

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 10/02/2025.



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Thaís Soares Bezerra Santos Nunes

Efetividade de soluções desinfetantes associadas ou não à escovação no controle do biofilme de uma resina impressa para base de prótese total

Araraquara
2023



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Thaís Soares Bezerra Santos Nunes

Efetividade de soluções desinfetantes associadas ou não à escovação no controle do biofilme de uma resina impressa para base de prótese total

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara para obtenção do título de Doutor em Reabilitação Oral, na Área de Prótese.

Orientador: Ana Carolina Pero

Araraquara
2023

N972e

Nunes, Thaís Soares Bezerra Santos

Efetividade de soluções desinfetantes associadas ou não à escovação no controle do biofilme de uma resina impressa para base de prótese total / Thaís Soares Bezerra Santos Nunes. -- Araraquara, 2023
90 f. : il., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara
Orientadora: Ana Carolina Pero

1. Impressão tridimensional. 2. Bases de dentadura. 3. Biofilmes. 4. Higienizadores de dentadura. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Odontologia, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Thaís Soares Bezerra Santos Nunes

Efetividade de soluções desinfetantes associadas ou não à escovação no controle do biofilme de uma resina impressa para base de prótese total

Comissão julgadora

Tese para obtenção do grau de doutora em Reabilitação Oral

Presidente e orientador: Profa. Dra. Ana Carolin Pero

2º Examinador: Profa. Dra. João Neudenir Arioli Filho

3º Examinador: Profa. Dra. Andrea Candido dos Reis

4º Examinador: Profa. Dra. Juliê Marra de Paula

1º Suplente: Prof. Dr. Francisco de Assis Mollo Junior

2º Suplente: Profa. Dra. Cláudia Helena Lovato da Silva

3º Suplente: Profa. Dra. Karin Hermana Neppelenbroek

Araraquara, 10 de fevereiro de 2023

DADOS CURRICULARES

Thaís Soares Bezerra Santos Nunes

NASCIMENTO: 07/08/1991 Maceió, Alagoas

FILIAÇÃO: José Helder Pessoa Nunes
Betania Soares Bezerra Santos Nunes

2010-2014 Graduação pela Universidade Federal de Alagoas- UFAL

2013-2014 Bolsista CNPq pelo projeto de iniciação científica na disciplina de
Dentística restauradora da Universidade Federal de Alagoas- UFAL.

Monitoria em Prótese Fixa pela Universidade Federal de Alagoas- UFAL.

2015-2016 Experiência profissional em clínicas odontológicas, Maceió- AL

2016-2017 Especialização em Prótese dentária pela Universidade de São Paulo-
USP Bauru

2017-2017 Estágio docência na disciplina de Prótese Parcial Removível II na
Faculdade de Odontologia de Araraquara- FOAR.

2017-2019 Mestrado acadêmico em Reabilitação Oral, na área de Prótese pela
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita e Filho”, Faculdade de
Odontologia de Araraquara - FOAR.

2018-2018 Estágio docência na disciplina de Prótese Parcial Removível I na
Faculdade de Odontologia de Araraquara- FOAR.

2020-2021 Profa. Me. Nas disciplinas de Prótese parcial fixa e Oclusão na
Universidade Mário Jucá- UMJ, Maceió- AL

2021-2022 Profa. Me. Nas disciplinas de Prótese Parcial Removível e Clínica estágio
em Reabilitação Oral II, na Universidade de Santo Amaro-UNISA, São Paulo-SP

Dedico este trabalho

Á Deus, por alimentar minha fé e nunca desistir. Sei que seus planos são maiores do que posso imaginar.

Aos meus pais, Betania e Helder, minha fonte inesgotável de amor. Vocês são a minha inspiração, o meu alicerce. Obrigada por dividirem, novamente, esse sonho comigo.

À minha irmã, Tainá. Minha fortaleza, decidida, corajosa mãe do Heitor. Sou eternamente grata por ser sua irmã, eu amo você.

Ao Ricardo, meu amor, obrigada por me incentivar nos momentos de cansaço e por tornar as dificuldades mais simples. A vida é muito mais leve e feliz ao seu lado.

Heitor, meu pitoco. Você chegou para iluminar nossos dias. Seu carisma nos contagia e me impulsiona a ser uma pessoa melhor.

Minha Vó Odete, sua presença é muito forte em todos os meus dias e em todas as minhas decisões. Sei que daí de cima a senhora está me protegendo e me guiando.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” por me acolher tão bem, e pela oportunidade de concluir meu tão sonhado curso de doutorado.

À minha orientadora, Profa. Dra. Ana Carolina Pero, obrigada por ser uma orientadora tão humana, por me receber de braços abertos, confiar no meu trabalho e no meu potencial. Sou imensamente grata pelo seu apoio. A senhora é inspiradora.

À minha amiga Marcela Dantas, impossível pensar em Araraquara e não passar um filme em minha mente de tudo que vivemos. Foram momentos memoráveis, repletos de descobertas e companheirismo. Nossa convivência se transformou em uma amizade verdadeira e cheia de amor.

Ao meu amigo Diego Dantas, amigo que o mestrado me deu. Sempre carinhoso e atencioso. Hoje meu parceiro de trabalho. Você é muito especial.

À minha amiga Déborah Laurindo, eternamente minha anfitriã. Obrigada por todo o carinho e por trazer “o cheirinho” de Maceió para Araraquara.

À Bianca Núbia, Marina Miranda, Luana Solera, as odontopediatras mais animadas, leves e descontraídas.

Às minhas amigas, Amanda Palmeira e Izadora Quintela. Obrigada por serem verdadeiras amigas-irmãs, e por sempre incentivar a busca dos meus sonhos.

Ao meu grupo de pesquisa, **Marcela Dantas, Vivían Policastro, Andressa Leite, Hamile Viotto, Thaís Santana, Pedro Ewerton, Sabrina Romão, Marília Popts, Danny Mendoza**, por serem tão unidos e parceiros.

Aos meu eterno grupo de pesquisa, **Jefferson Trigo, Vinícius Sakima e Yuliana Vega**, meu carinho por vocês é imenso.

À Bruna Pimentel e Luana Dias. Minhas pesquisadoras inspiradoras, tenho um carinho enorme por vocês.

Aos meus eternos amigos da turma do mestrado. **Mônica Tinajero, Camila Jabor, Bruna Valerrini, Carlos Moura, Laís Cardoso, Fernanda Mercante e Mariana Citta**.

Aos amigos do laboratório de microbiologia. **Sabrina Ribeiro, Erick Dante Cláudia Jordão, Camila Tasso, Lucas Portela, Elkin Florez, Carmélia Lobo**, por tornarem os experimentos mais leves e divertidos.

Aos professores Paula Barbugli, Marlise Klein e Ewerton Mima, pesquisadores inteligentes e capacitados, que contribuíram para o meu senso crítico nas pesquisas.

Aos professores da banca, por aceitarem o convite e dedicarem sua atenção e conhecimentos para o crescimento deste trabalho.

