



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de Araçatuba

VICTOR AUGUSTO ALVES BENTO

**Efeito da adesão de *Candida albicans* e processo de
descontaminação nas propriedades de superfície, ópticas e
mecânicas em resinas acrílicas para base de dentadura do método
fresado CAD/CAM e impresso 3D**

Araçatuba – SP
2024

VICTOR AUGUSTO ALVES BENTO

**Efeito da adesão de *Candida albicans* e processo de
descontaminação nas propriedades de superfície, ópticas e
mecânicas em resinas acrílicas para base de dentadura do método
fresado CAD/CAM e impresso 3D**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista (Unesp), como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Odontologia – Área de concentração em Prótese Dentária.

Orientador: Prof. Tit. Eduardo Piza Pellizzer

Catálogo na Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

C186e Bento, Victor Augusto Alves.
Efeito da adesão de *Candida albicans* e processo de des-
contaminação nas propriedades de superfície, ópticas e
mecânicas em resinas acrílicas para base de dentadura do
método fresado CAD/CAM e impresso 3D / Victor Augusto
Alves Bento. – Araçatuba, 2024
86 f. : il. ; tab.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Orientador: Prof. Eduardo Piza Pellizzer

1. Polimetil metacrilato 2. Desenho assistido por compu-
tador 3. Dentaduras 4. Estomatite sob prótese 5. Desinfecção
I. T.

Black D3
CDD 617.69

DEDICATÓRIA

A Deus, que na sua infinita misericórdia sempre ouviu minhas orações e honrou todo meu esforço e trabalho, por sempre abençoar o meu caminho e nunca me desamparar diante das dificuldades e decisões da vida, por mim constituir o dom da vida e da sabedoria.

A minha família, que é a maior obra de Deus em minha vida, por sempre estarem ao meu lado, por serem minha base em todas as minhas decisões, por serem meu porto seguro, minha aliança e confiança, por serem a razão de todas as minhas lutas e dedicação, por serem minha fonte de princípios, verdade e amor.

AGRADECIMENTOS

ESPECIAIS

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao meu orientador Eduardo Piza Pellizzer, que me acolheu e me escolheu como seu orientado. Durante esses anos trabalhamos firmemente na construção de projetos, pesquisas e artigos científicos, sempre nos mostrando um caminho acadêmico cheio de possibilidades, tornando o impossível possível. Obrigado por todos os conselhos e ensinamentos que contribuíram grandemente para o meu perfil profissional e ético da profissão, por me mostrar a verdadeira essência de um Professor. Também agradeço pelos momentos pessoais compartilhados, sendo estes momentos importantes para a construção de uma relação saudável e agradável entre Orientador e Orientado, mantendo a ética e o respeito.

Aos meus pais José Bento e Ilmária Alves, que me concederam a vida, por me ensinarem valores, princípios e educação, me tornando o reflexo de suas essências. Por terem se dedicado ao nosso lar, nosso alimento, nossa saúde e educação. Por zelarem a importância do lar e o amor familiar. Por confiarem em minhas decisões e dedicarem aos meus estudos, me mostrando um mundo de possibilidades. Por serem minha fonte inspiradora de luta, honra, fé e trabalho.

A minha irmã Fernanda Christinne, que sempre esteve ao meu lado nos melhores e piores momentos, por ser uma grande amiga, por me trazer segurança, carinho e amor. Obrigado por todas conversas e conselhos. Obrigado por ser um exemplo de dedicação e força de vontade.

Ao meu amigo Cleber Davi, que me acolheu como um verdadeiro amigo em Araçatuba, me ajudando em muitos momentos. Obrigado por sua amizade, lealdade e conselhos, por ser esse cara extrovertido, humilde e altruísta. Obrigado por estar ao meu lado durante toda essa jornada, tornando a pessoa que mais me fez crescer nessa caminhada.

A minha professora Luciana Negrão, que é uma grande inspiração de como ser Professor, por mim inspirar a seguir o meio acadêmico, e principalmente, a área da prótese dentária. Por toda sua dedicação ao ensino, carinho e parceria a mim passado.

AGRADECIMENTOS

AGRADECIMENTOS

Aos meus familiares, que mesmo a quilômetros de distância, sempre se fizeram presente em minha vida, me apoiando e torcendo por minhas conquistas, por serem a minha essência.

A todos o membros da República Merthiolate, que me acolheram durante toda a minha jornada em Araçatuba, tornando para mim um lar sempre agradável, com companherismo, boas conversas e segurança.

Aos meus colegas da pós-graduação, que juntos nessa jornada pudemos compartilhar experiências e conhecimentos, sendo uma fonte de apoio, segurança e dedicação.

Aos professores do Departamento de Prótese Dentária, no qual tive o prazer de conhecer e ter uma agradável convivência, por serem uma fonte de inspiração na carreira profissional.

Aos técnicos do Departamento de Prótese Dentária, que sempre estiveram dispostos a nos ajudar e ensinar, sempre atendendo aos nossos pedidos e trabalhando com tamanha dedicação.

A todos os funcionários da FOA UNESP, que estão sempre se dedicando ao trabalho tornando essa instituição grandiosa, demonstrando a essência e a importância do ensino em nosso país.

A biblioteca da FOA UNESP, nossa matéria prima de conhecimento, por toda sua logística e cuidado com os livros, dissertações e teses, por sempre estarem dispostos a nos ajudar e corrigir com grande cuidado e carinho nossos trabalhos.

A toda instituição FOA UNESP, por desenvolver tamanho conhecimento e capacitar inúmeros estudantes e profissionais, no qual levo dessa instituição os títulos de Aperfeiçoamento, Especialista, Mestre e Doutor.

A professora Maria Caroline, que abriu as portas do laboratório de microbiologia do instituto INBIO da UFMS para que fosse possível a realização dessa pesquisa. Obrigado por toda sua dedicação a metodologia desse trabalho, e principalmente, ao apoio para sua realização.

A banca avaliadora desta Tese, que dedicou com tamanho esforço tempo e conhecimento para corrigir e sugerir modificações que elevam a grandeza dessa pesquisa, assim mantendo a seriedade e essência do âmbito científico no país.

EPÍGRAFE

“Os que se encantam com a prática sem a ciência são como os timoneiros que entram no navio sem timão nem bússola, nunca tendo certeza do seu destino”.

Leonardo da Vinci

RESUMO

Bento VAA. Efeito da adesão de *Candida albicans* e processo de descontaminação nas propriedades de superfície, ópticas e mecânicas em resinas acrílicas para base de dentadura do método fresado CAD/CAM e impresso 3D [tese]. Araçatuba: Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista; 2024.

RESUMO GERAL

As próteses fabricadas pelo método CAD/CAM foram introduzidas com o objetivo de reduzir o tempo clínico, facilitar a duplicação de próteses, otimizar a precisão dimensional e melhorar suas propriedades. Estudos demonstram que tanto a adesão de *C. albicans* quanto os limpadores de prótese, podem prejudicar significativamente as propriedades físicas, ópticas e mecânicas das dentaduras. Assim, se torna necessário estudos analisando o efeito da adesão bacteriana e do processo de descontaminação nas propriedades dos materiais mais atuais da confecção da base de dentadura em diferentes tempos de envelhecimento para que se possa responder lacunas na literatura. Essa Tese foi dividida em três capítulos no qual apresentaram diferentes objetivos: Capítulo 1 - Avaliar as propriedades de superfície, estabilidade óptica e adesão de *C. albicans* em resinas para base de dentaduras convencionais, fresadas e impressas 3D diante de envelhecimento por termociclagem; Capítulo 2 - Avaliar a adesão de *C. albicans* e as propriedades mecânicas das resinas para base de dentaduras confeccionadas pelo método convencional, fresado e impresso 3D em diferentes tempos de envelhecimento; Capítulo 3 - Avaliar o efeito dos limpadores de dentaduras na adesão de *C. albicans* e nas propriedades de superfície, óptica e mecânica de resinas para base de dentaduras convencionais, fresadas e impressas 3D. Um total de 432 amostras foram confeccionadas nessa Tese. No capítulo 1 um total de 96 amostras de resinas foram confeccionadas, divididas em 3 grupos de resina (n=32) (convencional termicamente ativada, fresada e impressa 3D), e subdivididas em 4 tempos de envelhecimento por termociclagem à temperatura $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $55\pm 1^{\circ}\text{C}$ em 24h, 5.000, 10.000, 20.000 ciclos (n=8), sendo avaliado a adesão de *C. albicans* (ATCC90028), estabilidade óptica (ΔE_{00}), rugosidade superficial (Ra), hidrofilicidade (ϕ) e energia livre de superfície (Owens-Wendt). Todos os dados foram avaliados por ANOVA two-way e teste de Tukey para comparações múltiplas ($P<0,05$). No capítulo 2 um total de 96 amostras de resinas foram confeccionadas, divididas em 3 grupos de resina (n=32) (convencional termicamente ativada, fresada e impressa 3D), e subdivididas em 4 tempos de envelhecimento por termociclagem à temperatura $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $55\pm 1^{\circ}\text{C}$ em 24h, 5.000, 10.000, 20.000 ciclos (n=8), sendo avaliado a adesão de *C. albicans* (ATCC90028), microdureza superficial (Knoop), resistência à flexão e módulo de elasticidade por ensaio mecânico de três pontos. No capítulo 3 um total de 240

amostras de resinas foram confeccionadas, sendo 120 para os testes de adesão de *C. albicans*, estabilidade óptica (ΔE_{00}), rugosidade (Ra), hidrofilicidade (θ), energia livre de superfície (Owens-Wendt) e 120 amostras para os testes de adesão de *C. albicans*, microdureza superficial (Knoop), resistência à flexão e módulo de elasticidade em ensaio de três pontos, no qual foram divididas em 3 grupos de resina para dentadura (n= 40) e subdivididas em 5 limpadores de dentaduras (n= 8). Nos três capítulos os dados foram avaliados por ANOVA two-way e teste de Tukey para comparações múltiplas ($P<0,05$). No capítulo 1 a resina convencional apresentou ter menor colonização de *C. albicans*, sendo significativamente menor em 5.000 ($P=0,003$) e 20.000 ($P=0,023$) ciclos. Todas as resinas tiveram diferenças significativas das propriedades ao longo do tempo ($P<0,05$), exceto a rugosidade de superficial ($P>0,05$), concluindo que a resina convencional termicamente ativada apresentou menor adesão de *C. albicans* que as resinas fabricadas pelo CAD/CAM. A resina impressa 3D apresentou propriedades inferiores às outras resinas ao longo do tempo. No capítulo 2 a resina fresada apresentou ter menor colonização de *C. albicans*, sendo significativamente menor em 24h ($P=0,007$) e 5.000 ($P=0,032$) ciclos. A resina impressa 3D apresentou significativamente menores valores que as outras resinas nas propriedades mecânicas avaliadas ($P<0,05$), concluindo que a resina impressa 3D apresentou maior adesão de *C. albicans* e propriedades mecânicas inferiores às outras resinas ao longo do tempo. No capítulo 3 os limpadores de dentadura de composição de ácido diluído foram os que apresentaram maior eficácia na redução de *C. albicans* ($P<0,001$), no entanto o NaOCl 1% afetou significativamente as propriedades das resinas ($P<0,05$), concluindo que o uso do Listerine apresentou ser o mais eficaz na redução de *C. albicans* e menos prejudicial as propriedades das dentaduras, enquanto o NaOCl 1% foi o mais prejudicial as propriedades. A resina impressa 3D apresentou propriedades mecânicas inferiores às outras resinas em todos os limpadores de dentadura.

Palavras-chave: PMMA. CAD-CAM. Dentadura. Estomatite Protética. Desinfecção.

Bento VAA. Effect of *Candida albicans* adhesion and decontamination process on surface, optical and mechanical properties in acrylic resins for denture bases using the CAD/CAM milled and 3D printed method [thesis]. Araçatuba: School of Dentistry, Universidade Estadual Paulista; 2024.

GENERAL ABSTRACT

Prostheses manufactured using the CAD/CAM method were introduced with the aim of reducing clinical time, facilitating the duplication of prostheses, optimizing dimensional accuracy, improving their mechanical properties and reducing roughness. Studies demonstrate that both the adhesion of *C. albicans* and denture cleaners can significantly harm the physical, optical and mechanical properties of dentures. Therefore, studies analyzing the effect of bacterial adhesion and the decontamination process on the properties of the most current methods for manufacturing denture bases at different aging times are necessary so that gaps in the literature can be addressed. This Thesis was divided into three chapters in which they presented different objectives: Chapter 1 - Evaluate the surface properties, optical stability and adhesion of *C. albicans* to resins for the base of conventional, milled and 3D printed dentures in the face of aging by thermocycling; Chapter 2 - Evaluate the adhesion of *C. albicans* and the mechanical properties of resins for denture bases made using the conventional method, milled and 3D printed at different aging times; Chapter 3 - Evaluate the effect of denture cleaners on the adhesion of *C. albicans* and on the surface, optical and mechanical properties of resins for conventional, milled and 3D printed denture bases. A total of 432 samples were made in this Thesis. In chapter 1, a total of 96 resin samples were manufactured, divided into 3 resin groups ($n=32$) (conventional thermally activated, milled and 3D printed), and subdivided into 4 aging times by thermocycling at temperature $5\pm1^\circ\text{C}$ and $55\pm1^\circ\text{C}$ in 24h, 5,000, 10,000, 20,000 cycles ($n=8$), evaluating the adhesion of *C. albicans* (ATCC90028), optical stability (ΔE_{00}), surface roughness (R_a), hydrophilicity (θ) and surface free energy (Owens-Wendt). All data were evaluated by two-way ANOVA and Tukey's test for multiple comparisons ($P<0.05$). In chapter 2, a total of 96 resin samples were manufactured, divided into 3 resin groups ($n=32$) (conventional thermally activated, milled and 3D printed), and subdivided into 4 aging times by thermocycling at temperature $5\pm1^\circ\text{C}$ and $55\pm1^\circ\text{C}$ in 24h, 5,000, 10,000, 20,000 cycles ($n=8$), evaluating the adhesion of *C. albicans* (ATCC90028), surface microhardness (Knoop), flexural strength and modulus of elasticity by mechanical test three points. In chapter 3, a total of 240 resin samples were made, 120 of which were for testing *C. albicans* adhesion, optical stability (ΔE_{00}), roughness

(Ra), hydrophilicity (θ), surface free energy (Owens-Wendt) and 120 samples for testing *C. albicans* adhesion, surface microhardness (Knoop), flexural strength and modulus of elasticity in a three-point test, in which they were divided into 3 groups of denture resin (n= 40) and subdivided in 5 denture cleaners (n= 8). In the three chapters, data were evaluated by two-way ANOVA and Tukey's test for multiple comparisons ($P<0.05$). In chapter 1, the conventional resin showed lower colonization of *C. albicans*, being significantly lower at 5,000 ($P=0.003$) and 20,000 ($P=0.023$) cycles. All resins had significant differences in properties over time ($P<0.05$), except surface roughness ($P>0.05$), concluding that the conventional thermally activated resin showed lower adhesion of *C. albicans* than the conventional resins manufactured by CAD/CAM. 3D printed resin has shown inferior properties to other resins over time. In chapter 2, the milled resin showed lower colonization of *C. albicans*, being significantly lower at 24h ($P=0.007$) and 5,000 ($P=0.032$) cycles. The 3D printed resin presented significantly lower values than the other resins in the mechanical properties evaluated ($P<0.05$), concluding that the 3D printed resin showed greater adhesion of *C. albicans* and lower mechanical properties than the other resins over time. In chapter 3, denture cleaners with diluted acid composition were those that showed the greatest effectiveness in reducing *C. albicans* ($P<0.001$), however 1% NaOCl significantly affected the properties of the resins ($P<0.05$), concluding that the use of Listerine was the most effective in reducing *C. albicans* and less harmful to the properties of dentures, while 1% NaOCl was the most harmful to the properties. The 3D printed resin showed lower mechanical properties than other resins in all denture cleaners.

Keywords: PMMA. CAD-CAM. Denture. Denture stomatitis. Disinfection.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1. Reninas acrílicas para base de dentaduras utilizadas no estudo	26
---	----

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Reninas acrílicas para base de dentaduras utilizadas no estudo	45
---	----

CAPÍTULO 3

Tabela 1. Reninas acrílicas para base de dentaduras e agentes de limpeza utilizadas no estudo	62
--	----

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1 – Diagrama representando o delineamento do estudo.	27
Figura 2 – Diagrama microbiológico para adesão de <i>C. albicans</i> .	29
Figura 3 – Resultado média da colonização <i>C. albicans</i> (10^5 UFC/ml).	31
Figura 4 – Resultado média da estabilidade óptica.	32
Figura 5 – Resultado média da rugosidade de superfície	33
Figura 6 – Resultado média da energia livre de superfície.	34
Figura 7 – Resultado média da hidrofilicidade.	35

CAPÍTULO 2

Figura 1 – Diagrama representando o delineamento do estudo.	45
Figura 2 – Diagrama microbiológico para adesão de <i>C. albicans</i> .	48
Figura 3 – Resultado média da colonização <i>C. albicans</i> (10^5 UFC/ml).	50
Figura 4 – Resultado média da microdureza de superfície.	51
Figura 5 – Resultado média da resistência a flexão (Mpa).	52
Figura 6 – Resultado média do módulo de elasticidade (Mpa).	53

CAPÍTULO 3

Figura 1 – Diagrama representando o delineamento do estudo.	63
Figura 2 – Diagrama microbiológico para adesão de <i>C. albicans</i> e processo de descontaminação.	65
Figura 3 – Resultado média da colonização <i>C. albicans</i> (10^5 UFC/ml) nas amostras redondas.	68
Figura 4 – Resultado média da colonização <i>C. albicans</i> (10^5 UFC/ml) nas amostras retangulares.	69
Figura 5 – Resultado média da estabilidade óptica.	70
Figura 6 – Resultado média da rugosidade de superficial.	71
Figura 7 – Resultado média da energia de superfície.	72
Figura 8 – Resultado média da hidrofilicidade.	73
Figura 9 – Resultado média da microdureza superficial.	74
Figura 10 – Resultado média da resistência à flexão (Mpa).	75
Figura 11 – Resultado média do módulo de elasticidade (Mpa).	76

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<i>C. albicans</i>	<i>Candida Albicans</i>
CAD/CAM	Computer aided-design/ Computer aided manufacturing
NaCl	Solução Salina
NaOCl	Hipoclorito de sódio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	20
2 CAPÍTULO 1 – Efeito do envelhecimento nas propriedades de superfície, estabilidade óptica e adesão de <i>C. albicans</i> de resinas para base de dentaduras convencionais, fresadas e impressas 3D	23
2.3 Implicação Clínica	24
2.4 Introdução	25
2.5 Materiais e Métodos	26
2.6 Resultados	31
2.7 Discussão	35
2.8 Conclusão	37
2.9 Referências	37
3 CAPÍTULO 2 – Efeito do envelhecimento nas propriedades mecânicas e adesão de <i>C. albicans</i> de resinas para base de dentaduras convencionais, fresadas e impressas 3D	42
3.3 Implicação Clínica	43
3.4 Introdução	44
3.5 Materiais e Métodos	45
3.6 Resultados	49
3.7 Discussão	53
3.8 Conclusão	55
3.9 Referências	55
4 CAPÍTULO 3 – Efeito dos limpadores de dentaduras na adesão de <i>C. albicans</i> e nas propriedades de resinas para base de dentaduras convencionais, fresadas e impressas 3D	59
4.3 Implicação Clínica	60
4.4 Introdução	61
4.5 Materiais e Métodos	62
4.6 Resultados	67
4.7 Discussão	76
4.8 Conclusão	78
4.9 Referências	79

1 INTRODUÇÃO GERAL*

O polimetilmetacrilato (PMMA), clinicamente aceito há mais de 70 anos, tem sido o polímero acrílico mais utilizado na fabricação das bases de próteses totais removíveis, pois apresentam propriedades mecânicas, físico-químicas e estéticas adequadas, além de preço relativamente baixo, fácil fabricação e biocompatibilidade.¹⁻⁵ As dentaduras são fabricadas, tradicionalmente, pela polimerização induzida por calor, através do método convencional (banho-maria) ou processada por micro-ondas,^{2,3} no entanto, com a introdução da tecnologia de desenho auxiliado por computador/fabricação auxiliada por computador (CAD/CAM) na odontologia, possibilidades de fabricação de dentaduras pelo processo de fresagem e impressão 3D se tornaram possíveis.⁶

As próteses fabricadas pelo método CAD/CAM foram introduzidas com o objetivo de reduzir o tempo clínico, facilitar a duplicação de próteses, otimizar a precisão dimensional, melhorar suas propriedades mecânicas e diminuir a rugosidade.^{6,7} O método de fresagem utiliza de blocos de resina acrílica condensadas sob alta pressão e calor, onde o processo de polimerização ocorre em condições padronizadas, objetivando reduzir a porosidade,⁸ enquanto que o método de impressão 3D utiliza de resina líquida, no qual a confecção da prótese ocorre pela deposição de camadas da resina, sendo simultaneamente fotopolimerizadas por luz ultravioleta, apresentando menor desperdício de material.^{6,9}

As resinas acrílicas apresentam propriedades hidrofóbicas com superfícies porosas e baixa resistência à abrasão, sendo sujeitas a sofrerem alterações superficiais e, concomitante, colonização bacteriana, o que influenciam diretamente na longevidade da reabilitação.⁶ *Candida albicans* é um dos microorganismos saprofíticos de ocorrência comum na cavidade oral⁹ que pode causar complicações como a estomatite protética^{10,11} que atinge cerca de 70% dos pacientes usuários de próteses totais.¹² O biofilme aderido na prótese também pode causar doenças sistêmicas, como endocardite infecciosa e pneumonia aspirativa que são as principais causas de morbimortalidade,¹³⁻¹⁵ principalmente em pacientes imunocomprometidos.^{16,17}

A limpeza e manutenção das dentaduras são importantes para manter o tecido bucal subjacente saudável, prevenindo infecções bacterianas e fúngicas.¹⁸ O uso dos limpadores químicos de dentadura consiste na imersão da prótese em soluções com solvente, detergente, antibacteriano e ações antifúngicas, e tais soluções podem ser empregadas sozinhos ou em associação com escovação ou dispositivos ultrassônicos,^{19,20} no qual atuam de diferentes

* Lista das referências citadas Anexo A

maneiras e ajudam na remoção de manchas, detritos e biofilme presente na superfície da dentadura.^{19,21} Os limpadores são divididos em duas classes principais: ácido diluído e peróxido alcalino.²² Hipoclorito de sódio (NaOCl) e enxaguantes bucais, que são ácidos diluídos, são sugeridos como eficazes agentes de limpeza de dentadura, atuando na matriz orgânica do biofilme, considerados bactericidas e fungicidas, bem como removedores de manchas.²³ Peróxidos alcalinos são constituídos por substâncias oxidantes, efervescentes, redutores de tensão e agentes quelantes, sendo apresentados na forma de pó ou comprimido, que em contato com água tornam-se soluções de peróxido de hidrogênio.²⁴ Diferentes limpadores efervescentes estão disponíveis no mercado, sendo que Corega tabs® e Efferdente®, apresentados na forma de comprimido, são comumente utilizados, no qual são eficazes em diminuir a aderência de *C. albicans*, remover manchas leves e detritos nas bases de próteses.^{24,25}

Estudos demonstram que tanto a adesão de *C. albicans* quanto os limpadores de prótese, podem prejudicar significativamente as propriedades físicas, ópticas e mecânicas das dentaduras²⁶⁻²⁸. A rugosidade é uma das propriedades críticas da dentadura, sendo que superfície porosas aumentam as chances de fixação bacteriana, podendo induzir a halitose e a estomatite protética.^{8,12} A hidrofilicidade e a energia livre de superfície é um indicador da capacidade da saliva e de outros líquidos de se espalharem facilmente, refletindo a capacidade de permitir ou prevenir a aderência de fluidos e microorganismos, e se alterados propiciam uma forte adesão bacteriana, dificultando a higienização pelo paciente.⁹ Outra propriedade importante para a longevidade da dentadura são as características estéticas, sendo que alterações de cor sugerem danos superficiais ou envelhecimento do material, afetando diretamente a satisfação do paciente e qualidade de vida.²⁹ As propriedades mecânicas das resinas para base de dentadura são regulamentadas pelos testes de microdureza superficial, resistência à flexão e módulo de elasticidade.³⁰ A dureza do material determina sua resistência ao desgaste, sendo que próteses feitas com material de baixa dureza podem ser danificadas pela escovação mecânica, causando retenção de placa e pigmentações, diminuindo a vida útil das próteses.³¹ As dentaduras devem apresentar alta resistência à flexão e alto módulo de elasticidade, pois durante a mastigação são submetidas a repetidas forças de flexão que induzem tensões internas na resina acrílica, e consequentemente, ao longo do tempo causam falha por fadiga.^{32,33} Dessa forma, a alta resistência diminuirá as chances de propagação de trincas e fissuras, evitando fraturas, enquanto que o alto módulo de elasticidade diminuirá as chances de deformação plástica.³² Próteses dentárias capazes de

sustentar maior flexão em combinação com alta resistência ao carregamento cíclico podem ser menos sujeitas a falha clínica.³³

A literatura atual carece de informações sobre a capacidade de adesão de *C. albicans* em dentaduras confeccionadas pelo método CAD/CAM e o seu efeito nas propriedades das resinas, assim como a eficácia e efeito de diferentes agentes de limpeza. Até o momento apenas o estudo de Freitas et al.³⁴ analisou a adesão de *C. albicans* nas dentaduras CAD/CAM, no entanto, o estudo não realizou análises das propriedades de superfície e ópticas, além de não realizar análises em diferentes tempos de envelhecimento para melhor entendimento da longevidade e efeitos a longo prazo. Em relação aos agentes de limpeza apenas os estudos de Jain et al.³⁵ e Alqanas et al.³⁶ analisaram o efeito do uso dos limpadores de dentadura nas propriedades das dentaduras CAD/CAM, no entanto, não há evidência suficientes de estudos analisando a eficácia desses limpadores na redução de *C. albicans* nas dentaduras CAD/CAM. Assim, se torna necessário estudos analisando o efeito da adesão bacteriana e do processo de descontaminação nas propriedades dos métodos mais atuais da confecção da base de dentadura em diferentes tempos de envelhecimento para que se possa responder lacunas na literatura.

