



Universidade Estadual Paulista
Faculdade de Odontologia de Araraquara
Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese



Beatriz Ribeiro Ribas

Influência da escovação combinada com imersão em solução de sabonete líquido desinfetante sobre propriedades superficiais e biológicas de resinas acrílicas para base e reembasamento de prótese

Araraquara

2022



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



Beatriz Ribeiro Ribas

Influência da escovação combinada com imersão em solução de sabonete líquido desinfetante sobre propriedades superficiais e biológicas de resinas acrílicas para base e reembasamento de prótese

Dissertação apresentada ao Programa de Odontologia, área de Reabilitação Oral, da Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia de Araraquara como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de Reabilitação Oral.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Janaina Habib Jorge

Araraquara

2022

R482i	<p>Ribas, Beatriz Ribeiro</p> <p>Influência da escovação combinada com imersão em solução de sabonete líquido desinfetante sobre propriedades superficiais e biológicas de resinas acrílicas para base e reembasamento de prótese / Beatriz Ribeiro Ribas. -- Araraquara, 2022</p> <p>57 p. : il., tabs.</p> <p>Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara</p> <p>Orientadora: Janaina Habib Jorge</p> <p>1. Estomatite sob prótese. 2. Candida albicans. 3. Desinfecção. I. Título.</p>
-------	---

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

Essa ficha não pode ser modificada.

Beatriz Ribeiro Ribas

Influência da escovação combinada com imersão em solução de sabonete líquido desinfetante sobre propriedades superficiais e biológicas de resinas acrílicas para base e reembasamento de prótese

Comissão julgadora

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Odontologia - Área de Reabilitação Oral

Presidente e Orientador: Prof^a. Dr^a. Janaina Habib Jorge

2º Examinador: Prof^a. Dr^a. Ana Carolina Pero

3º Examinador: Prof. Dr. Maurício Malheiros Badaró

Araraquara, 17 de Fevereiro de 2022.

Beatriz Ribeiro Ribas

NASCIMENTO: 22/04/1997 – Recife – Pernambuco.

FILIAÇÃO: Cecília Maria Ribeiro Ribas

Ayrton Sobral Ribas Filho

2015-2019

Curso: Graduação em Odontologia

Local: Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Recife, Pernambuco, Brasil.

2020

Curso: Mestrado em andamento em Odontologia na área de Reabilitação Oral

Local: Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Faculdade de Odontologia de Araraquara (FOAr)

Araraquara, São Paulo, Brasil.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Janaina Habib Jorge

Dedico esta dissertação aos meus pais, por serem os maiores incentivadores de todos os sonhos da minha vida, obrigada por serem meu suporte e fonte de inspiração.

AGRADECIMENTOS

À **Deus** por me conceder o dom da vida e por ser a minha força nos momentos em que me sentia fraca e sem coragem de continuar, por diante de todas as minhas imperfeições permitir que eu compreendesse o sentido de perseverar na fé.

Aos meus **pais** por sempre acreditarem em mim e por me apoiarem a seguir meus sonhos. Agradeço por todo esforço que vocês fazem por nossa família, obrigada pelos ensinamentos que me fizeram ser a pessoa que sou hoje.

À toda minha **família**, em especial minha avó materna **Ana Basílio Ribeiro**, por todo carinho e cuidado comigo!

À minha orientadora, **Janaina Habib Jorge**, por todo o apoio, ensinamentos e incentivos, por me fazer crescer na vida acadêmica e pessoal, por me inspirar a ser um pouco do que ela é e representa para todos os seus alunos e por acreditar em mim, antes que eu o fizesse, muito obrigada professora.

Aos meus amigos da pós-graduação e da vida, **Beatriz Voss** e **Marlon Dias**. Obrigada por viverem todos os momentos de alegria e dificuldades comigo, com certeza ter compartilhado esses anos juntos tornou tudo mais especial e leve. Levarei pra sempre um pedaço de cada um comigo.

À **Camilla Tasso**, por todo apoio e dias no laboratório para que essa dissertação fosse concluída, obrigada pelos ensinamentos e parceria, além de dupla de pesquisa ganhei uma amiga que levarei pra vida toda.

À **Sérgio Sanguinetti**, pelo amor e apoio nos momentos de dificuldades e alegrias, por acreditar em mim e incentivar a crescer e ser companheiro mesmo com milhares de quilômetros de distância.

Aos meus amigos, em especial **Alice de Moraes**, **Analú Barros**, **Amanda Ferro**, **Antônio Victor**, **Cibele Melo**, **Gabriella Ronconi**, **Luiz Armando Tenório**, **Maria Alice Calazans**, **Maria Paula Rabêlo**, **Matheus Guimarães**, **Rodrigo Rêgo**, **Ticiano Sampaio**, **Roberta Lins**, obrigada por sempre desejarem o melhor pra mim e está comigo de todas as formas possíveis, sem vocês eu não teria chegado até aqui. Carrego cada um em meu coração.

À banca examinadora dos exames de pré e qualificação, professora **Ana Carolina Pero** e professor **Gelson Luis Adabo**, que enriqueceram este trabalho com suas sugestões e considerações.

À toda a equipe de professores, alunos, técnicos-administrativos da UNESP/FOAr, que contribuíram e viabilizaram que esta etapa fosse concluída.

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

Agradeço ainda a todos aqueles que contribuíram de forma direta ou indireta para realização deste trabalho.

RIBAS BR. Influência da escovação combinada com imersão em solução de sabonete líquido desinfetante sobre propriedades superficiais e biológicas de resinas acrílicas para base e reembasamento de prótese [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2022.

RESUMO

A estomatite protética (EP) é caracterizada como inflamação eritematosa encontrada com maior frequência na mucosa de pacientes que utilizam próteses removíveis parciais ou totais. Apesar de possuir etiologia multifatorial, a presença do biofilme de *Candida albicans* é fator primordial para o aparecimento da doença. Assim, métodos para redução ou eliminação do biofilme são essenciais para prevenção da EP. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência da escovação em imersão de solução de Lifebuoy sobre as propriedades superficiais e biológicas de resinas acrílicas para base e reembasamento de prótese. Os corpos de prova de ambas as resinas (N=189/resina) foram confeccionados a partir de matrizes metálicas e distribuídos em grupos de acordo com a solução de imersão: Hipoclorito de Sódio a 0,5% (controle positivo), Solução de Sabonete Lifebuoy a 7,8% (10 vezes a Concentração Inibitória Mínima) e Tampão Fosfato-Salino (PBS) (controle negativo). As amostras foram submetidas ao ciclo de escovação em imersão, durante 10 segundos, em uma máquina de escovação. Antes e após o ciclo de escovação e imersão, as propriedades de alteração de cor (somente para resina de base), dureza, rugosidade, adesão, capacidade de formação e remoção de biofilme foram avaliadas. Após verificação da normalidade e da homoscedasticidade, os dados foram submetidos a ANOVA de dois fatores (propriedades de superfície) e ANOVA a um fator (propriedades biológicas) e complementados pelo pós-teste de Tukey com nível de significância de 5% ($\alpha=0.05$). O grupo Lifebuoy não apresentou diferença estatística ($p>0,05$) em relação aos demais grupos para as propriedades de superfície avaliadas para ambas as resinas. Além disso a solução de Lifebuoy apresentou diferença estatisticamente significativa ($p<0,05$) em relação ao controle negativo na redução do biofilme sobre as resinas, assemelhando-se ao grupo hipoclorito. Desse modo, concluiu-se que a escovação em imersão utilizando a solução de sabonete Lifebuoy não interferiu nas propriedades superficiais das resinas avaliadas sendo capaz de reduzir o biofilme de *C. albicans*.

Palavras-Chave: Estomatite sob prótese. *Candida albicans*. Desinfecção.

RIBAS BR. Influence of brushing combined with immersion in a disinfectant liquid soap solution on the surface and biological properties of denture base and relining acrylic resin [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2022.

ABSTRACT

Denture Stomatitis (DS) is characterized as an erythematous inflammation found most frequently in the mucosa of patients who use partial or complete removable dentures. Despite having a multifactorial etiology, the presence of *Candida albicans* biofilm is a key factor for the onset of the disease. Thus, methods for reducing or eliminating the biofilm are essential for preventing DS. The aim of this study was to evaluate the influence of mechanical brushing combined with immersion in Lifebuoy solution on the surface and biological properties of acrylic resins for denture base and relining. The specimens of both resins (N=189/resin) were made from metallic matrices and distributed in groups according to the immersion solution: 0.5% Sodium Hypochlorite (positive control), Lifebuoy Soap Solution (7,8% - 10 times the Minimum Inhibitory Concentration) and Phosphate-Saline Buffer (PBS) (negative control). The samples were submitted to the brushing and immersion cycle, for 10 seconds, in a brushing machine. Before and after the brushing and immersion cycle, the color stability (only for base resin), hardness, roughness, adhesion, formation capacity and biofilm removal were evaluated. After checking for normality and homoscedasticity, the data were submitted to two-factor ANOVA (surface properties) and one-way ANOVA (biological properties) and Tukey's post-test with a significance level of 5% ($\alpha=0.05$). The Lifebuoy group showed no statistical difference ($p>0.05$) in relation to the other groups for the surface properties evaluated for both resins. Furthermore, the Lifebuoy solution showed a statistically significant difference ($p<0.05$) in relation to the negative control in the reduction of biofilm on resins, similar to the hypochlorite group. Thus, it was concluded that brushing combined with immersion using the Lifebuoy soap solution did not interfere with the surface properties of the evaluated resins, being able to reduce the biofilm of *C. albicans*.

Keywords: Stomatitis, Denture. *Candida albicans*; Disinfection.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	15
2.1 Objetivos Específicos	15
3 REVISÃO DA LITERATURA	16
3.1 Estomatite Protética	16
3.2 Escovação	18
3.3 Agentes de Desinfecção Química	19
3.4 Rugosidade Superficial	20
3.5 Dureza	21
3.6 Alteração de cor	22
4 MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1 Confeção das Amostras	24
4.2 Grupos Experimentais (Diagrama 1)	25
4.3 Ciclo de escovação	26
4.4 Alteração de Cor	26
4.5 Rugosidade	27
4.6 Dureza	27
4.7 Capacidade de Adesão e Formação de Biofilme	28
4.7.1 Contagem de unidades formadoras de colônias (UFC/mL)	28
4.7.2 Avaliação do metabolismo celular por meio do teste AlamarBlue®	30
4.8 Capacidade de Redução do Biofilme Formado Sobre as Amostras	30
4.9 Análise estatística	31
5 RESULTADOS	32
5.1 Alteração de Cor	32
5.2 Rugosidade	32
5.3 Dureza	34
5.4 Capacidade de Adesão e Formação de Biofilme	35
5.4.1 Contagem do número de colônias viáveis (UFC/mL)	35
5.4.2 Avaliação do metabolismo celular por meio do teste	36

AlamarBlue®	
5.5 Capacidade de Redução de Biofilme	37
5.5.1 Contagem do número de colônias viáveis (UFC/mL)	37
5.5.2 Avaliação do metabolismo celular por meio do teste AlamarBlue®	38
6 DISCUSSÃO	40
7 CONCLUSÃO	46
REFERÊNCIAS	47
ANEXOS	55

1 INTRODUÇÃO

A estomatite protética (EP) é encontrada com maior frequência em pacientes que utilizam próteses removíveis parciais ou totais e é caracterizada por ser uma inflamação da mucosa, principalmente do palato¹. A etiologia da EP é multifatorial e com fatores de risco associados: presença de biofilme microbiano, trauma, uso contínuo da prótese, xerostomia, próteses mal adaptadas, falta de higiene adequada¹⁻⁸. Entretanto, apesar da grande variedade de fatores de risco, a adesão de micro-organismos, principalmente as espécies de *Candida*, na superfície interna das bases das próteses ou materiais reembasadores e a posterior formação do biofilme são considerados fatores primordiais para o aparecimento dessa doença.

O tratamento mais comumente recomendado para a EP é a utilização de medicamentos antifúngicos, os quais podem ser de aplicação tópica ou sistêmica, orientação do paciente quanto à higienização da prótese e verificação da necessidade da troca da mesma⁹. Além disso, a suspensão do uso da prótese favorece a diminuição do componente inflamatório. Entretanto, diversos são os fatores os quais limitam o uso de agentes antifúngicos, como resistência fúngica, baixa solubilidade e alta toxicidade. Desse modo, a medida mais eficaz contra os problemas relacionados ao uso de próteses removíveis é a prevenção.

A eliminação do biofilme e manutenção da higiene bucal é essencial para prevenção da EP e pode ser realizada de forma mecânica, química ou associando ambos os métodos^{1,7,10,11}. Dentre os métodos disponíveis, a escovação realizada isoladamente deveria ser vista com cautela, pois a presença de rugosidade e porosidade nas bases das próteses podem dificultar a higienização. Além disso, o grau de destreza manual apresentado pelos idosos pode afetar negativamente a eliminação do biofilme^{12,13}.

Com a finalidade de superar esses inconvenientes, a escovação com agentes desinfetantes, já utilizados para imersão, surge como uma opção, sendo recomendada por sua ação efetiva contra micro-organismos. Diversos agentes de limpeza estão disponíveis e são utilizados como hipoclorito de sódio, digluconato de clorexidina e álcool¹⁴⁻¹⁷. Contudo, esses agentes apresentam algumas desvantagens como efeito residual irritante aos tecidos bucais, alteração das propriedades físicas e mecânicas das resinas acrílicas, manchamento das bases das próteses e corrosão dos componentes metálicos¹⁸⁻²⁵.