Aos professores do departamento de Prótese Dentária, obrigada pela dedicação diária em transmitir seus conhecimentos e paciência ao ensinar.

À CAPES, pelo apoio financeiro. O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001.

“A vida é construída nos sonhos e concretizada no amor”
Chico Xavier*

* Xavier C. Oração: Que eu jamais me esqueça que Deus me ama infinitamente.

Nunes TSBS. Efetividade de soluções desinfetantes associadas ou não à escovação no controle do biofilme de uma resina impressa para base de prótese total [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2023.

RESUMO

A formação de biofilme nas bases das próteses é um problema clínico frequente, favorecendo o desenvolvimento da estomatite protética. Entretanto não há estudos avaliando um protocolo de higiene adequado para próteses totais confeccionadas com uma resina impressa para base de dentadura. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia da imersão em hipoclorito de sódio 0,25%, clorexidina 2% e peróxido alcalino, associada ou não à escovação em solução de sabonete, no controle do biofilme formado sobre uma resina para base de dentadura confeccionada pela impressão 3D. Espécimes circulares (10 mm diâmetro x 1,2 mm espessura) de duas resinas [Cosmos (COS-grupo experimental) e Clássico (CLA-grupo controle)] foram contaminados in vitro com cepas de *Candida albicans* para formação de biofilme de 48 horas, em seguida foram submetidos aos protocolos de higiene envolvendo a imersão em soluções desinfetantes (hipoclorito de sódio 0,25%, clorexidina 2%, peróxido alcalino e PBS- controle) associados ou não com a escovação mecânica com solução de sabonete Lifebuoy 0,78%. A efetividade desses protocolos foi avaliada por meio da contagem de unidades formadoras de colônias (UFC/mL, n=9), avaliação do metabolismo celular (ensaio de XTT, n=9), MEV (n=4) e microscopia confocal a laser (n=2) para avaliar arquitetura dos biofilmes sobre os espécimes. A rugosidade foi avaliada antes e após os protocolos de higiene (imersão + escovação) por meio de um rugosímetro digital (n=9). Todos os dados foram analisados pelos testes de T de student, ANOVA/Welch e pos-hoc de Tukey/Gomes-Howell ($\alpha = 0,05$), exceto as imagens de MEV e microscopia confocal, que foram avaliadas de maneira descritiva. Sem ser exposto as técnicas de higiene, a resina COS apresentou um biofilme mais espesso e com maior quantidade de hifas em relação a CLA. A rugosidade superficial da COS foi inferior à CLA, entretanto foi observado um comportamento recorrente de maior UFC/mL na resina COS. Imersão em hipoclorito 0,25% e clorexidina 2%, associado ou não com a escovação, apresentaram significativa redução metabólica (XTT) e redução completa de UFC/mL. Apenas a imersão em peróxido alcalino conseguiu reduzir inicialmente o metabolismo (XTT), mas não a redução de UFC/mL, a redução de UFC/mL só foi possível quando associada à escovação. Com relação a rugosidade após os ciclos de escovação e imersão, a CLA aumentou sua rugosidade superficial, já a COS não. Após os ciclos de escovação e imersão a COS manteve um biofilme mais espesso, com maior número de células vivas e maior presença de hifas em relação à CLA. Imersão em hipoclorito 0,25%, associada ou não a escovação, foi o melhor protocolo de higiene, além de eliminar as UFC/mL, removeu, quase que completamente, as células mortas sobre os espécimes. Para próteses removíveis com a presença de estrutura metálica, o protocolo mais indicado é a imersão em clorexidina 2%, associada ou não a escovação, em seguida a imersão em peróxido alcalino associado à escovação. Apesar da resina COS obter uma boa resposta aos protocolos de higiene, o maior número de hifas de *C. albicans* aderidos a sua superfície é um fato que merece atenção e futuras investigações.

Palavras – chave: Impressão tridimensional. Bases de dentadura. Biofilmes. Higienizadores de dentadura.

Nunes TSBS. Effectiveness of disinfectant solutions associated or not with brushing on the biofilm control of a 3D printed-denture base resin [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2023.

ABSTRACT

The formation of biofilm on the bases of dentures is a frequent clinical problem, favoring the development of denture stomatitis. However, there are no studies on an adequate hygiene protocol for cleaning complete dentures made of a 3D-printed denture base resin. The aim of this study was to evaluate the effectiveness of immersion in 0.25% sodium hypochlorite, 2% chlorhexidine and alkaline peroxide, associated or not with brushing in soap solution, on the biofilm control formed on a denture base resin made by 3D printing. Circular specimens (10 mm diameter x 1.2 mm thickness) of two resins [Cosmos (COS-experimental group) and Clássico (CLA-control group)] were contaminated in vitro with strains of *Candida albicans* to form a 48-hour biofilm, then submitted to hygiene protocols involving immersion in disinfectant solutions (sodium hypochlorite 0.25%, 2% chlorhexidine, alkaline peroxide and PBS-control) associated or not with mechanical brushing with Lifebuoy 0.78% soap solution. The effectiveness of these protocols was evaluated by counting colony forming units (CFU/mL, n=9), evaluating cell metabolism (XTT assay, n=9), SEM (n=4) and confocal laser microscopy (n=2) to evaluate biofilm architecture on the specimens. Roughness was evaluated before and after hygiene protocols (immersion + brushing) using a digital roughness meter (n=9). All data were analyzed by T student; ANOVA/Welch and Tukey/Gomes–Howell pos-hoc tests ($\alpha = 0.05$), except for SEM images and confocal microscopy, which were descriptively evaluated. Without being exposed to hygiene techniques, the COS resin presented a thicker biofilm and a greater amount of hyphae compared to CLA. The surface roughness of the COS was lower than that of the CLA, however a recurrent behavior of higher CFU/mL was observed in the COS resin. Immersion in 0.25% hypochlorite and 2% chlorhexidine, associated or not with brushing, showed similar metabolic reduction (XTT) and complete reduction of CFU/mL. Only alkaline peroxide immersion was able to initially reduce metabolism (XTT), but not the CFU/mL reduction. The reduction in CFU/mL was only possible when associated with brushing. Regarding roughness after brushing and immersion cycles, CLA increased its surface roughness, while COS did not. After the brushing and immersion cycles, COS maintained a thicker biofilm, with a greater number of living cells and a greater presence of hyphae than CLA. Immersion in hypochlorite 0.25%, with or without brushing, was the best hygiene protocol, in addition to eliminating the CFU/mL, it removed, almost completely, the dead cells on the specimens. For removable partial denture, with a metallic structure, the most indicated protocol is immersion in 2% chlorhexidine, with or without brushing, followed by immersion in alkaline peroxide associated with brushing. Although the COS resin obtained a good response to hygiene protocols, the greater number of *C. albicans* hyphae adhered to its surface is a fact that deserves attention and future investigations.

