Ácido desoxirribonucleico

d-PTFE – Politetrafluoretileno de alta densidade

EPS – Substâncias poliméricas extracelulares

e-PTFE – Politetrafluoroetileno expandido

MgO – Óxido de Magnésio

p – Valor de significância estatística

PEEK – Poliéter-Éter-Cetona

PSZ – Zircônia parcialmente estabilizada

PTFE – Politetrafluoroetileno

ROG – Regeneração Óssea Guiada

SF – Soro fisiológico

Ti + d-PTFE – Politetrafluoretileno de alta densidade reforçado com titânio

Ti + e-PTFE – Politetrafluoretileno expandido reforçado com titânio

UFC/mL – Unidade formadora de colônia por mililitro

Y₂O₃ – Óxido de ítrio

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Ciclo de crescimento do biofilme	18
Figura 2 - Zircon Fit Plus -Talmax	24
Figura 3 - Overpeek Celmat	25
Figura 4 - Corpos de prova customizados.....	25
Figura 5 - Kit de Acabamento e Polimento em Cerâmica, Dissilicato e Zircônia PM - Prof. Victor Nastri 2.0 - Dhpro	26
Figura 6 - Fluxograma dos Grupos PEEK e Zircônia.	27
Figura 7– Periogard - Clorexidina 0,12%.	27
Figura 8 - Fluxo Laminar.	28
Figura 9 – Alça de inoculação plástica	29
Figura 10 - Placa de Petri Repicada (A) e Jarra de anaerobiose (B).	30
Figura 11 - Tubo Falcon com inóculo 107 cel/ml e tubo Falcon com soro fisiológico(A) e Tubo Falcon com inóculo (B).....	31
Figura 12 - Tubo Falcon no agitador de tubos (A)e a cubeta para espectrofotômetro (B)	32
Figura 13- Espectrofotômetro.....	33
Figura 14 - Placas de 24 poços após a incubação	34
Figura 15 – Lavagem do corpo de prova com soro fisiológico estéril 0,9%.....	35
Figura 16– Preparo dos microtubos	36
Figura 17 – Diluição seriada.....	37
Figura 18 – Diluição seriada sob fluxo laminar (A) e microtubos em estantes(B)	37
Figura 19 – Gotejamento de 10µL sobre a placa de Petri.	38
Figura 20 – Inclinação das placas de Petri.....	39
Figura 21 – Placa de Petri com crescimento bacteriano em formato de gota invertida (A) e Imagem aumentada da gota invertida (B).....	39
Figura 22 – Placa de Petri com contagem de UFC/mL em grupo PEEK (A) e Zircônia(B).....	40

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Unidade formadora de colônia UFC/ml em cada grupo.....42

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1 ROG	16
2.2 ROG e adesão de biofilme	17
2.3 <i>Streptococcus gordonii</i>	18
2.4 Zircônia	19
2.5 PEEK	20
2.6 Clorexidina	21
3 OBJETIVOS	23
3.1 Objetivo geral	23
3.2 Objetivos específicos	23
4 METODOLOGIA	24
4.1 Delineamento do estudo	24
4.2 Biofilme	28
4.2.1 Fase Laboratorial	28
4.2.1.1 Fase 1 - Repicagem	28
4.2.1.2 Fase 2 - Espectrofotometria e Inoculação	30
4.2.1.3 Fase 3 – Lavagem dos corpos de prova	34
4.2.1.4 Fase 4 – Diluição seriada	36
4.2.1.5 Fase 5 – Plaqueamento	38
4.2.1.6 Fase 6 – Contagem das Unidades Formadoras de Colônia	40
4.3 Análise dos dados	40
5 RESULTADOS	42
6 DISCUSSÃO	43
7 CONCLUSÃO	46
REFERÊNCIAS	47
ANEXO 1 - MÉDIA DE UFC/ML DO STREPTOCOCCUS GORDONII POR GRUPO.	53

1 INTRODUÇÃO

A perda óssea ocorrida após extrações dentárias, traumas dento alveolares, atrofia óssea e doença periodontal tem se tornado um fator limitante para a reabilitação oral com implantes osseointegrados. A perda dentária promove uma redução progressiva do volume ósseo alveolar, relacionada à ausência de estímulo mecânico e das forças mastigatórias, resultando em alterações dimensionais do rebordo alveolar ⁽¹⁾. Dessa forma, a perda óssea em volume, largura e altura representa um desafio clínico relevante para o cirurgião-dentista no planejamento e na execução de tratamentos reabilitadores previsíveis ^(1-3,7).

Nesse contexto, a regeneração óssea guiada (ROG) destaca-se como uma técnica cirúrgica amplamente documentada, cujo objetivo principal é a reparação do tecido ósseo em áreas com perda de volume, possibilitando a formação de um leito livre de células não osteogênicas e adequado para a instalação futura de implantes ⁽³⁻⁵⁾. A ROG baseia-se no uso de membranas oclusivas com função de barreira física, que atuam impedindo mecanicamente a migração precoce de células não osteogênicas provenientes dos tecidos moles adjacentes para o interior do defeito ósseo, criando condições biológicas favoráveis para a migração e proliferação de células osteogênicas oriundas do osso em reparação ^(2-5,9). De acordo com a literatura, a ROG é considerada uma das técnicas mais previsíveis e com elevados índices de sucesso para a reconstrução óssea alveolar ^(3-7,9).

Diversos fatores são considerados determinantes para o sucesso da regeneração óssea guiada, incluindo a presença de uma área receptora com adequado suprimento sanguíneo e rica em células progenitoras, a seleção apropriada dos biomateriais utilizados — como membranas reabsorvíveis ou não reabsorvíveis, barreiras biocompatíveis e enxertos ósseos —, bem como o correto manejo dos tecidos moles e a execução criteriosa da técnica cirúrgica ⁽²⁻⁷⁾. Assim, a escolha do tipo de membrana a ser empregada na ROG requer conhecimento aprofundado de suas propriedades estruturais, de seu comportamento biológico e de suas indicações clínicas específicas ^(3,6,7).

Uma característica relevante das membranas utilizadas na ROG refere-se ao seu processo de degradação, permitindo sua classificação em absorvíveis e não absorvíveis⁽³⁾. As primeiras membranas empregadas nos procedimentos

regenerativos eram predominantemente não absorvíveis, exigindo um segundo tempo cirúrgico para sua remoção ⁽⁸⁾. Posteriormente, foram desenvolvidas as membranas absorvíveis, com o objetivo de reduzir a morbidade associada ao procedimento ^(3,6). Dentre as membranas não absorvíveis, aquelas confeccionadas em politetrafluoretileno expandido (e-PTFE) foram amplamente utilizadas em razão de sua comprovada biocompatibilidade, estabilidade físico-química e capacidade de atuar como barreira eficaz à migração de células não osteogênicas, além de apresentarem histórico de uso seguro na medicina ^(7,8,52,53). Entretanto, limitações relacionadas à manutenção do espaço regenerativo impulsionaram o desenvolvimento de alternativas com maior rigidez estrutural, como as membranas reforçadas com titânio (Ti + e-PTFE), as membranas de politetrafluoretileno de alta densidade (d-PTFE) e as malhas de titânio, especialmente indicadas para defeitos ósseos mais extensos ⁽⁸⁾.

Com os avanços tecnológicos, dispositivos não absorvíveis personalizados por meio de sistemas CAD/CAM (Computer Aided Design/Computer Aided Manufacturing), confeccionados em materiais como titânio, zircônia e poliéter-éter-cetona (PEEK), passaram a ser objeto de investigações científicas no contexto da regeneração óssea guiada ^(4,7,9-11). Essas barreiras tridimensionalmente planejadas permitem melhor adaptação à anatomia do defeito ósseo, favorecem a preservação de estruturas anatômicas adjacentes previamente identificadas durante o planejamento digital e proporcionam maior estabilidade e manutenção do espaço regenerativo. Além disso, o planejamento cirúrgico prévio contribui para maior previsibilidade intraoperatória e potencial redução do tempo cirúrgico ^(4,6,7,11,42). Dessa forma, a busca por estratégias mais individualizadas e previsíveis tem estimulado pesquisas envolvendo o uso de barreiras personalizadas em zircônia e PEEK ^(4,9-16).

A zircônia é um material cerâmico biocompatível amplamente descrito na literatura odontológica, em razão de suas propriedades mecânicas, estabilidade química e características estéticas, sendo utilizada em diferentes aplicações clínicas, como coroas, próteses fixas implantossuportadas e implantes dentários ^(12-16,18). Em contextos mais recentes, o material também tem sido descrito como alternativa para a confecção de barreiras não reabsorvíveis em procedimentos de regeneração óssea guiada, especialmente quando associado a fluxos digitais, embora as evidências clínicas disponíveis sobre essa indicação ainda sejam limitadas ⁽⁴⁾.

Na Odontologia, o poliéter-éter-cetona (PEEK) tem sido descrito na literatura para diferentes aplicações clínicas, incluindo coroas, pilares, núcleos, estruturas para próteses parciais removíveis e implantes dentários, em razão de sua biocompatibilidade, estabilidade química e comportamento biomecânico favorável (10,24–28). Além dessas aplicações, o PEEK também tem sido descrito como material para a confecção de barreiras não reabsorvíveis em procedimentos de regeneração óssea guiada, particularmente quando inserido em fluxos digitais, embora as evidências clínicas disponíveis sobre seu uso nessa indicação ainda sejam limitadas (9,10,24–28).

Apesar da previsibilidade da regeneração óssea guiada quando seus princípios biológicos e técnicos são respeitados, a técnica não está isenta de complicações clínicas, sendo a exposição precoce de membranas e barreiras uma das intercorrências mais frequentemente relatadas, com potencial impacto negativo sobre o processo regenerativo. As membranas e barreiras utilizadas nesses procedimentos não estão livres de exposição ao meio bucal e, quando expostas, sofrem a ação da saliva, de uma ampla variedade de microrganismos e da formação de biofilme, fatores que podem comprometer o sucesso da regeneração óssea (4,10,27–29,36,37,51).

O microbioma oral humano constitui um ecossistema complexo composto por centenas de espécies microbianas, incluindo bactérias, vírus, fungos e protozoários. Dentre esses microrganismos, *Streptococcus gordonii* destaca-se como um dos principais colonizadores iniciais do biofilme oral, desempenhando papel relevante na adesão bacteriana às superfícies e na organização inicial do biofilme em condições de saúde (30–34,54,55). Entretanto, em situações de desequilíbrio microbiológico, esse microrganismo pode contribuir para a formação de biofilmes mais complexos, favorecendo a colonização por espécies patogênicas e a intensificação de respostas inflamatórias do hospedeiro, com potencial impacto sobre os tecidos peri-implantares (34,36,37,56–58).