De forma a reduzir essas desvantagens, alguns estudos sugerem utilização de novas soluções químicas para imersão das próteses, objetivando diminuir a quantidade de biofilme em suas superfícies^{22,25-30}. Dentre elas, as soluções de sabonetes líquidos desinfetantes mostram-se como uma opção simples e de baixo custo como agentes de imersão. Zocolotti et al.²⁸ em estudo in vitro encontraram resultados positivos para soluções dos sabonetes Lifebuoy e Dettol, com eliminação completa do biofilme de *Candida albicans* formado sobre amostras de resinas acrílicas imersas durante 8 horas nas soluções. Além disso, as resinas avaliadas não apresentaram citotoxicidade ou alterações de suas propriedades físicas e mecânicas após a imersão pelo mesmo período^{28,29}. Clinicamente, foi observado que ambos os sabonetes líquidos (Dettol e Lifebuoy) foram eficazes na redução de duas espécies de *Candida* (*C. albicans* e *C. tropicalis*) coletadas da superfície interna das próteses³⁰. Em relação aos materiais reembasadores, um estudo mostrou que, em geral, a imersão em sabões desinfetantes líquidos não teve efeito adverso nas propriedades físicas da resina. Além disso, o sabonete líquido Lifebuoy reduziu o biofilme formado nas amostras e as soluções não afetaram a citotoxicidade do material³¹.

A fim de se realizar uma melhor higienização e usufruir das vantagens de cada método de desinfecção, a associação entre o método mecânico (escovação) e químico (agentes desinfetantes) tem sido indicada para diminuição do biofilme formado sobre as próteses e, conseqüentemente, para prevenção da EP⁹. A partir disto, foi observada a necessidade da avaliação da eficácia desta associação utilizando-se solução de sabonete antimicrobiano, uma vez que não foram encontrados estudos semelhantes na literatura.

2 OBJETIVOS

O objetivo deste estudo in vitro foi avaliar a influência da escovação mecânica associada a imersão em solução de sabonete líquido desinfetante sobre as propriedades de superfície e biológicas de resinas acrílicas para base e reembasamento de prótese.

2.1 Objetivos Específicos

Avaliar a alteração de cor de uma resina acrílica para base de próteses antes e após ciclo de escovação durante imersão em solução de sabonete líquido desinfetante;

Avaliar a rugosidade de resinas acrílicas para base e reembasamento de próteses antes e após ciclo de escovação durante imersão em solução de sabonete líquido desinfetante;

Avaliar a dureza de resinas acrílicas para base e reembasamento de próteses antes e após ciclo de escovação durante imersão em solução de sabonete líquido desinfetante;

Avaliar a capacidade de adesão e formação de biofilme sobre corpos de prova de resinas acrílicas para base e reembasamento de próteses após ciclo de escovação durante imersão em solução de sabonete líquido desinfetante;

Avaliar a capacidade de remoção de biofilme sobre resinas acrílicas para base e reembasamento de próteses após ciclo de escovação durante imersão em solução de sabonete líquido desinfetante.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Estomatite Protética

A estomatite protética (EP) é uma condição inflamatória que afeta a área da mucosa recoberta pela prótese e acomete a maior parte dos portadores de próteses removíveis parciais e totais. É reportado, na literatura, uma prevalência de EP em dois terços de idosos que utilizam prótese³² e de acordo com Pires et al.³³, acomete de 11 a 67% dos portadores de próteses removíveis.

Segundo a classificação de Newton, a EP é dividida em três tipos variando sua severidade em leve, moderada e severa. O tipo I se apresenta como uma inflamação localizada ou petéquias no tecido palatal normal, o tipo II é caracterizado por uma inflamação generalizada na área de recobrimento da prótese e, por fim, o tipo III se mostra como superfície hiperplásica do palato com inflamação da área recoberta pela prótese. A maior parte dos pacientes com EP não apresenta sintomas, porém pode⁸ haver sensação de queimação, dor, dificuldade de deglutição e mudanças no paladar²¹.

Apesar de ser frequente, a sua etiologia ainda não é bem estabelecida, sendo, portanto, considerada como multifatorial e com diversos fatores causais associados. Dentre estes fatores estão a má adaptação da prótese, fluxo salivar reduzido, trauma, tempo de uso da prótese, tabagismo, fatores dietéticos, rugosidade superficial da resina acrílica, alterações de pH, falta de higienização e presença de biofilme microbiano, principalmente, *Candida albicans*, sendo este último, fator primordial^{1-8,33}.

O uso constante das próteses mantém um baixo pH e condição anaeróbia que facilita o crescimento de patógenos oportunistas como *C. albicans*^{1,7,34}. *C. albicans* é o principal patógeno associado ao desenvolvimento da EP e é encontrada na microbiota oral de indivíduos saudáveis, entretanto, em situações que predispõem à infecção, esse fungo pode se tornar patogênico³⁴. Além disso, é a espécie de *Candida* spp. mais presente em indivíduos com EP, sendo encontrada em 75% dos pacientes^{35,36}.

Em estudo realizado por Pires et al.³³, 77 pacientes portadores de próteses totais foram avaliados antes e após a troca das próteses. Dentre os pacientes com

EP (50.6%), apenas 4.4% apresentavam boa higiene. Em ambas avaliações, todos os pacientes com EP apresentaram *Candida* spp. na saliva. Depois de 6 meses das trocas das próteses e orientações de higiene, houve redução de 65,78% nos casos de EP.

Apesar de estudos apontarem a presença de outras espécies de *Candida*, como *C. krusei*, *C. tropicalis* e *C. glabrata*^{35,37,38} na patogênese da EP, *C. albicans* continua sendo o principal patógeno devido a sua capacidade de se proliferar nos tecidos moles e duros da cavidade oral e formar um complexo biofilme⁷. Biofilmes são comunidades microbianas altamente organizadas, aderidas a uma superfície biótica (mucosa oral) ou abiótica (superfície das próteses), e protegidas por uma matriz polimérica extracelular^{39,40}. Devido à interação das células microbianas e a presença da matriz polimérica extracelular, o biofilme possui propriedades diferentes dos micro-organismos que se encontram em forma livre. Na forma de biofilme, as células apresentam benefícios, tais como: retenção de água e resistência a dessecação, captação e armazenamento de nutrientes, adesão ao sítio de infecção, proteção física contra o sistema de defesa do hospedeiro e antimicrobianos³⁹.

A terapia antifúngica é amplamente utilizada para o tratamento da EP, a qual pode ser realizada através de medicamentos de aplicação tópica ou sistêmica⁹. Todavia, o uso de drogas antifúngicas é limitado por inúmeros fatores, como resistência fúngica, baixa solubilidade e alta toxicidade. Em estudo *in vitro* realizado⁴², foi avaliada a eficácia da anfotericina B, nistatina, fluconazol e clorexidina em células planctônicas e biofilme de *C. albicans* e os resultados mostraram que as células de *C. albicans* em biofilme foram resistentes aos antifúngicos testados. Além disso, é sugerido que a terapia antifúngica e os métodos de desinfecção são igualmente efetivos no tratamento da EP⁴³.

Apesar da efetividade da terapia antifúngica, sem uma higiene adequada da prótese acontece uma rápida recorrência da EP, devido à recontaminação por espécies presentes na base da prótese que não foram afetadas pelo tratamento. Em diretriz para cuidado e manutenção de próteses totais publicado pelo *American College of Prosthodontics*, foi estabelecida a remoção das próteses antes de dormir e a necessidade de higienização diária por meio da escovação em imersão em agentes de desinfecção⁴⁴. Prevenir a formação de biofilme na base da prótese é a

melhor abordagem para a manutenção da higiene e, conseqüentemente, prevenção da EP.

3.2 Escovação

Uma das formas de manter a higiene e reduzir o biofilme sobre a base das próteses é através da ação mecânica da escovação. A escovação com água destilada chega a eliminar até 96% do biofilme²⁶, sugerindo que a ação mecânica da escovação seria o principal responsável pela redução do biofilme. Entretanto, apesar de sua efetividade contra as células do biofilme, quando associado a dentifrícios apresenta uma ação abrasiva sobre as resinas de base e reembasamento, aumentando a rugosidade superficial, o que acarreta em aumento da adesão do biofilme, favorecendo a presença de *C. albicans*^{27,45,46}.

Apesar de estudos apontarem a eficácia da escovação^{27,45,47,48}, a remoção do biofilme apenas por esse método é considerada duvidosa, pois a superfície da resina é porosa e com irregularidades e, além disso, é necessário um certo grau de destreza manual, que em pacientes idosos é diminuído^{10,12,13}. Em estudo realizado por Salles et al.⁴⁹, a escovação não se mostrou eficaz na redução das células do biofilme presente na superfície de overdenture e de acordo com *American College of Prosthodontics*, as células de *Candida* sp. presente na base das próteses não são afetadas pelo debridamento mecânico. Outro estudo, realizado por Paranhos et al.⁵⁰, testou a escovação associada a sabonete líquido neutro, dentifrício e saliva artificial, sendo o método com dentifrício o mais eficaz na redução do biofilme, mas em todos os grupos testados as células de *Candida* sp. ainda estavam presentes na base das próteses. Estes achados reforçam a necessidade de combinação dos métodos químicos e mecânicos para remoção do biofilme das bases de prótese^{9,11,51,52}.

De modo a contornar inconvenientes da escovação para idosos, Tan et al.⁵³ testaram uma escova elétrica para higienização de próteses. Ao utilizar essa escova com água houve diminuição da rugosidade superficial da resina, apresentando um efeito de polimento, porém ao combinar a escovação com dentifrício houve um aumento da rugosidade superficial. Em relação a redução do biofilme, a escovação combinada com dentifrício se mostrou mais eficaz do que a escovação com água, contudo, devido ao aumento de rugosidade superficial, não se torna indicado utilizar

este método, desse modo alternativas de agentes de desinfecção poderiam ser utilizadas para aumentar a eficácia deste método sem promover aumento de porosidade da resina acrílica.

3.3 Agentes de Desinfecção Química

Outro método de desinfecção de próteses removíveis é através da ação química de diversos agentes de limpeza como o hipoclorito de sódio, digluconato de clorexidina, peróxido alcalino, bicarbonato de sódio^{14,44,52,54,55}. Contudo, esses agentes apresentam algumas desvantagens como efeito residual irritante aos tecidos bucais^{18,19,22,23}; citotoxicidade²⁴; alteração das propriedades físicas e mecânicas das resinas acrílicas²⁵; manchamento das bases das próteses²³; corrosão dos componentes metálicos^{18,22} e baixa efetividade antimicrobiana^{20,21}.

Dentre esses agentes, o hipoclorito de sódio é aceito pela *American Dental Association* (ADA) como agente desinfetante, com vantagens como seu amplo espectro de ação contra diferentes micro-organismos e um efeito anti-adesivo para *Candida* spp.²⁵. O hipoclorito de sódio tem se mostrado o agente mais efetivo em estudos^{25,55-58}, desde que não ultrapasse o tempo de imersão de 10 minutos, caso contrário pode haver danos à prótese. Ao utilizar em períodos de tempo estendidos, o hipoclorito de sódio pode causar alterações de cor da resina acrílica, aumento da rugosidade superficial, além de afetar a dureza^{15,26,44,59}. Variando a concentração e diminuindo o tempo de imersão no hipoclorito de sódio é possível reduzir os danos às propriedades físicas da resina acrílica. Entretanto, outros inconvenientes do uso deste agente, como sua ação corrosiva sobre metais e o efeito residual, que pode levar a reações alérgicas e irritação da mucosa palatal e rebordo alveolar, não são minimizados^{22,25}. Assim, a utilização de outros agentes de desinfecção com mesma eficácia se faz necessária.

Diante do exposto, a busca por um produto que tenha eficácia semelhante ou superior ao hipoclorito de sódio com menos desvantagens tem sido alvo de muitos estudos. Algumas das opções alternativas presentes na literatura são agentes desinfetantes provenientes de *Ricinus communis*, Cloramina T, Tea tree, capim limão, sabão de coco, sabonetes antimicrobianos, derivados da guanidina e cinamaldeído, com resultados promissores na redução do biofilme de *C. albicans* mantendo as propriedades físicas da resina acrílica^{22,25,27 – 30,59 – 63}.

Estudos realizados mostram o efeito dos sabonetes líquidos desinfetantes sobre as propriedades físicas e biológicas de resinas acrílicas para base e reembasamento, bem como sobre os dentes artificiais²⁸⁻³⁰. Zocolotti et al.²⁸ avaliaram as propriedades de uma resina acrílica de base após imersão em sabonetes líquidos desinfetantes (Dettol, Lifebuoy, Protex) em diferentes períodos de tempo. As concentrações inibitórias mínimas (CIM) para *C. albicans* foram determinadas em altas diluições para todos os sabonetes, sugerindo a eficácia destes contra o micro-organismo analisado. As soluções mostraram-se eficazes em reduzir o biofilme formado sobre os corpos de prova e as marcas comerciais Dettol e Lifebuoy eliminaram totalmente o biofilme. Outro resultado positivo observado foi a classificação dos três sabonetes testados como não citotóxicos, além de não promoverem alteração na rugosidade das amostras.

Em 2019, Zocolotti et al.²⁹ concluíram que os sabonetes líquidos desinfetantes não alteraram significativamente a dureza, a rugosidade e a estabilidade da cor de dentes artificiais testados, tornando-se uma alternativa para a desinfecção de próteses removíveis parciais ou totais. Diante dos resultados laboratoriais promissores, Tasso et al.³⁰ realizaram um estudo clínico controlado com o objetivo de avaliar a efetividade das soluções de sabonetes líquidos desinfetantes (Dettol e Lifebuoy) no controle do biofilme presente em próteses totais superiores removíveis. Os autores concluíram que as soluções do sabonete Lifebuoy e do sabonete Dettol tiveram resultados semelhantes e foram eficazes na redução do biofilme, principalmente em relação ao micro-organismo *C. albicans*. Em relação aos materiais reembasadores, Malavolta et al.³¹ observaram que, em geral, a imersão em sabões desinfetantes líquidos não teve efeito adverso nas propriedades físicas da resina. Além disso, o sabonete líquido Lifebuoy reduziu o biofilme formado nas amostras e as soluções não afetaram a citotoxicidade do material³¹.