2 CAPÍTULO 1 – Efeito do envelhecimento nas propriedades de superfície, estabilidade óptica e adesão de *C. albicans* de resinas para base de dentaduras convencionais, fresadas e impressas 3D[†]

2.1 Resumo

Declaração do Problema. Materiais para base de dentaduras estão sendo comercializados para adaptação ao sistema CAD/CAM, aumentando o número de usuários de dentaduras fabricadas com este sistema. Apesar disso, pouco são as evidências do comportamento dessas próteses ao longo do tempo.

Objetivo. Avaliar as propriedades de superfície, estabilidade óptica e adesão de *C. albicans* de resinas para base de dentaduras convencionais, fresadas e impressas 3D diante de envelhecimento por termociclagem.

Material e Método. Um total de 96 amostras de resinas foram confeccionadas, divididas em 3 grupos de resina (n=32) (convencional termicamente ativada, fresada e impressa 3D), e subdivididas em 4 tempos de envelhecimento por termociclagem à temperatura 5±1°C e 55±1°C em 24h, 5.000, 10.000, 20.000 ciclos (n=8), sendo avaliado a adesão de *C. albicans* (ATCC90028), estabilidade óptica (ΔE_{00}), rugosidade superficial (Ra), hidrofilicidade (θ) e energia livre de superfície (Owens-Wendt). Os dados foram avaliados por ANOVA two-way e teste de Tukey para comparações múltiplas (P<0,05).

Resultados. A resina convencional apresentou ter menor colonização de *C. albicans*, sendo significativamente menor em 5.000 (P=0,003) e 20.000 (P=0,023) ciclos. Todas as resinas tiveram diferenças significativas das propriedades ao longo do tempo (P<0,05), exceto a rugosidade de superficial (P>0,05).

Conclusão. A resina convencional termicamente ativada apresentou menor adesão de *C. albicans* que as resinas fabricadas pelo CAD/CAM. A resina fresada apresentou melhores propriedades que a resina impressa 3D ao longo do tempo.

Palavras-chaves: Dentadura; Estomatite Protética; *C. albicans*; CAD/CAM.

[†] Este capítulo está apresentado em formato de artigo e de acordo com as normas do periódico “Journal of Prosthetic Dentistry” – Qualis A1 – Fator de Impacto: 4.6 – <https://www.elsevier.com/journals/journal-of-prosthetic-dentistry/0022-3913/guide-for-authors>

2.2 Abstract

Problem Statement. Denture base materials are being sold to adapt to the CAD/CAM system, increasing the number of users of dentures manufactured with this system. Despite this, there is little evidence of the behavior of these prostheses over time.

Objective. To evaluate the surface properties, optical stability and adhesion of *C. albicans* resins for conventional, milled and 3D printed denture bases when subjected to thermocycling aging.

Material and Method. A total of 96 resin samples were manufactured, divided into 3 resin groups (n=32) (conventional thermally activated, milled and 3D printed), and subdivided into 4 aging times by thermocycling at temperatures $5\pm1^{\circ}\text{C}$ and $55\pm1^{\circ}\text{C}$ in 24h, 5.000, 10.000, 20.000 cycles (n=8), evaluating the adhesion of *C. albicans* (ATCC90028), optical stability (ΔE_{00}), surface roughness (Ra), hydrophilicity (ϕ) and free energy surface (Owens-Wendt). Data were evaluated by two-way ANOVA and Tukey's test for multiple comparisons ($P<0.05$).

Results. The conventional resin showed lower colonization of *C. albicans*, being significantly lower at 5.000 ($P=0,003$) and 20.000 ($P=0,023$) cycles. All resins had significant differences in properties over time ($P<0,05$), except surface roughness ($P>0,05$).

Conclusion. The conventional thermally activated resin showed less adhesion of *C. albicans* than the resins manufactured by CAD/CAM. The milled resin showed better properties than the 3D printed resin over time.

Keywords: Dentures; Denture stomatitis; *C. albicans*; CAD/CAM.

2.3 Implicação Clínica

Materiais para base de dentaduras estão sendo comercializados para adaptação ao sistema CAD/CAM, aumentando o número de usuários de dentaduras fabricadas com este sistema. Apesar disso, pouco são as evidências do comportamento dessas próteses ao longo do tempo, sendo que a indicação dessas dentaduras é dependente de suas propriedades ópticas,

superficial e capacidade de adesão de microrganismos para determinação da sua longevidade, assim necessitando de investigação.

2.4 Introdução

A incidência do edentulismo total está em crescimento devido ao aumento da expectativa de vida, no qual desenvolveu um aumento de pesquisas na área para aprimoração dos materiais e técnicas na fabricação de dentaduras.¹⁻³ O polimetilmetacrilato (PMMA) é o material preferido devido ao baixo custo, disponibilidade e facilidade de uso, no qual podem ser processados usando técnicas convencionais ou digitalmente usando o design auxiliado por computador e fabricação auxiliada por computador (CAD/CAM) através da fresagem ou impressão tridimensional (3D).^{3,4}

O PMMA convencional apresenta maior contração de polimerização e maior número de monômeros residuais, deixando sua superfície porosa e consequentemente, suscetibilidade ao acúmulo de placas bacterianas.^{3,4} O fresamento CAD/CAM é um método subtrativo que utiliza de blocos de resina acrílica condensadas sob alta pressão e calor, onde o processo de polimerização ocorre em condições padronizadas, objetivando reduzir a porosidade, enquanto o método de impressão 3D é um método aditivo que utiliza de resina líquida, no qual a confecção da dentadura ocorre pela deposição de camadas da resina, sendo simultaneamente fotopolimerizadas por luz ultravioleta, apresentando menor desperdício de material.⁵⁻⁷

A *Cândida albicans* (*C. albicans*) é um microorganismo comum na flora comensal da cavidade oral que pode aderir e crescer na mucosa oral e nas superfícies das dentaduras.⁸ A fixação e a colonização da *C. albicans* é um fator predisponente para a candidíase oral, causando estomatite protética e consequentemente, pode levar a perda da dentadura.^{9,10} Uma vez que a infecção por *C. albicans* está intrinsecamente relacionada à sua adesão na superfície do material propriedades como rugosidade, energia livre de superfície e a hidrofiliicidade podem desempenhar um papel importante na colonização fúngica, no qual superfície rugosas/irregulares e materiais hidrofóbicos propiciam interações não covalentes com proteínas hidrofóbicas da parede celular de *C. albicans*, sendo esses fatores que influenciam na longevidade da dentadura.^{11,12} O sucesso da dentadura está relacionado não apenas as suas

propriedades físicas, mas também às suas características estéticas, pois alteração de cor afetam a qualidade da prótese e a satisfação do paciente.¹³

Nos últimos anos, houve um crescimento exponencial no número de estudos comparando as propriedades de superfície das resinas fresadas e, mais recentemente, as impressas em 3D com as resinas convencionais.¹⁴⁻¹⁷ Embora os resultados sejam promissores as dentaduras do método CAD/CAM, são necessários mais estudos de acompanhamento a longo prazo, pois a literatura é escassa a respeito do comportamento dessas resinas frente a métodos de envelhecimento.^{13,17} Diante disso, o objetivo desse estudo *in vitro* é avaliar as propriedades de superfície, estabilidade óptica e adesão de *C. albicans* de resinas para base de dentaduras convencionais, fresadas e impressas 3D diante de envelhecimento por termociclagem. A hipótese nula é que não haverá diferenças significativas entre os diferentes tipos de resinas e entre os tempos de envelhecimento.

2.5 Materiais e Métodos

Um total de 96 amostras de resinas nas dimensões com diâmetro de $10 \times 3,0 \pm 0,03$ mm de espessura foram confeccionadas,¹⁸ divididas em três grupos de resina para dentadura (n = 32) (G1, G2 e G3), conforme o método de confecção (Tabela 1) e subdivididas em quatro tempos de envelhecimento (n=8) (24h, 5.000, 10.000, 20.000), sendo avaliado a adesão de *C. albicans*, estabilidade óptica, rugosidade, hidrofiliabilidade e energia livre de superfície, conforme ilustrado na Figura 1.

Tabela 1. Resinas acrílicas para base de dentaduras utilizadas no estudo

GRUPOS	MATERIAL	MARCA	PROPORÇÃO	MÉTODO DE CONFEÇÃO
G1	Resina termicamente ativada	Clássico ®	14g pó para 6,5ml monômero	60' banho-maria
G2	Resina Preensada em disco	Blue Dent ®	Disco prensado	Fresadora
G3	Resina líquida	Smart Dent ®	Resina líquida	Impressora 3D

Delineamento do Estudo

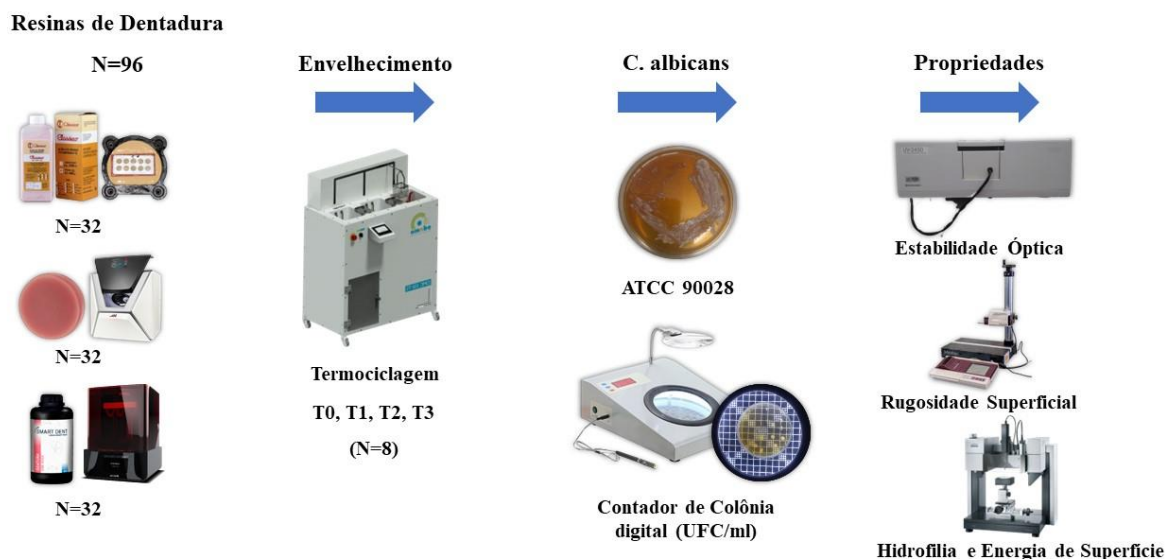


Figura 1. Diagrama representando o delineamento do estudo.

Para a confecção das amostras do grupo convencional, moldes de metal vazados nas dimensões das amostras foram incluídos em muflas de plástico (Vipi – STG Ltda) posicionadas entre placas de vidro sobre gesso especial tipo IV (Durone, Dentsply Ltda). A resina do método convencional rosa médio (Clássico) foi manuseada conforme a indicação do fabricante (Tabela 1) e inseridos nos moldes, sendo mantidos sob carga 14,71 kN durante 2 minutos em uma prensa hidráulica (Maxx 1; Essence Dental) e mantidas em bancada por 30 minutos. As amostras foram polimerizadas em banho-maria por 60 minutos em água fervente (100°C), após a polimerização, irregularidades de bordas e excessos de resinas foram removidas com uma broca maxicut (Vicking). As amostras confeccionadas pelo método fresado e impresso 3D, primeiramente, foram projetadas em um software CAD (Exocad; Exocad GmbH) de acordo com as dimensões das amostras. Os arquivos de linguagem de mosaico padrão CAD foram enviados para o software CAM da fresadora e da impressora 3D. Blocos de PMMA rosa médio (BlueDent Ltd.) foram fresados em uma fresadora de 5 eixos (SilaMill 5R; SILADENT) para obtenção das amostras fresadas, enquanto uma resina líquida de rosa médio (SmartDent Ltd.) foi utilizada em uma impressora estereolitográfica com tecnologia de processamento digital de luz (MoonRay Model S; VertySystem) para obtenção das amostras impressas 3D. Todas amostras foram submetidas a um acabamento e polimento padronizado, usando discos de lixas na seguinte sequência de granulação: #200; #600; #1000 (Carbamet; Buehler); e #800; #1200 (Microcut; Buehler), acoplados em máquina de

polimento automático (AutoMet 250; Buehler) sob irrigação de água constante em 300 rpm durante 30 segundos em cada face. Após o acabamento com lixas, as amostras foram polidas com solução policristalina diamantada (MetaDi, Supreme; Buehler) passado em todas as faces planas e aplicado por 5 segundos em um disco de feltro acoplado na máquina de polimento automático em 300 rpm.¹⁸⁻²⁰

Todas as amostras foram randomizadas aleatoriamente, conforme o tempo de envelhecimento, sendo considerado T0 amostras armazenadas em água destilada em uma estufa (Equipamentos Científicos; Cienlab) a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 24h.^{18,21} Outras foram submetidas a termociclagem (Modelo MSCT-3, Convel) em água destilada com banhos alternados de 30 segundos à temperatura de $5 \pm 1^{\circ}\text{C}$ e $55 \pm 1^{\circ}\text{C}$ (70s por ciclo; tempo de permanência: 30s; tempo de transferência: 5s) em diferentes números de ciclos: 5.000 (T1); 10.000 (T2); e 20.000 (T3). A termociclagem, nas condições apresentada, representa a cada 5.000 ciclos um envelhecimento de 6 meses clínico da resina acrílica.^{22,23} Após, as amostras foram colocadas em placas com 24 poços de 2ml, embaladas com grau cirúrgico e esterilizadas por meio de gás de óxido de etileno pela empresa Oximed[®] seguindo os protocolos da norma ISO9001:2015 para realização do teste microbiológico.⁹

Foi utilizado uma cepa isolada *Candida albicans* ATCC#90028 doada pelo Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba (FOA/UNESP) previamente congelada em freezer -80°C reativada por plaqueamento em meio Ágar Sabouraud Dextrose (ASD) por 24h em estufa a 37°C . As colônias formadas na placa foram passadas para um tubo de ensaio com caldo Brain Heart Infusion (BHI) inclinado e mantidos em estufa a 37°C por 24h. Um controle positivo da cepa foi realizado registrando um crescimento de $2,23 \times 10^6$ UFC/ml. As amostras, após esterilização, ficaram imersas em saliva humana esterilizada por 2h em estufa a 37°C com CO_2 a 5% para formação de película adquirida, sendo esta saliva coletada e centrifugada por 10 min a 4°C em 10.000 rpm, coletando apenas o sobrenadante que foi diluído em proporção 1:3 de solução salina 0,9% e acrescentado conservante Dithiothreitol 0,25% (DTT) na proporção 1:10ml de saliva, após foi esterilizado com processo de filtração com filtro $0,22\mu\text{m}$. As colônias formadas no tubo com BHI foram passadas com auxílio de alça de inoculação para uma placa de Petri com ASD e mantidos em estufa a 37°C com CO_2 a 5% por 24h. Após esse período as colônias formadas na placa foram passadas para um Caldo Malte de Levedura (YMB) até sua turvação, no qual a absorbância foi medida por um espectrofotômetro com comprimento de onda de 625nm até atingir uma densidade óptica (DO) compatível com biofilme oral, sendo atingindo uma DO de

350 ABS, em sequência foi distribuído 2ml de caldo em cada poço para cada amostra que ficaram em estufa a 37°C com CO₂ a 5% por 48h. Após o período de 48h as amostras foram lavadas com água destilada esterilizadas e passadas com auxílio de pinça clínica para tubos de ensaio com 5ml de solução salina 0,9% (NaCl) para processamento de vórtex (AP 56; Phoenix) durante 1min e ultrassônica durante 6 min para segregação do biofilme com a amostra. Em seguida, foi realizado 6 diluições seriadas 1:9 µl (10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵, 10⁻⁶). Para cada amostra foi preparado uma placa com ASD divididas em seis quadrantes, sendo colocado três gotas de 25µl em cada quadrante, conforme sua diluição. As placas foram incubadas em estufa a 37°C com CO₂ a 5% por 24h, após esse período foi realizado a contagem com auxílio de um contador digital de colônias, sendo escolhido o quadrante que em cada gota contia 3-30 colônias. A média de colônias de *C. albicans* (10 UFC/mL) foi realizado através da média das três gotas de cada amostra e multiplicada pelos expoentes da diluição (Figura 2).⁹

Diagrama Microbiológico

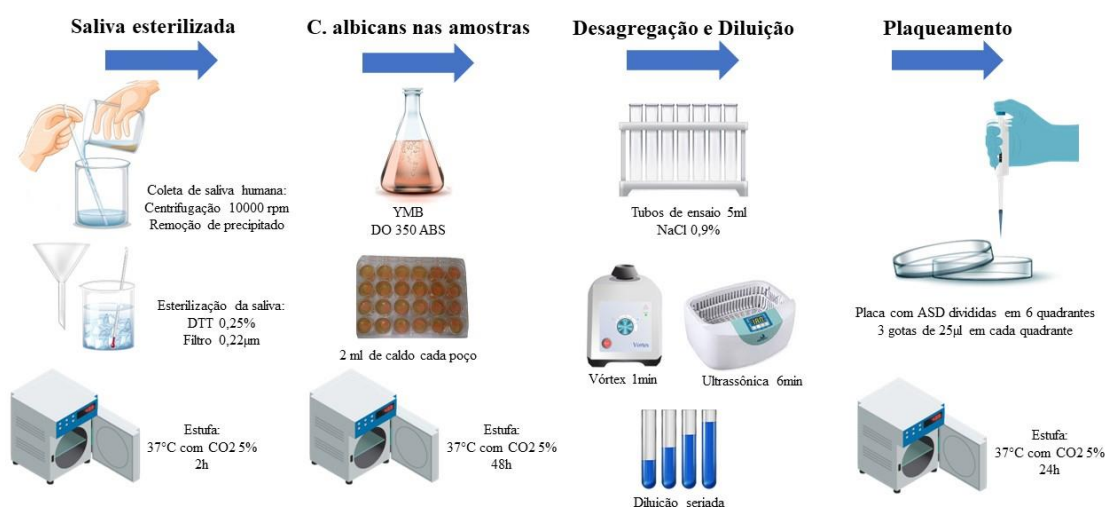


Figura 2. Diagrama microbiológico para adesão de *C. albicans*.