Considerando que a exposição de barreiras utilizadas em procedimentos de regeneração óssea guiada representa uma das principais intercorrências clínicas associadas à técnica, compreender o comportamento de microrganismos colonizadores iniciais, como *Streptococcus gordonii*, sobre superfícies de biomateriais utilizados como barreiras — especialmente zircônia e PEEK —, bem como avaliar o

efeito de agentes antimicrobianos amplamente utilizados na prática clínica, como a clorexidina, torna-se relevante para o aprimoramento dos protocolos clínicos e para a redução das taxas de falhas em procedimentos reconstitutivos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 ROG

A Regeneração Óssea Guiada (ROG) é um procedimento cirúrgico que envolve a enxertia óssea com a finalidade de promover a reparação do tecido ósseo em áreas que apresentam diferentes níveis de perda óssea. Essa técnica baseia-se no emprego de membranas de barreira, reabsorvíveis ou não reabsorvíveis, cuja função principal é impedir a invasão de tecidos moles não osteogênicos na área do defeito, permitindo o direcionamento seletivo do crescimento de novo tecido ósseo (3,4).

A ROG envolve conceitos e mecanismos biológicos fundamentais para o processo de regeneração óssea, como a osteocondução, a osteoindução e a osteogênese (5), estando diretamente relacionada a múltiplos fatores. Entre esses fatores, destacam-se a adequada seleção dos biomateriais, incluindo membranas, barreiras e enxertos, bem como a correta execução das técnicas cirúrgicas e o planejamento do procedimento, considerando as características do defeito ósseo e as condições individuais do paciente (3,4).

O princípio fundamental da ROG está associado à aplicação de uma membrana que atue como elemento essencial para a regeneração óssea. Nesse contexto, a indicação da ROG é determinada tanto pelo tipo quanto pela dimensão das paredes ósseas remanescentes, tornando-se fundamental o conhecimento das propriedades das membranas, de seu comportamento nos tecidos e dos critérios que orientam sua utilização clínica (7).

Dentre esses critérios, destacam-se a biocompatibilidade, a capacidade de favorecer o crescimento celular e a cicatrização sem causar danos aos tecidos adjacentes, a manutenção do espaço regenerativo para evitar o colapamento por forças externas, a oclusividade celular — impedindo a migração de células indesejáveis e bactérias — e a integridade estrutural, relacionada ao processo de degradação das membranas (3,4,6–8). Apesar da previsibilidade da regeneração óssea guiada quando seus princípios são respeitados, a exposição de membranas ou

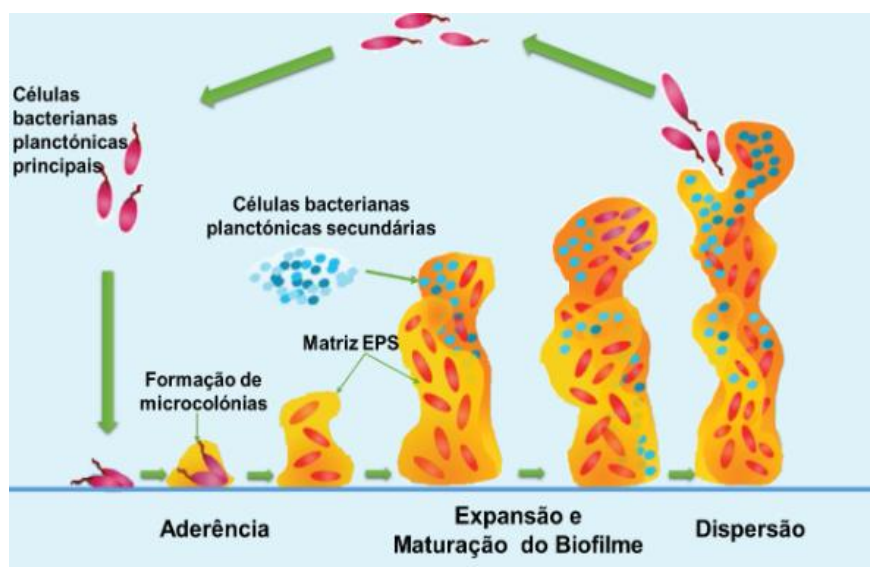
barreiras permanece como uma intercorrência clínica relevante, associada ao risco de colonização bacteriana e comprometimento dos resultados.

2.2 ROG e adesão de biofilme

Para que a regeneração óssea ocorra de forma previsível, é essencial que a região envolvida esteja protegida tanto da migração de células não osteogênicas quanto da colonização bacteriana. Quando ocorre a exposição da barreira ou da membrana, microrganismos entram em contato com proteínas, açúcares e hemoderivados presentes no meio, favorecendo a formação de um material condicionador sobre a superfície exposta. Na ausência de controle, essas bactérias aderem, multiplicam-se e passam a formar microcolônias ⁽³⁰⁻³⁴⁾.

Essas microcolônias podem se organizar e dar origem a um biofilme, definido como uma comunidade estruturada de microrganismos envoltos por uma matriz de substâncias poliméricas extracelulares (EPS) ^(29,33-36). À medida que o biofilme se desenvolve, ocorre seu crescimento e maturação, com alterações na expressão genética e no comportamento das bactérias em seu interior. De forma geral, o processo de formação do biofilme é cíclico, iniciando-se com a adesão de bactérias planctônicas à superfície, seguida pela transição para um estado sésil, no qual há redução da taxa de crescimento, troca de material genético e aumento da resistência e da capacidade de sobrevivência. A compreensão desse ciclo é fundamental para a prevenção de infecções associadas a biomateriais e procedimentos cirúrgicos, conforme ilustrado na Figura 1 ⁽³⁰⁻³⁴⁾.

Figura 1 - Ciclo de crescimento do biofilme



Fonte: foodsafetybrazil.org

2.3 *Streptococcus gordonii*

Streptococcus gordonii é o nome dado a um microrganismo comensal que é comumente encontrado na pele, na cavidade oral e no intestino, pertencente ao gênero *Streptococcus* e à família *Streptococcaceae*. A denominação *Streptococcus* tem origem no grego, sendo derivada da palavra *strepto*, que significa cadeia, e da palavra *kokkos*, que se refere a sementes, grãos ou bagas, que tem relação direta a sua morfologia característica. Dessa forma, esses microrganismos apresentam-se sob a forma esférica ou ovalada, dispostos predominantemente em cadeias ^(29,30,31,32).

No ano de 1874, o cirurgião austríaco Theodor Billroth, em sua obra intitulada “*Untersuchungen über die Vegetationsformen von Coccobacteria septica*”, descreveu os *Streptococcus* como “pequenos organismos encontrados isolados ou dispostos em pares, às vezes em cadeias”, e seus estudos e observações contribuíram de maneira muito significativa para a caracterização morfológica desse grupo bacteriano ^(29,30,31,32).

Os *Streptococcus gordonii* são cocos Gran positivos, em sua maioria, anaeróbios facultativos. É um microrganismo que pode penetrar tanto nos canais radiculares como na corrente sanguínea, podendo interagir com diversas células do sistema do hospedeiro. Na cavidade oral, age como um colonizador inicial, aderindo-se na superfície ou estruturas dentais, agregando-se a outras bactérias e

sobrevivendo no meio, através da formação de biofilmes. Essa capacidade é mediada por substâncias presentes na parede celular desse microrganismo que leva a uma maior agregação plaquetária ^(29,30). Considerado um microrganismo oportunista, o *S. gordonii* pode se envolver em infecções da cavidade oral, se dispensar através dos vasos sanguíneos e estar envolvido em infecções como artrite séptica, peritonite bacteriana, pneumonias e relatos de endocardites infecciosas. As Endocardites infecciosas causada por *S. gordonii* apresentam-se caracteristicamente como uma infecção subaguda, que se não tratadas podem evoluir com destruição das válvulas cardíacas e formação de êmbolos. Nesses casos o tratamento médico de escolha, envolve uso de antibióticos, dentre eles a penicilina, associado ou não a tratamento cirúrgico ^(34,35,36,37).

Na Odontologia, tem sido observado que os *Streptococcus gordonii*, são frequentemente encontrados em placas subgengivais e submucosas em casos de peri-implantite. Como esse microrganismo participa da colonização inicial do biofilme, torna-se necessária uma melhor compreensão de seu papel nesses processos.

2.4 Zircônia

A zircônia é um material cerâmico polimórfico que ocorre em três formas cristalinas distintas, de acordo com sua estabilidade térmica: monoclinica, estável à temperatura ambiente até aproximadamente 1170 °C; tetragonal, estável entre 1170 °C e 2370 °C; e cúbica, estável em temperaturas superiores a 2370 °C ⁽¹⁸⁾. Com o objetivo de estabilizar as fases tetragonal e cúbica à temperatura ambiente, diferentes óxidos estabilizantes podem ser incorporados à zircônia, como óxido de magnésio (MgO), óxido de ítrio (Y₂O₃), óxido de cálcio (CaO) e óxido de cério (CeO₂), resultando na chamada zircônia parcialmente estabilizada (PSZ). Esse processo de estabilização confere ao material maior resistência à fratura e melhor desempenho mecânico em condições clínicas ^(18,19).

Em função dessas características estruturais, a zircônia apresenta elevada resistência mecânica, estabilidade química e comportamento biológico favorável, sendo considerada um biomaterial biocompatível, não citotóxico, insolúvel em água e com baixa suscetibilidade à corrosão ^(4,19,21). Estudos demonstram que a zircônia

apresenta menor tendência à adesão bacteriana quando comparada a outras superfícies implantáveis, bem como adequada resposta dos tecidos peri-implantares, fatores que contribuem para sua aplicação em implantodontia (21,44–49). Nesse contexto, evidências indicam que implantes confeccionados em zircônia apresentam capacidade de osseointegração comparável à dos implantes de titânio (18).

Além das propriedades mecânicas e biológicas, a zircônia apresenta características estéticas favoráveis, como coloração clara semelhante à estrutura dental e adequada translucidez, o que contribui para sua ampla aplicação na Odontologia restauradora e protética, incluindo restaurações indiretas, coroas unitárias, próteses fixas implantossuportadas e próteses do tipo protocolo (12,14,15,20,23).