Keywords: Printing, three-dimensional. Denture bases. Biofilms. Denture cleansers.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	09
2 PROPOSIÇÃO	14
3 REVISÃO DA LITERATURA	15
3.1 Polimetilmetacrilato (PMMA).....	15
3.2 Resinas para Impressão 3D	18
3.3 Estomatite Protética	23
3.4 Protocolos de Higienização de Prótese Total.....	27
4 MATERIAL E MÉTODO.....	33
4.1 Material	33
4.2 Método	33
4.2.1 Distribuição dos espécimes	33
4.2.1.1 <i>Confecção dos espécimes de resina CLA</i>	34
4.2.1.2 <i>Confecção dos espécimes de resina COS</i>	35
4.2.1.3 <i>Caracterização da rugosidade dos espécimes</i>	38
4.2.2 Avaliação da efetividade dos protocolos de higiene	39
4.2.2.1 <i>Micro-organismos e condições de cultivo</i>	39
4.2.2.2 <i>Formação do biofilme maduro</i>	41
4.2.2.3 <i>Protocolos de higienização</i>	42
4.2.2.4 <i>Contagem de unidades formadoras de colônia por mililitro</i>	44
4.2.2.5 <i>Avaliação do metabolismo celular (ensaio de XTT)</i>	45
4.2.2.6 <i>Análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV)</i>	46
4.2.2.7 <i>Análise por microscopia de varredura confocal a laser</i>	46
4.3 Rugosidade Antes e Depois dos Ciclos de Imersão e Escovação	47
4.4 Análise Estatística	47
5 RESULTADO	48
5.1 Caracterização de Rugosidade dos Espécimes	48
5.2 UFC/mL das Amostras Submetidas à Imersão.....	48
5.3 XTT das Amostras Submetidas à Imersão	49
5.4 UFC/mL das Amostras Submetidas à Escovação e Imersão....	51
5.5 XTT das Amostras Submetidas à Escovação e Imersão	53
5.6 Diferença do Metabolismo por XTT do Grupo Controle Submetido à Imersão e o Grupo Controle Submetido à Associação da Escovação com Imersão	54
5.7 Diferença de Rugosidade Antes e Após a Escovação Associado com a Imersão em Soluções Desinfetantes	55
5.8 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	57
5.9 Microscopia de Varredura Confocal a Laser.....	58

6 DISCUSSÃO	61
7 CONCLUSÃO	73
REFERÊNCIAS	74
APÊNDICES	83

1 INTRODUÇÃO

Próteses totais removíveis são tradicionalmente confeccionadas com poli (metil) metacrilato (PMMA), um composto orgânico classificado como polímero, que apresenta qualidade estética, facilidade de manipulação¹ custo acessível, biocompatibilidade e facilidade de reparos². Entretanto é um potencial substrato para a formação de biofilme, podendo desencadear estomatite protética e até pneumonia por aspiração quando essas peças são más higienizadas³⁻⁵. Essas limitações podem comprometer o sucesso clínico da prótese em longo prazo^{1,6,7}.

A técnica para confecção de bases protéticas com o PMMA envolve procedimentos clínicos e laboratoriais que demandam tempo e custo. Dessa forma, há uma tendência em buscar materiais que superem as limitações químicas e mecânicas do PMMA, e apresentem um método mais simplificado para sua confecção, a fim de reduzir custos diretos e indiretos da fabricação das próteses totais removíveis⁸⁻¹⁰. A tecnologia digital atingiu a odontologia em diversas áreas como: ortodontia, implantodontia, dentística e prótese dentária. Esse avanço possibilitou a confecção de próteses totais removíveis pela técnica subtrativa (fresagem) ou aditiva (impressão 3D)¹¹, reduzindo consideravelmente o número de sessões clínicas e custos a longo prazo¹².

Após uma busca aprofundada na literatura, fica claro que muitos estudos comparam a técnica subtrativa (fresagem) com a convencional (PMMA) para a confecção de próteses removíveis quanto à adaptação¹³, precisão das bases¹⁴, adesão a materiais reembasadores¹⁵, rugosidade superficial¹⁶, resistência à flexão^{17,18}, dureza¹⁷, monômeros residuais¹⁷ e colonização por *C.albicans*¹⁹, mas poucos estudos avaliaram essas variáveis na técnica aditiva. Dentre os estudos que avaliaram a acurácia da técnica aditiva²⁰⁻²³, todos foram unânimes ao afirmar a necessidade de pesquisas investigando propriedades mecânicas e biológicas das resinas impressas, a fim de possibilitar o uso seguro desse material. Na literatura já é possível encontrar publicações da técnica e casos clínicos de próteses removíveis (totais e parciais) confeccionadas através da impressão 3D^{24,25}, mas a carência de dados baseados em evidências científicas permanece.

Uma revisão de literatura comparando as técnicas digitais para confecção de próteses dentárias, destacou as seguintes vantagens da impressão 3D em relação à fresada: economia financeira; maior número de próteses por impressão; impressão

de peças maiores; formas complexas são reproduzidas sem a necessidade de ferramentas de corte especial; impressão de geometrias ilimitadas; técnica mais rápida e sem desperdício¹¹. Entretanto a literatura atual não permite uma conclusão absoluta da superioridade de uma técnica em relação a outra, essa conclusão foi relatada em uma revisão sistemática atual²⁶.

Por se tratar de um material novo no mercado odontológico, onde muitos dos produtos encontram-se patenteados, há muita dificuldade em acessar a composição dessas resinas impressas. Entretanto sabe-se que existem diferentes modalidades de impressão 3D e para cada uma delas um tipo de resina mais apropriada²⁷. Na área odontológica as impressoras mais utilizadas são a SLA (estereolitografia a laser) e DLP (processamento de luz digital), as quais exigem a utilização de uma resina líquida fotopolimerizável²⁷. Trata-se de uma resina híbrida, polimerizada por luz UV e composta por uma base, fotoiniciadores, estabilizantes e pigmentos²⁷. A base é constituída por monômeros ou oligômeros²⁷. Monômeros epóxis e monômero acrilatos são as bases mais comuns, entretanto monômero vinil e éter e outros tipos também são encontrados^{28,29}. Os monômeros devem ter viscosidade baixa a moderada, para possibilitar uma polimerização rápida e a produção de polímeros reticulados com propriedades adequadas para as demandas mecânicas impostas²⁸. Outro componente importante é o fotoiniciador, presente em concentrações relativamente altas (3-5% em peso), com o objetivo de atingir uma polimerização rápida²⁸. A viscosidade baixa a moderada das bases das resinas impressas e o uso de monômeros acrilatos de cura rápida geram uma resistência mecânica um tanto limitada, ao passo que bases compostas por metacrilatos análogos oferecem polímeros de maior resistência e melhor biocompatibilidade²⁷.