3.4 Rugosidade Superficial

A superfície interna das próteses exerce papel fundamental na adesão do biofilme. Porosidades e irregularidades presentes na resina acrílica atuam como um reservatório de micro-organismos e a rotina de higiene das próteses, acrescida do tipo de agente desinfetante utilizado, podem aumentar a rugosidade superficial e a presença de biofilme^{64,15}. Em revisão sistemática realizada por Costa et al.⁶⁵, a

rugosidade superficial da resina acrílica mostrou-se afetada pelo peróxido alcalino, enquanto que o hipoclorito de sódio, mesmo em diversas concentrações, causou pouca mudança sob essa propriedade.

A escovação da superfície da prótese pode acarretar em aumento da rugosidade superficial, tanto para resina acrílica de base quanto para resina de reembasamento^{27,45,46,66}. Em estudo realizado por Badaró et al.⁵⁹, a rugosidade superficial das amostras de resina acrílica higienizadas através do método combinado com escovação e imersão foi maior no grupo de hipoclorito de sódio a 0,5%, seguido do hipoclorito a 0,25%. Paranhos et al.⁵⁰ também observaram que o aumento da rugosidade superficial foi superior no grupo em imersão *overnight* no hipoclorito 0, 5%. Estes achados confirmam que a concentração do hipoclorito está relacionada diretamente com o tamanho do dano causado a superfície da prótese.

Por outro lado, o uso de agentes desinfetantes por um curto período de tempo em imersão ou associado à escovação não causaram alteração na rugosidade superficial¹⁵, sendo uma alternativa, desde que comprovado a eficácia na redução de biofilme. Zocolotti et al.²⁸ não encontraram diferenças significantes na rugosidade superficial das amostras de resina acrílica após protocolo de imersão em soluções de sabonete líquido antimicrobiano. Entretanto, a rugosidade de resinas acrílicas para base e reembasamento de prótese foi afetada pela imersão a longo prazo (1, 3 e 6 meses) em agentes de limpeza, tendo sido aumentada de acordo com o tempo⁶⁷. Aspecto positivo foi encontrado no estudo de Malavolta et al.³¹, os quais observaram redução da rugosidade após imersão de amostras de material reembasador em sabonete líquido antimicrobiano por 28 dias.

3.5 Dureza

As propriedades físicas da resina acrílica idealmente devem permanecer inalteradas após os ciclos de higienização. A dureza está relacionada a resistência do material à abrasão e ao desgaste^{68,69} podendo diminuir devido ao amolecimento químico causado pela água nas soluções desinfetantes ou pode aumentar devido à polimerização induzida adicional²⁹. Hipoclorito de sódio, clorexidina e perborato de sódio são reportados na literatura como agentes desinfetantes que diminuem a

dureza de resinas acrílicas para base e reembasamento de prótese e dentes artificiais^{15,68,70}.

Entretanto, sabonetes líquidos antimicrobianos, em protocolo de imersão, parecem não afetar a dureza da resina acrílica para base, com exceção da solução de sabonete Lifebuoy²⁸. Já para dentes artificiais da marca Vipi, todas as soluções de sabonetes antimicrobianos testados (Protex, Lifebuoy e Dettol) causaram a diminuição no valor da dureza, enquanto que os dentes artificiais das marcas Artiplus e Biolux não foram afetados²⁹. Em relação ao material reembasador, os valores de dureza aumentaram significativamente após o armazenamento das amostras em soluções de sabonetes líquidos desinfetantes, principalmente considerando o maior período de imersão (28 dias)³¹.

3.6 Alteração de Cor

A estabilidade da cor é propriedade importante na manutenção da estética das próteses. O principal mecanismo responsável pela alteração da cor é a absorvência de líquidos. Quando a resina absorve água, sua matriz polimérica se expande, separando as cadeias poliméricas, que mancham ou descolorem o material²⁸. Além do tipo de agente de desinfecção, o tempo de contato entre o agente e a resina acrílica afeta diretamente a alteração de cor⁵¹.

Estudos reportam alteração na cor de resinas acrílicas e de dentes artificiais após imersão em agentes de desinfecção como peróxido alcalino, hipoclorito de sódio, corega tabs, ácido peracético e soluções de sabonetes antimicrobianos^{15,29,38,51,71}. Contudo, as alterações de cor dos materiais após imersão em algumas soluções foram consideradas clinicamente aceitáveis.

Panariello et al.¹⁵ também avaliaram a alteração de cor após escovação com agentes de limpeza. Para a resina Lucitone todos os agentes de limpeza levaram a alterações de cor e para o reembasador rígido Tokuyama foi observada alteração de cor com o uso de ácido peracético, clorexidina e dentifício. Porém o grau de variação da cor foi baixo sendo considerado clinicamente aceitável. Ao utilizar soluções de sabonetes antimicrobianos para imersão de amostras de resinas acrílicas, Zoccolotti et al.²⁸ observaram alteração de cor, todavia esta também foi

imperceptível clinicamente, mostrando que estas soluções podem ser uma alternativa na desinfecção de próteses.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Confeção das Amostras

Os corpos de prova da resina acrílica para base de próteses (Vipi Produtos Odontológicos, Pirassununga, SP, Brasil) foram confeccionados a partir de matrizes metálicas com 10 mm de diâmetro e 1,2 mm de espessura (N=189). Primeiramente, as matrizes metálicas foram incluídas com gesso tipo III em mufla própria para micro-ondas, entre duas placas de vidro, previamente jateadas com óxido de alumínio para padronizar a rugosidade da superfície das amostras em aproximadamente $3,0 \mu\text{m}^{\text{64}}$, simulando a superfície interna das próteses. A resina acrílica para base de próteses foi manipulada, de acordo com as instruções do fabricante e a matriz foi preenchida com a resina acrílica na fase plástica. A mufla foi levada à prensa hidráulica com 1,0 kg/f, aumentando-se gradualmente a força até 1.5 kg/f. Em seguida, os corpos de prova foram polimerizados em um forno de micro-ondas doméstico 500W (Brastemp da Amazônia SA, Manaus, AM, Brasil) por 20 minutos com potência de 20%, seguido por 5 minutos com potência de 80% (também de acordo com as recomendações do fabricante da resina). As muflas foram colocadas em bancada durante a noite para o resfriamento. Após a demuflagem, os excessos das amostras foram removidos com uma ponta Maxi-Cut (Lesfils de August Malleifer SA, Ballaigues, Suíça). As amostras depois de prontas foram armazenadas por 48 horas a 37 °C em 20 mL de água destilada para liberação do monômero residual.

Os corpos de prova do reembasador rígido Kooliner (GC Corporation, Tokyo, Japan) foram confeccionados utilizando a mesma mufla, placas de vidro e matrizes supracitadas (N=189). O material foi proporcionado e manipulado de acordo com instruções dos fabricantes. Após a manipulação, a resina foi posicionada na matriz e levada à prensa hidráulica com 1,0 kg/f, aumentando-se gradualmente a força até 1,5 kg/f. Todas as amostras foram polimerizadas à temperatura ambiente para simular um processo de reembasamento direto⁷². O excesso de material de cada amostra foi recortado com tesoura e as amostras também foram armazenadas por 48 horas a 37 °C em 20 mL de água destilada.

Após a remoção dos excessos, todos os corpos de prova foram lavados em banho de ultrassom, utilizando água destilada, durante 15 minutos para remover os resíduos decorrentes do processo de confecção.

4.2 Grupos Experimentais (Diagrama 1)

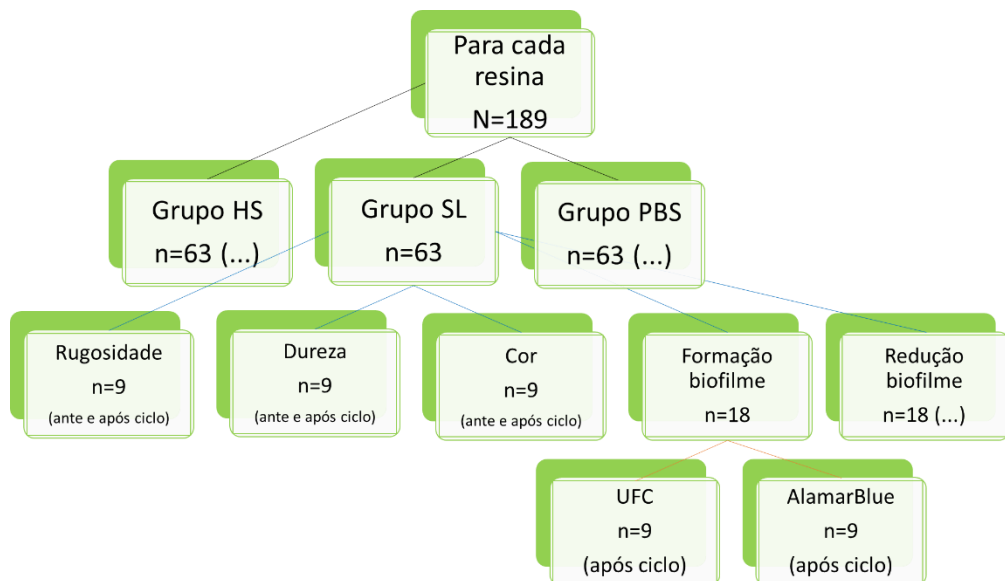
Os corpos de prova da resina acrílica para base de próteses e do reembasador rígido foram divididos em grupos experimentais (n=9) e submetidos à escovação, durante 10 segundos^{15, 16}, com as seguintes substâncias:

HS - Hipoclorito de Sódio (grupo controle positivo): os corpos de prova foram imersos em hipoclorito de sódio 0,5%;

SL - Solução Lifebuoy (grupo experimental): os corpos de prova foram imersos em sabonete líquido Lifebuoy na concentração de 0,78% (10 vezes da Concentração Inibitória Mínima)²⁸;

PBS (grupo controle negativo): os corpos de prova foram imersos em Tampão Fosfato-Salino (PBS).

Diagrama 1 - Distribuição das amostras



Fonte: Elaboração própria.

4.3 Ciclo de Escovação

O ciclo de escovação foi realizado em uma máquina de escovação (Mavtec, Ribeirão Preto, SP, Brasil) com seis pontos de teste desenvolvida pela Disciplina de Prótese Parcial Removível da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP e a foi utilizada escova dental com cerdas macias (Sorriso Original, Colgate-Palmolive, SP, Brasil).

Os dispositivos para encaixe das escovas apresentam pinos metálicos sobre os quais foram colocados cilindros confeccionados em latão. A função dos cilindros é exercer força constante de 200 g sobre as porções ativas das escovas durante os testes de escovação⁷². O acionamento do motor induz a movimentação do conjunto braço metálico dispositivo das escovas dentais, realizando movimentos cíclicos horizontais de amplitude controlada, permitindo um deslocamento linear das escovas de 18 mm para cada lado.

O compartimento em que os corpos de prova eram posicionados foi preenchido com 100 mL de cada substância de acordo com cada grupo experimental, e para cada grupo testado as escovas de dente foram trocadas.

É importante destacar que para a realização dos testes biológicos, os ciclos de escovação foram realizados em câmara de fluxo laminar, previamente esterilizada com raios ultravioleta durante 20 minutos⁷².

4.4 Alteração de Cor

Como mencionado anteriormente, imediatamente após a confecção, todos os corpos de prova foram armazenados em 20 mL de água destilada à temperatura de 37 °C durante 48 horas para liberação do monômero residual. Este tempo de 48 horas de armazenamento em água destilada foi considerado como T0.

Para a leitura inicial de cor, no tempo T0, todos os corpos de prova foram removidos da água destilada e secos com papel absorvente. Para leitura da cor, foi utilizada a espectrofotometria de reflectância, com iluminante D-65 (Scotti et al., 1997), espectro obtido no intervalo de 830 nm a 360 nm, espaço de cor CIE-L*a*b* e ângulo observador de 10°⁷⁴. Dez medidas para cada amostra foram realizadas para obter-se uma média. Após realização do ciclo de escovação associada à imersão, nova leitura foi realizada (T1). A diferença de cor entre os períodos de tempo (ΔE)

para cada amostra foi calculada com a fórmula: $\Delta E = \frac{1}{2}[(L1 - L0)^2 + (a1 - a0)^2 + (b1 - b0)^2]$ ⁷⁵.

Para calcular a quantidade de mudança de cor (ΔE) em um ambiente clínico, os dados foram convertidos para unidades do National Bureau of Standards (NBS) por meio da equação unidades NBS = $\Delta E \times 0,92$ (Tabela 1)²⁸. Os procedimentos foram realizados em 3 ocasiões distintas (n=9).

Tabela 1 - Sistema do National Bureau of Standards (NBS)

Observação clínica de diferença de cor	NBS unidades
Mudança extremamente leve	0.0±0.5
Mudança pequena	0.5±1.5
Mudança perceptível	1.5±3.0
Alteração marcada	3.0±6.0
Mudança extremamente marcada	6.0±12.0
Mudança para outra cor	12.0

Fonte: Zoccolotti et al.^{28,7}

4.5 Rugosidade

Antes e após a escovação em imersão, a rugosidade das amostras de cada grupo foi mensurada. Os corpos de prova foram submetidos à leitura da rugosidade superficial por meio da utilização de um rugosímetro (Surftest SJ-401, Mitutoyo Sul Americana Ltda, Santo Amaro, SP) com precisão de 0,01 μm . Três leituras para cada amostra foram realizadas em pontos diferentes, para obter a média. Para que houvesse condições de comparação com outros estudos, foi escolhido o parâmetro Ra. Os procedimentos foram realizados em 3 ocasiões distintas (n=9).

4.6 Dureza

Antes e após a escovação em imersão, a dureza das amostras de cada grupo foi determinada usando um diamante Vickers. As medidas foram realizadas no aparelho Micromet 2100 (Buehler, Lake Bluff, IL, USA), com 50 gf de força por 15 s.

A leitura do comprimento das diagonais foi realizada imediatamente após cada avanço, com a finalidade de evitar a recuperação viscoelástica das diagonais. Quatro penetrações foram realizadas em cada amostra, e o valor médio será calculado. Os procedimentos foram realizados em 3 ocasiões distintas (n=9).