Em procedimentos de regeneração óssea guiada, a zircônia é considerada como material promissor para a confecção de barreiras não reabsorvíveis, especialmente quando associada à tecnologia CAD/CAM (4). Além de sua biocompatibilidade, essas barreiras atuam como barreiras físicas, impedindo a migração de células não osteogênicas para o interior do defeito ósseo (3,6,7). A associação com a tecnologia CAD/CAM permite a visualização prévia do defeito ósseo e das estruturas anatômicas adjacentes, possibilitando a personalização e adaptação da barreira à morfologia do defeito e auxiliando na proteção de estruturas anatômicas importantes durante o procedimento cirúrgico (4,7).

Entretanto, apesar de alguns resultados promissores, o uso da zircônia como barreira em ROG ainda é limitado por fatores como o alto custo de produção, a necessidade de domínio de fluxos digitais e cirúrgicos específicos, bem como pela escassez de evidências científicas robustas que comprovem sua eficácia e segurança em longo prazo quando comparada às técnicas convencionais já consolidadas (4).

2.5 PEEK

O PEEK é um polímero que contém dois anéis aromáticos e ligados linearmente a dois outros grupos, um éter e outro cetona com fórmula química (C₁₉H₁₂O₃). É um polímero termoplástico, policíclico, aromático, semicristalino, que apresenta estabilidade em altas temperaturas, sendo sua temperatura de fusão em torno de 334°C, alta resistência a produtos químicos como ácidos, bases e solventes orgânicos

e boa resistência a fadiga e abrasão. Como material bioinerte, o PEEK não apresenta atividade mutagênica ou citotóxica, não induz reações adversas e não libera componentes nocivos aos tecidos humanos ⁽²⁵⁻²⁸⁾. No entanto, em razão de sua natureza bioinerte, da baixa energia superficial e da topografia superficial relativamente lisa, a osseointegração do PEEK pode ser limitada, favorecendo a formação de encapsulamento fibroso e possíveis falhas na ancoragem biológica ^(24,25,28). Diante dessas limitações, diversos estudos têm direcionado esforços para a modificação das superfícies do PEEK, com o objetivo de melhorar suas propriedades osteocondutoras e favorecer a osseointegração, bem como induzir respostas osteogênicas mais favoráveis ^(9,26,38).

O PEEK vem sendo utilizado, ao longo dos anos, com resultados clínicos favoráveis em pilares sobre implantes, coroas implantossuportadas, bem como em próteses fixas e removíveis ^(24,25,28). Introduzido como material implantável no final da década de 1990, o PEEK passou a ser incorporado progressivamente à Odontologia, especialmente com o advento dos sistemas de CAD/CAM, que ampliaram suas possibilidades de aplicação clínica ^(11,25,28).

Nesse contexto, o PEEK tem sido uma alternativa para a confecção de barreiras customizadas em procedimentos de regeneração óssea guiada (ROG), considerando suas propriedades mecânicas, estabilidade dimensional e possibilidade de personalização por meio de fluxos digitais ⁽⁹⁾. Entretanto, de forma semelhante ao observado para outros biomateriais utilizados como barreiras não reabsorvíveis, o uso do PEEK em ROG ainda apresenta limitações, relacionadas principalmente ao alto custo de produção, à necessidade de domínio de fluxos digitais e cirúrgicos específicos, bem como à escassez de evidências científicas robustas que confirmem sua eficácia clínica em longo prazo, o que demanda a realização de estudos clínicos adicionais ^(6,7,9).

2.6 Clorexidina

A clorexidina é uma biguanida catiônica ou bisbiguanidas, desenvolvida por volta de 1940 no Reino Unido, inicialmente utilizada como antisséptico para uso geral. Em 1957 passou a ser usada como antisséptico de pele e posteriormente em cirurgias.

^(40,44) Sua atividade antiplaca foi descoberta na década de 1970 e em 1976 já era utilizado como enxaguante bucal. Antisséptico e desinfetante catiônico, tem atividade antimicrobiana de amplo espectro eficaz contra bactérias Gram-positivas e Gram negativas, fungos, e alguns vírus. Tem ação bactericida, produzindo a morte do microrganismo, ou bacteriostática, inibindo seu crescimento. Seu mecanismo de ação ocorre por interação eletrostática entre a molécula de clorexidina (carregada positivamente) com parede celular do microrganismo (carregada negativamente). Por difusão passiva a clorexidina penetra através da parede celular atraindo-se pela membrana citoplasmática da célula, comprometendo sua integridade e por ruptura ocorre a precipitação do citoplasma, com efluxo de moléculas de componentes citoplasmáticos com levando a morte da bactéria.⁽⁴⁰⁻⁴⁴⁾ Pode permanecer na cavidade oral por até 12 horas o que pode favorecer no controle do biofilme.

A clorexidina é reconhecida como importante agente no controle da placa bacteriana. É utilizada em concentrações de 0,12% a 2,0% como enxaguantes bucais, géis, sprays e soluções, nas diferentes áreas da odontologia, com protocolos de aplicação de acordo com a necessidade de cada área.^(40,42,43) Apesar de sua ação antimicrobiana, a presença de efeitos colaterais ou adversos como alterações no paladar, manchas dentais e irritação mucosa, pode influenciar na adesão pelo paciente e indicação pelo profissional. O que nos leva a pensar que pesquisas futuras devem ser realizadas no sentido de minimizar esses efeitos ou do estabelecimento de protocolos validados para uso com segurança ^(40,41,42,43).

Diante da relevância da formação de biofilme sobre biomateriais utilizados em procedimentos de regeneração óssea guiada, torna-se pertinente avaliar o comportamento de microrganismos colonizadores iniciais, como o *Streptococcus gordonii*, sobre diferentes superfícies, bem como o efeito de agentes antimicrobianos comumente utilizados na prática odontológica.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O objetivo do trabalho foi avaliar e comparar a adesão do biofilme de *Streptococcus gordonii* em superfícies de zircônia e PEEK, submetidas ou não ao tratamento com clorexidina.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar a adesão do biofilme de *Streptococcus gordonii* em superfícies de zircônia e PEEK;
- Comparar a adesão bacteriana entre os materiais zircônia e PEEK na condição controle, sem tratamento com clorexidina;
- Analisar o efeito do tratamento com clorexidina 0,12% na adesão do biofilme de *Streptococcus gordonii* sobre superfícies de zircônia e PEEK.

4 METODOLOGIA

4.1 Delineamento do estudo

Esse estudo *in vitro* foi realizado no Laboratório de Biomateriais da Faculdade de Odontologia da Universidade Santo Amaro - UNISA, (São Paulo, São Paulo - Brasil).

Para a realização da pesquisa, foram utilizados corpos de prova confeccionados separadamente em zircônia e em PEEK. Os corpos de prova em zircônia foram produzidos a partir de zircônia tetragonal estabilizada com ítria (Y-TZP), da linha Zircon Fit Plus, da marca Talmax (Figura 2). Os corpos de prova em PEEK foram confeccionados a partir de um polímero puro, sem incorporação de outros componentes ou pigmentos, pertencente à linha Overpeek, da marca Celmat (Figura 3).

Figura 2 - Zircon Fit Plus -Talmax



Fonte: Acervo do autor (2025)

Figura 3 - Overpeek Celmat



Fonte: Dental Paulista (2025)

Os corpos de prova foram previamente customizados em CAD/CAM nas medidas de 6mm de diâmetro e 3mm de espessura (Figura 4).

Figura 4 - Corpos de prova customizados.



Fonte: Acervo do autor (2025)

Posteriormente, os corpos de prova receberam o polimento com pontas montadas, para peça de mão, do Kit de Acabamento e Polimento em Cerâmica, Dissilicato e Zircônia – PM 2,0 da marca Dhpro (Figura 5). Foram lavados em água

corrente e esterilizados em autoclave horizontal, de capacidade 21 litros, modelo Vitale, da marca Cristófoli.

Figura 5 - Kit de Acabamento e Polimento em Cerâmica, Dissilicato e Zircônia PM - Prof. Victor Nastri 2.0 - Dhpro

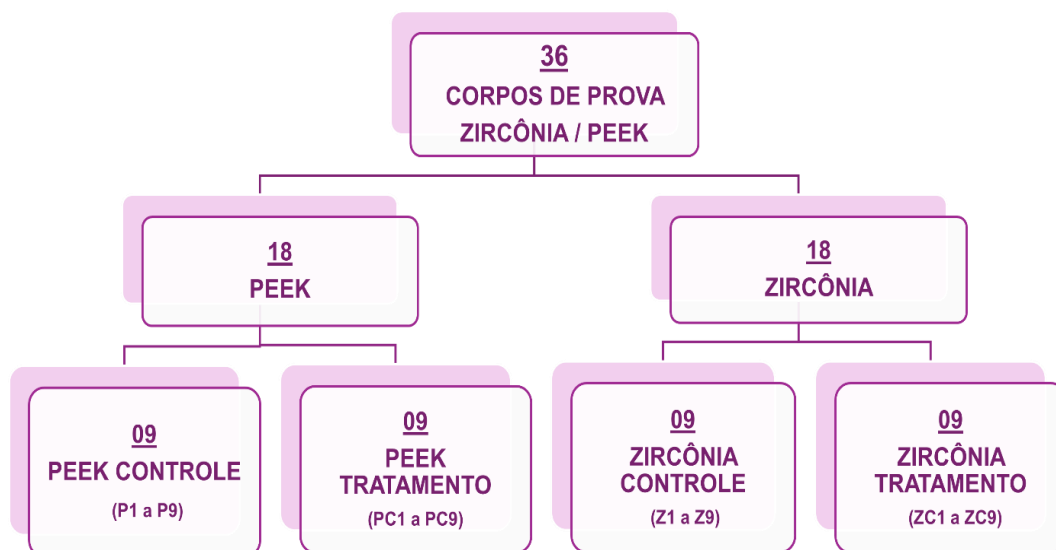


Fonte: Dhpro

Foram utilizados 36 corpos de prova, sendo 18 confeccionados em zircônia e 18 em PEEK, conforme apresentado no Fluxograma dos Grupos PEEK e Zircônia (Figura 6). Para cada grupo de Zircônia e PEEK, foram criados os subgrupos controle e tratamento, cada subgrupo com 09 corpos de prova.