A estabilidade óptica das amostras foram avaliadas usando um espectrofotômetro (UV-2450; Shimadzu, Kyoto, Japão). As medições foram realizadas utilizando a escala de cor CIE *L*a*b** (Commission Internationale de l'Eclairage), usando um iluminante D65 em um ângulo de 2° de observação com uma faixa de comprimento de onda de 380 a 780 nm e uma abertura de 10 mm de diâmetro. A diferença cromática foi calculada utilizando dados antes da termociclagem e após a contaminação com *C. albicans*, utilizando o sistema CIEDE 2000

(ΔE_{00}) por meio da fórmula: $\Delta E_{00} = \{[\Delta L^*/(K_L S_L)]^2 + [\Delta C^*/(K_C S_C)]^2 + [\Delta H^*/(K_H S_H)]^2 + R_T[\Delta C^*/(K_C S_C)] \times [\Delta H^*/(K_C S_C)]\}^{1/2}$. O ΔL , ΔC e ΔH são as diferenças de luminosidade (L), croma (C) e matiz (H), respectivamente, enquanto K são os fatores paramétricos de visualização e S são as funções de passagem. Quanto maior o valor do ΔE_{00} , maior a alteração de cor do material e consequentemente, menor estabilidade óptica.¹⁸

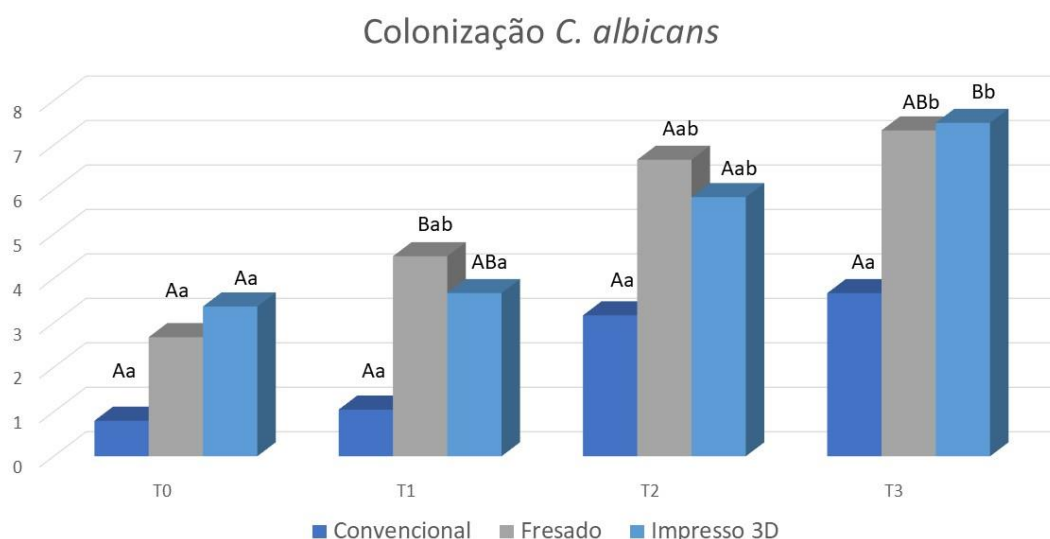
A rugosidade superficial foi analisada por meio de perfilometria de contato, utilizando um perfilômetro de rugosidade de superfície SJ-401 (Mitutoyo, Kanagawa, Japão), apresentando um diamante de 2 mm de diâmetro. As configurações foram definidas em $\lambda = 0,08$ mm do comprimento de onda de corte e 0,25 mm de comprimento transversal a uma velocidade de 0,05 mm/s para as características de rugosidade de superfície Ra. Ra é a rugosidade média que é determinada pela média aritmética dos valores absolutos das ordenadas do perfil de rugosidade. Foi realizado três medições em cada amostra por um único operador (V.A.A.B.), sendo a média dessas medições definida como o valor de rugosidade Ra.¹⁸⁻²⁰

A hidrofiliicidade e a energia de superfície foram analisadas por meio de um goniômetro digital de dispensador automático Drop Shape Analysis System DSA100E (Krüss GmbH, Hamburgo, Alemanha). A hidrofiliicidade de cada amostra foi avaliada através da média de 5 medições do ângulo de contato (θ) entre a linha contínua da amostra e a tangente de uma gota d'água destilada de 20 μ l aplicada automaticamente pelo goniômetro e calculada pelo software Drop Shape Analysis 1.51 (Krüss GmbH). Para determinar a energia livre de superfície (mJ/m^2), medições adicionais do ângulo de contato foram realizadas com gota de 20 μ l de diiodometano, sendo então determinada pela medição do ângulo de contato da água e do diiodometano, através do método Owens-Wendt definido no software Drop Shape Analysis 1.51.^{5,19}.

Os conjuntos de dados foram analisados com software estatístico (SigmaPlot 15.0). As medidas contínuas com valores de média e desvio padrão para todos os grupos e testes foram computados. As diferenças estatísticas entre os grupos de resinas e tempo de envelhecimento foram avaliadas em teste de normalidade Shapiro-Wilk, posteriormente com a análise de variância ANOVA two-way e teste de Tukey para comparações múltiplas entre as variações. Todos os testes foram realizados com nível de significância de $P < 0,05$.

2.6 Resultados

A ANOVA two-way considerando os fatores resina ($F=295,793$; $P<0,001$) e envelhecimento ($F=295,793$; $P<0,001$), afetaram significativamente a colonização de *C. albicans* (10^5 UFC/ml). Ao analisar comparação múltipla de pares (teste de Tukey), a resina convencional apresentou ter menor colonização de *C. albicans*, sendo significativamente menor nos tempos T1 ($1,05\pm1,38$) ($P=0,003$) e T3 ($3,67\pm1,86$) ($P=0,023$), em relação as outras resinas. A resina convencional não apresentou diferenças significativas ao longo do tempo, enquanto na resina fresada foi significativamente maior no T3 ($7,33\pm1,60$) em relação ao T0 ($2,68\pm1,74$) ($P=0,027$) e a resina impressa 3D foi significativamente maior no T3 ($7,50\pm1,96$) em relação ao T0 ($3,37\pm2,68$) e T1 ($3,67\pm2,57$) ($P<0,05$) (Figura 3).



T0, 24h; T1, 6 meses; T2, 12 meses; T3, 24 meses.

Letras maiúsculas diferentes em mesmo tempo e letras minúsculas diferentes em mesma resina apresentam diferença significativa ($p<0,05$).

Figura 3. Resultado média da colonização *C. albicans* (10^5 UFC/ml).

A ANOVA two-way considerando os fatores resina ($F=153,499$; $P<0,001$) e envelhecimento ($F=566,196$; $P<0,001$), afetaram significativamente a estabilidade óptica. Ao analisar comparação múltipla de pares (teste de Tukey), a resina convencional apresentou significativamente os menores valores de ΔE_{00} no tempo T0 ($0,98\pm0,41$) ($P<0,05$), no entanto a resina fresada apresentou significativamente os menores valores em T2 ($3,11\pm3,31$) ($P<0,05$) e T3 ($3,57\pm0,25$) ($P<0,001$), em relação as outras resinas. Os valores de ΔE_{00} aumentaram significativamente ao longo do tempo em todas as resinas ($P<0,05$), sendo a

resina impressa 3D significativamente maior que as outras resinas no tempo T3 ($5,53 \pm 0,35$) ($P < 0,001$) (Figura 4).

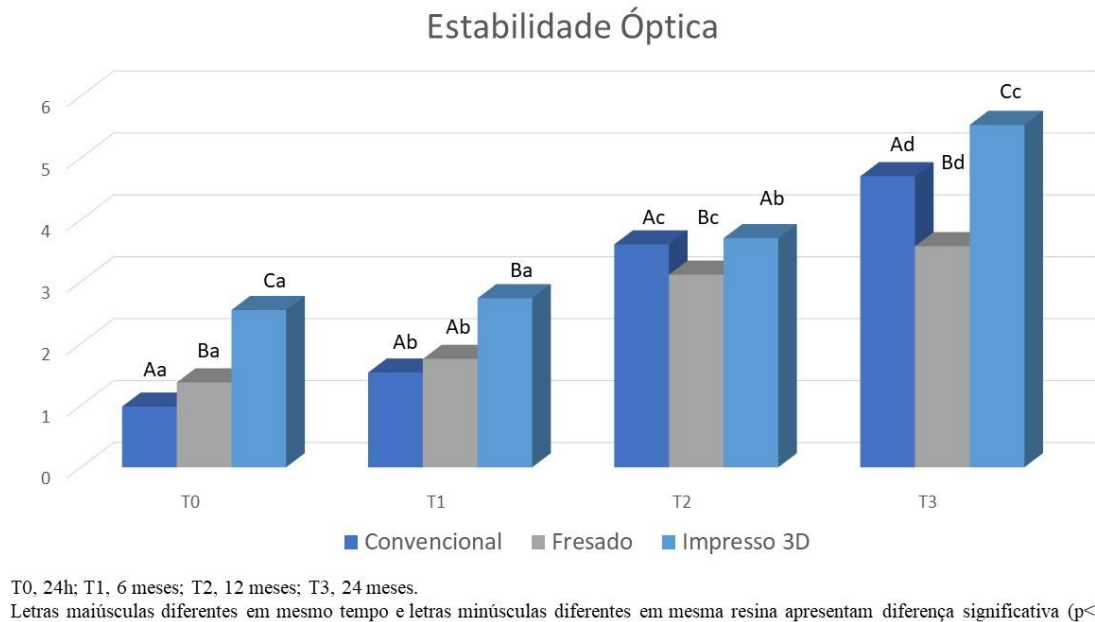
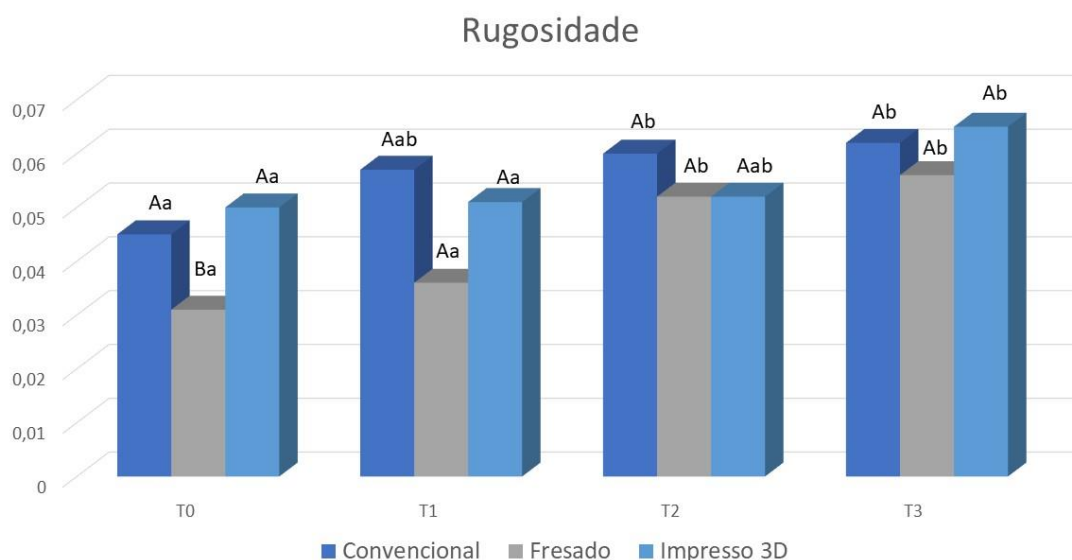


Figura 4. Resultado média da estabilidade óptica.

A ANOVA two-way considerando os fatores resina ($F=18,127$; $P < 0,001$) e envelhecimento ($F=19,987$; $P < 0,001$), afetaram significativamente a rugosidade de superfície. Ao analisar comparação múltipla de pares (teste de Tukey), a resina fresada apresentou significativamente o menor valor de rugosidade no tempo T0 ($0,031 \pm 0,00$) ($P < 0,05$), no entanto ao longo do tempo as resinas não apresentaram diferenças significativas entre si ($P > 0,05$). Todas as resinas tiveram um aumento significativo da rugosidade no T3 em relação ao T0 e T1 ($P < 0,005$) (Figura 5).



T0, 24h; T1, 6 meses; T2, 12 meses; T3, 24 meses.

Letras maiúsculas diferentes em mesmo tempo e letras minúsculas diferentes em mesma resina apresentam diferença significativa ($p < 0,05$).

Figura 5. Resultado média da rugosidade de superfície.

A ANOVA two-way considerando os fatores resina ($F=40,064$; $P < 0,001$) e envelhecimento ($F=136,388$; $P < 0,001$), afetaram significativamente a energia livre de superfície. Ao analisar comparação múltipla de pares (teste de Tukey), a resina convencional apresentou significativamente os maiores valores de energia livre de superfície em relação as outras resinas ($P < 0,05$), com exceção ao tempo T1 ($49,98 \pm 1,16$) ($P > 0,05$). Todas as resinas tiveram uma diminuição significativa da energia livre de superfície no tempo T3 em relação aos outros tempos ($P < 0,001$) (Figura 6).

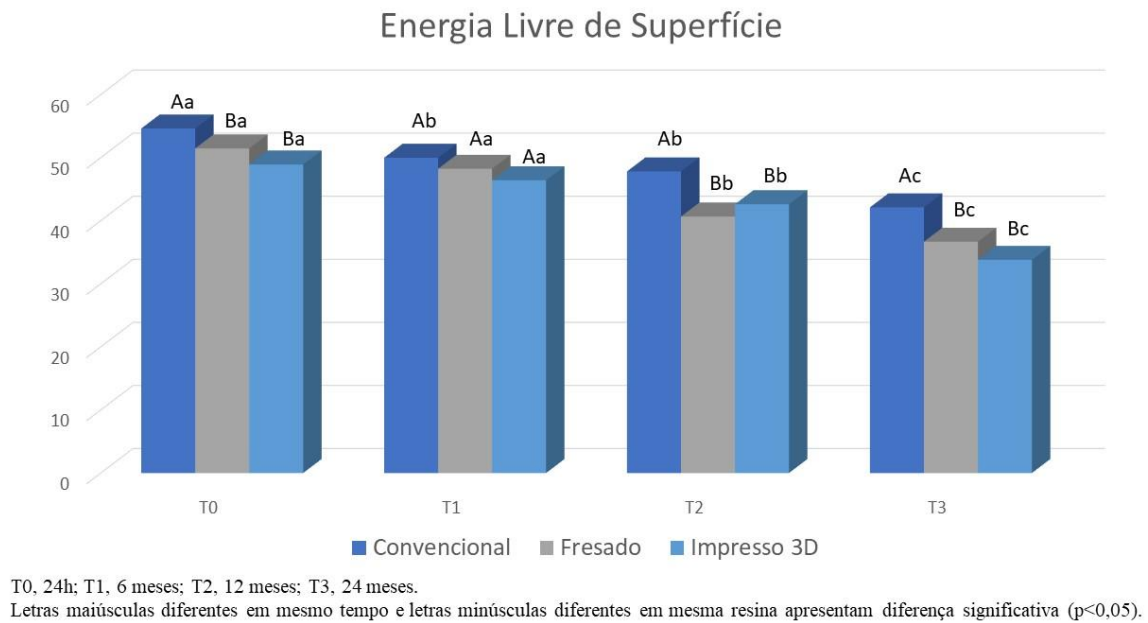
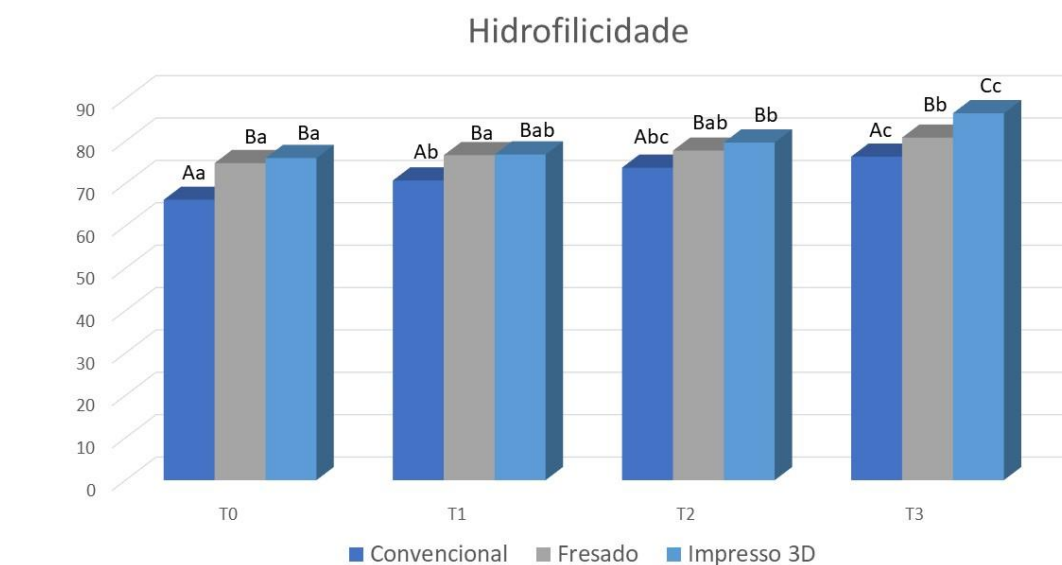


Figura 6. Resultado média da energia livre de superfície.

A ANOVA two-way considerando os fatores resina ($F=84,335$; $P<0,001$) e envelhecimento ($F=55,071$; $P<0,001$), afetaram significativamente a hidrofilicidade. Ao analisar comparação múltipla de pares (teste de Tukey), a resina convencional apresentou significativamente o menor valor de ângulo de contato da água em relação as outras resinas ($P<0,001$). Todas as resinas apresentaram aumento ao longo do tempo, sendo o tempo T3 significativamente maior em relação ao T0 em todas as resinas ($P<0,05$) (Figura 7).



T0, 24h; T1, 6 meses; T2, 12 meses; T3, 24 meses.

Letras maiúsculas diferentes em mesmo tempo e letras minúsculas diferentes em mesma resina apresentam diferença significativa ($p < 0,05$).

Figura 7. Resultado média da hidrofilicidade.

2.7 Discussão

Os resultados da ANOVA two-way apresentado neste estudo rejeita a hipótese nula, pois o fator resina e envelhecimento afetaram significativamente as propriedades avaliadas. Os resultados apresentados demonstraram que a resina convencional apresentou melhor desempenho quanto a adesão de *C. albicans*, energia livre de superfície e hidrofilicidade, enquanto a resina fresada apresentou os melhores resultados ao longo do tempo quanto a estabilidade óptica e rugosidade.

A resina convencional, neste estudo, apresentou os maiores valores de energia livre de superfície e os menores valores do ângulo de contato da água ao longo do tempo, indicando maior hidrofilicidade que as outras resinas, além disso as resinas do CAD/CAM apresentaram valor de energia livre de superfície abaixo do valor crítico (41 mJ/m^2), em 24 meses de envelhecimento (fresado: $36,67 \pm 3,79$; impresso 3D: $33,80 \pm 2,03$), consequentemente apresentando maior adesão de *C. albicans*.²⁴ Esse resultado pode ser justificado pelo próprio processo de fabricação das dentaduras, no qual o controle na indução de calor e temperatura durante a polimerização da resina convencional diminui o número de monômeros residuais superficiais.⁵ Maior energia livre de superfície e hidrofilicidade apresenta maior molhabilidade do material, sendo este um papel importante na higiene e capacidade de

retenção de microorganismos na dentadura, no qual próteses hidrofóbicas aumentam a aderência de hifas de *C. albicans*, facilitando a estomatite protética.^{24,25} Assim, o material de base da prótese que apresenta maior molhabilidade deve ser a primeira escolha para uso clínico.²⁴ Neste sentido, a resina convencional ainda apresenta ser a melhor escolha para o profissional, mas caso a prótese seja fabricada pelo sistema CAD/CAM a resina fresada deve ser priorizada.

Alguns estudos têm apresentado que a adesão de *C. albicans* nas resinas de dentaduras fabricadas pelo CAD/CAM apresentam resultados semelhantes as resinas convencionais, indicando que as dentaduras CAD/CAM apresentam menor tendência a formarem biofilmes patogênicos por apresentarem uma superfície mais hidrofílica que as outras resinas.^{10,26} Outros demonstraram maior adesão microbiana nas resinas convencionais, sendo este justificado pelo ar aprisionado durante a mistura, mistura insuficiente de polímero e monômero, e compressão inadequada da mufla, o que pode afetar a aderência de microorganismos na superfície da dentadura.^{9,27} Neste estudo, no tempo de 24h não houve diferença significativa entre as resinas ($P>0,05$), no entanto com o envelhecimento, principalmente simulando 24 meses de uso da dentadura, a resina convencional teve uma aderência significativamente menor que as outras resinas ($3,67\pm1,86$; $P=0,023$), no qual resultados com esse envelhecimento, até então, não tinha sido apresentado na literatura. Vale ressaltar que os estudos que apresentaram um desempenho inferior das resinas convencionais utilizaram o ciclo de polimerização longo à baixa temperatura (9h à 74°C), enquanto nesse estudo foi utilizado o ciclo australiano (1h à 100°C), sendo demonstrado por estudos que maiores temperaturas diminuem a porosidade das resinas e melhoraram suas propriedades.^{28,29}

Koroglu *et al*³⁰ demonstraram que o limiar da diferença cromática para resinas de dentadura é $\Delta E_{00}=1,30$ para perceptibilidade clínica e $\Delta E_{00}=2,25$ para aceitabilidade clínica. Neste estudo a resina impressa 3D não apresentou aceitabilidade clínica desde o tempo de 24h ($\Delta E_{00}=2,54$), aumentando os valores conforme o tempo de envelhecimento, enquanto a resina convencional e fresada apresentou aceitabilidade até os 6 meses de envelhecimento ($1,53\pm0,25$ e $1,75\pm0,29$, respectivamente), sendo que a resina fresada se manteve significativamente com os menores valores ao longo do tempo ($P<0,001$). A alta alteração da estabilidade de cor da resina impressa 3D pode ser explicada pela presença de bolhas geradas e irregularidades em suas estruturas internas durante o processo de impressão, além da baixa conversão de ligação dupla dessas resinas, facilitando o aprisionamento de pigmentos e interação moleculares.³¹⁻³²

De acordo com estudos *in vitro*, uma rugosidade superficial Ra de 0,20 μm foi definida como o valor limite para aceitação clínica de resinas de dentadura.^{3,18-20} Neste estudo todas as resinas ficaram abaixo desse valor em todos os tempos de envelhecimento, no qual não houve diferenças significativas entre as resinas ($P>0,05$), demonstrando todas serem adequadas para uso ao longo do tempo.²⁶ O resultado da rugosidade difere dos resultados da adesão de *C. albicans*, afirmando os achados encontrados nos estudos de Gad *et al*⁷ e Silva *et al*³³ que a rugosidade superficial não é o único ou o mais importante fator para determinar a colonização por *C. albicans*, sendo este mais relacionado a energia livre de superfície e hidrofilicidade.

O processo de termociclagem é um método *in vitro*, amplamente utilizado, para simulação do envelhecimento fisiológico dos materiais odontológico no meio bucal, onde os espécimes são submetidos a diversos ciclos de imersão em água com alta e baixa temperatura.^{22,23} No presente estudo o número de ciclos estabelecido teve como objetivo simular 6 meses, 12 meses e 24 meses de uso clínico da dentadura, no qual influenciou diretamente a energia de superfície, hidrofilicidade e, conseqüentemente, a adesão de *C. albicans*, fator importante no desenvolvimento da estomatite protética. Esse resultado é justificado pelas alterações bruscas na temperatura que geram sucessivas contrações e expansões volumétricas na superfície do material, afetando diretamente características superficiais.^{22,28}

Em geral, é possível afirmar que a resina convencional apresentou menor adesão microbiana que as resinas fresadas e impressas 3D apresentou propriedades inadequadas para uso ao longo do tempo. Este estudo se limita pelo seu design *in vitro* que restringe a replicação exata de situações clínicas, no qual estudos clínicos são necessários para obter resultados e conclusões mais consistentes. Este estudo *in vitro* apresenta resultados relevantes sobre o comportamento microbiológico de resinas para bases de dentaduras CAD/CAM no que diz respeito à adesão de *C. albicans*, principal fator etiológico para o desenvolvimento da estomatite protética, patologia bucal mais prevalente entre usuários de próteses dentárias. Portanto, estes resultados poderão ser úteis para apoiar futuras abordagens *in vivo* e, finalmente, a indicação segura destas resinas para a fabricação de bases de próteses garantindo a saúde de seus usuários.

2.8 Conclusão

Com base nos resultados deste estudo in vitro, as seguintes conclusões foram tiradas:

1. A resina convencional termicamente ativada apresentou menor adesão de *C. albicans* que as resinas fabricadas pelo CAD/CAM.
2. Entre as resinas CAD/CAM a resina fresada apresentou melhores propriedades que a resina impressa 3D ao longo do tempo.

