

MESTRADO EM REABILITAÇÃO ORAL

Estudo da adesão de *Candida albicans* em resina de base de prótese impressa em 3D: estudo *in vitro*

Fernanda Xavier Moreira Daemon

M

2024



MESTRADO EM REABILITAÇÃO ORAL

Estudo da adesão de *Candida albicans* em resina de base de prótese impressa em 3D: estudo *in vitro*

Estudante:

Nome Completo: Fernanda Xavier Moreira Daemon

Número de Estudante: 201305407

Contacto Telefónico: 939127061

Contacto Eletrónico: fefedaemon48@gmail.com

Título profissional: Médica-dentista

Orientador:

Nome Completo: Maria Margarida Ferreira Sampaio Fernandes

Grau Académico: Doutoramento

Título Profissional: Professora Auxiliar Convidada com Agregação da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto

Coorientador:

Nome Completo: Maria Benedita Almeida Garrett de Sampaio Maia Marques

Grau Académico: Doutoramento

Título Profissional: Professora Associada com Agregação da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto

O sorriso é o caminho mais rápido para tocar o coração humano, e é com paz no coração que enfrentamos as adversidades da vida, lembrando sempre das palavras de João 16:33: "Neste mundo vocês terão aflições; contudo, tenham ânimo! Eu venci o mundo."

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, sempre ao meu lado, me fortalecendo durante todo este percurso. Sem Ele, nada disso teria sido possível.

À minha amada mãe, Dulce Fátima Xavier Moreira, a luz da minha vida, meu exemplo de fé inabalável, força e coragem, expresso aqui minha eterna gratidão. O amor, apoio incondicional e a confiança que sempre deposita em mim me ajudam a seguir em frente, mesmo quando eu mesma duvido. Você me inspira a buscar meus sonhos e a lembrar de ser feliz todos os dias.

À minha amada irmã, Flávia Xavier Moreira Daemon, meu espelho de competência e determinação, obrigada por todo o amor, amizade, parceria e proteção que me oferece todos os dias. Sou imensamente grata por ter você ao meu lado.

À minha amada tia, que todos os dias pela manhã me manda mensagens de fé, coragem e sabedoria, muito obrigada. Suas palavras me fazem começar cada dia com o coração renovado e cheio de esperança.

À Professora Doutora Margarida Sampaio Fernandes, minha orientadora, minha mais sincera gratidão por ter aceitado me orientar, mesmo com tantos compromissos. Sou imensamente grata por toda a ajuda, paciência, confiança e empenho em tentar conseguir as amostras com os fabricantes e, quando isso não foi possível, por ter encontrado uma solução. Sempre disponível, em qualquer hora e dia, você tirou minhas dúvidas e me encorajou, especialmente quando eu achava que o trabalho não estava tão bom. Sua ajuda e apoio foram fundamentais para que eu concluísse este trabalho.

À Professora Doutora Benedita Sampaio, minha coorientadora, minha profunda gratidão por ter aceitado este desafio com tão pouco tempo para a entrega da tese. Mesmo com tantas reuniões e compromissos, dedicou seu tempo para me orientar, especialmente na parte de microbiologia, uma área na qual eu não tinha nenhum conhecimento. Cada explicação sua e momentos partilhados no laboratório foram essenciais para o desenvolvimento deste trabalho. Sua paciência, dedicação e generosidade fizeram toda a diferença, e serei sempre grata por isso.

Ao Dr. Carlos e à Dra. Adriana, meu sincero agradecimento pela compreensão e generosidade em disponibilizar dias para que eu pudesse concluir a parte laboratorial da minha tese. A flexibilidade em reorganizar a agenda de trabalho foi determinante para que eu conseguisse realizar esta etapa importante.