Para o subgrupo controle Zircônia (Z) e PEEK (P), foi utilizado soro fisiológico estéril 0,9%, preparado em ambiente de fluxo laminar e posteriormente esterilizado em autoclave vertical AV 50, da marca Phoenix Equipamentos Científicos. Para o subgrupo tratamento Zircônia (ZC) e PEEK (PC), foi utilizado clorexidina 0,12%, solução sem álcool, com nome comercial Periogard, da marca Colgate (Figura 7).

Figura 6 - Fluxograma dos Grupos PEEK e Zircônia.



Fonte: Acervo do autor (2025)

Figura 7– Periogard - Clorexidina 0,12%.



Fonte: Acervo do autor (2025)

4.2 Biofilme

Para a formação do biofilme *S. gordonii*, foi utilizado a cepa padrão *American Type Culture Collection* (ATCC) 10558, amplamente utilizada em pesquisas científicas.

4.2.1 Fase Laboratorial

4.2.1.1 Fase 1 - Repicagem

A repicagem do microrganismo *Streptococcus gordonii* foi realizada em capela de fluxo laminar horizontal, equipamento da marca AmbiKontrol (Figura 8), a partir de colônias previamente cultivadas em placas de Petri, contendo ágar Brain Heart Infusion (BHI).

Figura 8 - Fluxo Laminar.

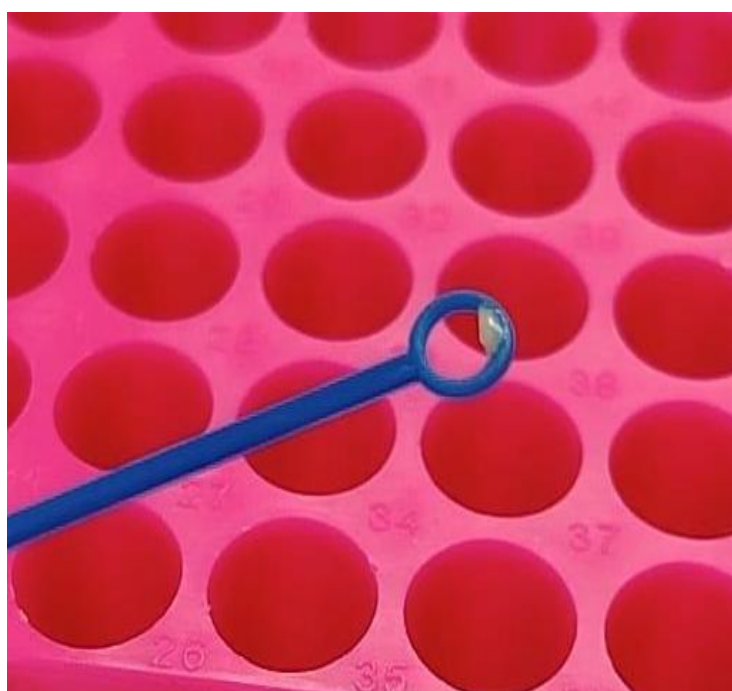


Fonte: Acervo do autor (2025)

A coleta do inóculo bacteriano foi realizada por meio de raspagem superficial das colônias bacterianas, utilizando-se alça de inoculação plástica, estéril e descartável.

Durante todo o procedimento, houve o cuidado de evitar que houvesse a perfuração do meio de cultura, com o objetivo de garantir a adequada carga da alça com biomassa bacteriana (Figura 9).

Figura 9 – Alça de inoculação plástica



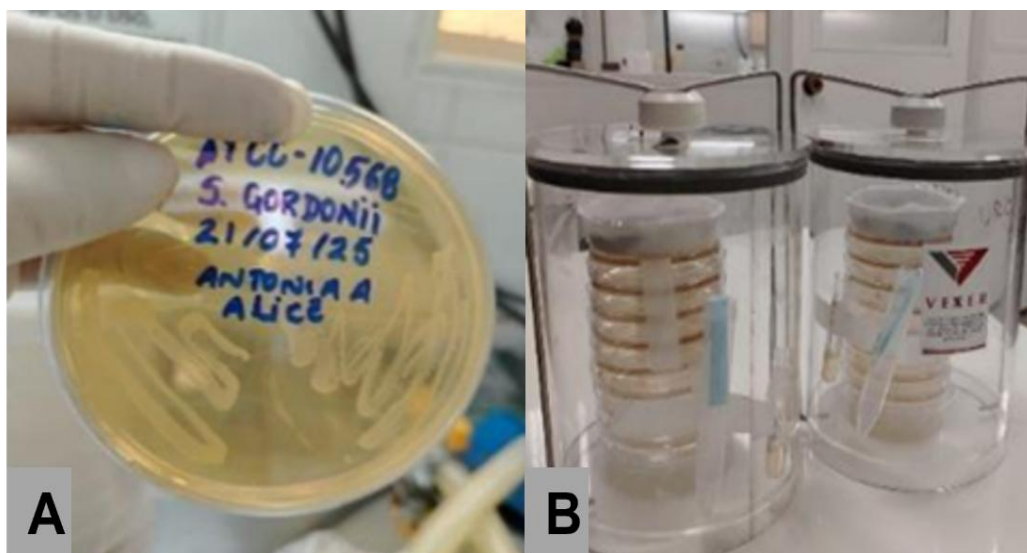
Fonte: Acervo do autor (2025)

Em seguida, realizou-se a semeadura por estriamento em esgotamento, com a execução de estrias sucessivas em três setores da placa, por meio de movimentos inicialmente amplos, seguidos de redução gradual da amplitude em direção à região central da placa, de modo a favorecer a distribuição progressiva e homogênea do inóculo sobre a superfície do meio de cultura (Figura 10A). Essa é uma técnica amplamente empregada de forma a poder garantir que o crescimento bacteriano seja adequado e assim facilitar as análises posteriores, como identificação e quantificação.

Após a semeadura, as placas foram incubadas em jarra de anaerobiose (Figura 10B), sob atmosfera enriquecida com 5% de CO₂, utilizando gerador de CO₂, pelo

período de 24 horas, em estufa microbiológica (Nova Técnica, modelo NT513), à temperatura de 37 °C.

Figura 10 - Placa de Petri Repicada (A) e Jarra de anaerobiose (B).

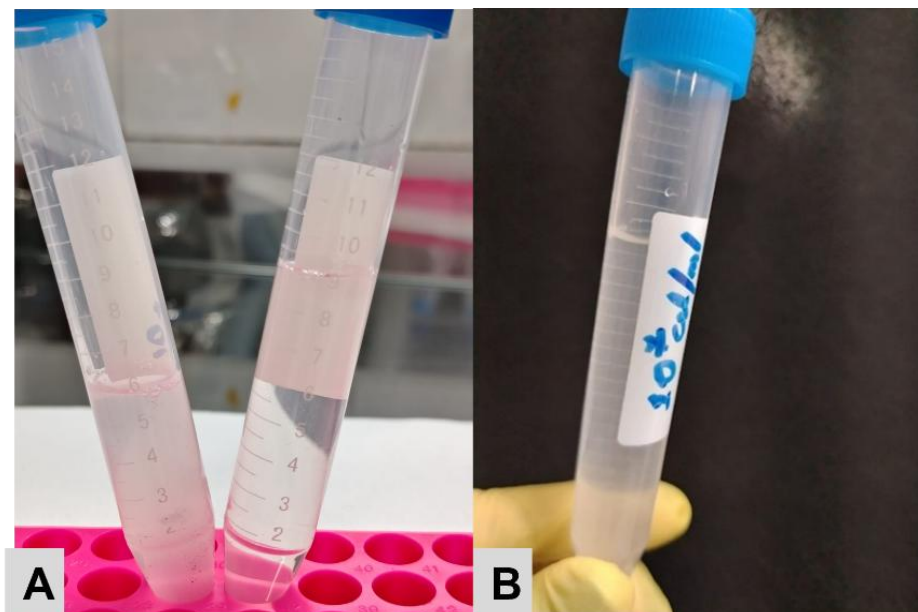


Fonte: Acervo do autor (2025)

4.2.1.2 Fase 2 - Espectrofotometria e Inoculação

Após o período de incubação, as células foram coletadas da placa de petri com auxílio de alça para inoculação plástica, estéril, descartável e depositadas em um tubo Falcon estéril descartável contendo 10 ml de soro fisiológico estéril, para a diluição e preparo da suspensão celular com inóculo de 10^7 cel/ml (Figura 11 A e B).

Figura 11 - Tubo Falcon com inóculo 107 cel/ml e tubo Falcon com soro fisiológico(A) e Tubo Falcon com inóculo (B)

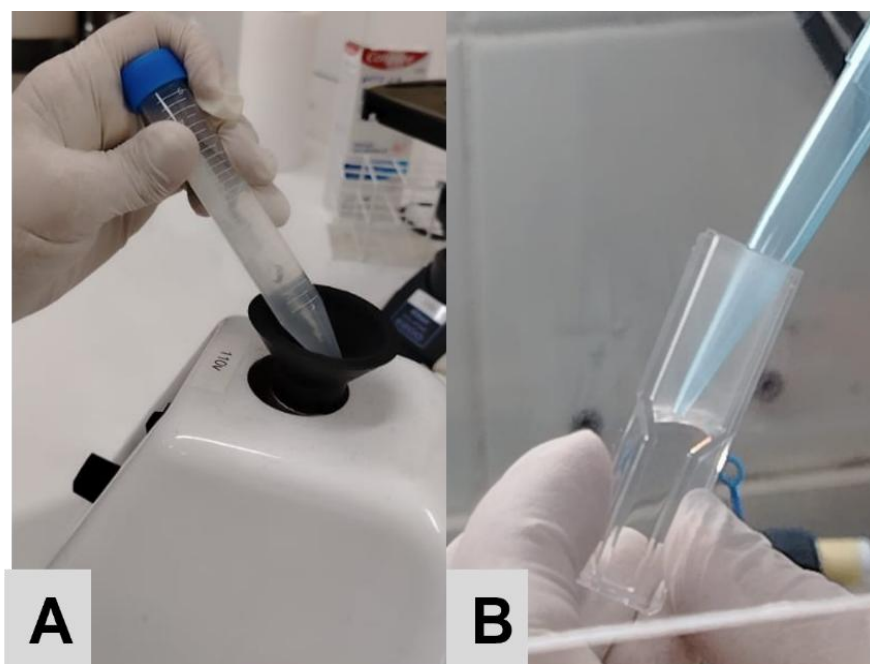


Fonte: Acervo do autor (2025)

A dispersão das células contidas no tubo Falcon foi realizada com o auxílio do agitador de tubos da marca Phoenix, modelo AP56 (Figura 12A), garantindo que houvesse a homogeneização adequada da suspensão.