2.9 Referências

1. Slade GD, Akinkugbe AA, Sanders AE. Projections of U.S. Edentulism prevalence following 5 decades of decline. J Dent Res. 2014;93:959-65.
2. Hanno KI, Abdul-Monem MM. Effect of denture cleansers on the physical and mechanical properties of CAD-CAM milled and 3D-printed denture base materials: an in vitro study. J Prosthet Dent. 2023;130:798.e1-8.
3. Anderson LN, Alsaifi T, Clark WA, Felton D, Sulaiman TA. Evaluation of surface roughness of differently manufactured denture base materials. J Prosthet Dent. 2023. <https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2023.08.028>
4. Oliveira Limírio JPJ, Gomes JML, Alves Rezende MCR, Lemos CAA, Rosa CDDRD, Pellizzer EP. Mechanical properties of polymethyl methacrylate as a denture base: Conventional versus CAD-CAM resin: a systematic review and meta-analysis of in vitro studies. J Prosthet Dent. 2022;128:1221-9.
5. Steinmassl PA, Klaunzer F, Steinmassl O, Dumfahrt H, Grunert I. Evaluation of currently available CAD/CAM denture systems. Int J Prosthodont. 2017;30:116-22.
6. Barazanchi A, Li KC, Al-Amleh B, Lyons K, Waddell JN. Additive technology: update on current materials and applications in dentistry. J Prosthodont. 2017;26:156-63.
7. Gad MM, Fouda SM, Abualsaud R, Alshahrani FA, Al-Thobity AM, Khan SQ, et al. Strength and surface properties of a 3D-printed denture base polymer. J Prosthodont. 2022;31:412-8.

8. Sultan AS, Rizk AM, Vila T, Ji Y, Masri R, Jabra-Rizk MA. Digital design of a universal rat intraoral device for therapeutic evaluation of a topical formulation against *Candida*-associated denture stomatitis. *Infect Immun*. 2019;87:e00617-19.
9. Larijani M, Zarehshahrabadi Z, Alvavaz A, Hajipour R, Ranjbaran A, Giti R, et al. Evaluation of *Candida albicans* biofilm formation on conventional and computer-aided-design/computer-aided manufacturing (CAD/CAM) denture base materials. *Curr Med Mycol*. 2022;8(3):23-9.
10. Gondim BLC, Castellano LRC, Castro RD, Machado G, Carlo HL, Valença AMG, et al. Effect of chitosan nanoparticles on the inhibition of *Candida* spp. biofilm on denture base surface. *Arch Oral Biol*. 2018;94:99-107.
11. Singleton DR, Fidel PL Jr, Wozniak KL, Hazen KC. Contribution of cell surface hydrophobicity protein 1 (Csh1p) to virulence of hydrophobic *Candida albicans* serotype A cells. *FEMS Microbiol Lett*. 2005;244:373-7.
12. Goswami R, Pohare S, Raut J, Karuppayil SM. Cell surface hydrophobicity as a virulence factor in *Candida albicans*. *Biosci Biotechnol Res Asia*. 2017;14:1503-11.
13. Arocha MA, Mayoral JR, Lefever D, Mercade M, Basilio J, Roig M. Color stability of siloranes versus methacrylate-based composites after immersion in staining solutions. *Clin Oral Investig*. 2013;17:1481-7.
14. Murat S, Alp G, Alatalı C, Uzun M. In vitro evaluation of adhesion of *Candida albicans* on CAD/CAM PMMA-based polymers. *J Prosthodont*. 2019;28:873-9.
15. Al-Qarni FD, Goodacre CJ, Kattadiyil MT, Baba NZ, Paravina RD. Stainability of acrylic resin materials used in CAD-CAM and conventional complete dentures. *J Prosthet Dent*. 2020;123:880-7.
16. Gruber S, Kamnoedboon P, Özcan M, Srinivasan M. CAD/CAM complete denture resins: an in vitro evaluation of color stability. *J Prosthodont*. 2021;30:430-9.
17. Pong MT, Grymak A, Waddell JN, Choi JJE. Bond strength between CAD/CAM PMMA denture base resins and characterisation composites. *Oral*. 2022;2:75-87.
18. Alp G, Johnston WM, Yilmaz B. Optical properties and surface roughness of prepolymerized poly(methyl methacrylate) denture base materials. *J Prosthet Dent*. 2019;121:347-52.

19. Al-Dwairi ZN, Tahboub KY, Baba NZ, Goodacre CJ, Özcan M. A comparison of the surface properties of CAD/CAM and conventional polymethylmethacrylate (PMMA). *J Prosthodont.* 2019;28:452-7.
20. Srinivasan M, Gjengedal H, Cattani-Lorente M, Moussa M, Durual S, Schimmel M, et al. CAD/CAM milled complete removable dental prostheses: An in vitro evaluation of biocompatibility, mechanical properties, and surface roughness. *Dent Mater J.* 2018;37:526-33.
21. Tsujimoto A, Barkmeier WW, Takamizawa T, Latta MA, Miyazaki M. Influence of thermal cycling on flexural properties and simulated wear of computer-aided design/computer-aided manufacturing resin composites. *Oper Dent.* 2017;42:101-10.
22. Morresi AL, D'Amario M, Capogreco M, Gatto R, Marzo G, D'Arcangelo C, et al. Thermal cycling for restorative materials: does a standardized protocol exist in laboratory testing? A literature review. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2014;29:295-308.
23. Li P, Krämer-Fernandez P, Klink A, Xu Y, Spintzyk S. Repairability of a 3D printed denture base polymer: effects of surface treatment and artificial aging on the shear bond strength. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2021;114:104227.
24. Sipahi C, Anil N, Bayramli E. The effect of acquired salivary pellicle on the surface free energy and wettability of different denture base materials. *J Dent* 2001;29:197-204.
25. Choi SY, Habimana O, Flood P, Reynaud EG, Rodriguez BJ, Zhanga N, et al. Material-and feature-dependent effects on cell adhesion to micro injection moulded medical polymers. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2016;145:46-54.
26. Fouda SM, Gad MM, Abualsaud R, Ellakany P, AlRumaih HS, Farooqi FA, et al. In vitro evaluation of candida albicans adhesion and related surface properties of CAD/CAM denture base resins. *Eur J Dent.* 2023. <https://doi.org/10.1055/s-0043-1774319>
27. 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;9:402–8.

28. Gungor H, Gundogdu M, Alkurt M, Yesil Duymus Z. Effect of polymerization cycles on flexural strengths and microhardness of different denture base materials. *Dent Mater J* 2017;36:168-73.
29. Durkan R, Oyar P. Comparison of mechanical and dynamic mechanical behaviors of different dental resins polymerized by different polymerization techniques. *Niger J Clin Pract* 2018;21:1144-49.
30. Koroğlu A, Şahin O, Dede DÖ, Deniz ŞT, Karacan Sever N, Özkan S. Efficacy of denture cleaners on the surface roughness and *Candida albicans* adherence of sealant agent coupled denture base materials. *Dent Mater J*. 2016;35:810-6.
31. Prpić V, Schauerl Z, Ćatić A, Dulčić N, Čimić S. Comparison of mechanical properties of 3D-Printed, CAD/CAM, and conventional denture base materials. *J Prosthodont* 2020;29:524-8.
32. Ribeiro AB, Tinelli BM, Clemente LM, Poker BC, Oliveira VC, Watanabe E, et al. Effect of hygiene protocols on the mechanical and physical properties of two 3D-printed denture resins characterized by extrinsic pigmentation as well as the mixed biofilm formed on the surface. *Antibiotics*. 2023;12:1630.
33. Silva MDDD, Nunes TSBS, Viotto HEDC, Coelho SRG, Souza RF, Pero AC. Microbial adhesion and biofilm formation by *Candida albicans* on 3D-printed denture base resins. *PLoS One*. 2023;18:e0292430.

3 CAPÍTULO 2 – Efeito do envelhecimento nas propriedades mecânicas e adesão de *C. albicans* de resinas para base de dentaduras convencionais, fresadas e impressas 3D[‡]

3.1 Resumo

Declaração do Problema. Materiais para base de dentaduras estão sendo comercializados para adaptação ao sistema CAD/CAM, aumentando o número de usuários de dentaduras fabricadas com este sistema. Apesar disso, pouco são as evidências do comportamento dessas próteses ao longo do tempo.

Objetivo. Avaliar a adesão de *C. albicans* e as propriedades mecânicas das resinas para base de dentaduras confeccionadas pelo método convencional, fresado e impresso 3D em diferentes tempos de envelhecimento.

Material e Método. Um total de 96 amostras de resinas foram confeccionadas, divididas em 3 grupos de resina (n=32) (convencional termicamente ativada, fresada e impressa 3D), e subdivididas em 4 tempos de envelhecimento por termociclagem à temperatura 5±1°C e 55±1°C em 24h, 5.000, 10.000, 20.000 ciclos (n=8), sendo avaliado a adesão de *C. albicans* (ATCC90028), microdureza superficial (Knoop), resistência à flexão e módulo de elasticidade por ensaio mecânico de três pontos. Os dados foram avaliados por ANOVA two-way e teste de Tukey para comparações múltiplas (P<0,05).

Resultados. A resina fresada apresentou ter menor colonização de *C. albicans*, sendo significativamente menor em 24h (P=0,007) e 5.000 (P=0,032) ciclos. A resina impressa 3D apresentou significativamente menores valores que as outras resinas nas propriedades mecânicas avaliadas (P<0,05).

Conclusão. A resina impressa 3D apresentou maior adesão de *C. albicans* e propriedades mecânicas inferiores às outras resinas ao longo do tempo.

Palavras-chaves: Dentadura; Estomatite Protética; *C. albicans*; CAD/CAM.

[‡] Este capítulo está apresentado em formato de artigo e de acordo com as normas do periódico “Journal of Prosthetic Dentistry” – Qualis A1 – Fator de Impacto: 4.6 – <https://www.elsevier.com/journals/journal-of-prosthetic-dentistry/0022-3913/guide-for-authors>

3.2 Abstract

Problem Statement. Denture base materials are being sold to adapt to the CAD/CAM system, increasing the number of users of dentures manufactured with this system. Despite this, there is little evidence of the behavior of these prostheses over time.

Objective. To evaluate the adhesion of *C. albicans* and the mechanical properties of resins for denture bases made using the conventional method, milled and 3D printed at different aging times.

Material and Method. A total of 96 resin samples were manufactured, divided into 3 resin groups (n=32) (conventional thermally activated, milled and 3D printed), and subdivided into 4 aging times by thermocycling at temperatures $5 \pm 1^\circ\text{C}$ and $55 \pm 1^\circ\text{C}$ in 24h, 5.000, 10.000, 20.000 cycles (n=8), evaluating the adhesion of *C. albicans* (ATCC90028), surface microhardness (Knoop), flexural strength and elastic modulus by three-point mechanical test. Data were evaluated by two-way ANOVA and Tukey's test for multiple comparisons ($P < 0.05$).

Results. The milled resin showed lower colonization of *C. albicans*, being significantly lower at 24h ($P=0,007$) and 5.000 ($P=0,032$) cycles. The 3D printed resin presented significantly lower values than the other resins in the mechanical properties evaluated ($P < 0,05$).

Conclusion. The 3D printed resin showed greater adhesion of *C. albicans* and lower mechanical properties than other resins over time.

Keywords: Dentures; Denture stomatitis; *C. albicans*; CAD/CAM.

3.3 Implicação Clínica

Materiais para base de dentaduras estão sendo comercializados para adaptação ao sistema CAD/CAM, aumentando o número de usuários de dentaduras fabricadas com este sistema. Apesar disso, pouco são as evidências do comportamento dessas próteses ao longo do tempo, sendo que a indicação dessas dentaduras é dependente da capacidade de adesão de microrganismos e suas propriedades mecânicas para determinação da sua longevidade, assim necessitando de investigação.

3.4 Introdução

A estomatite protética é uma doença multifatorial causada por fatores relacionados a doenças sistêmicas e imunológicas, correlacionados à baixo fluxo salivar e má higiene das dentaduras.^{1,2} De acordo com estudos epidemiológicos anteriores, a taxa de prevalência de estomatite protética é cerca de 15% a 70% entre usuários de próteses dentárias.³ As técnicas de design auxiliado por computador e de fabricação auxiliada por computador (CAD/CAM) já estão disponíveis há algum tempo e seu uso continua a aumentar no campo da prótese dentária, demonstrando ser uma técnica eficiente na diminuição de acúmulo microbiano.⁴

Um microrganismo comum na flora comensal da cavidade oral é a *Candida albicans*, no qual diante de uma alteração na microflora oral com aumento de colonização da *C. albicans* resulta na manifestação de candidíase oral, causando a estomatite protética em usuários de dentaduras.^{5,6} Esse fungo é capaz de aderir à mucosa e à base da prótese, produzindo enzimas proteolíticas que auxiliam na penetração, tanto tecidual como nos poros das dentaduras, apresentando capacidade de mudar sua forma de blastoconídios para hifa, aumentando sua patogenicidade.⁷

O modo em que a dentadura é polimerizada pode influenciar o número de poros na superfície da prótese e, conseqüentemente, a suscetibilidade à colonização microbiana e formação de biofilme, afetando as propriedades da resina, principalmente quando relacionado ao envelhecimento.⁸ O método CAD/CAM possibilita a fabricação de dentaduras pelo processo de fresagem e impressão 3D, no qual o método de fresagem utiliza de blocos de resina acrílica condensadas sob alta pressão e calor, enquanto que o método de impressão 3D ocorre pela deposição de camadas de resina líquida, sendo simultaneamente fotopolimerizadas por luz ultravioleta.⁹ Este método apresenta como maior vantagem reduzir o tempo clínico, otimizar a precisão dimensional e melhorar suas propriedades mecânicas.^{10,11}

A literatura ainda é escassa de estudos que avaliam a adesão de microrganismos nas próteses para dentadura confeccionadas do método CAD/CAM, principalmente em relação ao envelhecimento ao longo do tempo, além de investigar a influência de tais fatores nas suas propriedades mecânicas. Assim, o objetivo desse estudo in vitro é avaliar a adesão de *C. albicans* e as propriedades mecânicas das resinas para base de dentaduras confeccionadas pelo método convencional, fresado e impresso 3D em diferentes tempos de envelhecimento. A

hipótese nula é que não haverá diferenças significativas da adesão de *C. albicans* e das propriedades mecânicas entre os diferentes tipos de resina ao longo do tempo.

3.5 Materiais e Métodos

Um total de 96 amostras de resinas nas dimensões de $15 \times 5,0 \times 3,0 \pm 0,03$ mm foram confeccionadas,^{13,14} divididas em três grupos de resina para dentadura (n= 32) (G1, G2 e G3), conforme o método de confecção (Tabela 1) e subdivididas em quatro tempos de envelhecimento (n= 8) (24h, 5.000, 10.000 e 20.000), sendo avaliado a adesão de *C. albicans*, microdureza superficial, resistência à flexão e módulo de elasticidade, conforme ilustrado na Figura 1.

Tabela 1. Reninas acrílicas para base de dentaduras utilizadas no estudo

GRUPOS	MATERIAL	MARCA	PROPORÇÃO	MÉTODO DE CONFEÇÃO
G1	Resina termicamente ativada	Clássico ®	14g pó para 6,5ml monômero	60' banho-maria
G2	Resina Preensada em disco	Blue Dent ®	Disco prensado	Fresadora
G3	Resina líquida	Smart Dent ®	Resina líquida	Impressora 3D

Delineamento do Estudo

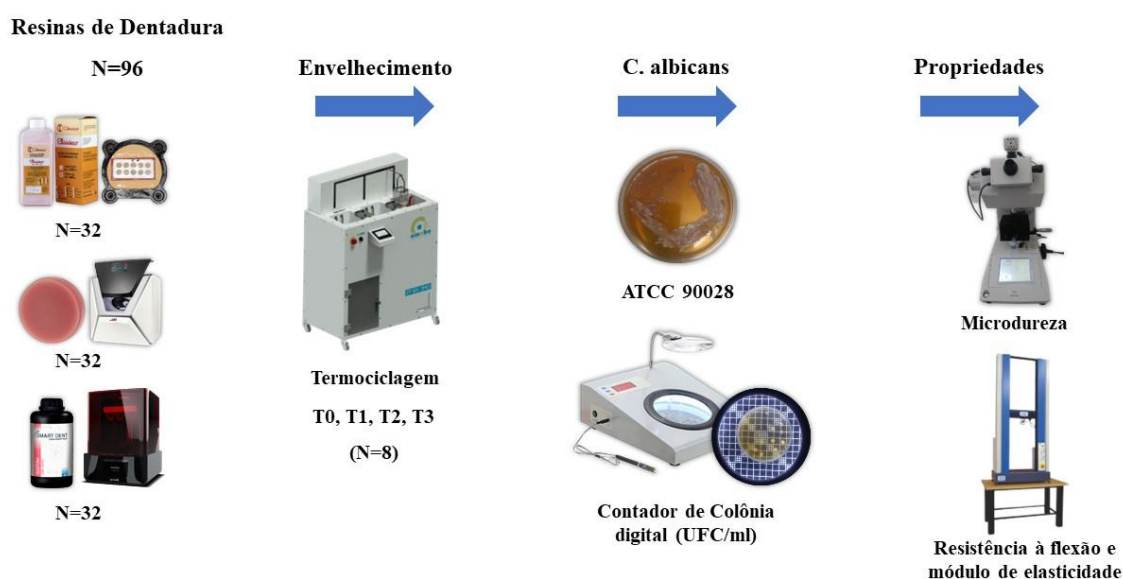


Figura 1. Diagrama representando o delineamento do estudo.

Para a confecção das amostras do grupo convencional, moldes de metal vazados nas dimensões das amostras foram incluídos em muflas de plástico (Vipi – STG Ltda) posicionadas entre placas de vidro sobre gesso especial tipo IV (Durone, Dentsply Ltda). A resina do método convencional rosa médio (Clássico) foi manuseada conforme a indicação do fabricante (Tabela 1) e inseridos nos moldes, sendo mantidos sob carga 14,71 kN durante 2 minutos em uma prensa hidráulica (Maxx 1; Essence Dental) e mantidas em bancada por 30 minutos. As amostras foram polimerizadas em banho-maria por 60 minutos em água fervente (100°C), após a polimerização, irregularidades de bordas e excessos de resinas foram removidas com uma broca maxicut (Vicking). As amostras confeccionadas pelo método fresado e impresso 3D, primeiramente, foram projetadas em um software CAD (Exocad; Exocad GmbH) de acordo com as dimensões das amostras. Os arquivos de linguagem de mosaico padrão CAD foram enviados para o software CAM da fresadora e da impressora 3D. Blocos de PMMA rosa médio (BlueDent Ltd.) foram fresados em uma fresadora de 5 eixos (SilaMill 5R; SILADENT) para obtenção das amostras fresadas, enquanto uma resina líquida rosa médio (SmartDent Ltd.) foi utilizada em uma impressora estereolitográfica com tecnologia de processamento digital de luz (MoonRay Model S; VertySystem) para obtenção das amostras impressas 3D. Todas amostras foram submetidas a um acabamento e polimento padronizado, usando discos de lixas na seguinte sequência de granulação: #200; #600; #1000 (Carbamet; Buehler); e #800; #1200 (Microcut; Buehler), acoplados em máquina de polimento automático (AutoMet 250; Buehler) sob irrigação de água constante em 300 rpm durante 30 segundos em cada face. Após o acabamento com lixas, as amostras foram polidas com solução policristalina diamantada (MetaDi, Supreme; Buehler) passado em todas as faces planas e aplicado por 5 segundos em um disco de feltro acoplado na máquina de polimento automático em 300 rpm.¹²⁻¹⁴

Todas as amostras foram randomizadas aleatoriamente, conforme o tempo de envelhecimento, sendo considerado T0 amostras armazenadas em água destilada em uma estufa (Equipamentos Científicos; Cienlab) a 37°C ± 2°C durante 24h.^{12,15} Outras foram submetidas a termociclagem (Modelo MSCT-3, Convel) em água destilada com banhos alternados de 30 segundos à temperatura de 5±1°C e 55±1°C (70s por ciclo; tempo de permanência: 30s; tempo de transferência: 5s) em diferentes números de ciclos: 5.000 (T1); 10.000 (T2); e 20.000 (T3). A termociclagem, nas condições apresentada, representa a cada 5.000 ciclos um envelhecimento de 6 meses clínico da resina acrílica.^{16,17} Após, as amostras foram colocadas em placas com 24 poços de 2ml, embaladas com grau cirúrgico e

esterilizadas por meio de gás de óxido de etileno pela empresa Oximed® seguindo os protocolos da norma ISO9001:2015 para realização do teste microbiológico.⁴

Foi utilizado uma cepa isolada *Candida albicans* ATCC#90028 doada pelo Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba (FOA/UNESP) previamente congelada em freezer -80°C reativada por plaqueamento em meio Ágar Sabouraud Dextrose (ASD) por 24h em estufa a 37°C. As colônias formadas na placa foram passadas para um tubo de ensaio com caldo Brain Heart Infusion (BHI) inclinado e mantidos em estufa a 37°C por 24h. Um controle positivo da cepa foi realizado registrando um crescimento de $2,23 \times 10^6$ UFC/ml. As amostras, após esterilização, ficaram imersas em saliva humana esterilizada por 2h em estufa a 37°C com CO₂ a 5% para formação de película adquirida, sendo esta saliva coletada e centrifugada por 10 min a 4°C em 10.000 rpm, coletando apenas o sobrenadante que foi diluído em proporção 1:3 de solução salina 0,9% e acrescentado conservante Dithilthretol 0,25% (DTT) na proporção 1:10ml de saliva, após foi esterilizado com processo de filtração com filtro 0,22µm. As colônias formadas no tubo com BHI foram passadas com auxílio de alça de inoculação para uma placa de Petri com ASD e mantidos em estufa a 37°C com CO₂ a 5% por 24h. Após esse período as colônias formadas na placa foram passadas para um Caldo Malte de Levedura (YMB) até sua turvação, no qual a absorbância foi medida por um espectrofotômetro com comprimento de onda de 625nm até atingir uma densidade óptica (DO) compatível com biofilme oral, sendo atingindo uma DO de 350 ABS, em sequência foi distribuído 2ml de caldo em cada poço para cada amostra que ficaram em estufa a 37°C com CO₂ a 5% por 48h. Após o período de 48h as amostras foram lavadas com água destilada esterilizadas e passadas com auxílio de pinça clínica para tubos de ensaio com 5ml de solução salina 0,9% (NaCl) para processamento de vórtex (AP 56; Phoenix) durante 1min e ultrassônica durante 6 min para segregação do biofilme com a amostra. Em seguida, foi realizado 6 diluições seriadas 1:9 µl (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6}). Para cada amostra foi preparado uma placa com ASD divididas em seis quadrantes, sendo colocado três gotas de 25µl em cada quadrante, conforme sua diluição. As placas foram incubadas em estufa a 37°C com CO₂ a 5% por 24h, após esse período foi realizado a contagem com auxílio de um contador digital de colônias, sendo escolhido o quadrante que em cada gota continha 3-30 colônias. A média de colônias de *C. albicans* (10 UFC/mL) foi realizado através da média das três gotas de cada amostra e multiplicada pelos expoentes da diluição (Figura 2).⁴

Diagrama Microbiológico

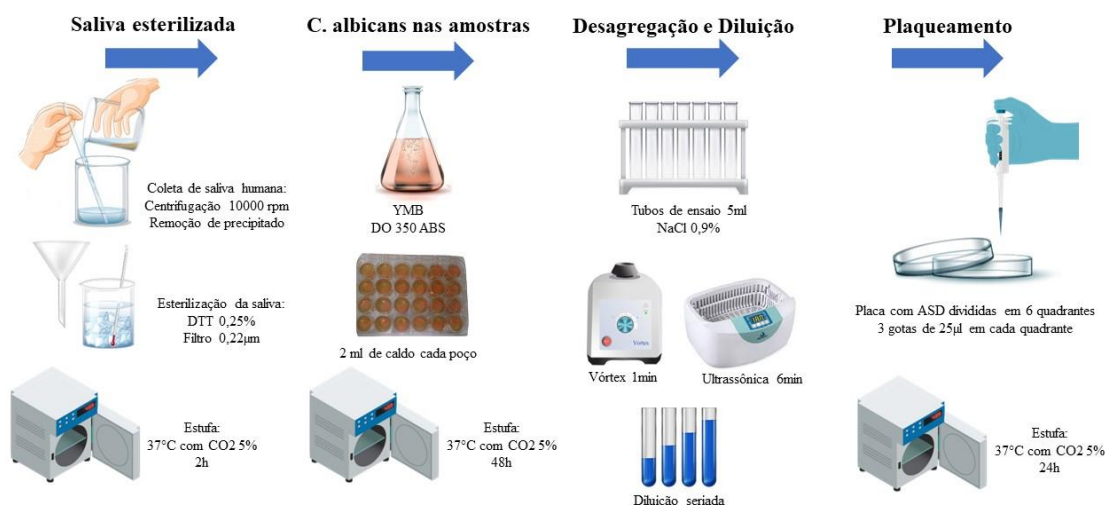


Figura 2. Diagrama microbiológico para adesão de *C. albicans*.