A perda do elemento dental desencadeia aos pacientes edêntulos uma microbiota diferente dos dentados. Há uma menor quantidade de micro-organismos anaeróbios e uma maior presença de leveduras e lactobacilos. Essa diferença na microbiota gera sobre as bases acrílicas de próteses removíveis um biofilme diferente do encontrado na superfície dental. Biofilme é o nome dado a uma comunidade complexa de micro-organismos incorporados em uma matriz extracelular, aderida a uma superfície inerte ou viva³⁰⁻³². A estrutura de um biofilme maduro proporciona vantagens para os micro-organismos em comparação com sua forma planctônica (livre), pois a organização em comunidade facilita a captação de nutrientes, maior proteção contra desidratação e resistência a antimicrobianos³³. Os

biofilmes são responsáveis por boa parte das infecções humanas e têm ligação com a exacerbação ou amenização dos sintomas, tornando as infecções persistentes difíceis de serem eliminadas por antimicrobianos e pelo sistema imunológico³⁰.

Os biofilmes formados sobre bases acrílicas de próteses removíveis são facilmente colonizados em profundidade pela presença de irregularidades e porosidades deste material^{34,35}. Dessa forma, próteses removíveis são consideradas um reservatório de patógenos respiratórios dentro da cavidade oral³⁶⁻³⁸. A proximidade dessas próteses com o trato respiratório aumenta o risco de aspiração dos patógenos do biofilme protético para os pulmões³⁶, da mesma forma, o contato constante desse biofilme com a mucosa do paciente pode predispor o aparecimento de estomatite protética (EP) quando associado a fatores etiológicos (próteses mal adaptadas; uso contínuo e noturno das próteses removíveis; má higiene; tabagismo; xerostomia; diabetes; deficiência nutricional)³⁹.

A literatura aponta que a saúde bucal precária pode ser o maior fator de risco para pneumonia por aspiração em pacientes idosos³⁻⁵. A higiene bucal adequada nessa população pode evitar uma em cada dez mortes⁴. Pacientes mais idosos são os principais usuários de próteses removíveis⁴⁰ e boa parte dessa população não consegue higienizar as próteses adequadamente^{41,42}, há uma correlação positiva entre próteses removíveis má higienizadas e a prevalência de *C. albicans*⁴¹, logo é fácil concluir que esses usuários merecem uma atenção especial.

A EP, é uma infecção associada à colonização de diversos micro-organismos, especialmente *C. albicans*, o principal patógeno³⁰. A capacidade de adesão e a formação de biofilmes estruturados de *Candida spp.* na resina da base protética vem sendo apontada como um dos principais responsáveis pelo desenvolvimento da EP⁴³ que é tradicionalmente tratada com medicamentos tópicos ou sistêmicos³⁰. Na cavidade bucal a concentração dos medicamentos tópicos é reduzida a valores subterapêuticos devido ao efeito diluente da saliva, necessitando de múltiplas doses⁴⁴. Os medicamentos sistêmicos, por sua vez, podem promover efeitos colaterais hepatotóxicos e/ou nefrotóxicos, que exige muita cautela durante sua prescrição⁴⁴, além do risco de desenvolver cepas resistentes pelo uso indiscriminado desse antifúngico⁴⁵. Embora os antifúngicos aliviem os sinais e sintomas clínicos da EP, eles podem não erradicar completamente os micro-organismos, ocasionando reinfecção após o tratamento, isso tem sido atribuído ao ressurgimento da cepa infectante inicial impregnada na base das próteses⁴⁶.

Dessa forma, é imprescindível a realização de um método de higiene eficaz para a remoção do biofilme sobre próteses totais removíveis. Dentre os métodos de higiene, destacam-se: (1) mecânicos, através da escovação manual e limpeza com ultrassom; (2) químicos, por imersão em agentes de limpeza, desinfetantes e enxaguatórios bucais e (3) físicos, por irradiação em micro-ondas, laser de baixa intensidade e terapia fotodinâmica⁴². Custo mais baixo, acessibilidade e simplicidade fazem com que a portadores de próteses removíveis utilizem com maior frequência a escovação com dentífrico⁴², sabonete ou água⁴⁷. Sabonetes antissépticos têm sido uma alternativa de bom custo-benefício e eficiente^{48,49}. Dentre as soluções de sabonetes líquidos desinfetantes destaca-se o sabonete Lifebuoy, como uma alternativa acessível, efetiva no controle de biofilme de *C. albicans* formado sobre espécimes de resina acrílica, isentos de citotoxicidade, sem alterações das propriedades físicas e mecânicas dos espécimes após seu uso^{48,49} e efetivo na redução *C. albicans* e *C. tropicalis* coletadas da superfície interna de usuários de próteses⁵⁰. O uso do sabonete Lifebuoy associado à escovação reduziu UFC/mL de *C. albicans*⁵¹.

A escovação isoladamente é insuficiente para remover o biofilme protético^{42,52}, sobretudo quando o paciente apresenta destreza manual comprometida e perda de percepção visual, características encontradas frequentemente nos usuários de próteses totais⁴². Na tentativa de aumentar a eficácia da remoção do biofilme protético, tem sido recomendado a associação dos métodos mecânicos com os químicos⁴².

A imersão de próteses removíveis em hipoclorito de sódio e peróxido alcalino são os métodos químicos mais utilizados^{42,53-55}. O hipoclorito é um produto facilmente encontrado no comércio, custo acessível e propriedades de limpeza superiores aos demais produtos químicos desta categoria, mesmo quando utilizados em curto período de imersão e em baixa concentração⁵⁶. Um estudo in vitro simulando a imersão por 20 minutos durante 5 anos do hipoclorito de sódio em menores concentrações (0,5%) além de apresentar bons resultados microbiológicos, não alterou a cor nem a resistência a flexão do PMMA, e a alteração de rugosidade foi clinicamente aceitável⁵⁶. Um estudo clínico randomizado concluiu que a imersão em hipoclorito de sódio 0,25% foi o protocolo mais eficaz no controle de *Candida spp.* quando comparado com Ricinus communis 10% e cloramina-T 0,5%⁵⁷. Sucessivas desinfecções com hipoclorito de sódio de baixa concentração (1%) e

peróxido alcalino não alteraram as propriedades físicas e mecânicas das resinas de base de prótese^{58,59} e dentes artificiais⁶⁰. Estudos mais recentes, envolvendo concentrações de hipoclorito de sódio ainda menores (0,25%), apresentaram uma redução eficaz na contagem de UFC/mL nos espécimes de próteses^{61,62}. Menor citotoxicidade⁶³ e ausência de odor residual vêm impulsionando a utilização do peróxido alcalino como um método químico no controle antimicrobiano^{64,65}. Já o uso de digluconato de clorexidina a 2% por imersão durante 10 minutos pode proporcionar uma desinfecção duradoura em próteses totais colonizadas por *Staphylococcus aureus* resistentes à metilicina⁶⁶.

Nenhum estudo, até o momento, avaliando protocolos de higienização em resinas para base protética impressas pela tecnologia 3D foi encontrado. Logo, nossa proposta visa estabelecer um protocolo de higiene seguro e eficaz, reunindo as vantagens de cada método de desinfecção, bem como a associação do método mecânico (escovação) e químico (imersão) no controle do biofilme formado sobre as bases de próteses dessa nova categoria de resina, confeccionadas pela tecnologia de impressão 3D.