Em seguida, utilizando-se pipeta com ponteira estéril, retirou-se 1 mL da suspensão, que então foi cuidadosamente depositado em uma cubeta estéril e descartável destinada ao espectrofotômetro, para a realização da análise espectrofotométrica (Figura 12B). Todo o procedimento foi conduzido sob fluxo laminar, de modo a assegurar condições assépticas durante todas as etapas experimentais.

Figura 12 - Tubo Falcon no agitador de tubos (A) e a cubeta para espectrofotômetro (B)



Fonte: Acervo do autor (2025)

O espectrofotômetro utilizado no experimento foi o SPECTRONIC®20 GENESYS™, operando na absorvância de $\lambda = 600 \text{ nm}$ e com densidade óptica (DO) de $0,52 \pm 0,02$ (Figura 13).

Antes da realização das leituras, o equipamento foi calibrado utilizando a cubeta para espectrofotometria contendo apenas soro fisiológico estéril 0,9%, denominada tubo branco, garantindo assim a padronização e a precisão das medições experimentais.

Figura 13- Espectrofotômetro



Fonte: Acervo do autor (2025)

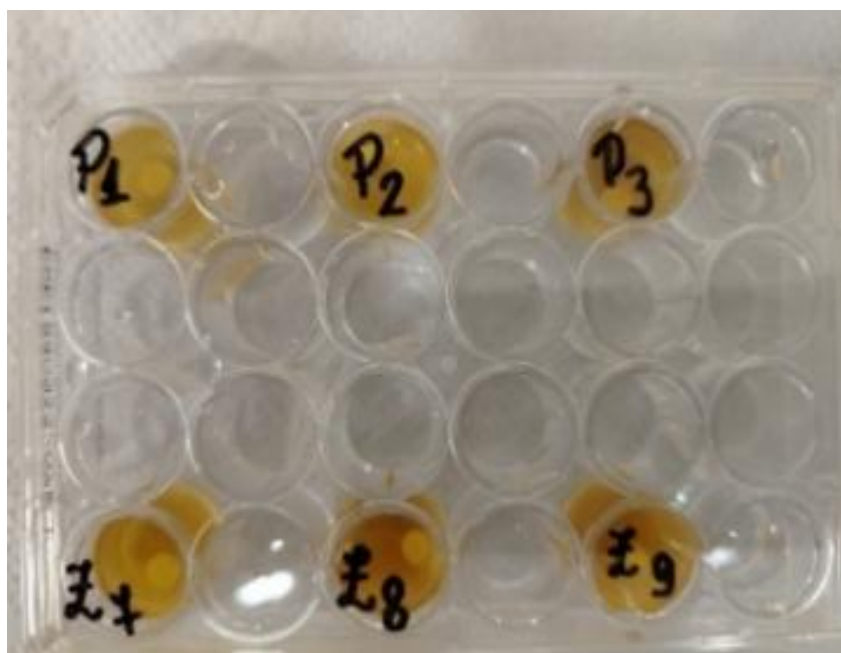
Após atingido o nível da absorbância ideal, uma alíquota de 1 mL do inóculo de *S. gordonii* (1×10^7 células/mL) foi cuidadosamente acrescentada a nove partes de caldo BHI estéril, totalizando 10 mL e resultando na suspensão final com concentração de 10×10^6 células/mL.

A partir dessa suspensão, foram pipetados 200 μ L, que foram cuidadosamente depositados sobre os corpos de prova, previamente selecionados e posicionados individualmente em placas de 24 poços (Figura 14), as quais foram previamente identificadas para garantir o correto acompanhamento de cada amostra durante todo o experimento.

- Grupo zircônia sem tratamento com clorexidina 0,12% **(Z1 a Z9)**.
- Grupo PEEK sem tratamento com clorexidina 0,12% **(P1 a P9)**.
- Grupo zircônia com tratamento com clorexidina 0,12% **(ZC1 a ZC9)**.
- Grupo Peek com tratamento com clorexidina 0,12% **(PC1 a PC9)**.

As placas de 24 poços com os corpos de prova, foram colocadas em jarra de anaerobiose, com gerador de CO₂ (5% de CO₂) e incubadas em estufa microbiológica a 37°C por 24 horas (Figura 15).

Figura 14 - Placas de 24 poços após a incubação



Fonte: Acervo do autor

4.2.1.3 Fase 3 – Lavagem dos corpos de prova

Após o período de incubação de 24 horas em estufa, as placas de 24 poços contendo os corpos de prova foram retiradas da câmara de anaerobiose. Em ambiente de fluxo laminar, as placas foram abertas e os corpos de prova removidos de seus respectivos poços com o auxílio de pinça clínica estéril. Em seguida, cada corpo de prova foi submetido, individualmente, a uma única lavagem com 1 mL de soro fisiológico estéril 0,9%, realizada em fluxo contínuo e sem aplicação de pressão, procedimento padronizado para todos os grupos nesta etapa do experimento.

Após a lavagem, os corpos de prova, tanto de zircônia quanto de PEEK, foram transferidos para novos poços estéreis, contendo 1 mL de soro fisiológico estéril 0,9% ou 1 mL de clorexidina 0,12%, de acordo com a fase do tratamento previamente estabelecida.

A permanência nas soluções de clorexidina 0,12% ou soro fisiológico 0,9% estéril foi cronometrada a partir do momento que cada corpo de prova foi colocado na referida solução, permanecendo igualmente por 1 minuto. Após essa permanência, com o auxílio de uma pinça clínica estéril, cada corpo de prova foi retirado do poço e submetido a nova lavagem com 1ml de soro fisiológico estéril 0,9%, em fluxo contínuo, sem pressão, por 2 vezes (procedimento padronizado para todos os grupos, com e sem tratamento com clorexidina 0,12%) (Figura 15).

Figura 15 – Lavagem do corpo de prova com soro fisiológico estéril 0,9%

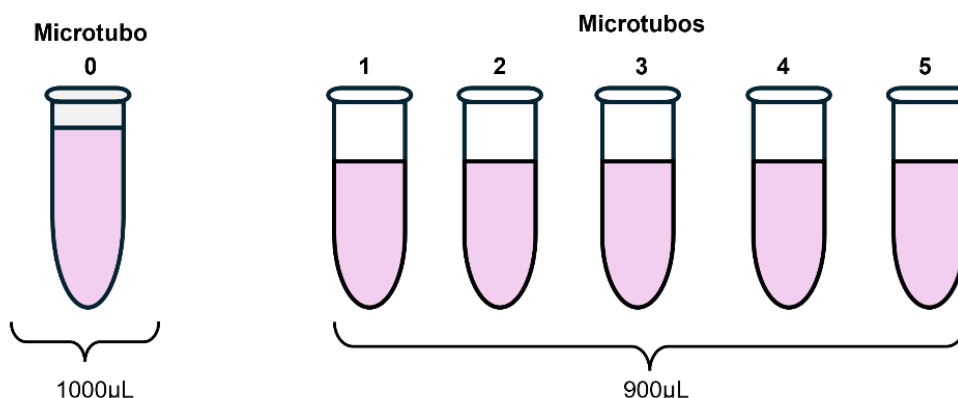


Fonte: Acervo do autor

Para dar seguimento à fase de diluição seriada, foi necessário o preparo dos microtubos estéreis com soro fisiológico 0,9% estéril.

O preparo foi iniciado com a identificação dos microtubos estéreis fechados, dentro da capela de fluxo laminar. Os seis microtubos de 2ml (tubos Eppendorf) estéreis, foram identificados e preenchidos com soro fisiológico 0,9% estéril, sendo 1ml (1000 μ L) no primeiro tubo e 0,9ml (900 μ L) para os outros cinco microtubos estéreis de 2ml. (Figura 16).

Figura 16– Preparo dos microtubos



Fonte: Acervo do autor (2025).

4.2.1.4 Fase 4 – Diluição seriada

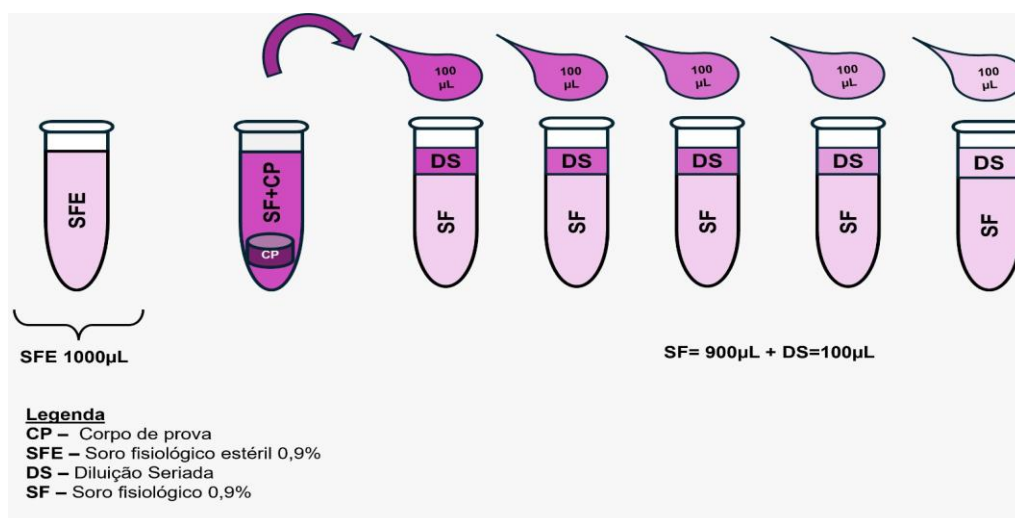
Após a colocação do corpo de prova dentro do microtubo 0 (zero ou controle), contendo 1ml (1000µL) de soro fisiológico 0,9% estéril, o microtubo foi devidamente fechado, e o conjunto foi levado para o agitador de tubos durante 10 segundos, para que houvesse a homogeneização completa do material.

Em seguida, sob fluxo laminar, o microtubo 0, com o corpo de prova em análise (zircônia ou PEEK), foi aberto e do seu interior, foi pipetado 0,1ml (100µL) da solução e transferido para o microtubo 1(um), passando o volume interior deste microtubo, de 0,9 ml (900µL) para 1ml (1000µL).