A microdureza de superfície foi avaliada com um microdurômetro (HNV-2T; Shimadzu Corp) equipado com um diamante Knoop, de acordo com as diretrizes da ASTM E384-11. Três marcações foram realizadas em cada amostra com distâncias de 500 µm com uma carga vertical estática de 0,24N por 10 segundos. Um único operador (V.A.A.B.) mediu a maior diagonal de cada marcação, e a média das 3 medições foi definida como o valor de microdureza Knoop (KNH, Kg/mm²) da amostra.¹²⁻¹⁴

A resistência à flexão e o módulo de elasticidade foram testados através de um teste de flexão de 3 pontos em uma máquina de teste universal (EMIC, São José dos Pinhais, SP, Brasil), de acordo com as diretrizes da ISO 20795-1:(2013)¹⁸ para polímeros de base de dentadura. As amostras foram posicionadas em vigas de suporte circulares com vão de 10 mm de comprimento. Uma célula de carga de 100 kg/F foi utilizada para aplicação de carga constante no centro da amostra a uma velocidade de cruzeta de 5 mm/min até a fratura. O momento da fratura foi designado como o momento em que a carga aplicada caiu a zero.¹⁵ Os dados foram registrados por meio de um programa de software (Tesc; Intermetric Ltd). A resistência à flexão e o módulo de elasticidade foram então calculados a partir das seguintes equações:

(1)

$$\text{Resistência à Flexão (Mpa)} = 3Fl/2bh^2$$

(2)

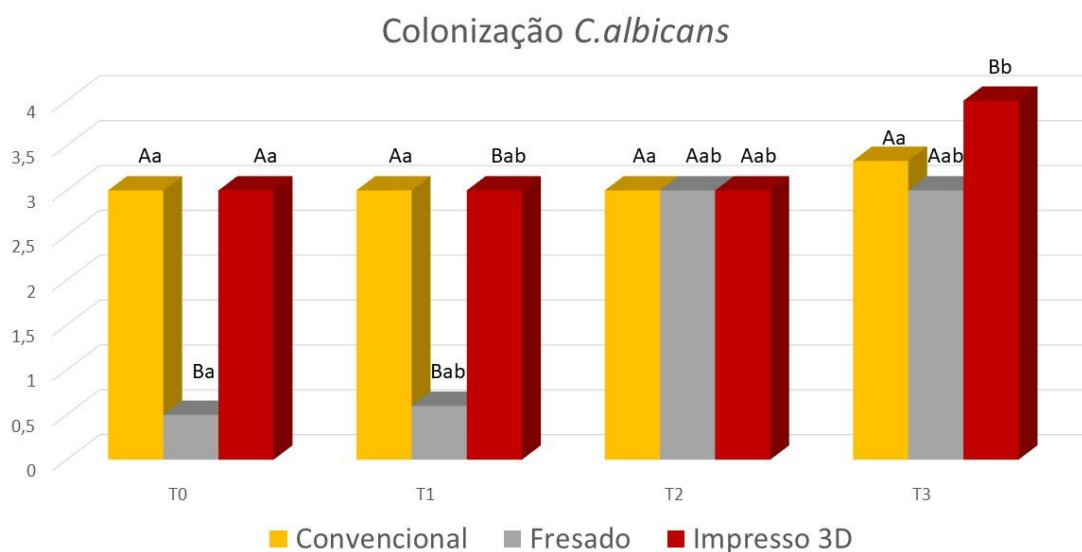
Módulo de elasticidade (Mpa) = $Fl^3/4bh^3d$

onde F é a carga máxima, l é a distância entre os apoios, b é a largura, h é a altura, e d é a deflexão.

Os conjuntos de dados foram analisados com software estatístico (SigmaPlot 15.0). As medidas contínuas com valores de média e desvio padrão para todos os grupos e testes foram computados. As diferenças estatísticas entre os grupos de resinas e tempo de envelhecimento foram avaliadas em teste de normalidade Shapiro-Wilk, posteriormente com a análise de variância ANOVA two-way e teste de Tukey para comparações múltiplas entre as variações. Todos os testes foram realizados com nível de significância de $P < 0,05$.

3.6 Resultados

A ANOVA two-way considerando os fatores resina ($F=8,613$; $P < 0,001$) e envelhecimento ($F=3,851$; $P=0,012$), afetaram significativamente a colonização de *C. albicans* (10^5 UFC/ml). Ao analisar comparação múltipla de pares (teste de Tukey), a resina fresada apresentou significativamente menor colonização de *C. albicans* nos tempos T0 ($0,50 \pm 1,37$) ($P=0,007$) e T1 ($0,60 \pm 1,33$) ($P=0,032$) em relação as outras resinas. A resina convencional não apresentou diferenças significativas ao longo do tempo ($P > 0,05$), enquanto na resina fresada e impressa 3D foram significativamente maiores no T3 em relação ao T0 ($P=0,041$) e ($P=0,032$), respectivamente (Figura 3).

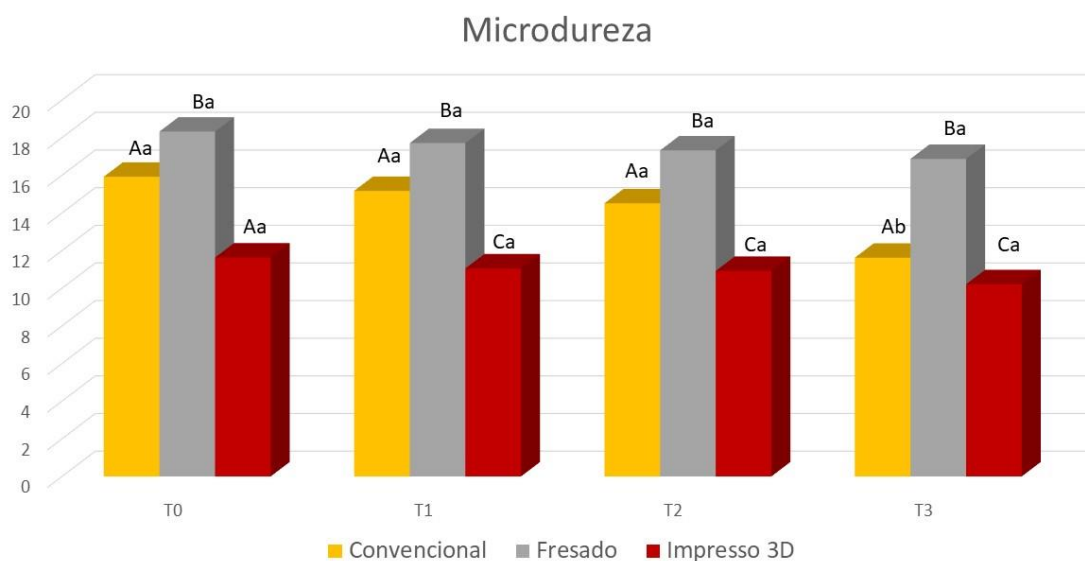


T0, 24h; T1, 6 meses; T2, 12 meses; T3, 24 meses.

Letras maiúsculas diferentes em mesmo tempo e letras minúsculas diferentes em mesma resina apresentam diferença significativa ($p < 0,05$).

Figura 3. Resultado média da colonização *C. albicans* (10^5 UFC/ml).

A ANOVA two-way considerando os fatores resina ($F=215,756$; $P < 0,001$) e envelhecimento ($F=15,150$; $P < 0,001$), afetaram significativamente a microdureza de superfície. Ao analisar comparação múltipla de pares (teste de Tukey), a resina fresada apresentou significativamente os maiores valores de microdureza em todos os tempos de envelhecimento em relação as outras resinas ($P < 0,001$), enquanto a resina impressa 3D apresentou significativamente os menores valores nos tempos T1 ($11,05 \pm 0,26$), T2 ($10,92 \pm 0,63$) e T3 ($10,21 \pm 0,45$) ($P < 0,001$). A resina convencional apresentou significativamente menor valor no tempo T3 ($11,62 \pm 0,48$) em relação aos outros tempos ($P < 0,001$), enquanto as outras resinas não apresentaram diferenças significativas ao longo do tempo ($P > 0,05$) (Figura 4).

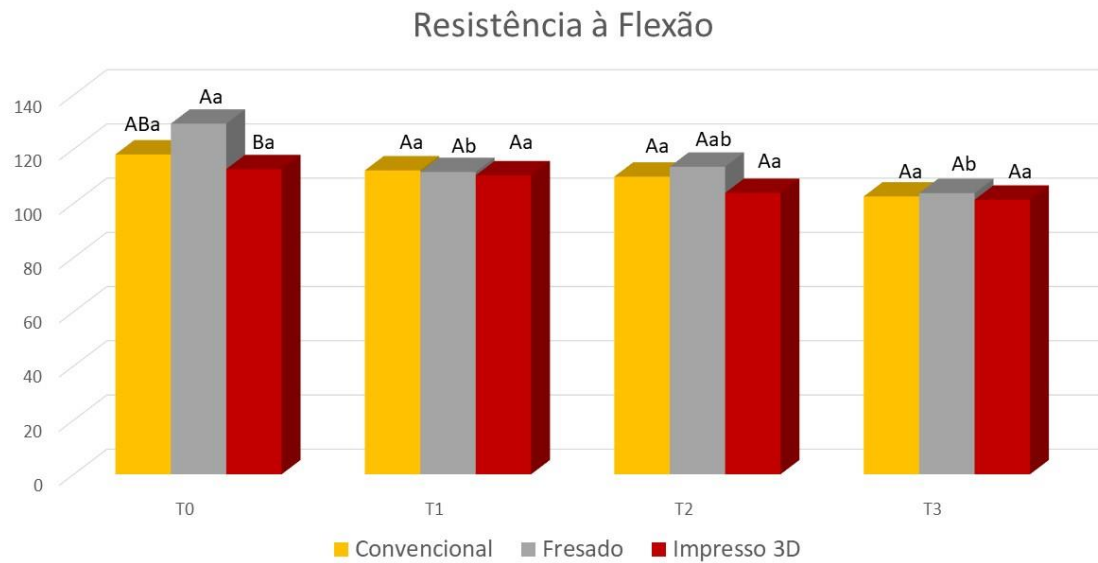


T0, 24h; T1, 6 meses; T2, 12 meses; T3, 24 meses.

Letras maiúsculas diferentes em mesmo tempo e letras minúsculas diferentes em mesma resina apresentam diferença significativa ($p < 0,05$).

Figura 4. Resultado média da microdureza de superfície.

A ANOVA two-way considerou apenas o fator envelhecimento ($F=8,394$; $P < 0,001$) afetar significativamente a resistência à flexão. Ao analisar comparação múltipla de pares (teste de Tukey), as resinas fresada e impressa 3D apresentaram diferenças significativas entre si no tempo T0 ($P=0,020$), no entanto nos outros tempos as resinas não apresentaram diferenças significativas entre elas ($P > 0,05$). As resinas convencionais e impressa 3D não apresentaram diferenças significativas ao longo do tempo ($P > 0,05$) (Figura 5).

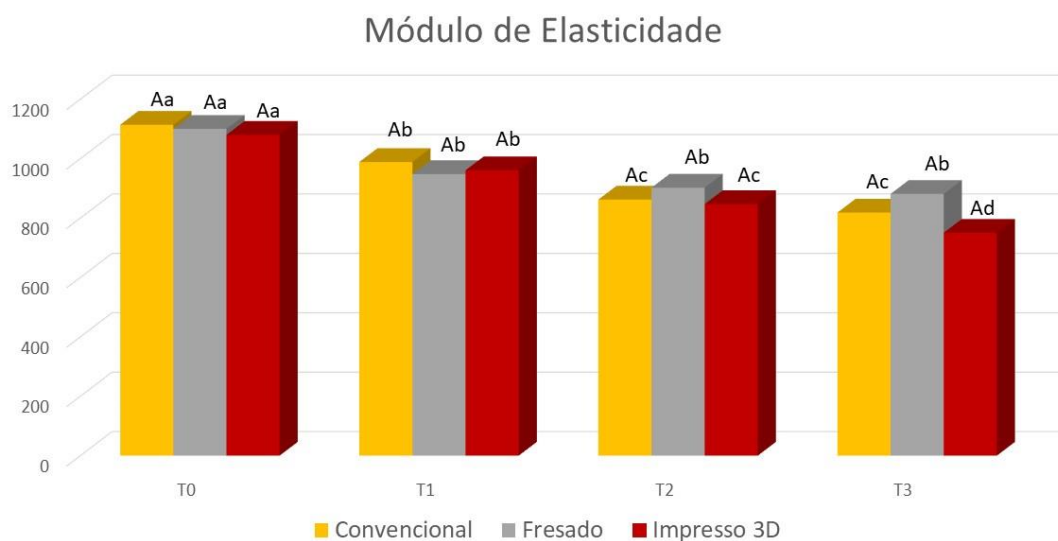


T0, 24h; T1, 6 meses; T2, 12 meses; T3, 24 meses.

Letras maiúsculas diferentes em mesmo tempo e letras minúsculas diferentes em mesma resina apresentam diferença significativa ($p < 0,05$).

Figura 5. Resultado média da resistência a flexão (Mpa).

A ANOVA two-way considerando os fatores resina ($F=7,206$; $P=0,001$) e envelhecimento ($F=130,010$; $P<0,001$), afetaram significativamente o módulo de elasticidade. Ao analisar comparação múltipla de pares (teste de Tukey), a resina impressa 3D foi a única que apresentou diferença significativa em relação as outras resinas, sendo significativo o menor valor no tempo T3 ($750,36 \pm 29,32$ Mpa) ($P<0,05$). Todas as resinas apresentaram uma diminuição significativa quando comparado o tempo T0 em relação a T3 ($P<0,05$) (Figura 6).



T0, 24h; T1, 6 meses; T2, 12 meses; T3, 24 meses.

Letras maiúsculas diferentes em mesmo tempo e letras minúsculas diferentes em mesma resina apresentam diferença significativa ($p < 0,05$).

Figura 6. Resultado média do módulo de elasticidade (Mpa).

3.7 Discussão

Os resultados da ANOVA two-way apresentado neste estudo rejeita a hipótese nula, pois o fator resina e envelhecimento afetaram significativamente as propriedades avaliadas. Os resultados apresentados demonstraram que a resina fresada apresentou melhor desempenho quanto a adesão de *C. albicans* e melhores propriedades mecânicas ao longo do tempo, enquanto a resina impressa 3D apresentou os piores resultados, principalmente quanto a adesão de *C. albicans* e microdureza superficial.

O grau de conversão do material polimérico influencia a quantidade de monômero residual no material processado e, conseqüentemente, suas propriedades físicas, mecânicas e microbianas, neste sentido a resina fresada que são processados sob alta pressão e temperatura, reduz o nível de monômero residual e melhora a estrutura do material processado.^{13,19} Neste estudo a resina fresada apresentou os menores valores de adesão de *C. albicans*, sendo significativo em até 6 meses de envelhecimento ($0,60 \pm 1,33$; $P=0,032$), após esse período não apresentou diferenças significativas que a resina convencional, enquanto a resina impressa 3D apresentou um aumento significativo em 24 meses ($4,00 \pm 1,94$; $P=0,032$). A maior adesão de microrganismo nas resinas impressas 3D é justificada pelo método de fabricação, no qual a junção gradual entre as camadas de impressão resulta em aumento de

porosidades e sulcos profundos.¹¹ Outra explicação inclui a capacidade desses materiais de absorver diferentes substâncias como proteínas salivares, aumentando a adesão de *C. albicans*, sendo este confirmado pelo estudo de Silva *et al*²⁰ que apresentou através de microscopia confocal de varredura maior quantidade de microrganismos vivos e maior espessura de biofilmes nas resinas impressas em 3D.

De acordo com as especificações da ANSI/ADA nº 12-2002 a dureza das resinas para base de dentaduras deve apresentar valores acima de 15 Kgf/mm² para evitar o desgaste excessivo do material ao longo dos anos.²¹ Neste estudo a resina fresada foi a única que apresentou valores acima do recomendado em todos os tempos de envelhecimento, assim demonstrando ter maior capacidade de resistência à desgastes e ranhuras entre todas as resinas para base de dentaduras estudadas, enquanto a resina impressa 3D apresentou valores abaixo em todos os tempos. Isso pode ser explicado pelo fato da resina impressa 3D ser a única não confeccionada sob calor e pressão, no qual são fatores importantes para reduzir o grau de conversão do monômero, reduzindo a presença de monômeros residuais e o efeito plastificante que consequentemente, aumentam as propriedades mecânicas do material.^{14,22}

A base de dentadura sujeita a teste de flexão em diferentes tempos de envelhecimento, simula a capacidade de sucesso intraoral sob altas cargas funcionais durante a mastigação e parafunção ao longo do tempo, sendo a resistência à flexão um dos principais determinantes das propriedades mecânicas da resina acrílica.¹⁴ Neste estudo, as resinas não apresentaram diferenças significativas entre si ao longo do tempo, apesar disso, os menores valores foram atribuídos as resinas impressas 3D. Esses resultados corroboram com o estudo de Freitas *et al*²³, no qual nenhuma diferença significativa foi observada entre as resinas CAD/CAM em comparação com amostras produzidas convencionalmente. Além disso, estudos tem demonstrado que a resistência à flexão da resina impressa 3D demonstra uma limitação ao tempo de uso de uma prótese provisória, devido a grandes chances de fraturas.^{11,13,24}

O módulo de elasticidade avalia a capacidade de deformação do material até antes do momento da fratura.²⁴ Neste estudo, a resina impressa 3D apresentou os menores valores, sendo significativo em 24 meses de envelhecimento. Assim, a resina impressa 3D apresenta ter uma maior deformação plástica permanente em comparação as outras resinas, o que consequentemente pode causar, em âmbito clínico, alterações de dimensões, levando a alterações oclusais e perda de retenção da dentadura.^{23,24}

Apesar do processo de adesão de microrganismo e o envelhecimento simulando as condições orais, este estudo se limita pelo seu design *in vitro* que não aplica de forma exata situações clínicas. Estudos futuros são recomendados para uma investigação mais aprofundada sobre o grau de conversão e presença de monômero residual, estabilidade dimensional, resistência ao impacto e citotoxicidade das resinas fabricadas pelo método CAD/CAM ao longo do tempo, além da investigação de diferentes métodos de fabricação ou modificações de materiais para melhoramento das propriedades mecânicas da resina de impressão 3D.

3.8 Conclusão

Com base nos resultados deste estudo *in vitro*, as seguintes conclusões foram tiradas:

1. A resina impressa 3D apresentou maior adesão de *C. albicans* em relação as outras resinas.
2. A resina impressa 3D apresentou propriedades mecânicas inferiores às outras resinas ao longo do tempo.

3.9 Referências

1. Afroozi B, Zomorodian K, Lavaee F, Shahrabadi ZZ, Mardani M. Comparison of the efficacy of indocyanine green-mediated photodynamic therapy and nystatin therapy in treatment of denture stomatitis. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2019;27:193-7.
2. Ansarifard E, Zarehshahrabadi Z, Sarafranz N, Zomorodian K. Evaluation of antimicrobial and antibiofilm activities of copper oxide nanoparticles within soft denture liners against oral pathogens. *Bioinorg Chem Appl*. 2021;2021:9939275.
3. Gendreau L, Loewy ZG. Loewy, epidemiology and etiology of denture stomatitis. *J Prosthodont*. 2011;20:251-60.
4. Larijani M, Zarehshahrabadi Z, Alvavaz A, Hajipour R, Ranjbaran A, Giti R, et al. Evaluation of *Candida albicans* biofilm formation on conventional and computer-aided-design/computer-aided manufacturing (CAD/CAM) denture base materials. *Curr Med Mycol*. 2022;8:23-9.

5. Sultan AS, Rizk AM, Vila T, Ji Y, Masri R, Jabra-Rizk MA. Digital design of a universal rat intraoral device for therapeutic evaluation of a topical formulation against *Candida*-associated denture stomatitis. *Infect Immun*. 2019;87:e00617-19.
6. Nouraei H, Sheykhi S, ZareShahrabadi Z, Khodadadi H, Zomorodian K, Pakshir K. Comparative analysis of virulence factors of homozygous and heterozygous strains of *Candida albicans* vaginal isolates. *Int J Microbiol*. 2020;2020:8889224.
7. Örtorp A, Jönsson D, Mouhsen A, Vult von Steyern P. The fit of cobalt- chromium three-unit fixed dental prostheses fabricated with four different techniques: a comparative in vitro study. *Dent Mater*. 2011;27:356-63.
8. Baba NZ, Goodacre BJ, Goodacre CJ, Müller F, Wagner S. CAD/CAM complete denture systems and physical properties: a review of the literature. *J Prosthodont*. 2021;30:113-24.
9. Bidra AS, Taylor TD, Agar JR. Computer-aided technology for fabricating complete dentures: systematic review of historical background, current status, and future perspectives. *J Prosthet Dent*. 2013;109:361-6.
10. Ayaz EA, Bagis B, Turgut S: Effects of thermal cycling on surface roughness, hardness and flexural strength of polymethylmethacrylate and polyamide denture base resins. *J Appl Biomater Funct Mater*. 2015;13:280-6.
11. Prpić V, Schauperl Z, Ćatić A, Dulčić N, Čimić S. Comparison of mechanical properties of 3D-Printed, CAD/CAM, and conventional denture base materials. *J Prosthodont*. 2020;29:524-8.
12. Alp G, Johnston WM, Yilmaz B. Optical properties and surface roughness of prepolymerized poly(methyl methacrylate) denture base materials. *J Prosthet Dent*. 2019;121:347-52.
13. Al-Dwairi ZN, Tahboub KY, Baba NZ, Goodacre CJ, Özcan M. A Comparison of the Surface Properties of CAD/CAM and conventional polymethylmethacrylate (PMMA). *J Prosthodont*. 2019;28:452-7.
14. Srinivasan M, Gjengedal H, Cattani-Lorente M, Moussa M, Durual S, Schimmel M, et al. CAD/CAM milled complete removable dental prostheses: an in vitro evaluation of

- biocompatibility, mechanical properties, and surface roughness. *Dent Mater J*. 2018;37(4):526-33.
15. Tsujimoto A, Barkmeier WW, Takamizawa T, Latta MA, Miyazaki M. Influence of thermal cycling on flexural properties and simulated wear of computer-aided design/computer-aided manufacturing resin composites. *Oper Dent*. 2017;42:101-10.
 16. Morresi AL, D'Amario M, Capogreco M, Gatto R, Marzo G, D'Arcangelo C, et al. Thermal cycling for restorative materials: does a standardized protocol exist in laboratory testing? A literature review. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2014;29:295-308.
 17. Li P, Krämer-Fernandez P, Klink A, Xu Y, Spintzyk S. Repairability of a 3D printed denture base polymer: effects of surface treatment and artificial aging on the shear bond strength. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2021;114:104227.
 18. Europeans Standards. EN ISO 20795-1:2013: Denture base polymers. Available at: <https://www.en-standard.eu/bs-en-iso-20795-1-2013-dentistry-base-polymers-denture-base-polymers/>.
 19. Silva Barboza A, Fang LK, Ribeiro JS, Cuevas-Suárez CE, Moraes RR, Lund RG. Physicomechanical, optical, and antifungal properties of polymethyl methacrylate modified with metal methacrylate monomers. *J Prosthet Dent*. 2021;125:706.e1-6.
 20. Silva MDDD, Nunes TSBS, Viotto HEDC, Coelho SRG, Souza RF, Pero AC. Microbial adhesion and biofilm formation by *Candida albicans* on 3D-printed denture base resins. *PLoS One*. 2023;18:e0292430.
 21. American National Standards Institute. ANSI/ADA Specification n. 12-2002: Denture Base polymers. Available at: <https://webstore.ansi.org/standards/ada/ansiadaspecification122002>.
 22. Farina AP, Cecchin D, Soares RG, Botelho AL, Takahashi JM, Mazzetto MO, et al. Evaluation of Vickers hardness of different types of acrylic denture base resins with and without glass fibre reinforcement. *Gerodontology*. 2012;29:e155-60.
 23. Aguirre BC, Chen JH, Kontogiorgos ED, Murchison DF, Nagy WW. Flexural strength of denture base acrylic resins processed by conventional and CAD-CAM methods. *J Prosthet Dent*. 2020;123:641-6.