7 CONCLUSÃO

Segundo a metodologia e condições experimentais executadas na atual investigação, foi possível concluir que:

- a. Apesar da resina impressa apresentar um biofilme mais espesso e com mais hifas, sua exposição aos protocolos de higiene possibilitou um controle efetivo desse biofilme.
- b. Imersão em hipoclorito 0,25%, associada ou não a escovação, foi o melhor protocolo de higiene, além de eliminar as UFC/mL, removeu, quase que completamente, as células mortas sobre os espécimes.
- c. Para próteses removíveis com a presença de estrutura metálica, o protocolo mais indicado é a imersão em clorexidina 2%, associada ou não à escovação em solução lifebuoy, em seguida a imersão em peróxido alcalino associado à escovação prévia com lifebuoy.
- d. Na ausência de uma solução química para imersão, a escovação em uma solução inerte traz resultados interessantes para o controle do biofilme.

REFERÊNCIAS*

1. Alhareb AO, Akil HM, Ahmad ZA. PMMA denture base composites reinforced by nitrile rubber and ceramic fillers. *Polym Polym Compos*. 2016; 24(1): 71–9.
2. Zafar MS. Prosthodontic applications of polymethyl methacrylate (PMMA): an update. *Polymers (Basel)*. 2020; 12(10): 1–35.
3. Janssens J-P, Krause K-H. Pneumonia in the very old. *Lancet Infect Dis*. 2004; 4(2): 112–24.
4. Sjögren P, Nilsson E, Forsell M, Johansson O, Hoogstraate J. A systematic review of the preventive effect of oral hygiene on pneumonia and respiratory tract infection in elderly people in hospitals and nursing homes: effect estimates and methodological quality of randomized controlled trials. *J Am Geriatr Soc*. 2008; 56(11): 2124–30.
5. Terpenning M. Geriatric oral health and pneumonia risk. *Clin Infect Dis*. 2005; 40(12): 1807–10.
6. Straioto FG, Ricomini Filho AP, Fernandes Neto AJ, del Bel Cury AA. Polytetrafluorethylene added to acrylic resins: mechanical properties. *Braz Dent J*. 2010; 21(1): 55–9.
7. Pero AC, Barbosa DB, Marra J, Ruvolo-Filho AC, Compagnoni MA. Influence of microwave polymerization method and thickness on porosity of acrylic resin. *J Prosthodont Off J Am Coll Prosthodont*. 2008; 17(2): 125–9.
8. Regis RR, Cunha TR, Della Vecchia MP, Ribeiro AB, Silva-Lovato CH, De Souza RF. A randomised trial of a simplified method for complete denture fabrication: patient perception and quality. *J Oral Rehabil*. 2013; 40(7): 535–45.
9. Vecchia MP Della, Regis RR, Cunha TR, de Andrade IM, da Matta JCS, de Souza RF. A randomized trial on simplified and conventional methods for complete denture fabrication: cost analysis. *J Prosthodont Off J Am Coll Prosthodont*. 2014; 23(3): 182–91.
10. Cunha TR, Della Vecchia MP, Regis RR, Ribeiro AB, Muglia VA, Mestriner W, et al. A randomised trial on simplified and conventional methods for complete denture fabrication: masticatory performance and ability. *J Dent*. 2013; 41(2): 133–42.
11. Alghazzawi TF. Advancements in CAD/CAM technology: options for practical implementation. *J Prosthodont Res*. 2016; 60(2): 72–84.
12. Bidra AS, Dds DT, Agar JR. Computer-aided technology for fabricating complete dentures : systematic review of historical background, current status, and future perspectives. *J Prosthet Dent*. 2012; 109(6): 361–6.

* De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca: <http://www.foar.unesp.br/Home/Biblioteca/guia-de-normalizacao-atualizado.pdf>

13. McLaughlin JB, Ramos VJ, Dickinson DP. Comparison of fit of dentures fabricated by traditional techniques versus CAD/CAM technology. *J Prosthodont Off J Am Coll Prosthodont*. 2019; 28(4): 428–35.
14. Lee S, Hong S, Paek J, Pae A, Kwon K, Noh K. Comparing accuracy of denture bases fabricated by injection molding, CAD / CAM milling, and rapid prototyping method. 2019; 2015: 55–64.
15. Choi JE, Ng TE, Leong CKY, Kim H, Li P, Waddell JN. Adhesive evaluation of three types of resilient denture liners bonded to heat-polymerized, autopolymerized, or CAD-CAM acrylic resin denture bases. *J Prosthet Dent*. 2018; 120(5): 699–705.
16. Al-dwairi ZN, England M, Glasgow M, Edinburgh M. A Comparison of the surface properties of CAD / CAM and conventional polymethylmethacrylate (PMMA). 2019; 28: 452–7.
17. Ayman AD. The residual monomer content and mechanical properties of CAD\CAM resins used in the fabrication of complete. *Electron physician Clin*. 2017; 9: 4766–72.
18. Al-dwairi ZN, England M, Glasg M, Ed M, Tahboub KY, Baba NZ, et al. A comparison of the flexural and impact strengths and flexural modulus of CAD / CAM and conventional heat-cured polymethyl methacrylate (PMMA). 2018; 1–9.
19. Al-Fouzan AF, Al-Mejrad LA, Albarrag AM. Adherence of *Candida* to complete denture surfaces in vitro: a comparison of conventional and CAD/CAM complete dentures. *J Adv Prosthodont*. 2017; 9(5): 402–8.
20. Tasaka A, Matsunaga S, Odaka K, Ishizaki K, Ueda T, Abe S, et al. Accuracy and retention of denture base fabricated by heat curing and additive manufacturing. *J Prosthodont Res*. 2019; 63(1): 85–9. <https://doi.org/10.1016/j.jpor.2018.08.007>.
21. Kalberer N, Mehl A, Schimmel M, Müller F, Srinivasan M. CAD-CAM milled versus rapidly prototyped (3D-printed) complete dentures: an in vitro evaluation of trueness. *J Prosthet Dent*. 2019;121(4):637–43.
22. Yoon SN, Oh KC, Lee SJ, Han JS, Yoon HI. Tissue surface adaptation of CAD-CAM maxillary and mandibular complete denture bases manufactured by digital light processing: a clinical study. *J Prosthet Dent*. 2020; 124(6): 682–9. <https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2019.11.007>.
23. Yoon HI, Hwang HJ, Ohkubo C, Han JS, Park EJ. Evaluation of the trueness and tissue surface adaptation of CAD-CAM mandibular denture bases manufactured using digital light processing. *J Prosthet Dent*. 2018; 120(6): 919–26. <https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2018.01.027>.
24. Nishiyama H, Taniguchi A, Tanaka S, Baba K. Novel fully digital workflow for removable partial denture fabrication. *J Prosthodont Res*. 2020; 64(1): 98–103. <https://doi.org/10.1016/j.jpor.2019.05.002>.