4.7 Capacidade de Adesão e Formação de Biofilme

A capacidade de adesão e formação de biofilme de *C. albicans* sobre as amostras, após o ciclo de escovação em imersão nos agentes desinfetantes, foi avaliada pela análise da proliferação celular (contagem de unidades formadoras de colônias) e pela análise do metabolismo celular (teste AlamarBlue®).

4.7.1 Contagem de unidades formadoras de colônias (UFC/mL)

A cepa de *C. albicans* utilizada foi ATCC 90028. A reativação dos micro-organismos ocorreu por meio da técnica de Placa com Semeadura Direta. Primeiramente, o meio de cultura Sabouraud Dextrose Agar (SDA) foi retirado da geladeira e mantido em temperatura ambiente por 30 minutos. O tubo contendo a cultura de micro-organismos foi descongelado e com uma alça esterilizada, retirou-se uma alíquota da cultura de micro-organismos para ser plaqueada usando o método de esgotamento por quadrante. A placa foi incubada por 48 horas a 37°C com 5% CO₂.

O pré-inóculo foi feito após o crescimento das colônias. Em tubos tipo Falcon foram adicionados 10 mL do meio de cultura Yeast Nitrogen Base (YNB), específico para crescimento da cepa e 5 colônias selecionadas aleatoriamente da placa. O tubo foi levado ao aparelho Vortex e incubado em estufa a 37°C por 16 horas.

Após o período de incubação, o inóculo foi feito. No dia anterior, um tubo Falcon com 9,5 mL do meio de cultura YNB foi deixado em estufa estéril, para realizar a diluição na razão de 1:20 do pré-inóculo. Então o tubo foi vortexado e foi realizada a leitura no espectrofotômetro com filtro de 540nm. Em sequência o inóculo foi incubado por 8 horas em estufa a 37°C. Nova leitura foi realizada, após o período de incubação, para confirmar o crescimento do micro-organismo que correspondia a aproximadamente 0,550 A, 1×10^6 ufc/mL de *Candida albicans*. Os

tubos, então, foram levados a centrífuga por 5 minutos para formação de “pellet”. Em seguida, o pellet foi lavado com Tampão fosfato salino (PBS), levado para a centrífuga e novamente lavado com PBS. Após as duas lavagens os micro-organismos foram ressuspensos em meio Roswell Park Memorial Institute (RPMI) e, assim, foram obtidas alíquotas de meio contendo 10^6 ufc/mL de *Candida albicans*.

Previamente ao teste, as amostras de cada grupo experimental (n=9) foram lavadas em água corrente. Em seguida, desinfetadas em luz ultravioleta, na capela de fluxo laminar, por 20 minutos para cada lado do corpo de prova com o objetivo de eliminar os possíveis micro-organismos remanescentes⁷⁶.

Após o ciclo de escovação em imersão, os corpos de prova de cada grupo experimental, foram posicionados em uma placa de 24 poços com 750 μ L de meio com *C. albicans* e incubados por 90 minutos em incubadora de agitação orbital a 37°C e 76 rpm, para adesão das células. Após a fase de adesão, o conteúdo dos poços da placa foi removido e as amostras lavadas duas vezes com 1500 μ L de PBS para remoção das células não aderidas. Foram adicionados 1500 μ L de meio RPMI novo e incubado por 48 horas para a formação de biofilme (sendo o meio RPMI renovado após 24 horas).

Após esse período, os corpos de prova foram raspados com ponta de pipeta estéril por 1 minuto, para desprender o biofilme formado e ser realizada diluição seriada. Uma alíquota de 100 μ L da solução foi pipetada e transferida para um Eppendorf contendo 900 μ L de solução salina estéril. Este último tubo foi agitado vigorosamente em agitador de tubos e uma nova alíquota de 100 μ L foi removida do mesmo e colocada em outro Eppendorf contendo 900 μ L de solução salina. Esse procedimento foi realizado quatro vezes para cada corpo de prova e, desta forma, as diluições seriadas de 10^{-1} a 10^{-4} obtidas. Essas diluições foram utilizadas para semeadura nas placas de Petri contendo o meio de cultura SDA com 5 μ g/mL de cloranfenicol. Após 48 horas de incubação a 37°C, a quantificação das colônias foi realizada e os números de unidades formadoras de colônias por mililitro (ufc/mL) foram calculados de acordo com a seguinte fórmula: $\text{ufc/mL} = \text{número de colônias} \times 10^n / q$. Nessa fórmula, n equivale ao valor absoluto da diluição escolhida (de 0 a 4) e q equivale à quantidade, em mL, semeada de cada diluição nas placas. Os procedimentos foram realizados em 3 ocasiões distintas, totalizando 9 amostras de cada resina acrílica (n=9).

4.7.2 Avaliação do metabolismo celular por meio do teste AlamarBlue®

O metabolismo celular do biofilme de *C. albicans* foi monitorado usando o teste AlamarBlue®, o qual mede a viabilidade celular por meio da atividade das enzimas mitocondriais. Após a fase de adesão dos micro-organismos sobre as amostras de resina, o biofilme foi lavado 2 vezes com PBS e, sobre as amostras, colocados 1500 µL de meio de cultura novo em cada poço da placa. Em seguida, acrescentados 150 µL de solução de AlamarBlue®. As placas foram, então, colocadas na incubadora de agitação orbital a 37°C e 76 rpm. Após 4 horas foi realizada leitura da fluorescência das amostras, através do Fluoroskan Ascent (Fluoroskan Ascent FI, Thermo Fisher Scientific, Marietta, Ohio, USA) a 560 nm (A560) e 590 nm (A590). Os procedimentos foram realizados em 3 ocasiões distintas (n=9).

4.8 Capacidade de Redução do Biofilme Formado Sobre as Amostras

A capacidade de redução do biofilme de *C. albicans* sobre as amostras, após o ciclo de escovação em imersão, também foi avaliada pela análise da proliferação celular (contagem de unidades formadoras de colônias) e pela análise do metabolismo celular (teste AlamarBlue®). Para isso, os mesmos procedimentos descritos anteriormente foram realizados. Além disso, previamente aos testes, as amostras de cada grupo experimental (n=9) foram lavadas em água corrente e desinfetadas em luz ultravioleta, na capela de fluxo laminar, por 20 minutos para cada lado do corpo de prova com o objetivo de eliminar os possíveis micro-organismos remanescentes⁷⁶.

Para a análise de redução de biofilme, foi realizada a formação do biofilme sobre cada amostra posicionada nos poços da placa de 24 poços da mesma forma descrita anteriormente. Após as 48 horas de maturação do biofilme, as amostras foram submetidas ao ciclo de escovação de acordo com cada grupo experimental. Em seguida, as amostras foram transferidas para uma nova placa com o poço contendo 150 uL de solução salina estéril. Os corpos de prova foram raspados com ponta de pipeta estéril por 1 minuto, para desprender o biofilme residual.

Posteriormente, foram realizadas 2 diluições a partir desta solução resultante, as diluições seriadas de 10^{-1} e 10^{-2} foram obtidas. Essas diluições foram utilizadas para semeadura nas placas de Petri contendo o meio de cultura SDA com 5 µg/mL de cloranfenicol. Após 48 horas de incubação a 37°C, as placas de Petri foram submetidas a contagem de colônias. A quantificação das colônias foi realizada e os números de unidades formadoras de colônias calculados. Todos os procedimentos foram realizados em três ocasiões distintas (n=9).

Para análise do metabolismo celular do biofilme de *C. albicans* por meio do teste AlamarBlue®, os mesmos procedimentos descritos foram realizados.

4.9 Análise Estatística

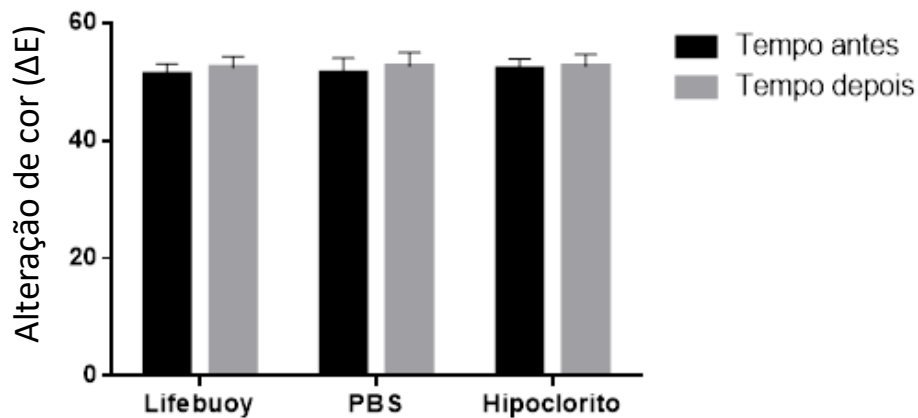
Os dados coletados foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk para avaliação da normalidade e ao teste F para avaliação da homoscedasticidade. Para avaliação das propriedades de superfície (alteração de cor, dureza e rugosidade) os dados foram submetidos a análise de variâncias a dois critérios (Two-way ANOVA) complementados pelo pós-teste de Tukey, quando necessário foi realizada análise inferencial por estimativa de média com intervalo de confiança de 95%. Já para avaliação das propriedades biológicas foi realizada a análise de variâncias a um critério (One-way ANOVA). Todas as análises estatísticas foram realizadas com nível de significância de 5%.

5 RESULTADOS

5.2 Alteração de Cor

Em relação à alteração de cor das amostras de resina de base, os resultados mostraram que não houve diferença estatística significativa ($p=0,8423$) quando comparados o ΔE antes e após o ciclo de escovação e imersão para todos os grupos avaliados (Figura 1). Também não houve diferença entre as soluções testadas. Todos os valores das unidades de NBS ficaram entre 0,81 e 1,35, indicando uma leve mudança que não é perceptível clinicamente para todos os grupos.

Figura 1 - Valores de ΔE antes e após ciclo de escovação e imersão nas soluções de Lifebuoy, PBS e Hipoclorito de sódio 0,5% para resina de base

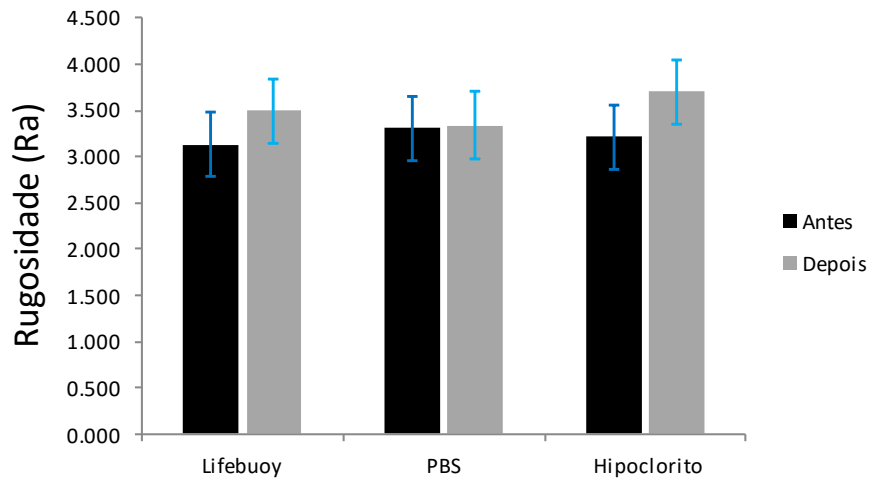


Fonte: Elaboração própria.

5.2 Rugosidade

Em relação à rugosidade das amostras de resina de base, (Figura 2) não foram encontradas diferenças estatísticas significantes nos grupos Lifebuoy e Hipoclorito de sódio 0,5% e PBS antes e após o ciclo de escovação e imersão. Foi observada uma diferença de $p=0,045$ na variável tempo, entretanto como este valor se encontra no limite da tomada de decisão e pelos dados serem homocedásticos, realizou-se o teste de intervalo de confiança. Foi possível observar a sobreposição de todas as barras do intervalo de confiança, confirmando dessa forma que não houve diferença estatística entre as soluções utilizadas e, no grupo de cada solução, não houve diferença entre antes e depois de realizada a escovação com imersão.

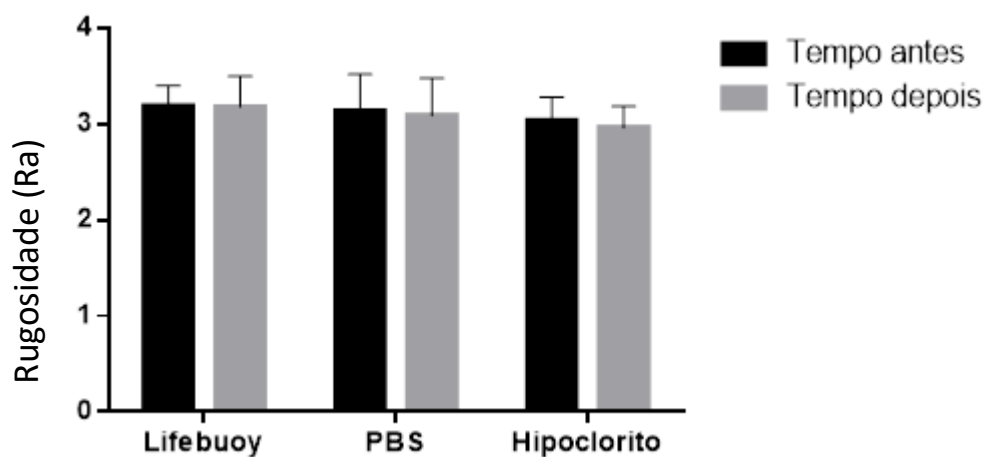
Figura 2 - Valores de Rugosidade (Ra) antes e após ciclo de escovação e imersão nas soluções de Lifebuoy, PBS e Hipoclorito de sódio 0,5% para resina de base



Fonte: Elaboração própria.

Para a resina acrílica de reembasamento, não foi encontrada diferença estatística ($p > 0,05$) em nenhum dos grupos quando comparados os valores de rugosidade antes e após o ciclo de escovação e imersão (Figura 3). Além disso, não houve diferença entre os grupos em relação ao tipo de solução.