24. Freitas RFCP, Duarte S, Feitosa S, Dutra V, Lin WS, Panariello BHD, et al. Physical, mechanical, and anti-biofilm formation properties of CAD-CAM milled or 3D printed denture base resins: in vitro analysis. *J Prosthodont*. 2023;32:38-44.

4 CAPÍTULO 3 – Efeito dos limpadores de dentaduras na adesão de *C. albicans* e nas propriedades de resinas para base de dentaduras convencionais, fresadas e impressas 3D[§]

4.1 Resumo

Declaração do Problema. Pouco são as investigações sobre os limpadores de dentadura frente a capacidade de adesão de microrganismos e propriedade dentaduras fabricadas pelo CAD/CAM.

Objetivo. Avaliar o efeito dos limpadores de dentaduras na adesão de *C. albicans* e nas propriedades de superfície, óptica e mecânica de resinas para base de dentaduras convencionais, fresadas e impressas 3D.

Material e Método. Um total de 240 amostras de resinas foram confeccionadas, sendo 120 para os testes de adesão de *C. albicans*, estabilidade óptica (ΔE_{00}), rugosidade (Ra), hidrofobicidade (θ), energia livre de superfície (Owens-Wendt) e 120 amostras para os testes de adesão de *C. albicans*, microdureza superficial (Knoop), resistência à flexão e módulo de elasticidade em ensaio de três pontos, no qual foram divididas em 3 grupos de resina (convencional, fresada e impressa 3D) para dentadura (n= 40) e subdivididas em 5 limpadores de dentaduras (água, corega, efferdent, listerine e hipoclorito 1%) (n= 8). Os dados foram avaliados por ANOVA two-way e teste de Tukey para comparações múltiplas (P<0,05).

Resultados. Os limpadores de dentadura de composição de ácido diluído foram os que apresentaram maior eficácia na redução de *C. albicans* (P<0,001), no entanto o NaOCl 1% afetou significativamente as propriedades das resinas (P<0,05).

Conclusão. O uso do Listerine apresentou ser o mais eficaz na redução de *C. albicans* e menos prejudicial as propriedades das dentaduras, enquanto o NaOCl 1% foi o mais prejudicial as propriedades. A resina impressa 3D apresentou propriedades mecânicas inferiores às outras resinas em todos os limpadores de dentadura.

Palavras-chaves: Dentadura; Estomatite Protética; *C. albicans*; CAD/CAM; Desinfecção.

[§] Este capítulo está apresentado em formato de artigo e de acordo com as normas do periódico “Journal of Prosthetic Dentistry” – Qualis A1 – Fator de Impacto: 4.6 – <https://www.elsevier.com/journals/journal-of-prosthetic-dentistry/0022-3913/guide-for-authors>

4.2 Abstract

Problem Statement. There are few investigations into denture cleaners regarding the adhesion capacity of microorganisms and properties of dentures manufactured by CAD/CAM.

Objective. To evaluate the effect of denture cleaners on the adhesion of *C. albicans* and on the surface, optical and mechanical properties of resins for conventional, milled and 3D printed denture bases.

Material and Method. A total of 240 resin samples were made, 120 for testing *C. albicans* adhesion, optical stability (ΔE_{00}), roughness (Ra), hydrophilicity (θ), surface free energy (Owens-Wendt) and 120 samples for testing *C. albicans* adhesion, surface microhardness (Knoop), flexural strength and modulus of elasticity in a three-point test, in which they were divided into 3 groups of denture resin ($n=40$) and subdivided into 5 cleaners of dentures ($n=8$). Data were evaluated by two-way ANOVA and Tukey's test for multiple comparisons ($P<0.05$).

Results. Denture cleaners with a dilute acid composition were those that showed the greatest effectiveness in reducing *C. albicans* ($P<0.001$), however 1% NaOCl significantly affected the properties of the resins ($P<0.05$).

Conclusion. The use of Listerine proved to be the most effective in reducing *C. albicans* and least harmful to the properties of dentures, while 1% NaOCl was the most harmful to the properties. The 3D printed resin showed lower mechanical properties than other resins in all denture cleaners.

Keywords: Dentures; Denture stomatitis; *C. albicans*; CAD/CAM; Disinfection.

4.3 Implicação Clínica

Materiais para base de dentaduras estão sendo comercializados para adaptação ao sistema CAD/CAM, aumentando o número de usuários de dentaduras fabricadas com este sistema. Apesar disso, pouco são as investigações sobre os limpadores de dentadura frente a capacidade de adesão de microrganismos e propriedade ópticas, superficial e mecânicas das dentaduras, assim necessitando de investigação.

4.4 Introdução

Atualmente as dentaduras podem ser processadas usando técnicas convencionais ou digitalmente usando design auxiliado por computador e fabricação auxiliada por computador (CAD/CAM) pelo método de fresagem ou impressão tridimensional (3D).^{1,2} Estudos têm demonstrado que os discos fresados CAD/CAM são pré-polimerizados pelo fabricante sob calor e pressão o que minimiza sua porosidade e o monômero residual, consequentemente, melhorando suas propriedades e diminuindo adesão bacteriana.^{3,4} No entanto, as resinas para base de próteses fabricadas por impressão 3D são polimerizadas pela luz após a fabricação das camadas, levando ao aumento da porosidade e do monômero residual.^{2,5}

A higiene da prótese e a higiene oral são fatores muito importantes no controle da colonização de microrganismos na superfície da dentadura, no qual a colonização microbiana na cavidade oral e na superfície das próteses dentárias é bem conhecida como fator predisponente para a estomatite protética, infecção causada pela levedura *Cândida albicans*.^{6,7} Os agentes de limpeza de próteses dentárias contêm enzimas e compostos que liberam óxidos, o que pode levar à expansão do espaço intermolecular e à infiltração de produtos químicos e água na matriz polimérica.^{8,9}

O uso dos limpadores químicos de dentadura consiste na imersão da prótese em soluções com solvente, detergente, antibacteriano e ações antifúngicas, e tais soluções podem ser empregadas sozinhos ou em associação com escovação ou dispositivos ultrassônicos,^{10,11} no qual são divididos em duas classes principais: ácido diluído e peróxido alcalino.¹² Hipoclorito de sódio (NaOCl) e enxaguantes bucais, que são ácidos diluídos, são sugeridos como eficazes agentes de limpeza de dentadura, atuando na matriz orgânica do biofilme, considerados bactericidas e fungicidas, bem como removedores de manchas.¹³ Peróxidos alcalinos são constituídos por substâncias oxidantes, efervescentes, redutores de tensão e agentes quelantes, sendo apresentados na forma de pó ou comprimido, que em contato com água tornam-se soluções de peróxido de hidrogênio.¹⁴ Diferentes limpadores efervescentes estão disponíveis no mercado, sendo que Corega tabs® e Efferdente®, apresentados na forma de pastilha, são comumente utilizados, no qual são eficazes em diminuir a aderência de *C. albicans*, remover manchas leves e detritos nas bases de dentaduras.^{14,15}

Embora os métodos CAD/CAM para fabricação de dentaduras existam desde a década de 1990, eles ainda são vistos como uma abordagem relativamente nova devido às evidências

científicas limitadas¹⁶. Além disso, as evidências sobre o melhor protocolo químico para desinfecção e remoção de biofilme de processos CAD/CAM, e seus efeitos em suas propriedades, especialmente dentaduras impressas em 3D, são escassas.¹⁶⁻²¹ Diante disso, o objetivo desse estudo in vitro é avaliar o efeito dos limpadores de dentaduras na adesão de *C. albicans* e nas propriedades de superfície, óptica e mecânica de resinas para base de dentaduras convencionais, fresadas e impressas 3D. A hipótese nula é que não haverá diferenças significativas entre os diferentes tipos de resinas e os diferentes tipos dos agentes de limpeza.

4.5 Materiais e Métodos

Um total de 240 amostras de resinas foram confeccionadas, sendo 120 amostras nas dimensões com diâmetro de $10 \times 3,0 \pm 0,03$ mm de espessura para os testes de adesão de *C. albicans*, estabilidade óptica, rugosidade, hidrofilicidade,²² energia livre de superfície e 120 amostras nas dimensões de $15 \times 5,0 \times 3,0 \pm 0,03$ mm para os testes de adesão de *C. albicans* microdureza superficial, resistência à flexão e módulo de elasticidade,^{23,24} no qual foram divididas em três grupos de resina para dentadura (n= 40) (G1, G2 e G3), conforme o método de confecção e subdivididas em cinco limpadores de dentaduras (n= 8) (S1, S2, S3, S4 e S5) (Tabela 1), conforme ilustrado na Figura 1.

Tabela 1. Resinas acrílicas para base de dentaduras e agentes de limpeza utilizadas no estudo

GRUPOS	MATERIAL	MARCA	PROPORÇÃO	DESCRIÇÃO
G1	Resina termicamente ativada	Clássico ®	14g pó para 6,5ml monômero	60' banho-maria
G2	Resina Preensada em disco	Blue Dent ®	Disco prensado	Fresadora
G3	Resina líquida	Smart Dent ®	Resina líquida	Impressora 3D
S1	Água destilada	Própria fabricação	2 ml cada amostra	Controle
S2	Corega Tabs	Corega ®	1 para 200ml de água	Pastilha efervescente
S3	Efferdent	Efferdent ®	1 para 200ml de água	Pastilha efervescente
S4	NaOCl 1,0%	Ciclo Farma ®	Líquido	Ácido diluído
S5	Listerine cool hint	Listerine ®	Líquido	Ácido diluído

NaOCl, Hipoclorito de sódio.

Delineamento do Estudo



Figura 1. Diagrama representando o delineamento do estudo.

Para a confecção das amostras do grupo convencional, moldes de metal vazados nas dimensões das amostras foram incluídos em muflas de plástico (Vipi – STG Ltda) posicionadas entre placas de vidro sobre gesso especial tipo IV (Durone, Dentsply Ltda). A resina do método convencional rosa médio (Clássico) foi manuseada conforme a indicação do fabricante (Tabela 1) e inseridos nos moldes, sendo mantidos sob carga 14,71 kN durante 2 minutos em uma prensa hidráulica (Maxx 1; Essence Dental) e mantidas em bancada por 30 minutos. As amostras foram polimerizadas em banho-maria por 60 minutos em água fervente (100°C), após a polimerização, irregularidades de bordas e excessos de resinas foram removidas com uma broca maxicut (Vicking). As amostras confeccionadas pelo método fresado e impresso 3D, primeiramente, foram projetadas em um software CAD (Exocad; Exocad GmbH) de acordo com as dimensões das amostras. Os arquivos de linguagem de mosaico padrão CAD foram enviados para o software CAM da fresadora e da impressora 3D. Blocos de PMMA rosa médio (BlueDent Ltd.) foram fresados em uma fresadora de 5 eixos (SilaMill 5R; SILADENT) para obtenção das amostras fresadas, enquanto uma resina líquida rosa médio (SmartDent Ltd.) foi utilizada em uma impressora estereolitográfica com tecnologia de processamento digital de luz (MoonRay Model S; VertySystem) para obtenção das amostras impressas 3D. Todas amostras foram submetidas a um acabamento e polimento padronizado, usando discos de lixas na seguinte sequência de granulação: #200; #600; #1000 (Carbamet; Buehler); e #800; #1200 (Microcut; Buehler), acoplados em máquina de

polimento automático (AutoMet 250; Buehler) sob irrigação de água constante em 300 rpm durante 30 segundos em cada face. Após o acabamento com lixas, as amostras foram polidas com solução policristalina diamantada (MetaDi, Supreme; Buehler) passado em todas as faces planas e aplicado por 5 segundos em um disco de feltro acoplado na máquina de polimento automático em 300 rpm.²²⁻²⁴

Todas as amostras foram randomizadas aleatoriamente e colocadas em placas com 24 poços de 2ml, embaladas com grau cirúrgico e esterilizadas por meio de gás de óxido de etileno pela empresa Oximed® seguindo os protocolos da norma ISO9001:2015 para realização do teste microbiológico.⁴

Foi utilizado uma cepa isolada *Candida albicans* ATCC#90028 doada pelo Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba (FOA/UNESP) previamente congelada em freezer -80°C reativada por plaqueamento em meio Ágar Sabouraud Dextrose (ASD) por 24h em estufa a 37°C. As colônias formadas na placa foram passadas para um tubo de ensaio com caldo Brain Heart Infusion (BHI) inclinado e mantidos em estufa a 37°C por 24h. Um controle positivo da cepa foi realizado registrando um crescimento de $2,23 \times 10^6$ UFC/ml. As amostras, após esterilização, ficaram imersas em saliva humana esterilizada por 2h em estufa a 37°C com CO₂ a 5% para formação de película adquirida, sendo esta saliva coletada e centrifugada por 10 min a 4°C em 10.000 rpm, coletando apenas o sobrenadante que foi diluído em proporção 1:3 de solução salina 0,9% e acrescentado conservante Dithilthretol 0,25% (DTT) na proporção 1:10ml de saliva, após foi esterilizado com processo de filtração com filtro 0,22µm. As colônias formadas no tubo com BHI foram passadas com auxílio de alça de inoculação para uma placa de Petri com ASD e mantidos em estufa a 37°C com CO₂ a 5% por 24h. Após esse período as colônias formadas na placa foram passadas para um Caldo Malte de Levedura (YMB) até sua turvação, no qual a absorbância foi medida por um espectrofotômetro com comprimento de onda de 625nm até atingir uma densidade óptica (DO) compatível com biofilme oral, sendo atingindo uma DO de 350 ABS, em sequência foi distribuído 2ml de caldo em cada poço para cada amostra que ficaram em estufa a 37°C com CO₂ a 5% por 48h. Após o período de 48h as amostras foram lavadas com água destilada esterilizadas e imersas com 2ml dos limpadores de dentaduras conforme a randomização (Corega Tabs, Efferdent, NaOCl 1,0%, Listerine cool hint) durante 20 minutos em um agitador elétrico standard^{19,20}, após foram passadas com auxílio de pinça clínica para tubos de ensaio com 5ml de solução salina 0,9% (NaCl) para processamento de vórtex (AP 56; Phoenix) durante 1min e ultrassônica durante 6 min para segregação do

biofilme com a amostra. Em seguida, foi realizado 6 diluições seriadas 1:9 μl (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6}). Para cada amostra foi preparado uma placa com ASD divididas em seis quadrantes, sendo colocado três gotas de 25 μl em cada quadrante, conforme sua diluição. As placas foram incubadas em estufa a 37°C com CO₂ a 5% por 24h, após esse período foi realizado a contagem com auxílio de um contador digital de colônias, sendo escolhido o quadrante que em cada gota contia 3-30 colônias. A média de colônias de *C. albicans* (10 UFC/mL) foi realizado através da média das três gotas de cada amostra e multiplicada pelos expoentes da diluição (Figura 2).⁴

Diagrama Microbiológico



Figura 2. Diagrama microbiológico para adesão de *C. albicans* e processo de descontaminação.

A estabilidade óptica das amostras foram avaliadas usando um espectrofotômetro (UV-2450; Shimadzu, Kyoto, Japão). As medições foram realizadas utilizando a escala de cor CIE $L^*a^*b^*$ (Commission Internationale de l'Eclairage), usando um iluminante D65 em um ângulo de 2° de observação com uma faixa de comprimento de onda de 380 a 780 nm e uma abertura de 10 mm de diâmetro. A diferença cromática foi calculada utilizando dados antes da termociclagem e após a contaminação com *C. albicans*, utilizando o sistema CIEDE 2000 (ΔE_{00}) por meio da fórmula: $\Delta E_{00} = \{[\Delta L^*/(K_L S_L)]^2 + [\Delta C^*/(K_C S_C)]^2 + [\Delta H^*/(K_H S_H)]^2 + R_T[\Delta C^*/(K_C S_C)] \times [\Delta H^*/(K_C S_C)]\}^{1/2}$. O ΔL , ΔC e ΔH são as diferenças de luminosidade (L), croma (C) e matiz (H), respectivamente, enquanto K são os fatores paramétricos de visualização e S são as funções de passagem. Quanto maior o valor do ΔE_{00} , maior a alteração de cor do material e consequentemente, menor estabilidade óptica.²²

A rugosidade superficial foi analisada por meio de perfilometria de contato, utilizando um perfilômetro de rugosidade de superfície SJ-401 (Mitutoyo, Kanagawa, Japão), apresentando um diamante de 2 mm de diâmetro. As configurações foram definidas em $\lambda = 0,08$ mm do comprimento de onda de corte e 0,25 mm de comprimento transversal a uma velocidade de 0,05 mm/s para as características de rugosidade de superfície Ra. Ra é a rugosidade média que é determinada pela média aritmética dos valores absolutos das ordenadas do perfil de rugosidade. Foi realizado três medições em cada amostra por um único operador (V.A.A.B.), sendo a média dessas medições definida como o valor de rugosidade Ra.²²⁻²⁴

A hidrofilicidade e a energia de superfície foram analisadas por meio de um goniômetro digital de dispensador automático Drop Shape Analysis System DSA100E (Krüss GmbH, Hamburgo, Alemanha). A hidrofilicidade de cada amostra foi avaliada através da média de 5 medições do ângulo de contato (θ) entre a linha contínua da amostra e a tangente de uma gota d'água destilada de 20 μ l aplicada automaticamente pelo goniômetro e calculada pelo software Drop Shape Analysis 1.51 (Krüss GmbH). Para determinar a energia livre de superfície (mJ/m^2), medições adicionais do ângulo de contato foram realizadas com gota de 20 μ l de diiodometano, sendo então determinada pela medição do ângulo de contato da água e do diiodometano, através do método Owens-Wendt definido no software Drop Shape Analysis 1.51.^{23,25}

A microdureza de superfície foi avaliado com um microdurômetro (HMV-2T; Shimadzu Corp) equipado com um diamante Knoop, de acordo com as diretrizes da ASTM E384-11. Três marcações foram realizadas em cada amostra com distâncias de 500 μ m com uma carga vertical estática de 0,24N por 10 segundos. Um único operador (V.A.A.B.) mediu a maior diagonal de cada marcação, e a média das 3 medições foi definida como o valor de microdureza Knoop (KNH, Kgf/mm^2) da amostra.²²⁻²⁴

A resistência à flexão e o módulo de elasticidade foram testados através de um teste de flexão de 3 pontos em uma máquina de teste universal (EMIC, São José dos Pinhais, SP, Brasil), de acordo com as diretrizes da ISO 20795-1:(2013)²⁵ para polímeros de base de dentadura. As amostras foram posicionadas em vigas de suporte circulares com vão de 10 mm de comprimento. Uma célula de carga de 100 kg/F foi utilizada para aplicação de carga constante no centro da amostra a uma velocidade de cruzeta de 5 mm/min até a fratura. O momento da fratura foi designado como o momento em que a carga aplicada caiu a zero.^{26,27} Os dados foram registrados por meio de um programa de software (Tesc; Intermetric Ltd). A

resistência à flexão e o módulo de elasticidade foram então calculados a partir das seguintes equações:

(1)

$$\text{Resistência à Flexão (Mpa)} = 3Fl/2bh^2$$

(2)

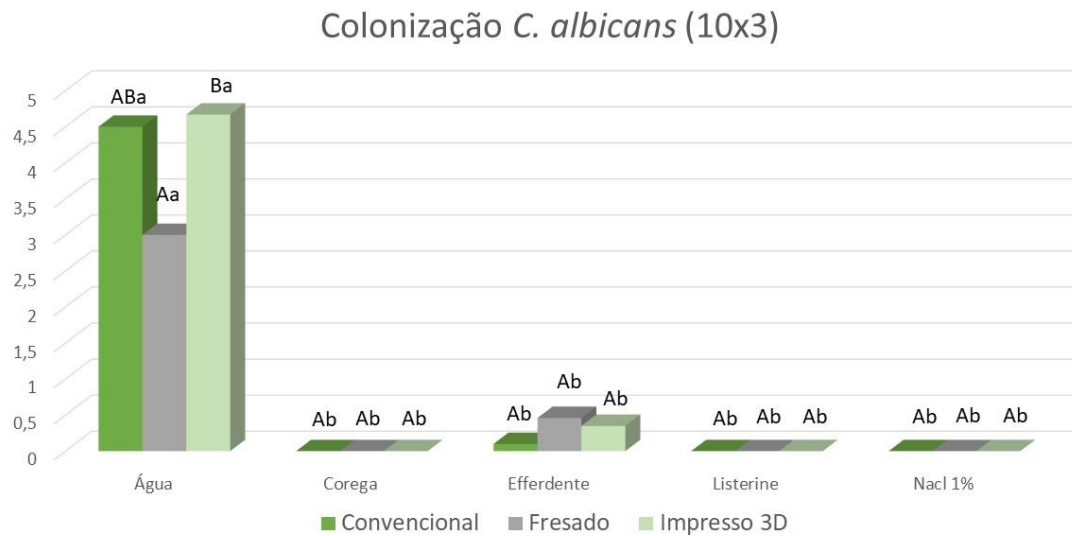
$$\text{Módulo de elasticidade (Mpa)} = Fl^3/4bh^3d$$

onde F é a carga máxima, l é a distância entre os apoios, b é a largura, h é a altura, e d é a deflexão.