O microtubo 1 foi fechado, e então levado para o agitador de tubos durante 10 segundos. Em seguida, foi aberto sob fluxo laminar, e a partir de sua solução final (1000µL), foi pipetado 0,1 ml (100µL) e levado ao microtubo seguinte (Microtubo 2).

Após receber a solução, o microtubo 2, foi levado para o agitador de tubos e assim foi feito, sucessivamente, com todos os microtubos, até a finalização da diluição seriada, com o microtubo 5 (Figura 17).

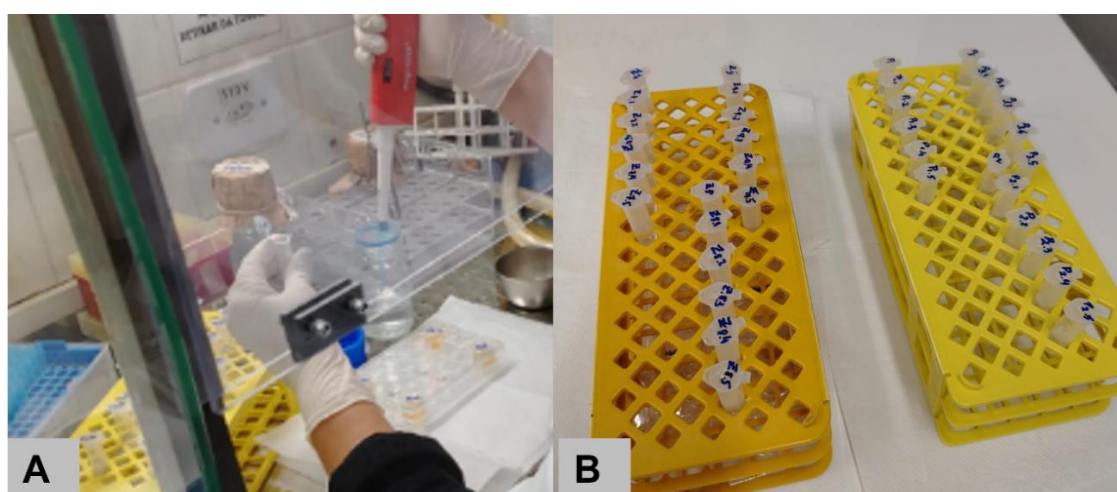
Figura 17 – Diluição seriada



Fonte: Acervo do autor (2025).

Durante a diluição seriada, após cada incorporação da solução, os microtubos eram levados ao agitador de tubos, garantindo que houvesse homogeneização adequada da solução, antes da retirada do volume para o tubo seguinte. Todo esse procedimento foi realizado sob fluxo laminar (Figura 18A) e os microtubos permaneceram em posição vertical, devidamente apoiados em estantes apropriadas (conforme ilustrado na Figura 18B).

Figura 18 – Diluição seriada sob fluxo laminar (A) e microtubos em estantes(B)



Fonte: Acervo do autor (2025).

4.2.1.5 Fase 5 – Plaqueamento

O plaqueamento foi realizado em placas de Petri, com ágar BHI estéril. Tais placas foram preparadas em capela de fluxo laminar, identificada em duplicata. Antes do plaqueamento os tubos foram, individualmente, submetidos a vortexação e com auxílio da pipeta, foi realizado a retirada de 10 μ L de cada microtubo, iniciando pelo tubo 5, foi gotejado, uniformemente sem respingo, sobre uma placa de Petri na posição 5 (Figura 19) e em seguida o mesmo procedimento foi realizado sobre uma segunda placa (a duplicata) também na posição 5.

Figura 19 – Gotejamento de 10 μ L sobre a placa de Petri.



Fonte: Acervo do autor (2025).

As duas placas de petri foram fechadas e então levemente inclinadas em 45° para que o plaqueamento fosse realizado por inclinação (Figura 20), permitindo o deslocamento da gota depositada sobre a superfície do meio de cultura e que logo desapareceu pela incorporação ao meio.

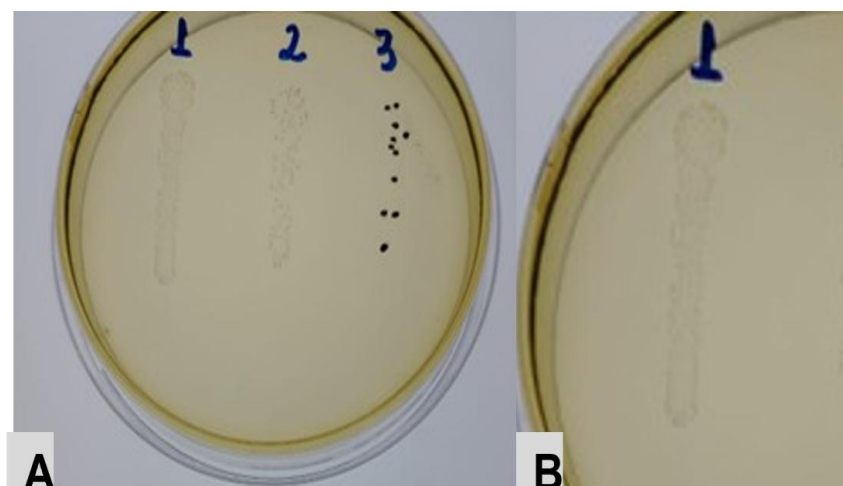
Figura 20 – Inclinação das placas de Petri



Fonte: Acervo do autor (2025).

Essa manobra forneceu uma imagem na placa de Petri, semelhante a uma gota invertida ou escorrida (Figura 21 A e B). Essa imagem não pode ser perceptível no momento exato do gotejamento, uma vez que esse desenho mostra a distribuição do crescimento bacteriano sobre a placa de Petri. A imagem foi observada somente após o período de incubação de 24 horas, das placas de Petri, em jarra de anaerobiose, com gerador de CO₂ (5% de CO₂) e em estufa microbiológica a 37 °C.

Figura 21 – Placa de Petri com crescimento bacteriano em formato de gota invertida (A) e Imagem aumentada da gota invertida (B)



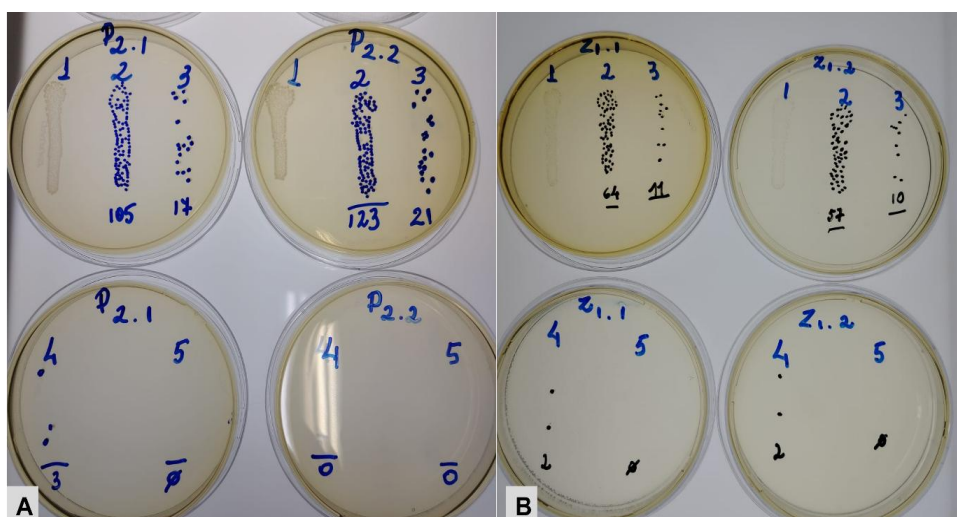
Fonte: Acervo do autor (2025).

4.2.1.6 Fase 6 – Contagem das Unidades Formadoras de Colônia

Após o período de incubação, foi realizada a Contagem e o registro de Unidades Formadoras de Colônias (UFC). Para a realização dessa fase foi necessário o uso de um negatoscópio, a fim de fornecer retroiluminação.

As placas foram colocadas sobre o negatoscópio de bancada e iluminadas. Foi realizado a marcação das unidades formadoras de colônias, com caneta para retroprojeter preta de 2,0mm da marca Pilot BT e contagem das unidades de colônias formadas em todos os grupos PEEK (Figura 22A) ou Zirconia (Figura 22B) com e sem tratamento.

Figura 22 – Placa de Petri com contagem de UFC/mL em grupo PEEK (A) e Zircônia(B)



Fonte: Acervo do autor (2025).

Após a contagem de cada grupo testado, os dados foram inseridos em uma planilha para registro e futura análise estatística, como pode ser observado no Anexo 1, ao final deste documento.

4.3 Análise dos dados

Os dados foram analisados pelo software GraphPad Prism (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA) e foram submetidos ao teste de normalidade e

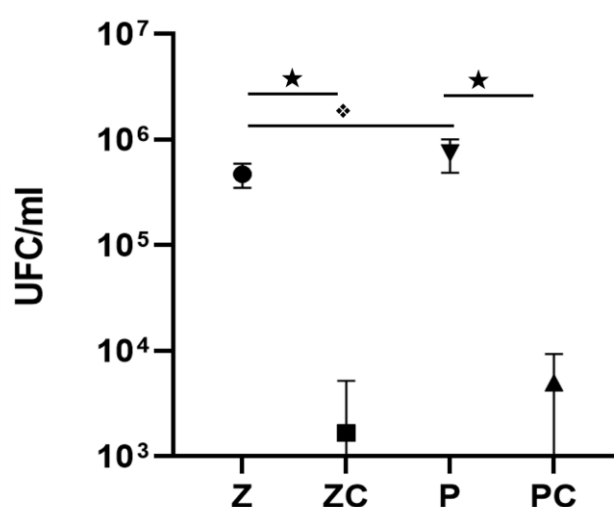
homocedasticidade utilizando os testes de Shapiro-Wilk. Desta forma, os dados não normais foram submetidos ao teste de Mann-Whitney. O nível de significância considerado foi de 5%.

5 RESULTADOS

O Grupo P apresentou maior unidade formadora de colônias (UFC) em relação ao grupo Z ($p < 0,001$) e houve diferença estatística entre eles (Gráfico 1). Quando comparado o grupo ZC ao grupo PC houve menor número de UFC no grupo ZC e não houve diferença estatística entre eles, $p = 0,1238$ (Gráfico 1).