Figura 3 - Valores de Rugosidade (Ra) antes e após ciclo de escovação e imersão nas soluções de Lifebuoy, PBS e Hipoclorito de sódio 0,5% para resina de reembasamento

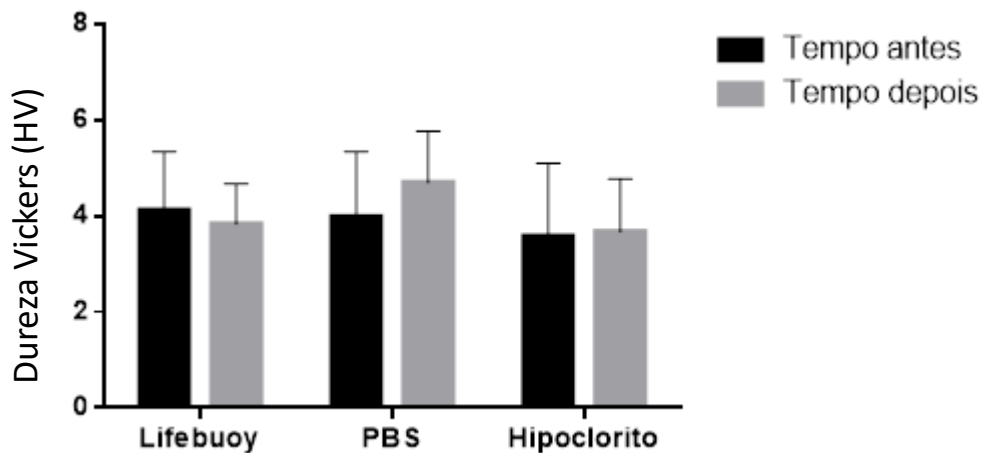


Fonte: Elaboração própria.

5.3 Dureza

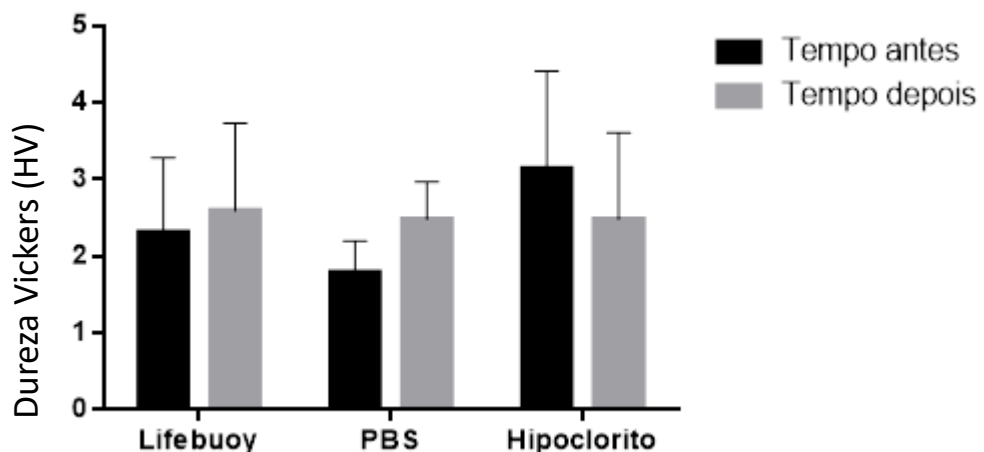
De acordo com os resultados obtidos, os valores da dureza não apresentaram diferença estatística significativa ($p > 0,05$) em nenhum dos grupos quando comparados os tempos antes e depois do ciclo de imersão e escovação para resina de base (Figura 4) e reembasamento (Figura 5). Também não houve diferença entre os grupos em relação ao tipo de solução.

Figura 4 - Valores de Dureza (HV) antes e após ciclo de escovação e imersão nas soluções de Lifebuoy, PBS e Hipoclorito de sódio 0,5% para resina de base



Fonte: elaboração própria.

Figura 5 - Valores de Dureza (HV) antes e após ciclo de escovação e imersão nas soluções de Lifebuoy, PBS e Hipoclorito de sódio 0,5% para resina de reembasamento



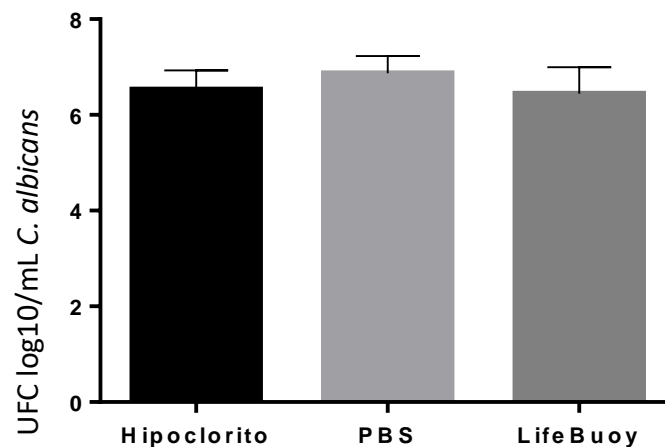
Fonte: elaboração própria.

5.4 Capacidade de Adesão e Formação de Biofilme

5.4.1 Contagem do número de colônias viáveis (UFC/mL)

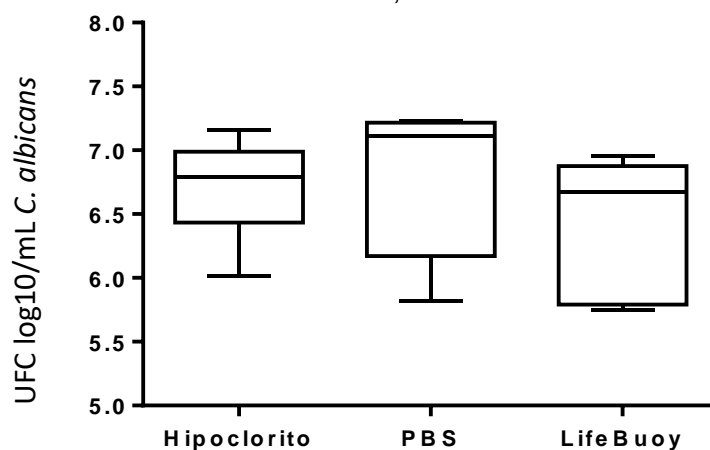
A partir da contagem das unidades formadoras de colônias (UFC/mL) foi possível observar que a escovação com imersão nos agentes de desinfecção não diminuiu a capacidade de adesão e formação do biofilme. De modo que, nos grupos avaliados de resina acrílica de base e reembasamento, não houve diferença estatística ($p>0,05$).

Figura 6 - Valores de UFC/mL das células de *C. albicans* referentes à formação e adesão do biofilme sobre as amostras de resina acrílica termopolimerizáveis submetidas a escovação com imersão nas soluções de Lifebuoy, PBS e Hipoclorito



Fonte: elaboração própria.

Figura 7 - Valores de UFC/mL das células de *C. albicans* referentes à formação e adesão do biofilme sobre amostras de resina acrílica de reembasamento submetidas a escovação com imersão nas soluções de Lifebuoy, PBS e Hipoclorito de sódio 0,5%

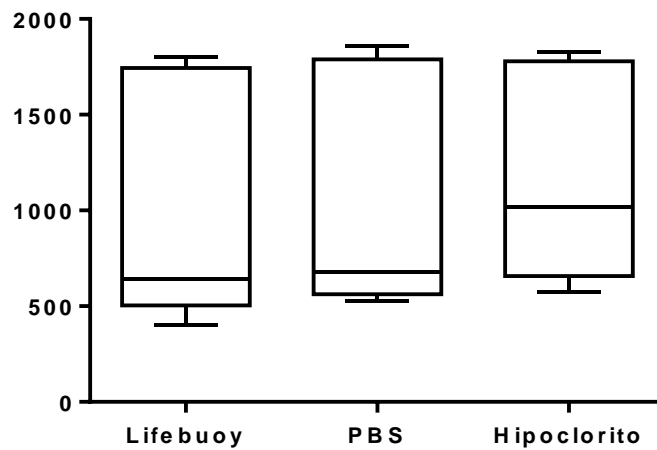


Fonte: elaboração própria.

5.4.2 Avaliação do metabolismo celular por meio do teste AlamarBlue®

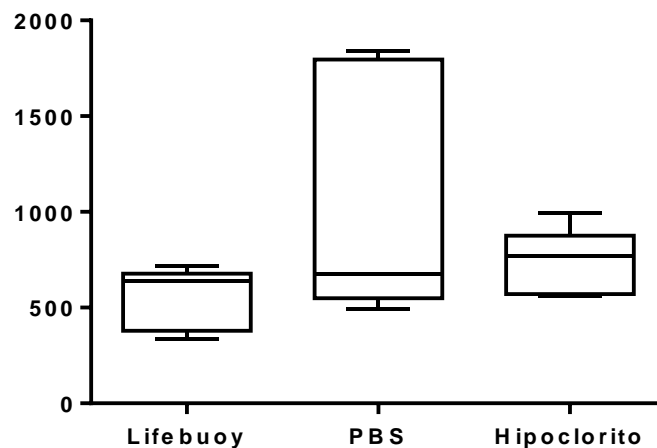
Para a capacidade de formação do biofilme de *C. albicans* não houve diferença estatisticamente significativa ($p > 0.5$) nos valores de absorbância do metabolismo celular entre nenhum dos grupos avaliados (Lifebuoy, hipoclorito 0,5% e PBS) para resina acrílica de base (Figura 8) e de reembasamento (Figura 9).

Figura 8 - Valores de fluorescência das células de *C. albicans* referentes à formação do biofilme sobre as amostras de resina acrílica termopolimerizável submetidas a escovação com imersão nas soluções de Lifebuoy, PBS e Hipoclorito de sódio 0,5%



Fonte: elaboração própria.

Figura 9 - Valores de fluorescência das células de *C. albicans* referentes à formação do biofilme das amostras de resina acrílica de reembasamento submetidas a escovação com imersão nas soluções de Lifebuoy, PBS e Hipoclorito de sódio 0,5%



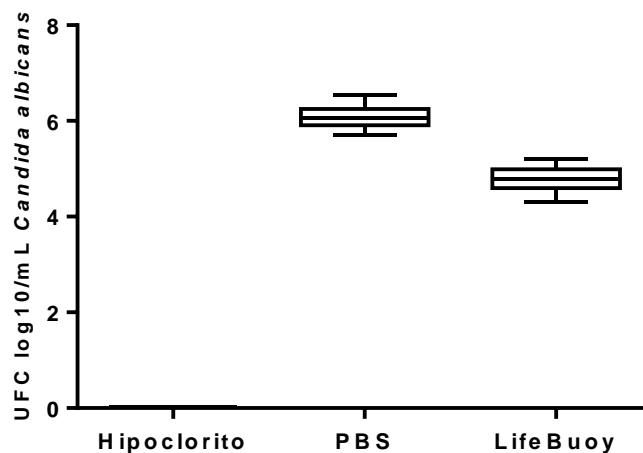
Fonte: elaboração própria.

5.5 Capacidade de Redução de Biofilme

5.5.1 Contagem do número de colônias viáveis (UFC/mL)

Os resultados obtidos a partir da contagem das unidades formadoras de colônias (UFC/mL) mostraram, para resina acrílica de base (Figura 10), uma redução de aproximadamente 1,3 logs do número de UFC/mL do grupo Lifebuoy ($\mu = 4.78 \log_{10}$) em relação ao grupo controle negativo ($\mu = 6.02 \log_{10}$), sendo essa diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$). Houve diferença estatística entre o grupo experimental (Lifebuoy) e o controle positivo (Hipoclorito 0,5%), além disso foi observada diferença entre os controles hipoclorito e PBS ($p < 0,0001$).

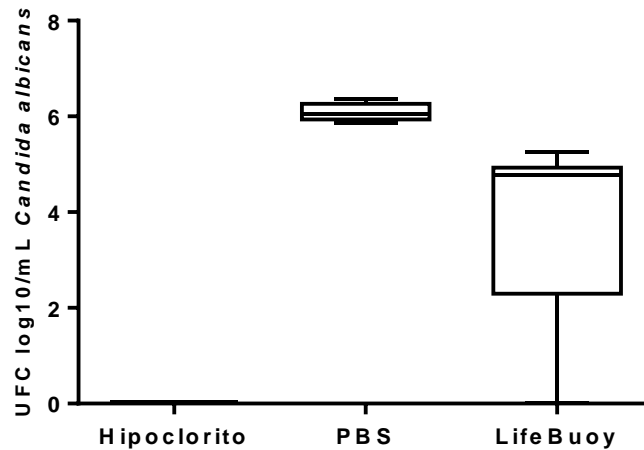
Figura 10 - Valores de UFC/mL das células de *C. albicans* referentes à redução do biofilme sobre amostras de resina acrílica termopolimerizável submetidas a escovação com imersão nas soluções de Lifebuoy, PBS e Hipoclorito de sódio 0,5%



Fonte: elaboração própria.

Adicionalmente, para o grupo de resina acrílica de reembasamento (Figura 11), houve uma redução de aproximadamente 2 logs do número de UFC/mL do grupo Lifebuoy ($\mu = 3.76 \log_{10}$) em relação ao grupo controle negativo ($\mu = 6.09 \log_{10}$), sendo esta diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$). Além disso, o grupo Hipoclorito e PBS foram diferentes entre si ($p < 0,0001$). Entretanto, não houve diferença estatística entre o grupo Lifebuoy e Hipoclorito ($p > 0,05$).