Os conjuntos de dados foram analisados com software estatístico (SigmaPlot 15.0). As medidas contínuas com valores de média e desvio padrão para todos os grupos e testes foram computados. As diferenças estatísticas entre os grupos de resinas e tempo de envelhecimento foram avaliadas em teste de normalidade Shapiro-Wilk, posteriormente com a análise de variância ANOVA two-way e teste de Tukey para comparações múltiplas entre as variações. Todos os testes foram realizados com nível de significância de $p < 0,05$.

4.6 Resultados

A ANOVA two-way considerou apenas o fator limpadores ($F=42,158$; $P<0,001$) afetaram significativamente a colonização de *C. albicans* (10^5 UFC/ml) nas amostras dos testes das propriedades de superfície e cor. Ao analisar comparação múltipla de pares (teste de Tukey), a resina fresada ($3,00 \pm 2,44$) apresentou diferença significativa da resina impressa 3D ($4,67 \pm 4,91$) no controle com água ($P=0,009$), enquanto nos outros limpadores as resinas não apresentaram diferenças significativas entre si ($P>0,05$). Todos os limpadores de dentadura diminuíram significativamente a colonização em comparação à água em todas as resinas ($P<0,001$) (Figura 3).

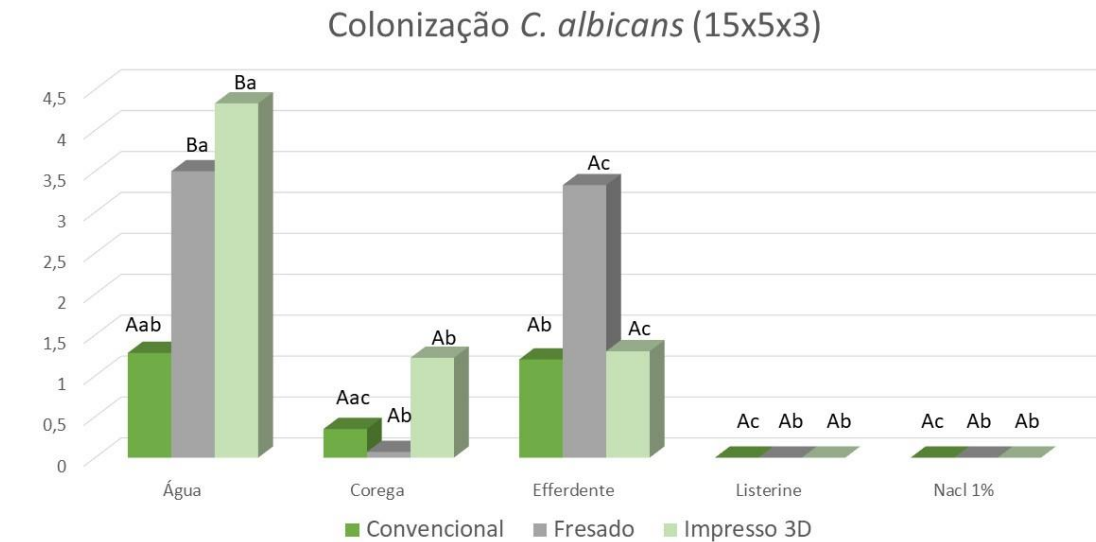


T0, 24h; T1, 6 meses; T2, 12 meses; T3, 24 meses.

Letras maiúsculas diferentes em mesmo agente e letras minúsculas diferentes em mesma resina apresentam diferença significativa ($p < 0,05$).

Figura 3. Resultado média da colonização *C. albicans* (10^5 UFC/ml) nas amostras redondas.

A ANOVA two-way considerou os fatores resina ($F=6,955$; $P<0,001$) e limpadores ($F=50,259$; $P<0,001$) afetaram significativamente a colonização de *C. albicans* (10^5 UFC/ml) nas amostras dos testes das propriedades mecânicas. Ao analisar comparação múltipla de pares (teste de Tukey), a resina convencional apresentou significativamente o menor valor de colonização em água ($1,28 \pm 1,93$) ($P<0,001$), mas as resinas não apresentaram diferenças significativas entre si nos limpadores de dentadura ($P>0,05$). Na resina convencional os limpadores corega ($0,35 \pm 0,24$; $P=0,136$) e efferdent ($1,20 \pm 1,59$; $P=0,983$) não apresentaram diferenças significativas com a água ($1,28 \pm 1,93$), enquanto nas outras resinas todos os limpadores diminuíram a colonização significativamente ($P<0,05$) (Figura 4).

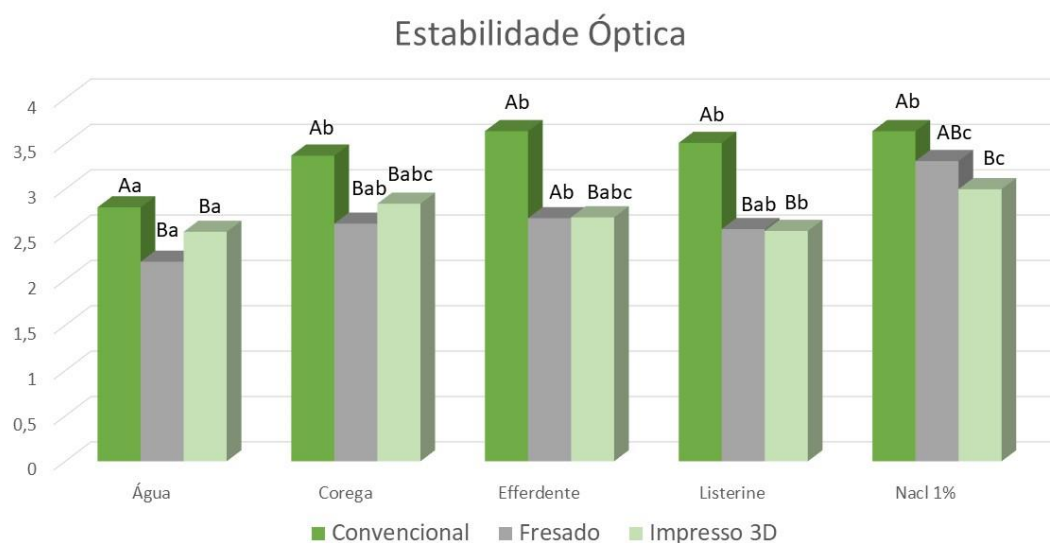


T0, 24h; T1, 6 meses; T2, 12 meses; T3, 24 meses.

Letras maiúsculas diferentes em mesmo agente e letras minúsculas diferentes em mesma resina apresentam diferença significativa ($p < 0,05$).

Figura 4. Resultado média da colonização *C. albicans* (10^5 UFC/ml) nas amostras retangulares.

A ANOVA two-way considerou os fatores resina ($F=69,099$; $P < 0,001$) e limpadores ($F=21,463$; $P < 0,001$) afetaram significativamente a estabilidade óptica. Ao analisar comparação múltipla de pares (teste de Tukey), as resinas fabricadas pelo CAD/CAM apresentaram significativamente menor alteração de cor que a resina convencional em todos os limpadores de dentadura ($P < 0,05$). O hipoclorito 1% apresentou os maiores valores de alteração de cor, sendo um aumento significativo em todas as resinas quando comparado com a água ($P < 0,05$) (Figura 5).

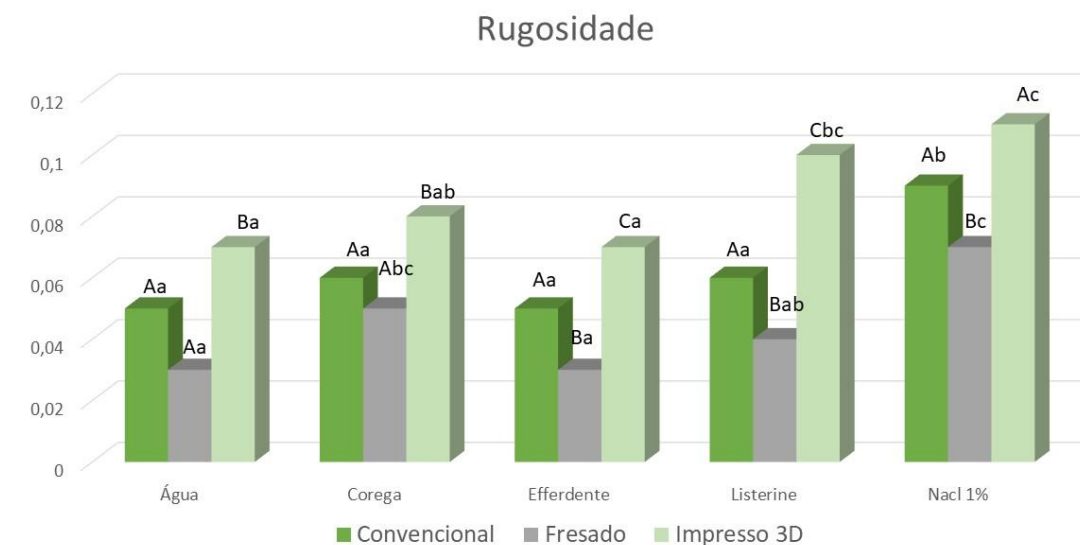


T0, 24h; T1, 6 meses; T2, 12 meses; T3, 24 meses.

Letras maiúsculas diferentes em mesmo agente e letras minúsculas diferentes em mesma resina apresentam diferença significativa ($p < 0,05$).

Figura 5. Resultado média da estabilidade óptica.

A ANOVA two-way considerou os fatores resina ($F=77,807$; $P<0,001$) e limpadores ($F=31,819$; $P<0,001$) afetaram significativamente a rugosidade superficial. Ao analisar comparação múltipla de pares (teste de Tukey), a resina impressa 3D apresentou valores significativamente maior da rugosidade em relação as outras resinas em todos os limpadores ($P<0,05$), com exceção do hipoclorito 1% que não apresentou diferença significativa com a resina convencional ($P=0,104$). O hipoclorito 1% apresentou os maiores valores de rugosidade, sendo um aumento significativo em todas as resinas quando comparado com a água ($P<0,05$) (Figura 6).

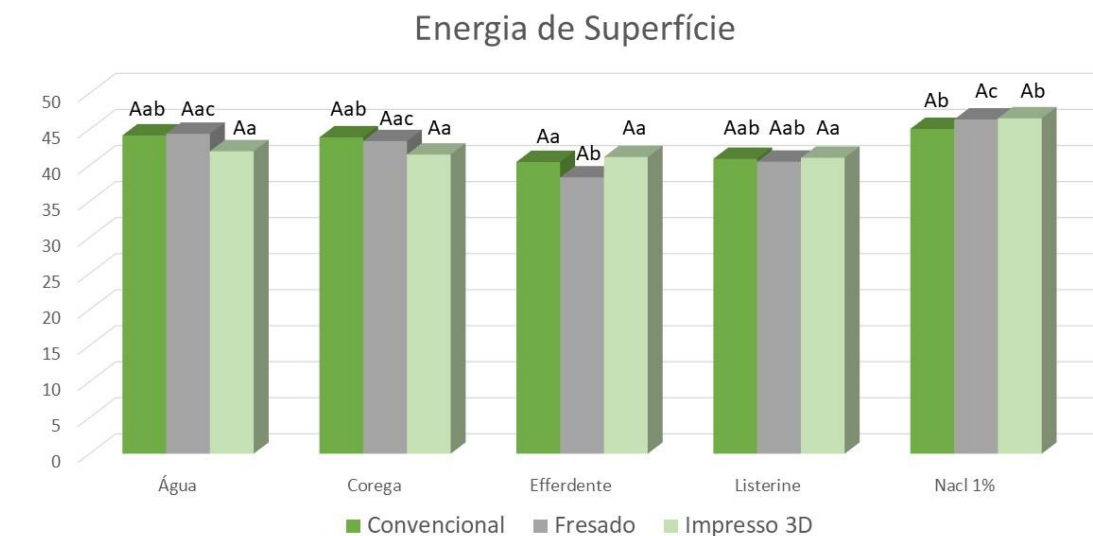


T0, 24h; T1, 6 meses; T2, 12 meses; T3, 24 meses.

Letras maiúsculas diferentes em mesmo agente e letras minúsculas diferentes em mesma resina apresentam diferença significativa ($p < 0,05$).

Figura 6. Resultado média da rugosidade de superficial.

A ANOVA two-way considerou apenas o fator limpadores ($F=14,698$; $P < 0,001$) afetou significativamente a energia de superfície. Ao analisar comparação múltipla de pares (teste de Tukey), as resinas não apresentaram diferenças significativas entre si em nenhuma dos limpadores de dentadura ($P > 0,05$). O hipoclorito 1% apresentou os maiores valores de energia de superfície, sendo um aumento significativo em relação aos outros limpadores na resina impressa 3D ($P < 0,05$) (Figura 7).

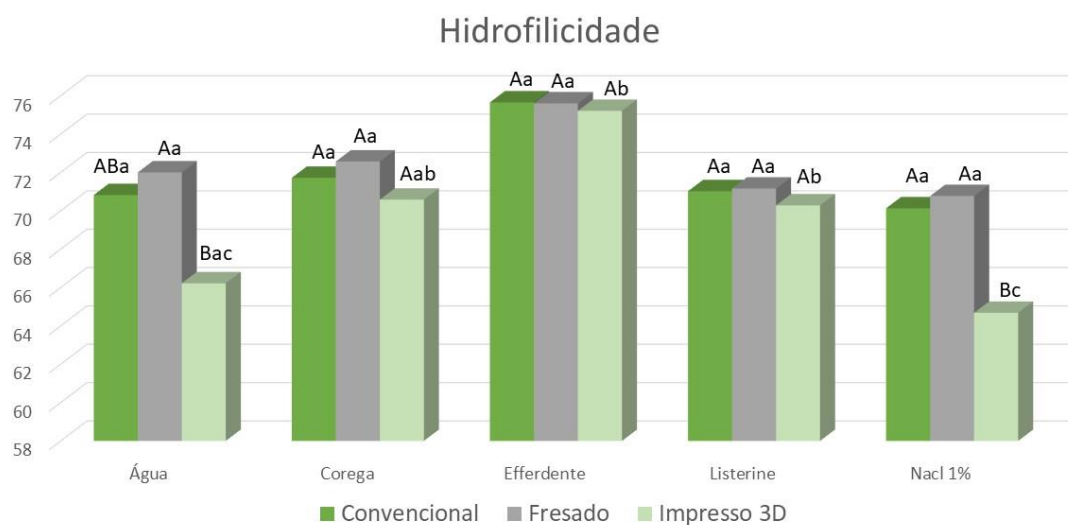


T0, 24h; T1, 6 meses; T2, 12 meses; T3, 24 meses.

Letras maiúsculas diferentes em mesmo agente e letras minúsculas diferentes em mesma resina apresentam diferença significativa ($p < 0,05$).

Figura 7. Resultado média da energia de superfície.

A ANOVA two-way considerou os fatores resina ($F=6,556$; $P=0,002$) e limpadores ($F=10,673$; $P<0,001$) afetaram significativamente a hidrofilicidade. Ao analisar comparação múltipla de pares (teste de Tukey), a resina impressa 3D apresentou significativamente menor valor de ângulo da água com o limpador hipoclorito 1%. Os limpadores de dentadura não alteraram significativamente o ângulo de contato das resinas convencional e fresada (Figura 8).

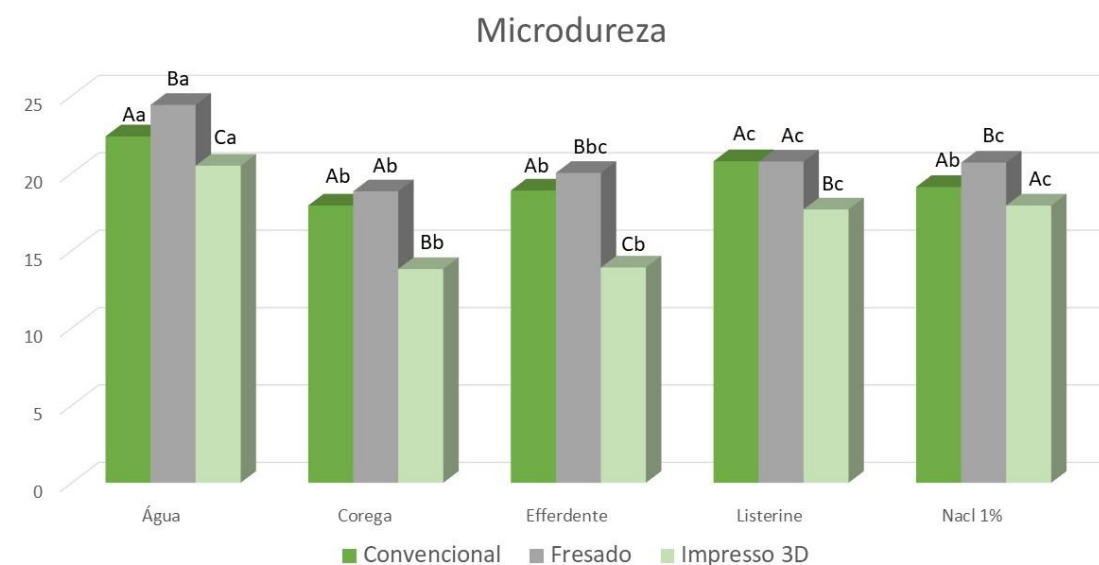


T0, 24h; T1, 6 meses; T2, 12 meses; T3, 24 meses.

Letras maiúsculas diferentes em mesmo agente e letras minúsculas diferentes em mesma resina apresentam diferença significativa ($p < 0,05$).

Figura 8. Resultado média da hidrofilicidade.

A ANOVA two-way considerou os fatores resina ($F=144,523$; $P<0,001$) e limpadores ($F=94,193$; $P<0,001$) afetaram significativamente a microdureza de superfície. Ao analisar comparação múltipla de pares (teste de Tukey), a resina impressa 3D apresentou significativamente os menores valores de microdureza superficial em todas os limpadores ($P<0,05$), com exceção ao hipoclorito 1% ($P=0,088$). Todos os limpadores diminuíram significativamente em comparação a água ($P<0,05$), sendo que os menores valores foram apresentados nos limpadores de corega e efferdent, não havendo diferença entre eles ($P>0,05$) (Figura 9).

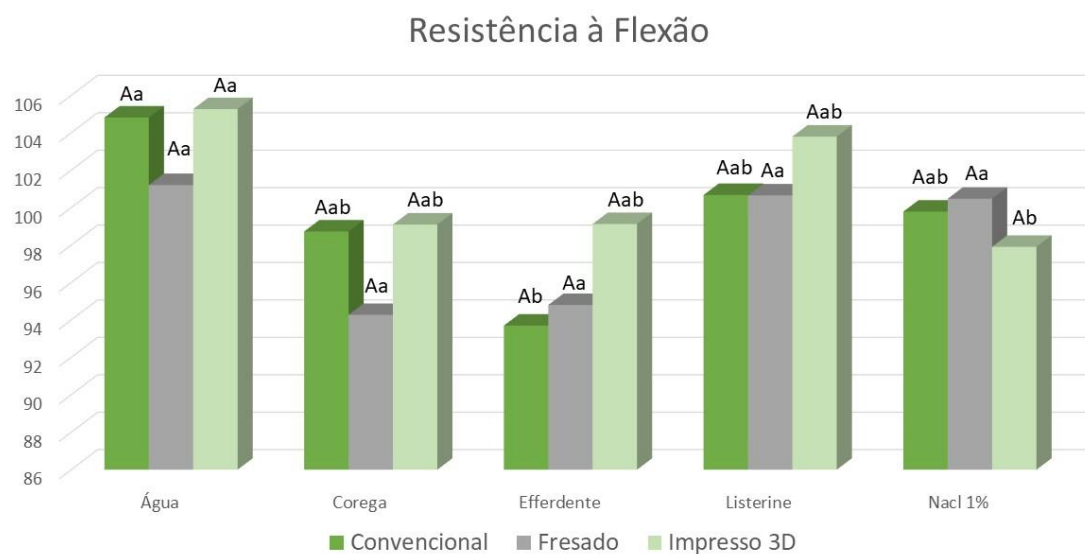


T0, 24h; T1, 6 meses; T2, 12 meses; T3, 24 meses.

Letras maiúsculas diferentes em mesmo agente e letras minúsculas diferentes em mesma resina apresentam diferença significativa ($p < 0,05$).

Figura 9. Resultado média da microdureza superficial.

A ANOVA two-way considerou apenas o fator limpadores ($F=9,247$; $P<0,001$) afetou significativamente a resistência à flexão. Ao analisar comparação múltipla de pares (teste de Tukey), as resinas não apresentaram diferenças significativas entre si em nenhuma dos limpadores de dentadura ($P>0,05$). O limpador efferdente apresentou menor resistência em comparação a água na resina convencional ($P<0,001$), o mesmo ocorreu na resina impressa 3D com o limpador hipoclorito 1% ($P=0,04$) (Figura 10).

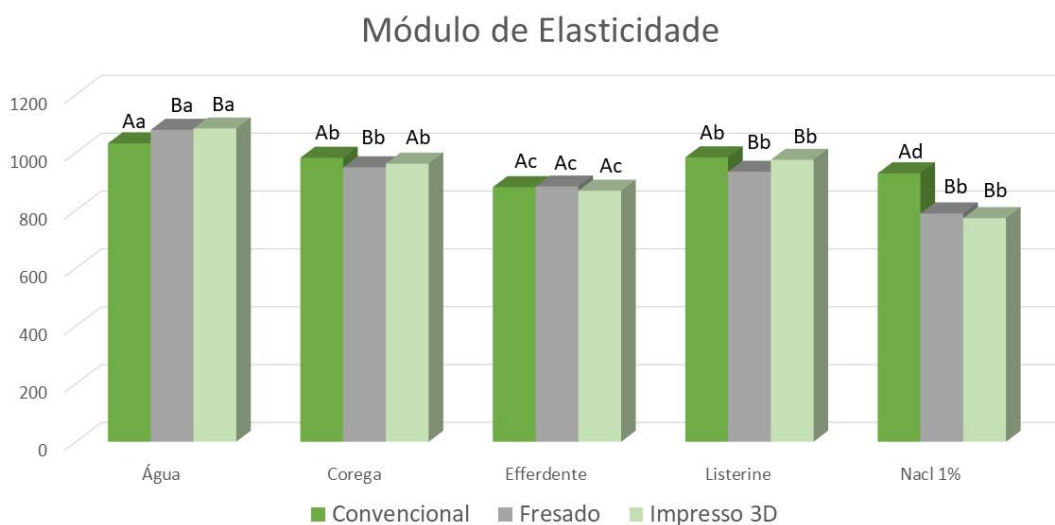


T0, 24h; T1, 6 meses; T2, 12 meses; T3, 24 meses.

Letras maiúsculas diferentes em mesmo agente e letras minúsculas diferentes em mesma resina apresentam diferença significativa ($p < 0,05$).

Figura 10. Resultado média da resistência à flexão (Mpa).

A ANOVA two-way considerou os fatores resina ($F=8,022$; $P<0,001$) e limpadores ($F=911,486$; $P<0,001$) afetaram significativamente o módulo de elasticidade. Ao analisar comparação múltipla de pares (teste de Tukey), a resina convencional apresentou significativamente o menor valor com água ($P<0,001$), no entanto, manteve significativamente os maiores valores nos limpadores com corega, listerine e hipoclorito 1% ($P<0,05$). Todos os limpadores diminuíram significativamente em comparação a água ($P<0,05$), sendo que as resinas do CAD/CAM apresentaram os menores valores com o limpador hipoclorito 1% ($P<0,001$).