Quando comparado o grupo Z e ZC, o grupo Z apresentou maior unidade formadora de colônias (UFC) em relação ao grupo ZC ($p < 0,001$) e houve diferença estatística entre eles (Gráfico 1). O grupo P também apresentou maior unidade formadora de colônias (UFC) em relação ao grupo PC ($p < 0,001$) e houve diferença estatisticamente significativa entre eles (Gráfico 1).

Gráfico 1 - Unidade formadora de colônia UFC/ml em cada grupo.



Fonte: Autor (2025)

Unidade formadora de colônia UFC/ml em cada grupo. Zircônia (Z), Zircônia Clorexidina (ZC), PEEK (P), PEEK Clorexidina (PC). Os símbolos diferentes representam diferenças estatísticas. Valor de p : ★ $p < 0,0001$ e ♦ $p = 0,0315$

6 DISCUSSÃO

Este estudo *in vitro* analisou a adesão do biofilme de *Streptococcus gordonii* em corpos de prova confeccionados em zircônia e PEEK, avaliando também o impacto da exposição prévia à clorexidina a 0,12%. Em relação à unidade formadora de colônias (UFC), observou-se que o Grupo P apresentou maior número de bactérias aderidas quando comparado ao Grupo Z. Esse resultado se assemelha ao encontrado por Wiessner *et al.* ⁽²⁷⁾, que, em um ensaio clínico prospectivo avaliando pilares de implante confeccionados em quatro materiais, identificaram menor cobertura de biofilme na zircônia, seguida por titânio, PEEK e PEEK modificado. Estudos adicionais reforçam essa tendência, indicando que a zircônia apresenta menor adesão bacteriana quando comparada a outros biomateriais, possivelmente devido à combinação de rugosidade reduzida, maior estabilidade química e propriedades de superfície menos favoráveis à colonização inicial. ⁽⁴⁴⁻⁴⁸⁾

Os achados deste estudo demonstram que o PEEK apresentou maior UFC inicial de *Streptococcus gordonii* quando comparado à zircônia, sugerindo que sua topografia e características físico-químicas podem favorecer a colonização de espécies pioneiras do biofilme. Esse comportamento indica que, nas fases iniciais de cicatrização ou em áreas onde a estabilidade do coágulo é crítica, o PEEK pode representar um substrato mais suscetível à contaminação bacteriana. ^(10,27,39) A menor adesão observada na zircônia reforça seu potencial como material com comportamento mais previsível no que diz respeito ao acúmulo microbiano, o que pode contribuir para a previsibilidade dos resultados em aplicações de regeneração óssea guiada. ^(27,44-48)

A interpretação desses resultados sugere que diferenças de energia superficial, hidrofília e microtextura entre os materiais possivelmente desempenham papel importante na adesão de *S. gordonii*. ^(44,45,48) Embora a literatura aponte tendência à menor formação de biofilme na zircônia, o presente estudo confirma essa observação em um modelo experimental controlado, reforçando que as propriedades intrínsecas do material influenciam diretamente sua interação inicial com microrganismos. ⁽⁴⁴⁻⁴⁸⁾ Essa constatação é particularmente relevante para materiais aplicados como barreiras em ROG, dado que a contaminação precoce pode comprometer a estabilidade do coágulo e, conseqüentemente, a previsibilidade da neoformação óssea.

Outro ponto importante é que a resposta bacteriana ao PEEK pode variar conforme modificações de superfície ou tratamentos adicionais aplicados ao material. A maior quantidade de UFCs observada no grupo P sugere que, em sua forma convencional, o PEEK pode não ser o material mais indicado em situações clínicas em que a redução da carga microbiana é determinante.^(10,38,39) Isso evidencia a necessidade de estudos futuros voltados ao desenvolvimento de superfícies modificadas, revestimentos bioativos ou tratamentos antimicrobianos específicos capazes de aprimorar seu desempenho biológico.

No presente estudo, os grupos Zircônia Clorexidina e PEEK Clorexidina demonstraram menor adesão bacteriana quando comparados aos grupos Z e P. Esse achado corrobora literatura consolidada, que descreve a clorexidina a 0,12% como um agente químico eficaz no controle da placa bacteriana, amplamente empregada em protocolos clínicos para redução de patógenos orais.⁽⁴⁰⁻⁴²⁾ Ainda que seja um recurso antimicrobiano reconhecido, sua eficácia depende de parâmetros clínicos como frequência de aplicação, geralmente associada ao uso diário ou duas vezes ao dia e tempo de permanência na cavidade oral. Além disso, seu uso costuma ser associado a outras medidas de higiene e abordagens terapêuticas, potencializando seus efeitos.^(42,43)

Por se tratar de um estudo *in vitro*, é importante considerar limitações inerentes ao modelo experimental empregado. A cavidade bucal apresenta um ecossistema dinâmico, influenciado por fluxo salivar, proteínas, forças mecânicas, variações de pH e competição entre diferentes microrganismos. Dessa forma, o comportamento observado em laboratório pode não refletir plenamente a complexidade microbiana presente em condições clínicas reais.^(29,36)

Os resultados deste estudo indicam que a zircônia apresenta melhor desempenho que o PEEK em relação à colonização inicial por *S. gordonii*, e que a clorexidina a 0,12% reduz a adesão bacteriana em ambos os materiais. Esses achados ampliam o entendimento sobre o comportamento de biomateriais utilizados em regeneração óssea guiada e enfatizam a importância de considerar características de superfície e estratégias antimicrobianas complementares, especialmente nas fases iniciais de cicatrização.

De modo geral, os resultados deste estudo indicam que a zircônia apresenta melhor desempenho que o PEEK em relação à colonização inicial por *S. gordonii*, e

que a clorexidina a 0,12% reduz a adesão bacteriana em ambos os materiais. Esses achados ampliam o entendimento sobre o comportamento de biomateriais utilizados em regeneração óssea guiada e enfatizam a importância de considerar características de superfície e estratégias antimicrobianas complementares, especialmente nas fases iniciais de cicatrização.

7 CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo demonstraram que o grupo PEEK apresentou maior número de unidades formadoras de colônias (UFC) de *Streptococcus gordonii* em comparação ao grupo zircônia. A aplicação de clorexidina reduziu significativamente o número de UFC em ambos os materiais; entretanto, o grupo PEEK tratado (PC) ainda apresentou os maiores números de UFC entre os subgrupos avaliados.

REFERÊNCIAS

1. Reich KM, Huber CD, Lippnig WR, Ulm C, Watzek G, Tangl S. Atrophy of the residual alveolar ridge following tooth loss in an historical population. *Oral Dis*. 2011 Jan;17(1):33-44. doi: 10.1111/j.1601-0825.2010.01699.x. PMID: 20604872.
2. Urban I, Lozada J, Wessing B, Suárez-López del Amo F, Wang HL. Vertical bone grafting and periosteal vertical mattress suture for the fixation of resorbable membranes and stabilization of particulate grafts in horizontal guided bone regeneration to achieve more predictable results: a technical report. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2016 Mar;36(2):153-159.
3. Elgali I, Omar O, Dahlin C, Thomsen P. Guided bone regeneration: materials and biological mechanisms revisited. *Eur J Oral Sci*. 2017 Oct;125(5):315-337. doi: 10.1111/eos.12364. PMID: 28833567. PMCID: PMC5601292.
4. Uriarte X, Landázuri A, Marão HF, Lucena N, Schiegnitz E, Díaz L. Zirconia barriers in bone regeneration procedures: a scoping review. *Clin Oral Implants Res*. 2025 Apr;36(4):411-422. doi: 10.1111/clr.14404. PMID: 39846616.
5. Misch CE, Dietsch F. Materiais de enxerto ósseo em implantodontia. *Implant Dent*. 1993;2(3):158-166. PMID: 21492798.
6. Cucchi A, Chierico A, Fontana F, *et al*. Statements and recommendations for guided bone regeneration: consensus report of the guided bone regeneration symposium held in Bologna, October 15 to 16, 2016. *Implant Dent*. 2019 Aug;28(4):388-399. doi: 10.1097/ID.0000000000000909. PMID: 31344018.
7. Buser D, Urban I, Monje A, Kunrath MF, Dahlin C. Guided bone regeneration in implant dentistry: basic principle, progress over 35 years, and recent research activities. *Periodontol 2000*. 2023 Oct;93(1):9-25. doi: 10.1111/prd.12539. PMID: 38194351.
8. Scantlebury TV. 1982-1992: a decade of technology development for guided tissue regeneration. *J Periodontol*. 1993;64:1129-1137.
9. Díaz L, Uriarte X, Landázuri A, Marão HF, Urrutia P, Torres A, *et al*. O uso de barreiras PEEK em procedimentos de regeneração óssea: uma revisão do escopo. *Prosthesis*. 2025;7:101. doi: 10.3390/prosthesis7040101.
10. Barkarmo S, Longhorn D, Leer K, *et al*. Biofilm formation on polyetheretherketone and titanium surfaces. *Clin Exp Dent Res*. 2019;5(4):427-437. doi: 10.1002/cre2.205. PMID: 31452954. PMCID: PMC6704035.