Figura 11 - Valores de UFC/mL das células de *C. albicans* referentes à redução do biofilme das amostras de resina acrílica de reembasamento submetidas a escovação com imersão nas soluções de Lifebuoy, PBS e Hipoclorito de sódio 0,5%



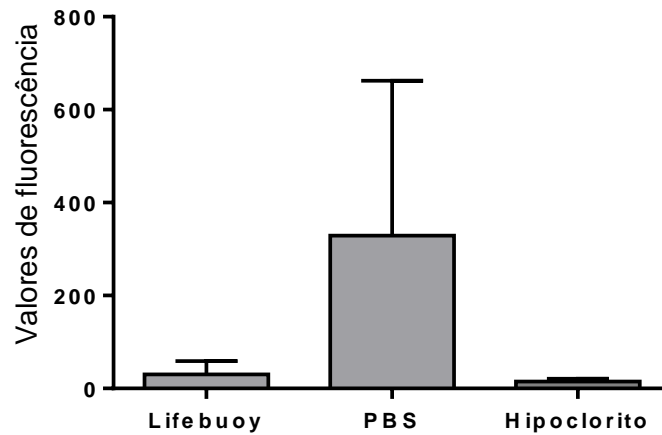
Fonte: elaboração própria.

5.5.2 Avaliação do metabolismo celular por meio do teste AlamarBlue®

Ao avaliar o metabolismo celular das células de *C. albicans*, o grupo experimental não apresentou diferença estatística em relação aos controles para resina de base (Figura 12). Entretanto, os grupos Hipoclorito e PBS foram diferentes entre si ($p < 0,05$).

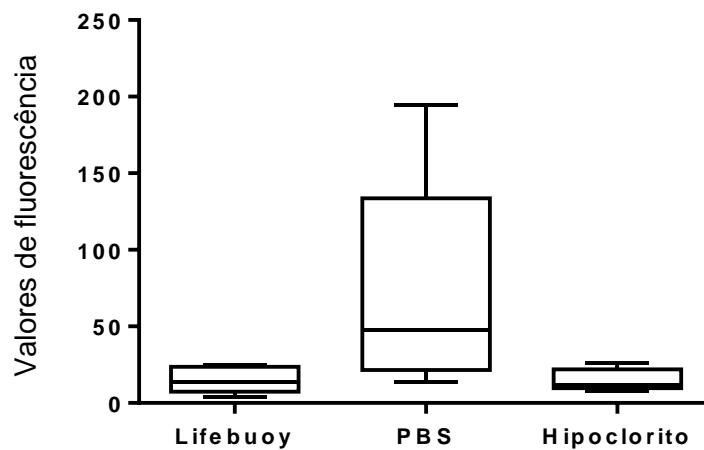
Já para a resina acrílica de reembasamento (Figura 13), os resultados apontaram diferença estatística entre o grupo Lifebuoy e PBS ($p < 0,05$) e entre o grupo hipoclorito e PBS ($p < 0,01$). Porém, não houve diferença entre o grupo experimental e o controle positivo.

Figura 12 - Valores de fluorescência das células de *C. albicans* referentes à redução do biofilme das amostras de resina acrílica termopolimerizável submetidas a escovação com imersão



Fonte: elaboração própria.

Figura 13 - Valores de fluorescência das células de *C. albicans* referentes à redução do biofilme das amostras de resina acrílica de reembasamento submetidas a escovação com imersão



Fonte: elaboração própria.

6 DISCUSSÃO

Diversos são os métodos existentes para higienização das próteses, entretanto, sabe-se que a combinação da escovação com imersão em agente desinfetante é recomendada para obtenção de maior eficácia na redução do biofilme⁹. Além disso, muitos agentes de limpeza estão disponíveis para os pacientes, contudo há uma variedade de efeitos deletérios para as próteses e para mucosa oral dos indivíduos causados por estes agentes¹⁸⁻²⁵. Assim, faz-se necessário realizar uma busca de substâncias alternativas que tenham eficácia na redução do biofilme, contornando os inconvenientes encontrados nos desinfetantes disponíveis. Este estudo avaliou a influência da escovação mecânica em imersão em solução de sabonete líquido desinfetante sobre as propriedades superficiais e biológicas de resinas acrílicas para base e reembasamento de prótese.

De forma geral, o presente estudo mostrou resultados promissores em relação às propriedades superficiais e biológicas de resinas acrílicas para base e reembasamento de prótese após escovação e imersão em solução de Lifebuoy, corroborando com os achados de estudos anteriores que avaliaram algumas propriedades de materiais acrílicos (dentes artificiais, reembasadores e resina termipolimerizável) após imersão nessa solução²⁸⁻³¹. A eficácia deste agente de desinfecção combinado com a escovação, mesmo em período curto de tempo, faz surgir uma nova opção de higienização, de fácil acesso e baixo custo, aos portadores de próteses removíveis.

Uma das propriedades físicas que pode ser afetada por agentes de limpeza é a estabilidade de cor. A cor da resina acrílica é importante no restabelecimento da condição estética dos pacientes, dessa forma, sua manutenção é requisito para sucesso da reabilitação oral com próteses removíveis. Tanto a imersão quanto a escovação podem influenciar na alteração de cor das resinas. Panariello et al.¹⁵ observaram diferenças significativas na cor de resinas após imersão e após escovação associada à imersão em agentes de desinfecção. Porém, as alterações foram clinicamente aceitáveis. Da mesma forma, Zocolotti et al.²⁸, reportaram diferença significativa entre as soluções e entre os períodos de imersão, tendo sido o grupo da solução de Lifebuoy e o tempo de 28 dias de imersão com maior alteração de cor. Apesar disso, as alterações foram classificadas como clinicamente imperceptíveis. O mecanismo responsável pela alteração da cor é a absorção de

líquidos. Quando a resina absorve água, sua matriz polimérica se expande, separando as cadeias poliméricas, que mancham ou descolorem o material²⁸. No presente estudo, todavia, não houve alteração de cor das amostras de resina acrílica para base quando submetidas à escovação e imersão em nenhuma solução testada. As diferenças entre os estudos podem ser devido às soluções analisadas e ao tempo de imersão. Embora Zocolotti et al.²⁸ tenham também avaliado soluções de sabonetes desinfetantes, o tempo de imersão foi de até 28 dias. Já no presente estudo, o tempo de imersão foi de 10 segundos. Assim, podemos assumir que quanto maior o tempo de imersão em soluções desinfetantes maior poderá ser a alteração de cor das resinas acrílicas⁵¹.

Considerando a dureza da resina acrílica para base, os resultados do presente estudo mostraram que os valores permaneceram inalterados após a escovação associada à imersão em todos os grupos, concordando com os resultados de outros estudos^{66,68}. Por outro lado, os resultados obtidos por Zocolotti et al.²⁸ demonstraram que, após 21 e 28 dias de armazenamento, houve um aumento no valor de dureza das amostras, independentemente do tipo de sabonete líquido desinfetante utilizado. A diferença entre os achados também pode ser explicada em função dos diferentes tempos de imersão. Quando a prótese é armazenada por longos períodos de tempo, ocorre liberação de monômeros residuais do interior dos materiais poliméricos, o que pode contribuir para o aumento dos valores de dureza⁷⁰. Os resultados do presente estudo mostraram também que o hipoclorito de sódio a 0,5% não causou alteração da dureza das amostras, o que está em desacordo com os achados de outros estudos^{15,70}. Entretanto, este resultado é promissor, pois apesar da eficácia do hipoclorito de sódio na redução do biofilme e seu amplo espectro de ação, este agente pode causar danos às propriedades físicas da resina acrílica²⁵. Assim, ao utilizar uma menor concentração e menor período de imersão esses prejuízos podem ser contornados.

Em relação ao reembasador rígido avaliado, os resultados mostraram que a dureza não foi influenciada pela escovação associada à imersão das amostras em nenhuma das soluções. Porém, em estudo realizado por Malavolta et al.³¹, houve diferença significativa para a solução de Lifebuoy. A dureza de um material reflete a resistência a abrasão e é afetada pela sorção de água. A água presente nos agentes de desinfecção é absorvida pelas resinas e causa um amolecimento da resina

polimérica, atuando como um plastificante. A sorção pode causar danos irreversíveis devido a degradação hidrolítica, levando a formação de microfissuras e reduzindo a dureza⁷⁷. Por outro lado, como citado anteriormente, quando a prótese é armazenada por longos períodos de tempo, a liberação de monômeros residuais do interior dos materiais poliméricos pode contribuir para o aumento dos valores de dureza⁷⁰. Dessa forma, devido o tempo curto de imersão utilizado neste estudo não houve maiores interações entre as soluções e a resina. Além disso, os resultados obtidos em relação ao reembasador podem ser atribuídos às ligações cruzadas presentes neste material, com uma alta porcentagem de agentes de reticulação. Segundo Pavarina et al.⁷⁸, os agentes de reticulação reduzem a insolubilidade acrílica em solventes orgânicos, melhorando a resistência ao desgaste da resina acrílica.

A rugosidade superficial está relacionada a adesão do biofilme, favorecendo a proliferação de *C. albicans* na base da prótese, e essa relação é diretamente proporcional^{27,46}. Estudos mostram que a imersão da prótese em agentes de desinfecção e a escovação da superfície podem aumentar a rugosidade superficial de resinas acrílicas termo e autopolimerizáveis^{15,27,45,46,64-67}. O hipoclorito de sódio a 0,5% causa maior alteração desta propriedade nas resinas acrílicas quando comparado com o hipoclorito a 0,25%, quando utilizado o método combinado de desinfecção (mecânico e químico)⁵⁹. Ao utilizar apenas a imersão também é relatado aumento da rugosidade superficial^{50,59}. Amaya-Arbeláez et al.⁶⁷ mostraram que quanto maior o período de imersão maior a alteração da rugosidade. Estes achados confirmam a importância do tempo na alteração da rugosidade superficial associado ao agente de limpeza. No protocolo utilizado no presente estudo, não foi encontrado aumento da rugosidade superficial no grupo com hipoclorito de sódio a 0,5%, o que confirma a hipótese de que o tempo de imersão tem papel fundamental na resposta das propriedades físicas das resinas para base e reembasamento. Além disso, diferente do reportado na literatura^{27,45,46,66} a escovação não foi responsável por aumento da rugosidade. Porém, os resultados deste estudo corroboram com os encontrados por Panariello et al.¹⁵, os quais também utilizaram um ciclo de escovação e imersão de 10 segundos.

O uso da solução de Lifebuoy não causou aumento da rugosidade superficial em ambas as resinas testadas, resultado também encontrado por Zoccolotti et al.²⁸ e

Malavolta et al.³¹. Ainda, Malavolta et al.³¹ observaram redução da rugosidade superficial de material reembasador após imersão por 28 dias em solução de sabonete líquido antimicrobiano, mostrando que as soluções de sabonete não foram prejudiciais em relação à rugosidade, mesmo utilizando protocolos de imersão por períodos maiores de tempo. A estabilidade das resinas acrílicas para base de prótese pode ser devido a sua estrutura polimérica reticulada formada a partir de uma reação térmica polimérica, na qual uma alta taxa de monômeros se converte em polímeros, tornando o material mais estável⁷⁹. Em relação ao material reembasador, o monômero presente em sua composição é o (isobutil metacrilato), que, segundo Cucci et al.⁸⁰, pode ser menos solúvel em água, fato este que poderia ser responsável pela inalteração da rugosidade após o protocolo de escovação em imersão em diferentes soluções.

Os resultados do presente estudo também mostraram que a escovação associada à imersão não reduziu a adesão e formação do biofilme sobre as amostras de ambas as resinas acrílicas. Resultado semelhante foi encontrado por Zocolotti et al.²⁸. As forças de adesão entre dois corpos em contato podem ser assumidas como a soma de todas as forças individuais geradas; portanto, quanto mais irregular for a superfície, maiores são as forças de adesão⁸¹. Assim, os resultados do presente estudo podem ser explicados em função da não alteração da rugosidade.

Considerando a capacidade de redução do biofilme de *C. albicans* formado sobre as amostras, foram utilizados como controle negativo o PBS e como controle positivo o hipoclorito de sódio a 0,5%, uma vez que esse agente químico de limpeza inativa o biofilme microbiano e inibe a formação de cálculo⁸². Os resultados mostraram que o PBS não apresentou ação significativa no aumento ou redução dos micro-organismos, como esperado. Já o hipoclorito de sódio a 0,5% reduziu a zero tanto o número de UFC/mL como o metabolismo celular, mostrando sua alta efetividade contra *C. albicans*.

Ao se analisar os resultados deste estudo em relação à solução experimental de Lifebuoy, pode-se considerá-la promissora a respeito da sua atividade antimicrobiana, tanto para o reembasador, quanto para a resina de base. Para o grupo da resina acrílica de base houve uma redução de aproximadamente 1,3 logs do número de UFC/mL em relação ao grupo controle negativo, sendo essa diferença

estatisticamente significativa ($p < 0,05$). Complementarmente, também houve diminuição do metabolismo celular. Esse resultado está de acordo com os estudos de Zoccolotti et al.²⁸ e Tasso et al.³⁰, onde a solução de Lifebuoy foi considerada antifúngica. Para o grupo do material reembasador, os resultados mostraram que a solução do sabonete líquido Lifebuoy reduziu a quantidade de biofilme sobre as amostras em aproximadamente 2 logs quando comparado ao controle negativo (PBS) e essa redução foi estatisticamente significante ($p < 0,0001$). Similarmente, também houve redução do metabolismo celular. Esses resultados são semelhantes aos reportados por Malavolta et al.³¹, em que a solução de Lifebuoy foi capaz de reduzir 1 log em relação ao grupo controle. A imersão associada a escovação por 10 segundos foi capaz de superar o valor de redução do biofilme alcançado apenas pela imersão no estudo realizado por Malavolta et al.³¹ Além disso, é importante destacar que o grupo experimental apresentou os mesmos resultados que o grupo de hipoclorito de sódio a 0,5%, considerado padrão ouro.

Várias são as substâncias químicas que conferem propriedades antimicrobianas para os produtos de higiene como sabonetes, cosméticos, dentifrícios, detergentes, desodorantes, sabões em pó e loções. Dentre os componentes ativos presentes no sabonete utilizado podemos citar: EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético), cocamidopropyl betaine, hidróxido de sódio, ácido cítrico e o triclocarban (que apresenta mecanismos de ação muito semelhantes ao triclosan), curcumina, linalool, dentre outros²⁸. Os fabricantes não citam as concentrações de cada componente, o que dificulta o esclarecimento dos resultados obtidos no presente estudo.