25. Unkovskiy A, Wahl E, Zander AT, Huettig F, Spintzyk S. Intraoral scanning to fabricate complete dentures with functional borders: a proof-of-concept case report. *BMC Oral Health*. 2019; 19(1): 1–7.
26. Wang C, Shi YF, Xie PJ, Wu JH. Accuracy of digital complete dentures: a systematic review of in vitro studies. *J Prosthet Dent*. 2021; 125(2): 249–56. <https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2020.01.004>.
27. Stansbury JW, Idacavage MJ. 3D printing with polymers: challenges among expanding options and opportunities. *Dent Mater*. 2016; 32(1): 54–64. <http://dx.doi.org/10.1016/j.dental.2015.09.018>.
28. Berg GJ, Gong T, Fenoli CR, Bowman CN. A dual-cure, solid-state photoresist combining a thermoreversible diels-alder network and a chain growth acrylate network. *Macromolecules*. 2014; 47(10): 3473–82.
29. Yan C, Shi Y, Yang J, Liu J. Multiphase polymeric materials for rapid prototyping and tooling technologies and their applications. *Compos Interfaces*. 2010; 17(2–3): 257–71.
30. Rautemaa R, Ramage G. Oral candidosis-clinical challenges of a biofilm disease. *Crit Rev Microbiol*. 2011; 37(4): 328–36.
31. Kim J, Sudbery P. *Candida albicans*, a major human fungal pathogen. *J Microbiol*. 2011; 49(2): 171–7.
32. Finkel JS, Mitchell AP. Genetic control of *Candida albicans* biofilm development. Vol. 9, *Nature reviews. Microbiology*. England; 2011. p. 109–18.
33. Chandra J, Mukherjee PK, Ghannoum MA. In vitro growth and analysis of *Candida* biofilms. *Nat Protoc*. 2008; 3(12): 1909–24.
34. Chau VB, Saunders TR, Pimsler M, Elfring DR. In-depth disinfection of acrylic resins. *J Prosthet Dent*. 1995; 74(3): 309–13.
35. Pereira-Cenci T, Del Bel Cury AA, Crielaard W TCJ. Development of *Candida*-associated denture stomatitis: new insights. *J Appl Oral Sci*. 2008; 16(2): 86–94.
36. O'Donnell LE, Smith K, Williams C, Nile CJ, Lappin DF, Bradshaw D, et al. Dentures are a reservoir for respiratory pathogens. *J Prosthodont Off J Am Coll Prosthodont*. 2016; 25(2): 99–104.
37. Sumi Y, Miura H, Sunakawa M, Michiwaki Y, Sakagami N. Colonization of denture plaque by respiratory pathogens in dependent elderly. *Gerodontology*. 2002; 19(1): 25–9.
38. Sumi Y, Kagami H, Ohtsuka Y, Kakinoki Y, Haruguchi Y, Miyamoto H. High correlation between the bacterial species in denture plaque and pharyngeal microflora. *Gerodontology*. 2003; 20(2): 84–7.
39. Gendreau L, Loewy ZG. Epidemiology and etiology of denture stomatitis. *J Prosthodont Off J Am Coll Prosthodont*. 2011; 20(4): 251–60.

40. Kassebaum NJ, Bernabé E, Dahiya M, Bhandari B, Murray CJL, Marcenes W. Global burden of severe tooth loss: a Systematic review and meta-analysis. *J Dent Res*. 2014; 93: 20S-28S.
41. Kanli A, Demirel F, Sezgin Y. Oral candidosis, denture cleanliness and hygiene habits in an elderly population. *Aging Clin Exp Res*. 2005; 17(6): 502–7.
42. Papadiochou S, Polyzois G. Hygiene practices in removable prosthodontics: a systematic review. *Int J Dent Hyg*. 2018; 16(2): 179–201.
43. Hilgert JB, Giordani JM do A, de Souza RF, Wendland EMDR, D'Avila OP, Hugo FN. Interventions for the management of denture stomatitis: a systematic review and meta-Analysis. *J Am Geriatr Soc*. 2016; 64(12): 2539–45.
44. Appleton SS. Candidiasis: pathogenesis, clinical characteristics, and treatment. *J Calif Dent Assoc*. 2000; 28(12): 942–8.
45. Shapiro RS, Robbins N, Cowen LE. Regulatory circuitry governing fungal development, drug resistance, and disease. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2011; 75(2): 213–67.
46. Banting DW, Hill SA. Microwave disinfection of dentures for the treatment of oral candidiasis. *Spec care Dent Off Publ Am Assoc Hosp Dent Acad Dent Handicap Am Soc Geriatr Dent*. 2001; 21(1): 4–8.
47. Apratim A, Shah SS, Sinha M, Agrawal M, Chhaparia N, Abubakkar A. Denture hygiene habits among elderly patients wearing complete dentures. *J Contemp Dent Pract*. 2013;14(6):1161–4.
48. de Oliveira Zoccolotti J, Tasso CO, Arbeláez MIA, Malavolta IF, da Silva Pereira EC, Esteves CSG, et al. Properties of an acrylic resin after immersion in antiseptic soaps: low-cost, easy-access procedure for the prevention of denture stomatitis. *PLoS One*. 2018; 13(8): 1–22.
49. Zoccolotti J de O, Suzuki RB, Rinaldi TB, Pellissari CVG, Sanitá PV, Jorge JH. Physical properties of artificial teeth after immersion in liquid disinfectant soaps. *Am J Dent*. 2019; 32(1): 14–20.
50. Tasso C, de Oliveira Zoccolotti J, Ferrisse T, Malavolta I, Jorge J. Effectiveness of disinfectant liquid soaps in the reduction of candida spp present in complete dentures: a crossover randomized clinical trial. *Int J Prosthodont*. 2020; 33(6): 620–8.
51. Ribas BR, Tasso CO, Ferrisse TM, Jorge JH. Influence of brushing with antiseptic soap solution on the surface and biological properties of an acrylic denture base resin. *Am J Dent*. 2022; 35(5): 238–44.
52. Aslanimehr M, Mojarad N, Ranjbar S, Aalaei S. In vitro comparison of the effects of microwave irradiation and chemical and mechanical methods on the disinfection of complete dentures contaminated with *Candida albicans*. *Dent Res J (Isfahan)*. 2018; 15(5): 340–6.