11. Maiti N, Mahapatra N, Patel D, *et al.* Application of CAD-CAM in dentistry. *Bioinformation*. 2024;20(5):547-550. doi: 10.6026/973206300200547. PMID: 39132244. PMCID: PMC11309094.
12. Kongkiatkamon S, Rokaya D, Kengtanyakich S, Peampring C. Current classification of zirconia in dentistry: an updated review. *PeerJ*. 2023;11:e15669. doi: 10.7717/peerj.15669. PMID: 37465158. PMCID: PMC10351515.
13. Wang J, Yin W, He X, Wang Q, Guo M, Chen S. Good biocompatibility and sintering properties of zirconia nanoparticles synthesized via vapor-phase hydrolysis. *Sci Rep*. 2016;6:35020. doi: 10.1038/srep35020. PMID: 27725744. PMCID: PMC5057113.
14. Freitas PH, Silveira RE, Rodrigues PCF, Neto TM, Lopes LG, Barnabé W. Implantes de zircônia na Odontologia: revisão de literatura. *Rev Odontol Bras Central*. 2017;26(79).
15. Bonatelli L. Cerâmicas odontológicas: vantagens e limitações da zircônia. *Rev Bras Odontol*. 2015;72(1-2):24-29. doi: 10.18363/rbo.v72i1/2.624.
16. Camargo BA. Potencial da zircônia na modulação de células endoteliais e osteoblastos: perspectivas para engenharia de tecidos e regeneração óssea. 2024.
17. Liñares A, Dopico J, Magrin G, Blanco J. Critical review on bone grafting during immediate implant placement. *Periodontol 2000*. 2023 Oct;93(1):309-326. doi: 10.1111/prd.12516. PMID: 37658586.
18. An R, Gupta R, Weber KK. Zirconia biomaterials. In: *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Aug 14–2025 Jan. PMID: 29630196.
19. Piconi C, Maccauro G. Zircônia como biomaterial cerâmico. *Biomateriais*. 1999;20:1-25.
20. Sulaiman TA, Suliman AA, Abdulmajeed AA, Zhang Y. Zirconia restoration types, properties, tooth preparation design, and bonding. *J Esthet Restor Dent*. 2024 Jan;36(1):78-84. doi: 10.1111/jerd.13151. PMID: 37840220. PMCID: PMC10842315.
21. Scarano A, Piattelli M, Caputi S, Favero GA, Piattelli A. Bacterial adhesion on commercially pure titanium and zirconium oxide disks: an in vivo human study. *J Periodontol*. 2004 Feb;75(2):292-296. doi: 10.1902/jop.2004.75.2.292. PMID: 15068118.
22. Christel P, Meunier A, Heller M, Torre JP, Peille CN. Mechanical properties and short-term in-vivo evaluation of yttrium-oxide-partially-stabilized zirconia. *J*

- Biomed Mater Res. 1989 Jan;23(1):45-61. doi: 10.1002/jbm.820230105. PMID: 2708404.
23. Stober T, Bermejo JL, Schwindling FS, Schmitter M. Clinical assessment of enamel wear caused by monolithic zirconia crowns. *J Oral Rehabil.* 2016 Aug;43(8):621-629. doi: 10.1111/joor.12409. PMID: 27198539.
 24. Tekin S, Cangül S, Adigüzel Ö, Değer Y. Areas for use of PEEK material in dentistry. *Int Dent Res.* 2018;8:84-92. doi: 10.5577/intdentres.2018.vol8.no2.6.
 25. Zeroual R, Bahedi O. O uso de polietereceton (PEEK) em próteses sobre implantes: uma revisão detalhada da literatura. *J Clin Adv Dent.* 2023;7(1):34-40. doi: 10.29328/journal.jcad.1001038.
 26. Brum RS, Labes LG, Volpato CÂM, Benfatti CAM, Pimenta AL. Strategies to reduce biofilm formation in PEEK materials applied to implant dentistry: a comprehensive review. *Antibiotics (Basel).* 2020;9(9):609. doi: 10.3390/antibiotics9090609. PMID: 32948018. PMCID: PMC7559429.
 27. Wiessner A, Wassmann T, Wiessner JM, *et al.* In vivo biofilm formation on novel PEEK, titanium, and zirconia implant abutment materials. *Int J Mol Sci.* 2023;24(2):1779. doi: 10.3390/ijms24021779. PMID: 36675292. PMCID: PMC9865206.
 28. Moharil S, Reche A, Durge K. Polyetheretherketone (PEEK) as a biomaterial: an overview. *Cureus.* 2023;15(8):e44307. doi: 10.7759/cureus.44307. PMID: 37779776. PMCID: PMC10536400.
 29. Percival SL. Importance of biofilm formation in surgical infection. *Br J Surg.* 2017;104:e85-e94. doi: 10.1002/bjs.10433. PMID: 28121033.
 30. Park OJ, Kwon Y, Park C, So YJ, Park TH, Jeong S, *et al.* Streptococcus gordonii: pathogenesis and host response to its cell wall components. *Microorganisms.* 2020;8(12):1852. doi: 10.3390/microorganisms8121852. PMID: 33255499. PMCID: PMC7761167.
 31. Hossain Z. Bacteria: Streptococcus. doi: 10.1016/B978-0-12-378612-8.00116-5.
 32. Patterson MJ. Streptococcus. In: Baron S, editor. *Microbiologia médica.* 4th ed. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch; 1996. cap 13. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7611/>. PMID: 21413248.
 33. Zhao A, Sun J, Liu Y. Understanding bacterial biofilms: from definition to treatment strategies. *Front Cell Infect Microbiol.* 2023;13:1137947. doi: 10.3389/fcimb.2023.1137947. PMID: 37091673. PMCID: PMC10117668.

34. Ali GA, Pérez-López A, Tsui C, Shunnar K, Sharma A, Ibrahim EB, Tang P, Alsoub H, Goravey W. Streptococcus gordonii-associated infective endocarditis: case series, literature review, and genetic study. Clin Case Rep. 2024;12(4):e8684. doi: 10.1002/ccr3.8684. PMID: 38585580. PMCID: PMC10996068.
35. Etymologia: Streptococcus. Emerg Infect Dis. 2016 Nov;22(11):1977. doi: 10.3201/eid2211.ET2211. PMCID: PMC5088015.
36. Vestby LK, Grønseth T, Simm R, Nesse LL. Bacterial biofilm and its role in the pathogenesis of disease. Antibiotics (Basel). 2020;9(2):59. doi: 10.3390/antibiotics9020059. PMID: 32028684. PMCID: PMC7167820.
37. Edmiston CE Jr, McBain AJ, Roberts C, Leaper D. Clinical and microbiological aspects of biofilm-associated surgical site infections. Adv Exp Med Biol. 2015;830:47-67. doi: 10.1007/978-3-319-11038-7_3. PMID: 25366220.
38. Martin A, Azagarasan NS, Ravichandran M, *et al.* Avaliação da bioatividade da polieteretercetona modificada de superfície (PEEK) como material de implante: um estudo in vitro. Odontol Clín Contemp. 2020;11(4):356-366. doi: 10.4103/ccd.ccd_258_19. PMID: 33850402. PMCID: PMC8035838.
39. Hung CCU, Costa RC, Pereira G, *et al.* Oral microbial colonization on titanium and polyetheretherketone dental implant healing abutments: an in vitro and in vivo study. J Prosthet Dent. 2025 Jun;133(6):1545-1552. doi: 10.1016/j.prosdent.2023.08.010. PMID: 37716897.
40. Abraham HM, Philip JM, Kruppa J, Jain AR, Krishnan CJV. Use of chlorhexidine in implant dentistry. Biomed Pharmacol J. 2015;8(October Spl Edition). Available from: <http://biomedpharmajournal.org/?p=3507>.
41. Ghaffari T, Daneshfar P, Mosayebzadeh A, Maleki Dizaj S, Sharifi S. Inhibitory effects of chlorhexidine-loaded calcium carbonate nanoparticles against dental implant infections. BMC Oral Health. 2024;24(1):1236. doi: 10.1186/s12903-024-05035-6. PMID: 39415164. PMCID: PMC11484463.
42. Poppolo Deus F, Ouanounou A. Chlorhexidine in dentistry: pharmacology, uses, and adverse effects. Int Dent J. 2022 Jun;72(3):269-277. doi: 10.1016/j.identj.2022.01.005. PMID: 35287956. PMCID: PMC9275362.
43. De Melo Menezes K, Roncalli da Costa Oliveira ÂG, de Vasconcelos Gurgel BC. Impact of 0.12% chlorhexidine gluconate mouthwash on peri-implant mucositis and gingivitis after nonsurgical treatment: a multilevel analysis. Int J Oral Maxillofac Implants. 2021 Nov-Dec;36(6):1188-1197. doi: 10.11607/jomi.8994. PMID: 34919620.

55. Del Pilar Angarita-Díaz M, Fong C, Medina D. Bacteria of healthy periodontal tissues as candidates of probiotics: a systematic review. *Eur J Med Res.* 2024;29(1):328.
56. Arboleda V, Elsouri KN, Heiser SE, Bernal I, Kesselman MM, Demory Beckler M. Oral microbiome as a tool of systemic disease on cleft patients: a new landscape. *Cureus.* 2023;15(2):e35444. doi: 10.7759/cureus.35444.
57. Radunovic M, *et al.* Biocompatibility and antibiofilm activity of graphene-oxide functionalized titanium discs and collagen membranes. *Dent Mater.* 2022;38(7):1117-1127.
58. Libby P. Inflammatory mechanisms: the molecular basis of inflammation and disease. *Nutr Rev.* 2008;65:S140-S146.
59. Prodanov CC, Freitas EC. *Metodologia do trabalho científico: métodos e técnicas da pesquisa e do trabalho acadêmico.* Novo Hamburgo (RS): Feevale; 2013.

ANEXO 1 - MÉDIA DE UFC/ML DO STREPTOCOCCUS GORDONII POR GRUPO.

Amostra	Nº colônias (placa 1)	Nº colônias (placa 2)	média	diluição	UFC/ placa	UFC/ml
Z1 - SF	64	57	60,5	100	6050	605000
Z2- SF	53	58	55,5	100	5550	555000
Z3 - SF	24	25	24,5	100	2450	245000
Z4 - SF	49	38	43,5	100	4350	435000
Z5 - SF	35	33	34	100	3400	340000
Z6 - SF	48	56	52	100	5200	520000
Z7 - SF	61	55	58	100	5800	580000
Z8 - SF	39	42	40,5	100	4050	405000
Z9 - SF	54	55	54,5	100	5450	545000
P1- SF	111	101	106	100	10600	1060000
P2 - SF	105	123	114	100	11400	1140000
P3 - SF	78	92	85	100	8500	850000
P4 - SF	60	48	54	100	5400	540000
P5 - SF	69	59	64	100	6400	640000
P6 - SF	54	45	49,5	100	4950	495000
P7 - SF	40	32	36	100	3600	360000
P8 - SF	77	83	80	100	8000	800000
P9 - FS	84	78	81	100	8100	810000
ZC 1	0	0	0	100	0	0
ZC 2	0	0	0	100	0	0
ZC 3	0	0	0	100	0	0
ZC 4	0	0	0	100	0	0
ZC 5	0	0	0	100	0	0
ZC 6	2	0	1	100	100	10000
ZC 7	0	0	0	100	0	0
ZC 8	1	0	0,5	100	50	5000
ZC 9	0	0	0	100	0	0
PC9	0	1	0,5	100	50	5000
PC 1	1	1	1	100	100	10000
PC 2	0	0	0	100	0	0
PC 3	0	0	0	100	0	0
PC 4	1	1	1	100	100	10000
PC 5	1	0	0,5	100	50	5000
PC 6	2	0	1	100	100	10000
PC 7	0	0	0	100	0	0
PC 8	0	1	0,5	100	50	5000