T0, 24h; T1, 6 meses; T2, 12 meses; T3, 24 meses.

Letras maiúsculas diferentes em mesmo agente e letras minúsculas diferentes em mesma resina apresentam diferença significativa ($p < 0,05$).

Figura 11. Resultado média do módulo de elasticidade (Mpa).

4.7 Discussão

Os resultados da ANOVA two-way apresentado neste estudo rejeita a hipótese nula, pois o fator resina e limpadores de dentadura afetaram significativamente as propriedades avaliadas. Os resultados apresentados demonstraram que os limpadores de dentadura de composição de ácido diluído foram os que apresentaram maior eficácia na redução de *C. albicans*, no entanto o NaOCl 1% afetou significativamente as propriedades das resinas.

Os produtos de limpeza para próteses dentárias devem remover eficazmente a matéria inorgânica e orgânica, possuir propriedades fungicidas e bactericidas e produzir o menor dano possível aos materiais de base das próteses.¹⁹ Neste estudo todos os limpadores de dentadura diminuíram significativamente a quantidade de *C. albicans*, sendo que o Listerine e NaOCl 1% reduziu 100% do microorganismo em ambos os formatos de amostras testadas, corroborando com os resultados apresentados pelo estudo de Alfouzan *et al*²⁰. Apesar disso, o NaOCl 1% causou as maiores alterações cromáticas e maiores valores de rugosidade superficial, resultados semelhantes a estudos anteriores.^{19,28} Em contrapartida, o NaOCl 1% apresentou maiores valores de energia livre de superfície e maior hidrofilicidade que os outros limpadores, principalmente na resina impressa 3D, sendo este um dado satisfatório para a redução de adesão de *C. albicans*,^{18,19} no entanto o NaOCl atua diretamente na matriz

orgânica do microrganismo que também leva à dissolução da estrutura polimérica da dentadura, modificando suas características estrutural, podendo levar ao enfraquecimento da resina.²⁹ Isso se comprova pelo baixo valor da resistência à flexão e módulo de elasticidade apresentada pela resina impressa 3D com NaOCl 1%.

As resinas acrílicas podem absorver água e solventes, levando à hidrólise e à formação de zonas acrílicas com propriedades ópticas variáveis devido à difusão dos líquidos absorvidos na rede polimérica³⁰. Neste estudo a resina convencional apresentou significativamente os maiores valores de alteração cromática, sendo o NaOCl 1% apresentando o maior valor (ΔE_{00} : $3,64 \pm 0,35$). O estudo de Robinson *et al*³⁰ mostraram que limpadores de dentadura poderiam penetrar na rede polimérica da resina e ampliar os espaços intermoleculares, o que leva à lixiviação de pigmentos internos e a facilidade de penetração de corantes externos, sendo que o NaOCl atua com a possibilidade de clareamento.

O aumento da rugosidade superficial pode aumentar a aderência do biofilme, o crescimento microbiano e áreas de retenção de restos alimentares que são difíceis de remover, resultando em infecções dos tecidos subjacentes.^{22,24} Neste estudo a resina impressa 3D apresentou os maiores valores de rugosidade em todos os limpadores de dentaduras, sendo o maior valor apresentado no limpador NaOCl 1% ($0,11 \pm 0,01$). Esse resultado corrobora com os achados de Alfouzan *et al*.²⁰ que foi o primeiro estudo a avaliar a rugosidade das dentaduras CAD/CAM após processo de descontaminação, demonstrando aumento da rugosidade com NaOCl em 0,5% e 1% de concentração, deixando valores acima do aceitável clinicamente ($0,20 \mu\text{m}$).

Os limpadores de dentadura não alteraram significativamente a energia livre de superfície e o ângulo de contato da água das resinas. No entanto, a resina impressa 3D apresentou maior hidrofilicidade que as outras resinas. Valores reduzidos do ângulo de contato podem ocorrer porque os materiais de base de dentadura, dependendo de sua formulação, contêm alguns tipos de radicais funcionais de glicol, como dimetacrilato de etilenoglicol que proporcionam maior compatibilidade com água.²¹

A exposição de materiais de base de dentaduras em produtos de limpeza de próteses afeta a microdureza da superfície por influenciar na liberação de monômeros, reação de polimerização contínua e ligação com o oxigênio liberado, causando maiores combinação de radicais livres.^{31,32} Todos os limpadores diminuíram significativamente a microdureza, sendo que o Listerine foi o menos prejudicial entre todos os limpadores, além disso a resina

impressa 3D apresentou os menores valores de microdureza superficial. Esse resultado pode ser explicado pelo fato da resina impressa 3D ser a única não confeccionada sob calor e pressão, no qual são fatores importantes para reduzir o grau de conversão do monômero.²⁴

O estudo de Prpić *et al*³ destacou que as dentaduras impressas 3D são uma nova opção, no entanto, elas têm propriedades mecânicas inferiores às da maioria dos outros materiais para bases de próteses. Neste estudo as resinas não apresentaram diferenças significativas da resistência à flexão, no entanto, a resina impressa 3D apresentou os menores valores em todos os limpadores, enquanto a resina convencional apresentou os maiores valores de módulo de elasticidade. Esses resultados estão de acordo com estudos anteriores, demonstrando que os limpadores de dentadura pouco alteram sua resistência.^{18,33,34}

Em geral, o Listerine foi o que apresentou melhor desempenho entre todos os limpadores, pois foi eficaz na redução de *C. albicans* e não prejudicou as propriedades das resinas de dentaduras convencionais e CAD/CAM. Vale ressaltar que a utilização dos limpadores de dentadura foi de apenas 20 minutos, simulando o processo de limpeza, no qual maiores tempos de imersão das próteses nesses produtos não descartam as possibilidades de maiores prejuízos. Este estudo *in vitro* apresenta resultados relevantes sobre a escolha, para pacientes e profissionais, de um limpador de dentadura mais eficiente para as dentaduras CAD/CAM, além de melhor custo-benefício. Apesar disso, este estudo se limita pelo seu design *in vitro* que restringe a replicação exata de situações clínicas, no qual estudos clínicos são necessários para obter resultados e conclusões mais consistentes, principalmente em relação a satisfação do paciente.

4.8 Conclusão

Com base nos resultados deste estudo *in vitro*, as seguintes conclusões foram tiradas:

1. O uso do Listerine apresentou ser o mais eficaz na redução de *C. albicans* e menos prejudicial as propriedades das dentaduras, enquanto o NaOCl 1% foi o mais prejudicial as propriedades.
2. A resina impressa 3D apresentou propriedades mecânicas inferiores às outras resinas em todos os limpadores de dentadura.

4.9 Referências

1. Bidra AS, Taylor TD, Agar JR. Computer-aided technology for fabricating complete dentures: systematic review of historical background, current status, and future perspectives. *J Prosthet Dent* 2013;109:361-6.
2. Baba NZ, Goodacre BJ, Goodacre CJ, Müller F, Wagner S. CAD/CAM complete denture systems and physical properties: a review of the literature. *J Prosthodont.* 2021;30:113-24.
3. Prpić V, Schauperl Z, Ćatić A, Dulčić N, Čimić S. Comparison of mechanical properties of 3D-Printed, CAD/CAM, and conventional denture base materials. *J Prosthodont.* 2020;29:524-8.
4. Larijani M, Zarehshahrabadi Z, Alhavaz A, Hajipour R, Ranjbaran A, Giti R, et al. Evaluation of *Candida albicans* biofilm formation on conventional and computer-aided-design/computer-aided manufacturing (CAD/CAM) denture base materials. *Curr Med Mycol.* 2022;8(3):23-9.
5. Vitale A, Cabral JT. Frontal conversion and uniformity in 3D printing by photopolymerisation. *Materials.* 2016;9:760-72.
6. Karakis D, Akay C, Oncul B, Rad AY, Dogan A. Effectiveness of disinfectants on the adherence of *Candida albicans* to denture base resins with different surface textures. *J Oral Sci.* 2016;58:431-7.
7. Amaya Arbeláez MI, Vergani CE, Barbugli PA, Pavarina AC, Sanitá PV, Jorge JH. Long-term effect of daily chemical disinfection on surface topography and *candida albicans* biofilm formation on denture base and reline acrylic resins. *Oral Health Prev Dent.* 2020;18:999-1010.
8. Silva FC, Kimpura ET, Mancini MN, Balducci I, Jorge AO, 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;17:627-33.

9. Andrade IM, Cruz PC, Silva-Lovato CH, Souza RF, Souza-Gugelmin MC, Paranhos HF. Effect of chlorhexidine on denture biofilm accumulation. *J Prosthodont.* 2012;21:2-6.
10. Paranhos HF, Silva-Lovato CH, Souza RF, Cruz PC, Freitas KM, Peracini A. Effects of mechanical and chemical methods on denture biofilm accumulation. *J Oral Rehabil.* 2007;34:606-12.
11. Andrade IM, Cruz PC, Silva CH, Souza RF, Paranhos HF, Candido RC, et al. Effervescent tablets and ultrasonic devices against *Candida* and mutans streptococci in denture biofilm. *Gerodontology.* 2011;28(4):264-70.
12. Saraç D, Saraç YS, Kurt M, Yüzbaşıoğlu E. The effectiveness of denture cleansers on soft denture liners colored by food colorant solutions. *J Prosthodont.* 2007;16(3):185-91.
13. Paranhos HF, Peracini A, Pisani MX, Oliveira VC, Souza RF, Silva-Lovato CH. Color stability, surface roughness and flexural strength of an acrylic resin submitted to simulated overnight immersion in denture cleansers. *Braz Dent J.* 2013;24:152-6.
14. Verhaeghe TV, Wyatt CC, Mostafa NZ. The effect of overnight storage conditions on complete denture colonization by *Candida albicans* and dimensional stability: a systematic review. *J Prosthet Dent.* 2020;124:176-82.
15. Khan MA, Dhaded S, Joshi S. Commercial and plant extract denture cleansers in prevention of *Candida albicans* growth on soft denture reliner: in vitro study. *J Clin Diagn Res.* 2016;10:ZC42-5.
16. Gruber S, Kamnoedboon P, Özcan M, Srinivasan M. CAD/CAM complete denture resins: an in vitro evaluation of color stability. *J Prosthodont.* 2021;30:430-9.
17. Jain S, Sayed M, Ahmed WM, Halawi AHA, Najmi NMA, Aggarwal A, et al. an in-vitro study to evaluate the effect of denture cleansing agents on color stability of denture bases fabricated using CAD/CAM milling, 3D-printing and conventional techniques. *Coatings.* 2021;11(8):962.
18. Freitas RFCP, Duarte S, Feitosa S, Dutra V, Lin WS, Panariello BHD, et al. Physical, mechanical, and anti-biofilm formation properties of CAD-CAM milled or 3D printed denture base resins: in vitro analysis. *J Prosthodont.* 2023 Apr;32(S1):38-44.

19. Alqanas SS, Alfuhaid RA, Alghamdi SF, Al-Qarni FD, Gad MM. Effect of denture cleansers on the surface properties and color stability of 3D printed denture base materials. *J Dent*. 2022;120:104089.
20. Alfouzan AF, Tuwaym M, Aldaghri EN, Alojaymi T, Alotiabi HM, Taweel SMA, et al. Efficacy of denture cleansers on microbial adherence and surface topography of conventional and CAD/CAM-processed denture base resins. *Polymers*. 2023;15(2):460.
21. Atalay S, Çakmak G, Fonseca M, Schimmel M, Yilmaz B. Effect of different disinfection protocols on the surface properties of CAD-CAM denture base materials. *J Prosthet Dent*. 2023;130:787-95.
22. Alp G, Johnston WM, Yilmaz B. Optical properties and surface roughness of prepolymerized poly(methyl methacrylate) denture base materials. *J Prosthet Dent*. 2019;121:347-52.
23. Al-Dwairi ZN, Tahboub KY, Baba NZ, Goodacre CJ, Özcan M. A Comparison of the surface properties of CAD/CAM and conventional polymethylmethacrylate (PMMA). *J Prosthodont*. 2019;28:452-7.
24. Srinivasan M, Gjengedal H, Cattani-Lorente M, Moussa M, Durual S, Schimmel M, et al. CAD/CAM milled complete removable dental prostheses: an in vitro evaluation of biocompatibility, mechanical properties, and surface roughness. *Dent Mater J*. 2018;37:526-33.
25. Steinmassl PA, Klaunzer F, Steinmassl O, Dumfahrt H, Grunert I. Evaluation of Currently Available CAD/CAM Denture Systems. *Int J Prosthodont*. 2017;30:116–22.
26. Europeans Standards. EN ISO 20795-1:2013: Denture base polymers. Available at: <https://www.en-standard.eu/bs-en-iso-20795-1-2013-dentistry-base-polymers-denture-base-polymers/>.
27. Tsujimoto A, Barkmeier WW, Takamizawa T, Latta MA, Miyazaki M. Influence of thermal cycling on flexural properties and simulated wear of computer-aided design/computer-aided manufacturing resin composites. *Oper Dent*. 2017;42:101-10.
28. Ozyilmaz OY, Akin C. Effect of cleansers on denture base resins' structural properties. *J Appl Biomater Funct Mater*. 2019;17(1):2280800019827797.

29. Kassab NH, Mustafa EA, Hasan RH. Antifungal effect: comparison of commercial denture cleansers and microwave energy. *Al-Rafidain Dent J*. 2009;9:24-31.
30. Robinson JG, McCabe JF, Storer R. The whitening of acrylic dentures: the role of denture cleansers. *Br Dent J*. 1985;159:247-50.
31. Amin F, Akram S, Shaikh AA. Denture cleansers affect the mechanical behavior of heat polymerized acrylic resins. *JPDA*. 2015;24:87-92.
32. Porwal A, Khandelwal M, Punia V, Sharma V. Effect of denture cleansers on color stability, surface roughness, and hardness of different denture base resins. *J Indian Prosthodont Soc*. 2017;17:61-7.
33. Fouda SM, Gad MM, Abualsaud R, Ellakany P, AlRumaih HS, Farooqi FA, et al. In vitro evaluation of candida albicans adhesion and related surface properties of CAD/CAM denture base resins. *Eur J Dent*. 2023. <https://doi.org/10.1055/s-0043-1774319>
34. Ribeiro AB, Tinelli BM, Clemente LM, Poker BC, Oliveira VC, Watanabe E, et al. Effect of hygiene protocols on the mechanical and physical properties of two 3D-printed denture resins characterized by extrinsic pigmentation as well as the mixed biofilm formed on the surface. *Antibiotics*. 2023;12:1630.

ANEXOS

ANEXO A – REFÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL

1. Casemiro LA, Gomes Martins CH, Pires-de-Souza FC, Panzeri H. Antimicrobial and mechanical properties of acrylic resins with incorporated silver-zinc zeolite - part I. *Gerodontology*. 2008 Sep;25(3):187-94.
2. El Bahra S, Ludwig K, Samran A, Freitag-Wolf S, Kern M. Linear and volumetric dimensional changes of injection-molded PMMA denture base resins. *Dent Mater*. 2013 Nov;29(11):1091-7.
3. Cuijpers VM, Jaroszewicz J, Anil S, Al Farraj Aldosari A, Walboomers XF, Jansen JA. Resolution, sensitivity, and in vivo application of high-resolution computed tomography for titanium-coated polymethyl methacrylate (PMMA) dental implants. *Clin Oral Implants Res* 2014;25:359-65.
4. Gebremedhin S, Dorocka-Bobkowska B, Prylinski M, Konopka K, Duzgunes N. Miconazole activity against Candida biofilms developed on acrylic discs. *J Physiol Pharmacol*. 2014 Aug;65(4):593-600.
5. Wang GM, Sun PP, Pan H, Ye GP, Sun K, Zhang J, et al. Inactivation of Candida albicans biofilms on polymethyl methacrylate and enhancement of the drug susceptibility by cold Ar/O₂ plasma jet. *Plasma Chem Plasma Process*. 2016;36:383-96.
6. van Noort R. The future of dental devices is digital. *Dent Mater*. 2012 Jan;28(1):3-12.
7. Bidra AS, Taylor TD, Agar JR. Computer-aided technology for fabricating complete dentures: systematic review of historical background, current status, and future perspectives. *J Prosthet Dent*. 2013 Jun;109(6):361-6.
8. Al-Dwairi ZN, Tahboub KY, Baba NZ, Goodacre CJ. A Comparison of the flexural and impact strengths and flexural modulus of CAD/CAM and conventional heat-cured Polymethyl Methacrylate (PMMA). *J Prosthodont*. 2020 Apr;29(4):341-9.
9. Steinmassl PA, Klaunzer F, Steinmassl O, Dumfahrt H, Grunert I. Evaluation of Currently Available CAD/CAM Denture Systems. *Int J Prosthodont*. 2017. Mar/Apr;30(2):116-22.
10. Akpan A, Morgan R. Oral candidiasis. *Postgrad Med J*. 2002 Aug;78(922):455-9.
11. Nagaral S, Desai RG, Kamble V, Patil AK. Isolation of Candida species from the oral cavity and fingertips of complete denture wearers. *J Contemp Dent Pract*. 2014 Nov;15(6):712-6.

12. Gendreau L, Loewy ZG. Epidemiology and etiology of denture stomatitis. *J Prosthodont*. 2011 Jun;20(4):251-60.
13. Sarin J, Balasubramaniam R, Corcoran AM, Laudénbach JM, Stoopler ET. Reducing the risk of aspiration pneumonia among elderly patients in long-term care facilities through oral health interventions. *J Am Med Dir Assoc*. 2008 Feb;9(2):128-35.
14. Komulainen K, Ylöstalo P, Syrjälä AM, Ruoppi P, Knuuttila M, Sulkava R, et al. Oral health intervention among community-dwelling older people: a randomised 2-year intervention study. *Gerodontology*. 2015 Mar;32(1):62-72.
15. Altieri KT, Sanitá PV, Machado AL, Giampaolo ET, Pavarina AC, Jorge JH, et al. Eradication of a mature methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) biofilm from acrylic surfaces. *Braz Dent J*. 2013 Sep-Oct;24(5):487-91.
16. Coco BJ, Bagg J, Cross LJ, Jose A, Cross J, Ramage G. Mixed *Candida albicans* and *Candida glabrata* populations associated with the pathogenesis of denture stomatitis. *Oral Microbiol Immunol*. 2008 Oct;23(5):377-83.
17. Gleiznys A, Zdanavičienė E, Žilinskas J. *Candida albicans* importance to denture wearers. A literature review. *Stomatologija*. 2015;17(2):54-66.
18. Dhamande MM, Pakhan AJ, Thombare RU, Ghodpage SL. Evaluation of efficacy of commercial denture cleansing agents to reduce the fungal biofilm activity from heat polymerized denture acrylic resin: an in vitro study. *Contemp Clin Dent*. 2012 Apr;3(2):168-72.
19. Paranhos HF, Silva-Lovato CH, Souza RF, Cruz PC, Freitas KM, Peracini A. Effects of mechanical and chemical methods on denture biofilm accumulation. *J Oral Rehabil*. 2007 Aug;34(8):606-12.
20. Andrade IM, Cruz PC, Silva CH, Souza RF, Paranhos HF, Candido RC, et al. Effervescent tablets and ultrasonic devices against *Candida* and mutans streptococci in denture biofilm. *Gerodontology*. 2011 Dec;28(4):264-70.
21. Saraç D, Saraç YS, Kurt M, Yüzbaşıoğlu E. The effectiveness of denture cleansers on soft denture liners colored by food colorant solutions. *J Prosthodont*. 2007 May-Jun;16(3):185-91.
22. Nikawa H, Hamada T, Yamashiro H, Kumagai H. A review of in vitro and in vivo methods to evaluate the efficacy of denture cleansers. *Int J Prosthodont*. 1999 Mar-Apr;12(2):153-9.

23. Paranhos HF, Peracini A, Pisani MX, Oliveira VC, Souza RF, Silva-Lovato CH. Color stability, surface roughness and flexural strength of an acrylic resin submitted to simulated overnight immersion in denture cleansers. *Braz Dent J.* 2013;24(2):152-6.
24. Verhaeghe TV, Wyatt CC, Mostafa NZ. The effect of overnight storage conditions on complete denture colonization by *Candida albicans* and dimensional stability: a systematic review. *J Prosthet Dent.* 2020 Aug;124(2):176-82.
25. Khan MA, Dhaded S, Joshi S. Commercial and plant extract denture cleansers in prevention of *Candida albicans* growth on soft denture reliner: in vitro study. *J Clin Diagn Res.* 2016 Feb;10(2):ZC42-5.
26. Peracini A, Machado Andrade I, Oliveira VC, Macedo AP, Silva-Lovato CH, Oliveira Pagnano V, et al. Antimicrobial action and long-term effect of overnight denture cleansers. *Am J Dent.* 2017 Apr;30(2):101-8.
27. Rocha MM, Carvalho AM, Coimbra FCT, Arruda CNF, Oliveira VC, Macedo AP, et al. Complete denture hygiene solutions: antibiofilm activity and effects on physical and mechanical properties of acrylic resin. *J Appl Oral Sci.* 2021 Sep;29:e20200948.
28. Costa RTF, Pellizzer EP, Vasconcelos BCDE, Gomes JML, Lemos CAA, Moraes SLD. Surface roughness of acrylic resins used for denture base after chemical disinfection: a systematic review and meta-analysis. *Gerodontology.* 2021 Sep;38(3):242-51.
29. Arocha MA, Mayoral JR, Lefever D, Mercade M, Basilio J, Roig M. Color stability of siloranes versus methacrylate-based composites after immersion in staining solutions. *Clin Oral Investig.* 2013;17:1481-7.
30. Ayaz EA, Bagis B, Turgut S: Effects of thermal cycling on surface roughness, hardness and flexural strength of polymethylmethacrylate and polyamide denture base resins. *J Appl Biomater Funct Mater* 2015;13:280-6.
31. Prpić V, Schauperl Z, Ćatić A, Dulčić N, Čimić S. Comparison of mechanical properties of 3D-Printed, CAD/CAM, and conventional denture base materials. *J Prosthodont.* 2020 Jul;29(6):524-8.
32. Ajaj-Alkordy NM, Alsaadi MH. Elastic modulus and flexural strength comparisons of high-impact and traditional denture base acrylic resins. *Saudi Dent J.* 2014 Jan;26(1):15-8.
33. Diaz-Arnold AM, Vargas MA, Shaull KL, Laffoon JE, Qian F. Flexural and fatigue strengths of denture base resin. *J Prosthet Dent.* 2008 Jul;100(1):47-51.
34. Freitas RFCP, Duarte S, Feitosa S, Dutra V, Lin WS, Panariello BHD, et al. Physical, mechanical, and anti-biofilm formation properties of CAD-CAM milled or 3D printed denture base resins: in vitro analysis. *J Prosthodont.* 2023 Apr;32(S1):38-44.

35. Jain S, Sayed M, Ahmed WM, Halawi AHA, Najmi NMA, Aggarwal A, et al. an in-vitro study to evaluate the effect of denture cleansing agents on color stability of denture bases fabricated using CAD/CAM milling, 3D-printing and conventional techniques. *Coatings*. 2021;11(8):962.
36. Alqanas SS, Alfuhaid RA, Alghamdi SF, Al-Qarni FD, Gad MM. Effect of denture cleansers on the surface properties and color stability of 3D printed denture base materials. *J Dent*. 2022 May;120:104089.