53. Buergers R, Rosentritt M, Schneider-Brachert W, Behr M, Handel G, Hahnel S. Efficacy of denture disinfection methods in controlling *Candida albicans* colonization in vitro. *Acta Odontol Scand*. 2008; 66(3): 174–80.
54. Pavarina AC, Machado AL, Giampaolo ET, Vergani CE. Effects of chemical disinfectants on the transverse strength of denture base acrylic resins. *J Oral Rehabil*. 2003; 30(11): 1085–9.
55. Pellizzaro D, Polyzois G, Machado AL, Giampaolo ET, Sanitá PV, Vergani CE. Effectiveness of mechanical brushing with different denture cleansing agents in reducing in vitro *Candida albicans* biofilm viability. *Braz Dent J*. 2012; 23(5): 547–54.
56. Arruda CNF, Sorgini DB, De Oliveira VC, Macedo AP, Lovato CHS, De Paranhos HFO. Effects of denture cleansers on heat-polymerized acrylic resin: a five-year-simulated period of use. *Braz Dent J*. 2015; 26(4): 404–8.
57. Badaró MM, Bueno FL, Arnez RM, Oliveira V de C, Macedo AP, de Souza RF, et al. The effects of three disinfection protocols on *Candida* spp., denture stomatitis, and biofilm: a parallel group randomized controlled trial. *J Prosthet Dent*. 2020; 124(6): 690–8.
58. Neppelenbroek KH, Pavarina AC, Vergani CE, Giampaolo ET. Hardness of heat-polymerized acrylic resins after disinfection and long-term water immersion. *J Prosthet Dent*. 2005; 93(2): 171–6.
59. Panariello BHD, Izumida FE, Moffa EB, Pavarina AC, Jorge JH, Giampaolo ET. Effects of short-term immersion and brushing with different denture cleansers on the roughness, hardness, and color of two types of acrylic resin. *Am J Dent*. 2015; 28(3): 150–6.
60. Pero AC, Scavassin PM, Nunes ÉM, Policastro VB, Giro G, Compagnoni MA. bond strength of artificial teeth attached to a microwave-polymerized denture base resin after immersion in disinfectant solutions. *J Prosthodont Off J Am Coll Prosthodont*. 2016; 25(7): 576–9.
61. Badaró MM, Salles MM, Leite VMF, de Arruda CNF, Oliveira VDC, do Nascimento C, et al. Clinical trial for evaluation of *Ricinus communis* and sodium hypochlorite as denture cleanser. *J Appl Oral Sci*. 2017; 25(3): 324–34.
62. Salles MM, Oliveira VDC, de Souza RF, da Silva CHL, Paranhos HDFO. Antimicrobial action of sodium hypochlorite and castor oil solutions for denture cleaning – in vitro evaluation. *Braz Oral Res*. 2015; 29(1): 1–6.
63. Masetti P, Arbeláez MIA, Pavarina AC, Sanitá PV, Jorge JH. Cytotoxic potential of denture base and relined acrylic resins after immersion in disinfectant solutions. *J Prosthet Dent*. 2018; 120(1): 155.e1-155.e7.
64. Panariello BHD, Izumida FE, Moffa EB, Pavarina AC, Jorge JH, Giampaolo ET. Effect of mechanical toothbrushing combined with different denture cleansers in reducing the viability of a multispecies biofilm on acrylic resins. *Am J Dent*. 2016; 29(3): 154–60.

65. Pavarina AC, Pizzolitto AC, Machado AL, Vergani CE, Giampaolo ET. An infection control protocol: effectiveness of immersion solutions to reduce the microbial growth on dental prostheses. *J Oral Rehabil.* 2003; 30(5): 532–6.
66. Altieri KT, Sanitá PV, Machado AL, Giampaolo ET, Pavarina AC VC. Effectiveness of two disinfectant solutions and microwave irradiation in disinfecting complete dentures contaminated with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Am Dent Assoc.* 2012; 143(3): 270–7.
67. J R. Ueber die zerlegungsprodukte des glyceryloxydes durch trockene destillation. *Justus Liebigs AnnChem.* 1843; 47(2): 113–48.
68. Bettencourt AF, Neves CB, de Almeida MS, Pinheiro LM, Oliveira SA e, Lopes LP, et al. Biodegradation of acrylic based resins: a review. *Dent Mater.* 2010; 26(5): e171-80.
69. Figuerôa RMS, Conterno B, Arrais CAG, Sugio CYC, Urban VM, Neppelenbroek KH. Porosity, water sorption and solubility of denture base acrylic resins polymerized conventionally or in microwave. *J Appl Oral Sci.* 2018; 26: 1–7.
70. Paleari AG, Marra J, Pero AC, Rodriguez LS, Ruvolo-Filho A, Compagnoni MA. Effect of incorporation of 2-tert-butylaminoethyl methacrylate on flexural strength of a denture base acrylic resin. *J Appl Oral Sci.* 2011; 19(3): 195–9.
71. Shim JS, Kim JE, Jeong SH, Choi YJ, Ryu JJ. Printing accuracy, mechanical properties, surface characteristics, and microbial adhesion of 3D-printed resins with various printing orientations. *J Prosthet Dent.* 2020; 124(4): 468–75. <https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2019.05.034>.
72. Gantz L, Fauxpoint G, Arntz Y, Pelletier H, Etienne O. In vitro comparison of the surface roughness of polymethyl methacrylate and bis-acrylic resins for interim restorations before and after polishing. *J Prosthet Dent.* 2021; 125(5): 833.e1-833.e10.
73. Arutyunov S, Kirakosyan L, Dubova L, Kharakh Y, Malginov N. Microbial adhesion to dental polymers for conventional , computer-aided subtractive and additive manufacturing : a comparative in vitro study. 2022; 11; 13(2):42. doi: 10.3390/jfb13020042.
74. Lee S, Hong SJ, Paek J, Pae A, Kwon KR, Noh K. Comparing accuracy of denture bases fabricated by injection molding, CAD/CAM milling, and rapid prototyping method. *J Adv Prosthodont.* 2019; 11(1): 55–64.
75. Revilla-León M, Meyers MJ, Zandinejad A, Özcan M. A review on chemical composition, mechanical properties, and manufacturing work flow of additively manufactured current polymers for interim dental restorations. *J Esthet Restor Dent.* 2019; 31(1): 51–7.
76. Scotti CK, Velo MM de AC, Rizzante FAP, Nascimento TR de L, Mondelli RFL, Bombonatti JFS. Physical and surface properties of a 3D-printed composite resin for a digital workflow. *J Prosthet Dent.* 2020; 124(5): 614.e1-614.e5.