Todavia, são reportados na literatura os efeitos antifúngicos de algumas dessas substâncias. O linalool teve sua atividade antifúngica comprovada por estudo in vitro realizado por Marcos-Arias et al.⁸³. Outro estudo mostrou que o EDTA reduziu o número de bactérias salivares e biofilme de *C. albicans* em mais de 99% sobre produtos odontológicos testados⁸⁴. A betaína causou redução de mais de 5,0 log₁₀ para vários micro-organismos, entre eles *Candida albicans*⁸⁵. O hidróxido de sódio foi capaz de neutralizar aminoácidos e degradar ácidos graxos, impactando ativamente a parede celular dos micro-organismos, conferindo-lhe propriedade antimicrobiana⁸⁶.

Os resultados são promissores ao considerar a efetividade antimicrobiana do sabonete Lifebuoy, entretanto existem algumas limitações deste estudo como a utilização de biofilme simples de *C. albicans*, curto período de acompanhamento dos

efeitos da solução sobre às propriedades físicas das resinas, além de ser um estudo *in vitro*, o que limita a aplicabilidade destes resultados diretamente na prática clínica. Diante do exposto, faz-se necessário a realização de estudos com biofilmes mais complexos e realização de ensaios clínicos para comprovação da eficácia do protocolo e posterior aplicabilidade clínica.

7 CONCLUSÃO

Diante das limitações do presente estudo, foi possível concluir que a escovação mecânica com solução de sabonete Lifebuoy não alterou as propriedades superficiais de uma resina termopolimerizável e um material reembasador rígido. Além disso, a solução de sabonete Lifebuoy não interferiu na formação/adesão do biofilme de *C. albicans*, entretanto, foi efetiva na redução do biofilme formado sobre as amostras de resina para base de reembasamento de prótese, sendo uma alternativa promissora, de baixo custo e fácil acesso para higienização de próteses removíveis parciais e/ou totais.

REFERÊNCIAS*

- 1- Gendreau L, Loewy ZG. Epidemiology and etiology of denture stomatitis. *J Prosthodont*. 2011; 20(4): 251-60.
- 2- Dorocka-Bobkowska B, Budtz-Jorgensen E, Wloch S. Non-insulin dependent diabetes mellitus as a risk factor for denture stomatitis. *J Pathol Med*. 1996; 25(8): 411-15.
- 3- Feltrin PP, Tortamano N, Jaeger RG, Araújo VC. Estomatite protética: estudo da superfície interna da prótese total em microscopia eletrônica de varredura e da mucosa de suporte através de exame citológico, histopatológico e imunohistoquímico. *Rev Assoc Bras Odontol*. 1993; 1(1): 31-8.
- 4- Webb BC, Thomas CJ, Willcox MD, Harty DW, Knox KW. Candida-associated denture stomatitis. Aetiology and management: a review. Part 1. Factors influencing distribution of Candida species in the oral cavity. *Aust Dent J*. 1998; 43(1): 45-50.
- 5- Webb BC, Thomas CJ, Willcox MD, Harty DW, Knox KW. Candida-associated denture stomatitis. Aetiology and management: a review. Part 2. Oral diseases caused by Candida species. *Aust Dent J*. 1998; 43(3): 160-6.
- 6- Webb BC, Thomas CJ, Willcox MD, Harty DW, Knox KW. Candida-associated denture stomatitis. Aetiology and management: a review. Part 3. Treatment of oral candidosis. *Aust Dent J*. 1998; 43(4): 244-9.
- 7- Salerno C, Pascale M, Contaldo M, Esposito V, Busciolano M, Milillo L et al. Candida-associated denture stomatitis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2011; 16(2): 139-43.
- 8- Hannah VE, O'Donnell L, Robertson D, Ramage G. Denture Stomatitis: Causes, Cures and Prevention. *Prim Dent J*. 2017; 6(4): 46-51.
- 9- Papadiochou S, Polyzois G. Hygiene practices in removable prosthodontics: A systematic review. *Int J Dent Hyg*. 2018; 16(2): 179-201.
- 10- Nishi Y, Seto K, Kamashita Y, Take C, Kurono A, Nagaoka E. Examination of denture-cleaning methods based on the quantity of microorganisms adhering to a denture. *Gerodontology*. 2012; 29(2): 259-66.
- 11- Baba Y, Sato Y, Owada G, Minakuchi S. Effectiveness of a combination denture-cleaning method versus a mechanical method: comparison of denture cleanliness, patient satisfaction, and oral health-related quality of life. *J Prosthodont Res*. 2018; 62(3): 353-358.

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

- 12- Nikawa H, Hamada T, Yamashiro H, Kumagai H. A review of in vitro and in vivo methods to evaluate the efficacy of denture cleansers. *The International Journal of Prosthodontics* 1999; 12: 153–9.
- 13- Kulak-Ozkan Y, Kazazoglu E, Arikan A. Oral hygiene habits, denture cleanliness, presence of yeasts and stomatitis in elderly people. *Journal of Oral Rehabilitation* 2002; 29: 300–4.
- 14- Smith K, Hunter IS. Efficacy of common hospital biocides with biofilms of multi-drug resistant clinical isolates. *J Med Microbiol.* 2008; 57(8): 966-973.
- 15- Panariello BH, Izumida FE, Moffa EB, Pavarina AC, Jorge JH, Giampaolo ET. Effects of short-term immersion and brushing with different denture cleansers on the roughness, hardness, and color of two types of acrylic resin. *Am J Dent.* 2015; 28(3): 150-6.
- 16- Panariello BH, Izumida FE, Moffa EB, Pavarina AC, Jorge JH, Giampaolo ET. Effect of mechanical toothbrushing combined with different denture cleansers in reducing the viability of a multispecies biofilm on acrylic resins. *Am J Dent.* 2016; 29(3): 154-60.
- 17- Duyck J, Vandamme K, Krausch-Hofmann S, Boon L, De Keersmaecker K, Jalon E, Teughels W. Impact of Denture Cleaning Method and Overnight Storage Condition on Denture Biofilm Mass and Composition: A Cross-Over Randomized Clinical Trial. *PLoS One.* 2016; 11(1): 1-16.
- 18- Molinari JA, Runnells RR. Role of disinfectants in infection control. *Dent Clin North Am.* 1991; 35: 323-337.
- 19- Sagripanti JL, Bonifacino A. Cytotoxicity of liquid disinfectants. *Surg Infect.* 2000; 1:3-14.
- 20- Pavarina AC, Pizzolitto AC, Machado AL, Vergani CE, Giampaolo ET. An infection control protocol: effectiveness of immersion solutions to reduce the microbial growth on dental prostheses. *J Oral Rehabil.* 2003; 30: 532-536.
- 21- Gleiznys A, Zdanavičienė E, Žilinskas J. *Candida albicans* importance to denture wearers. A literature review. *Stomatologija.* 2015; 17(2): 54-66.
- 22- Arruda CNF, Salles MM, Badaró MM, de Cássia Oliveira V, Macedo AP, Silva-Lovato CH, de Freitas Oliveira Paranhos H. Effect of sodium hypochlorite and *Ricinus communis* solutions on control of denture biofilm: A randomized crossover clinical trial. *J Prosthet Dent.* 2017; 117(6): 729-734.
- 23- Procópio ALF, da Silva RA, Maciel JG, Sugio CYC, Soares S, Urban VM et al. Antimicrobial and cytotoxic effects of denture base acrylic resin impregnated with cleaning agents after long-term immersion. *Toxicol In Vitro.* 2018; 52: 8-13.
- 24- Masetti P, Arbeláez MIA, Pavarina AC, Sanitá PV, Jorge JH. Cytotoxic potential of denture base and reline acrylic resins after immersion in disinfectant solutions. *J Prosthet Dent.* 2018; 120(1): 155.e1-155.e7.

- 25-Badaró MM, Bueno FL, Arnez RM, Oliveira VC, Macedo AP, de Souza RF, Paranhos HFO, Silva-Lovato CH. The effects of three disinfection protocols on *Candida* spp., denture stomatitis, and biofilm: A parallel group randomized controlled trial. *J Prosthet Dent.* 2020; 124(6): 690-698.
- 26-Pellizzaro D, Polyzois G, Machado AL, Giampaolo ET, Sanitá PV, Vergani CE. Effectiveness of mechanical brushing with different denture cleansing agents in reducing in vitro *Candida albicans* biofilm viability. *Braz Dent J.* 2012; 23(5): 547-54.
- 27-Koseki Y, Tanaka R, Murata H. Development of antibacterial denture cleaner for brushing containing tea tree and lemongrass essential oils. *Dent Mater J.* 2018; 37(4): 659-666.
- 28-Zoccolotti JO, Tasso CO, Arbeláez MIA, Malavolta IF, Pereira ECDS, Esteves CSG et al. Properties of an acrylic resin after immersion in antiseptic soaps: Low-cost, easy-access procedure for the prevention of denture stomatitis. *PLoS One.* 2018; 13(8): 1-22.
- 29-Zoccolotti JO, Suzuki RB, Rinaldi TB, Pellissari CVG, Sanitá PV, Jorge JH. Physical properties of artificial teeth after immersion in liquid disinfectant soaps. *Am J Dent.* 2019; 32(1): 14-20.
- 30-Tasso CO, Zoccolotti JO, Ferrisse TM, Malavolta IF, Jorge JH. Effectiveness of Disinfectant Liquid Soaps in the Reduction of *Candida* spp Present in Complete Dentures: A Crossover Randomized Clinical Trial. *Int J Prosthodont.* 2020; 33(6): 620-628
- 31-Malavolta IF, Tasso CO, Ferrise TM, Zoccolotti JD, Amaya Arbeláez MI, Sanitá PV et al. Biological and physical properties of a reline acrylic resin after immersion in liquid antiseptic soaps. *Am J Dent.* 2021; 34(3): 150-156.
- 32-Arendorf TM, Walker DM. Denture stomatitis: a review. *J Oral Rehabil.* 1987; 14(3): 217-27.
- 33-Pires FR, Santos EB, Bonan PR, De Almeida OP, Lopes MA. Denture stomatitis and salivary *Candida* in Brazilian edentulous patients. *J Oral Rehabil.* 2002; 29(11): 1115-9.
- 34-Ribeiro AB, de Araújo CB, Silva LEV, Fazan-Junior R, Salgado HC, Ribeiro AB, et al. Hygiene protocols for the treatment of denture-related stomatitis: local and systemic parameters analysis - a randomized, double-blind trial protocol. *Trials.* 2019; 20(1): 661.
- 35-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; (5): 377-83.
- 36-Gauch LMR, Pedrosa SS, Silveira-Gomes F, Esteves RA, Marques-da-Silva SH. Isolation of *Candida* spp. from denture-related stomatitis in Pará, Brazil. *Braz J Microbiol.* 2018; 49(1): 148-151

- 37-Budtz-Jørgensen E, Stenderup A, Grabowski M. An epidemiologic study of yeasts in elderly denture wearers. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1975; 3(3): 115-9.
- 38-Paranhos Hde F, Peracini A, Pisani MX, Oliveira Vde C, de 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.
- 39-Flemming HC, Wingender J, Szewzyk U, Steinberg P, Rice SA, Kjelleberg S. Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nat Rev Microbiol.* 2016; 14(9): 563-75.
- 40-Fimble A, Lynch S, Robertson GT. Bacterial and fungal biofilm infections. *Annu Rev Med.* 2008; 59: 415-28.
- 41-Fleming D, Rumbaugh KP. Approaches to dispersing medical biofilms. *Microorganisms.* 2017; 5(2): pii E15.
- 42-Chandra J, Mukherjee PK, Leidich SD, Faddoul FF, Hoyer LL, Douglas LJ et al. Antifungal resistance of candidal biofilms formed on denture acrylic in vitro. *J Dent Res.* 2001; 80(3): 903-8.
- 43-Emami E, Kabawat M, Rompre PH, Feine JS. Linking evidence to treatment for denture stomatitis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Dent.* 2014; 42(2): 99-106.
- 44-Felton D, Cooper L, Duqum I, Minsley G, Guckes A, Haug S, et al. American College of Prosthodontists. Evidence-based guidelines for the care and maintenance of complete dentures: a publication of the American College of Prosthodontists. *J Prosthodont.* 2011; 20(1): 1-12.
- 45- Mendonça MJ, Machado AL, Giampaolo ET, Pavarina AC, Vergani CE. Weight loss and surface roughness of hard chairside reline resins after toothbrushing: influence of postpolymerization treatments. *Int J Prosthodont.* 2006; 19: 281-287.
- 46-Machado AL, Giampaolo ET, Vergani CE, Pavarina AC, Salles Dda S, Jorge JH. Weight loss and changes in surface roughness of denture base and reline materials after simulated toothbrushing in vitro. *Gerodontology.* 2012; 29(2): e121-7.
- 47- Fernandes RA, Lovato-Silva CH, Paranhos Hde F, Ito IY. Efficacy of three denture brushes on biofilm removal from complete dentures. *J Appl Oral Sci.* 2007; 15(1): 39-43.
- 48- Paraskevas S, Rosema NA, Versteeg P, Timmerman MF, van der Velden U, van der Weijden GA. The additional effect of a dentifrice on the instant efficacy of toothbrushing: a crossover study. *J Periodontol.* 2007; 78: 1011-1016.
- 49- Salles MM, Oliveira VC, Macedo AP, do Nascimento C, Silva-Lovato CH, Paranhos HFO. Brushing associated with oral irrigation in maintaining implants

- and overdentures hygiene - a randomized clinical trial. *Odontology*. 2021; 109(1): 284-294.
- 50- Paranhos HF, Salles AE, Macedo LD, Silva-Lovato CH, Pagnano VO, Watanabe E. Complete denture biofilm after brushing with specific denture paste, neutral soap and artificial saliva. *Braz Dent J*. 2013; 24(1): 47-52.
- 51- Moffa EB, Giampaolo ET, Izumida FE, Pavarina AC, Machado AL, Vergani CE. Colour stability of relined dentures after chemical disinfection. A randomised clinical trial. *J Dent*. 2011; 39(3): e65-71.
- 52- Valentini-Mioso F, Maske TT, Cenci MS, Boscato N, Pereira-Cenci T. Chemical hygiene protocols for complete dentures: A crossover randomized clinical trial. *J Prosthet Dent*. 2019; 121(1): 83-89.
- 53- Tan CM, Tsoi JK, Seneviratne CJ, Matinlinna JP. Evaluation of the *Candida albicans* removal and mechanical properties of denture acrylics cleaned by a low-cost powered toothbrush. *J Prosthodont Res*. 2014; 58(4): 243-51.
- 54- Bell JA, Brockmann SL, Feil P, Sackuvich DA. The effectiveness of two disinfectants on denture base acrylic resin with an organic load. *J Prosthet Dent*. 1989; 61(5): 580-583.
- 55- Silva FC, Kimpara 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(8): 627-33.
- 56- Ferreira MA, Pereira-Cenci T, Rodrigues de Vasconcelos LM, et al: Efficacy of denture cleansers on denture liners contaminated with *Candida* species. *Clin Oral Invest*. 2009; 13: 237-242.
- 57- Paranhos HF, Silva-Lovato CH, de Souza RF, et al: Effect of three methods for cleaning dentures on biofilms formed in vitro on acrylic resin. *J Prosthodont*. 2009; 18: 427-431
- 58- Badaró MM, Bueno FL, Arnez RM, Oliveira VC, Macedo AP, de Souza RF, Paranhos HFO, Silva-Lovato CH. The effects of three disinfection protocols on *Candida* spp., denture stomatitis, and biofilm: A parallel group randomized controlled trial. *J Prosthet Dent*. 2020; 124(6): 690-698.
- 59- Badaró MM, Salles MM, de Arruda CNF, Oliveira VC, de Souza RF, Paranhos HFO, Silva-Lovato CH. In Vitro Analysis of Surface Roughness of Acrylic Resin Exposed to the Combined Hygiene Method of Brushing and Immersion in *Ricinus communis* and Sodium Hypochlorite. *J Prosthodont*. 2016; 26(6): 516-521.
- 60- Barnabé W, de Mendonça Neto T, Pimenta FC, Pegoraro LF, Scolaro JM. Efficacy of sodium hypochlorite and coconut soap used as disinfecting agents in the reduction of denture stomatitis, *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. *J Oral Rehabil*. 2004; 31(5): 453-9.

- 61- Salles MM, Badaró MM, Arruda CN, Leite VM, Silva CH, Watanabe E, Oliveira VC, Paranhos HF. Antimicrobial activity of complete denture cleanser solutions based on sodium hypochlorite and *Ricinus communis* - a randomized clinical study. *J Appl Oral Sci.* 2015; 23(6): 637-42.
- 62- Almeida MAL, Batista AUD, de Araújo MRC, de Almeida VFDS, Bonan PRF, Nóbrega Alves D, da Costa TKVL, Nóbrega DF, de Castro RD. Cinnamaldehyde is a biologically active compound for the disinfection of removable denture: blinded randomized crossover clinical study. *BMC Oral Health.* 2020; 20(1): 223.
- 63- Garcia IM, Rodrigues SB, Rodrigues Gama ME, Branco Leitune VC, Melo MA, Collares FM. Guanidine derivative inhibits *C. albicans* biofilm growth on denture liner without promote loss of materials' resistance. *Bioact Mater.* 2020; 5(2): 228-232.
- 64- Izumida FE, Moffa EB, Vergani CE, Machado AL, Jorge JH, Giampaolo ET. In vitro evaluation of adherence of *Candida albicans*, *Candida glabrata*, and *Streptococcus mutans* to an acrylic resin modified by experimental coatings. *Biofouling.* 2014; 30(5): 525-33.
- 65- Costa RTF, Pellizzer EP, Vasconcelos BCDE, Gomes JML, Lemos CAA, de Moraes SLD. Surface roughness of acrylic resins used for denture base after chemical disinfection: A systematic review and meta-analysis. *Gerodontology.* 2021; 38(3): 242-251.
- 66- Machado AL, Breeding LC, Vergani CE, da Cruz Perez LE. Hardness and surface roughness of reline and denture base acrylic resins after repeated disinfection procedures. *J Prosthet Dent.* 2009; 102(2): 115-22.
- 67- 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(1): 999-1010.
- 68- Campanha NH, Pavarina AC, Jorge JH, Vergani CE, Machado AL, Giampaolo ET. The effect of long-term disinfection procedures on hardness property of resin denture teeth. *Gerodontology.* 2012; 29(2): e571-6.
- 69- Pieniak D, Walczak A, Walczak M, Przystupa K, Niewczas AM. Hardness and Wear Resistance of Dental Biomedical Nanomaterials in a Humid Environment with Non-Stationary Temperatures. *Materials (Basel).* 2020; 13(5): 1255.
- 70- Neppelenbroek KH, Pavarina AC, Vergani CE, Giampaolo ET. Hardness of heat-polymerized acrylic resins after disinfection and long-term water immersion. *J Prosthet Dent.* 2005; 93(2): 171-6.
- 71- Haghi HR, Asadzadeh N, Sahebalam R, Nakhaei M, Amir JZ. Effect of denture cleansers on color stability and surface roughness of denture base acrylic resin. *Indian J Dent Res.* 2015; 26(2): 163-6.

- 72- Nowakowska-Toporowska A, Raszewski Z, Wieckiewicz W. Color change of soft silicone relining materials after storage in artificial saliva. *J Prosthet Dent.* 2016; 115(3): 377-80.
- 73- Panariello BHD. Eficácia da imersão e da escovação mecânica combinada com diferentes agentes de limpeza de próteses na redução da viabilidade de biofilme multiespécies. Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Reabilitação Oral- Área de Prótese, da Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, para obtenção do título de mestre em Reabilitação Oral, 2013.
- 74- Scotti R, Mascellani SC, Forniti F. The in vitro color stability of acrylic resins for provisional restorations. *Int J Prosthodont.* 1997; 10(2): 164-8.
- 75- Sham, A.S., Chu, F.C., Chai, J., and Chow, T.W. Color stability of provisional prosthodontic materials. *J. Prosthet. Dent.* 2004; 91: 447-452.
- 76- Sheridan PJ, Koka S, Ewoldsen NO, Lefebvre CA, Lavin MT. Cytotoxicity of denture base resins. *Int J Prosthodont.* 1997; 10(1): 73-7.
- 77- Pinto LR, Acosta EJ, Távora FF, da Silva PM, Porto VC. Effect of repeated cycles of chemical disinfection on the roughness and hardness of hard relined acrylic resins. *Gerodontology.* 2010; 27(2): 147-53.
- 78- Pavarina AC, Vergani CE, Machado AL, Giampaolo ET, Teraoka MT. The effect of disinfectant solutions on the hardness of acrylic resin denture teeth. *J Oral Rehabil.* 2003;30(7):749-52.
- 79- Vallittu PK, Miettinen V, Alakuijala P. Residual monomer content and its release into water from denture base materials. *Dent Mater.* 1995; 11(6): 338-42.
- 80- Cucci AL, Vergani CE, Giampaolo ET, Afonso MC. Water sorption, solubility, and bond strength of two autopolymerizing acrylic resins and one heat-polymerizing acrylic resin. *J Prosthet Dent.* 1998; 80(4): 434-8.
- 81- Foggi CC, Ayres MSB, Feltrin GP, Jorge JH, Machado AL. Effect of surface characteristics of soft liners and tissue conditioners and saliva on the adhesion and biofilm formation. *Am J Dent.* 2018; 31: 45-52.
- 82- Gama MC, de Oliveira DG, da Silva PM, Ordinola-Zapata R, Duarte MH, Porto VC. Antifungal activity of 4% chlorhexidine and 2% sodium hypochlorite against *Candida albicans* biofilms. *Gen Dent.* 2015; 63(5): 43-7.
- 83- Marcos-Arias C, Eraso E, Madariaga L, Quindós G. In vitro activities of natural products against oral *Candida* isolates from denture wearers. *BMC Complement Altern Med.* 2011; 11: 119.
- 84- Devine DA, Percival RS, Wood DJ, Tuthill TJ, Kite P, Killington RA, Marsh PD. Inhibition of biofilms associated with dentures and toothbrushes by tetrasodium EDTA. *J Appl Microbiol.* 2007; 103(6): 2516-24.

- 85- Minnich KE, Stolarick R, Wilkins RG, Chilson G, Pritt SL, Unverdorben M. The effect of a wound care solution containing polyhexanide and betaine on bacterial counts: results of an in vitro study. *Ostomy Wound Manage.* 2012; 58(10): 32-6.
- 86- Estrela C, Estrela CR, Barbin EL, Spanó JC, Marchesan MA, Pécora JD. Mechanism of action of sodium hypochlorite. *Braz Dent J.* 2002; 13(2): 113-7.

ANEXO A – COMPOSIÇÃO DO SABONETE LIFEBOUY

Lifebuoy®
Aqua, Sodium Laureth Sulfate, Cocamidopropyl Betaine, Parfum, Cocamide MEA, Acrylates Copolymer, Sodium Chloride, PPG-9, Lactic Acid, Glycol Distearate, Glycerin, Helianthus Annuus Seed Oil, Sodium Hydroxide, Tetrasodium EDTA, Styrene/ Acrylates Copolymer, Dried Cream, Terpeneol, Thymol, Methylchloroisothiazolinone, Methylisothiazolinone, Alpha-Isomethyl ionone, Benzyl Salicylate, Butylphenyl Methylpropional, Citronellol, Coumarin, Geraniol, Hexyl Cinnamal, Limonene, Linalool

Fonte: Zocolotti JO, Tasso CO, Arbeláez MIA, Malavolta IF, Pereira ECDS, Esteves CSG et al. Properties of an acrylic resin after immersion in antiseptic soaps: Low-cost, easy-access procedure for the prevention of denture stomatitis. PLoS One. 2018; 13(8): 1-22. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203187.t001>

ANEXO B- COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DO ARTIGO

Influence of brushing with antiseptic soap solution on the surface and biological properties of an acrylic denture base resin

Beatriz Ribeiro Ribas, DDS^a, Camilla Olga Tasso, MSc^a, Túlio Morandin Ferrisse, PhD^b, Janaina Habib Jorge, PhD^c
São Paulo State University (Unesp), School of Dentistry, Araraquara, São Paulo, Brazil.

Study supported in part by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), grant #88887.513792/2020-00

^aPost-graduate student, Department of Dental Materials and Prosthodontics, São Paulo State University (Unesp), School of Dentistry, Araraquara, São Paulo, Brazil.

^bPost-doctorate student, Department of Dental Materials and Prosthodontics, São Paulo State University (Unesp), School of Dentistry, Araraquara, São Paulo, Brazil.

^cAssociate Professor, Department of Dental Materials and Prosthodontics, São Paulo State University (Unesp), School of Dentistry, Araraquara, São Paulo, Brazil.

Corresponding author:

Janaina Habib Jorge

Department of Dental Materials and Prosthodontics

São Paulo State University (Unesp)

School of Dentistry

Postal address: Rua Humaitá, 1680

Centro, Araraquara, SP, Brazil

Phone: 55 (16) 3301-6550

e-mail: habib.jorge@unesp.br

The screenshot displays an 'Author Dashboard' with a navigation bar at the top containing 'Home', 'Author', and 'Review'. Below the navigation bar, the dashboard title 'Author Dashboard' is visible. On the left side, there is a sidebar menu with the following items: '1 Submitted Manuscripts', '22 Manuscripts with Decisions', '16 Manuscripts I Have Co-Authored', 'Start New Submission', 'Legacy Instructions', '5 Most Recent E-mails', and 'Before You Submit'. The main content area is titled 'Submitted Manuscripts' and contains a table with the following data:

STATUS	ID	TITLE	CREATED	SUBMITTED
AE: Not Assigned EIC: Not Assigned ADM: Not Assigned	JOPR-22-017	Influence of brushing with antiseptic soap solution on the surface and biological properties of an acrylic denture base resin View Submission	13-Jan-2022	13-Jan-2022
<ul style="list-style-type: none"> Awaiting Admin Checklist 		Cover Letter		

At the bottom of the table, there is a 'Contact Journal' link.

Influence of brushing with an antiseptic soap solution on the surface and biological properties of a hard chairside reline resin

Beatriz Ribeiro Ribas, DDS^a, Camilla Olga Tasso, MSc^a, Túlio Morandin Ferrisse, PhD^b, Janaina Habib Jorge, PhD^c

^aPost-graduate student, Department of Dental Materials and Prosthodontics, São Paulo State University (Unesp), School of Dentistry, Araraquara, São Paulo, Brazil.

^bPost-doctorate student, Department of Dental Materials and Prosthodontics, São Paulo State University (Unesp), School of Dentistry, Araraquara, São Paulo, Brazil.

^cAssociate Professor, Department of Dental Materials and Prosthodontics, São Paulo State University (Unesp), School of Dentistry, Araraquara, São Paulo, Brazil.

Corresponding author:

Janaina Habib Jorge

Department of Dental Materials and Prosthodontics

São Paulo State University (Unesp)

School of Dentistry

Postal address: Rua Humaitá, 1680

Centro, Araraquara, SP, Brazil

Phone: 55 (16) 3301-6550

e-mail: habib.jorge@unesp.br

Gerodontology
Original Article

Influence of brushing with an antiseptic soap solution on the surface and biological properties of a hard chairside reline resin

Submission Status	Submitted
Submitted On	13 January 2022 by Janaina Jorge
Submission Started	13 January 2022 by Janaina Jorge

This submission has been sent to the editorial office and cannot be edited. Further instructions will be emailed to you from Manuscript Central.

[View Submission Overview](#)

Need help choosing a journal?

We've put together some resources and tools to help you find the right journal for your research.

[Find a Journal](#)

Não autorizo a publicação deste trabalho pelo prazo de 2 anos após a data de defesa

(Direitos de publicação reservado ao autor)

Araraquara, 17 de fevereiro de 2022.

Beatriz Ribeiro Ribas