77. Pantea M, Ciocoiu RC, Greabu M, Totan AR, Imre M, Țâncu AMC, et al. Compressive and flexural strength of 3d-printed and conventional resins designated for interim fixed dental prostheses: an in vitro comparison. *Materials (Basel)*. 2022; 15(9): 3075. doi: 10.3390/ma15093075.
78. Al-Qahtani AS, Tulbah HI, Binhasan M, Abbasi MS, Ahmed N, Shabib S, et al. Surface properties of polymer resins fabricated with subtractive and additive manufacturing techniques. *Polymers (Basel)*. 2021; 13(23): 4077. doi: 10.3390/polym13234077.
79. Jain S, Sayed ME, Shetty M, Alqahtani SM, Hussain M, Al D, et al. physical and mechanical properties of 3d-printed provisional crowns and fixed dental prosthesis resins compared to CAD / CAM milled and conventional provisional resins : a systematic review and meta-analysis. 2022; 14(13): 2691. doi: 10.3390/polym14132691.
80. Giti R, Dabiri S, Motamedifar M, Derafshi R. Surface roughness, plaque accumulation, and cytotoxicity of provisional restorative materials fabricated by different methods. *PLoS One*. 2021; 16(4): 1–12.
81. Simoneti DM, Pereira-Cenci T, Dos Santos MBF. Comparison of material properties and biofilm formation in interim single crowns obtained by 3D printing and conventional methods. *J Prosthet Dent*. 2022; 127(1): 168–72.
82. Meirowitz A, Rahmanov A, Shlomo E, Zelikman H, Dolev E, Sterer N. Effect of denture base fabrication technique on *candida albicans* adhesion in vitro. *Materials (Basel)*. 2021; 14(1): 1–8.
83. da Silva PMB, Acosta EJTR, Pinto L de R, Graeff M, Spolidorio DMP, Almeida RS, et al. Microscopical analysis of *Candida albicans* biofilms on heat-polymerised acrylic resin after chlorhexidine gluconate and sodium hypochlorite treatments. *Mycoses*. 2011; 54(6): e712-7.
84. Badaró MM, Bueno FL, Makrakis LR, Araújo CB, Oliveira V de C, Macedo AP, et al. Action of disinfectant solutions on adaptive capacity and virulence factors of the candida spp. Biofilms formed on acrylic resin. *J Appl Oral Sci*. 2021; 29: 1–11.
85. da Silva FC, Kimpara ET, Mancini MNG, Balducci I, Jorge AOC, Koga-Ito CY. Effectiveness of six different disinfectants on removing five microbial species and effects on the topographic characteristics of acrylic resin. *J Prosthodont*. 2008; 17(8): 627–33.
86. Gornitsky M, Frd C, Paradis I, Landaverde G, Malo A, Velly AM. A Clinical and Microbiological Evaluation of Denture Cleansers for Geriatric Patients in. *J Can Dent Assoc*. 2002; 68(1): 39–45.

87. Vieira APC, Senna PM, da Silva WJ, Del Bel Cury AA. Long-term efficacy of denture cleansers in preventing *Candida* spp. Biofilm recolonization on liner surface. *Braz Oral Res.* 2010; 24(3): 342–8.
88. Rossato MB, Unfer B, May LG, Braun KO. Analysis of the effectiveness of different hygiene procedures used in dental prostheses. *Oral Health Prev Dent.* 2011; 9(3): 221–7.
89. Marra J, Paleari AG, Rodriguez LS, Leite ARP, Pero AC, Compagnoni MA. Effect of an acrylic resin combined with an antimicrobial polymer on biofilm formation. *J Appl Oral Sci.* 2012; 20(6): 643–8.
90. Izumida FE, Moffa EB, Vergani CE, Machado AL, Jorge JH, Giampaolo ET. In vitro evaluation of adherence of *Candida albicans*, *Candida glabrata*, and *Streptococcus mutans* to an acrylic resin modified by experimental coatings. *Biofouling.* 2014; 30(5): 525–33.
91. Jorge JH, Giampaolo ET, Vergani CE, Pavarina AC, Machado AL, Carlos IZ. Effect of microwave postpolymerization treatment and of storage time in water on the cytotoxicity of denture base and reline acrylic resins. *Quintessence Int.* 2009; 40(10): e93-100.
92. Dias K de C, Barbugli PA, Vergani CE. Influence of different buffers (HEPES/MOPS) on keratinocyte cell viability and microbial growth. *J Microbiol Methods.* 2016; 125: 40–2.
93. Panariello BHD, Klein MI, Mima EGDO, Pavarina AC. Fluconazole impacts the extracellular matrix of fluconazole-susceptible and -resistant *Candida albicans* and *Candida glabrata* biofilms. *J Oral Microbiol.* 2018; 10(1). <https://doi.org/10.1080/20002297.2018.1476644>.
94. Zissis AJ, Polyzois GL, Yannikakis SA, Harrison A. Roughness of denture materials: a comparative study. *Int J Prosthodont.* 2000; 13(2): 136–40.
95. Curd M. L. Bollenl, Paul Lambrechts MQ. Bollenl-1997-Comparison-of-surface-roughness-of-.pdf. *Dent Mater.* 1997; 258–69.
96. Pereira-Cenci T, Cury AADB, Cenci MS, Rodrigues-Garcia RCM. In vitro *Candida* colonization on acrylic resins and denture liners: influence of surface free energy, roughness, saliva, and adhering bacteria. *Int J Prosthodont.* 2007; 20(3): 308–10.
97. Bürgers R, Hahnel S, Reichert TE, Rosentritt M, Behr M, Gerlach T, et al. Adhesion of *Candida albicans* to various dental implant surfaces and the influence of salivary pellicle proteins. *Acta Biomater.* 2010; 6(6): 2307–13.
98. Minagi S, Miyake Y, Inagaki K, Tsuru H, Suginaka H. Hydrophobic interaction in *Candida albicans* and *Candida tropicalis* adherence to various denture base resin materials. *Infect Immun.* 1985; 47(1): 11–4.
99. An YH, Friedman RJ. Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterial surfaces. *J Biomed Mater Res.* 1998; 43(3): 338–48.

100. Masuoka J, Hazen KC. Cell wall mannan and cell surface hydrophobicity in *Candida albicans* serotype A and B strains. *Infect Immun*. 2004; 72(11): 6230–6.
101. Katsikogianni M, Missirlis YF, Harris L, Douglas J. Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterials and of techniques used in estimating bacteria-material interactions. *Eur Cells Mater*. 2004;8:37–57.
102. Lee MJ, Kim MJ, Oh SH, Kwon JS. Novel dental poly (methyl methacrylate) containing phytoncide for antifungal effect and inhibition of oral multispecies biofilm. *Materials (Basel)*. 2020; 13(2): 371. doi: 10.3390/ma13020371.
103. Paolone G, Moratti E, Goracci C, Gherlone E, Vichi A. Effect of finishing systems on surface roughness and gloss of full-body bulk-fill resin composites. *Materials (Basel)*. 2020; 13(24): 1–9.
104. Paraskevas S, Rosema NAF, Versteeg P, Timmerman MF, van der Velden U, van der Weijden GA. the additional effect of a dentifrice on the instant efficacy of toothbrushing: a crossover study. *J Periodontol*. 2007; 78(6): 1011–6.
105. Kumamoto CA, Vines MD. Contributions of hyphae and hypha-co-regulated genes to *Candida albicans* virulence. *Cell Microbiol*. 2005; 7(11): 1546–54.
106. Jackson S, Coulthwaite L, Loewy Z, Scallan A, Verran J. Biofilm development by blastospores and hyphae of *Candida albicans* on abraded denture acrylic resin surfaces. *J Prosthet Dent*. 2014 ;112(4): 988–93.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.prosdent.2014.02.003>.
107. Gama MCM, de Oliveira DG, da Silva PMB, Ordinola-Zapata R, Duarte MH, Porto VC. Antifungal activity of 4% chlorhexidine and 2% sodium hypochlorite against *Candida albicans* biofilms. *Gen Dent*. 2015; 63(5): 43–7.