RESUMO

Introdução: A estomatite protética é uma infecção fúngica que afeta uma elevada percentagem de portadores de próteses removíveis, sendo o agente etiológico mais frequente a *Candida albicans*. Tendo em conta o surgimento das impressoras 3D e de novos materiais usados para a fabricação das próteses dentárias, é necessário avaliar a eficácia de diferentes métodos de desinfecção e sua possível influência na rugosidade da superfície de forma a encontrar o(s) métodos de desinfecção ideal(ais) que não comprometa a integridade das superfícies das resinas. **Objetivos:** Comparar a eficácia do hipoclorito de sódio 0,5%, gluconato de clorexidina 0,2% e pastilhas efervescentes de peróxido alcalino (Corega Oxigénio Bio-ativo) na desinfecção da resina NextDent Denture 3D+ (3D Systems) e avaliar a alteração na rugosidade de superfície após a aplicação dos agentes desinfetantes. **Materiais e métodos:** Foram impressos 25 provetes (8x3mm) de resina NextDent Denture 3D+ e, após o pós-processamento recomendado e desinfecção, foram divididos em cinco grupos: basal, controlo, hipoclorito de sódio 0,5%, gluconato de clorexidina 0,2% e pastilhas Corega. O grupo basal serviu como referência inicial de rugosidade, enquanto o grupo controlo não contactou com desinfetantes (controlo negativo, soro fisiológico). A rugosidade foi avaliada com recurso a um perfilómetro de contacto. Os provetes foram imersos por 10 minutos em soluções de hipoclorito de sódio a 0,5% e clorexidina a 0,2%, e por 3 minutos em pastilhas efervescentes Corega. Após a aplicação de cada desinfetante, foi realizada a contagem de unidades formadoras de colónias (UFC) de *Candida albicans* e o impacto na rugosidade superficial dos provetes. Os resultados obtidos foram organizados e analisados no software Statistical Package for Social Science. **Resultados:** Observou-se adesão da levedura *Candida albicans* à resina NextDent Denture 3D+, atingindo uma carga microbiana média de $3,580 \pm 0,504 \text{ Log}_{10}\text{UFC/mm}^2$. Os métodos de desinfecção mostraram reduções drásticas da carga microbiana aderida aos discos de resina: >99,9% para o hipoclorito de sódio 0,5% ($p=0,005$), 99,2% para o gluconato de clorexidina 0,2% ($p=0,0014$) e 97,8% para as pastilhas Corega ($p=0,009$). Adicionalmente, não se observaram alterações na rugosidade da superfície da resina após os procedimentos de desinfecção em comparação com o grupo basal ($p>0,05$): $2,100 \pm 0,279\mu\text{m}$ no basal; $2,299 \pm 0,442\mu\text{m}$ após tratamento com hipoclorito de sódio 0,5%; $2,283 \pm 0,908\mu\text{m}$ com gluconato de

clorexidina 0,2%, e $1,683 \pm 0,797\mu\text{m}$ com pastilhas Corega. **Conclusão:** Todos os métodos de desinfecção avaliados reduziram eficazmente a carga fúngica, parecendo não comprometer a rugosidade da superfície da resina NextDent Denture 3D+. Recomenda-se a realização de investigações futuras com tempos de imersão variados, diferentes concentrações das soluções desinfetantes e estudos ao longo de vários ciclos de desinfecção, bem como estudos *in vivo* para validar os resultados obtidos *in vitro*.

Palavras-chave: impressão 3D; *Candida albicans*; agentes antifúngicos; resinas acrílicas; prótese dentária.

ABSTRACT

Introduction: Denture stomatitis is a fungal infection that affects a high percentage of removable denture wearers, with *Candida albicans* being the most common etiological agent. Considering the emergence of 3D printers and new materials used for dentures manufacture, it is necessary to evaluate the effectiveness of different disinfection methods and their influence on surface roughness to find the ideal disinfection method(s) that do not compromise the integrity of the resin surface. **Objectives:** To compare the effectiveness of 0.5% sodium hypochlorite, 0.2% chlorhexidine gluconate and alkaline peroxide effervescent tablets (Corega Bio-active Oxygen) in the disinfection of NextDent Denture 3D+ resin (3D Systems) and to evaluate changes in surface roughness after the application of the disinfectant agents. **Materials and methods:** Twenty-five specimens (8x3 mm) of NextDent Denture 3D+ resin were printed, and after recommended post-processing and disinfection, they were divided into five groups: basal, control, sodium hypochlorite 0.5%, chlorhexidine gluconate 0.2%, and Corega tablets. The basal group served as the initial reference for roughness, while the control group was not exposed to disinfectants (negative control, saline solution). Roughness was assessed using a contact profilometer. The specimens were immersed for 10 minutes in 0.5% sodium hypochlorite and 0.2% chlorhexidine solutions, and for 3 minutes in Corega effervescent tablets. After the application of each disinfectant, colony-forming units (CFU) of *Candida albicans* were counted, and the impact on the surface roughness of the specimens was evaluated. The results were organized and analyzed using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) for Windows. **Results:** *Candida albicans* yeast adhesion to NextDent Denture 3D+ resin was observed, reaching an average microbial load of $3.580 \pm 0.504 \text{ Log}_{10}\text{UFC/mm}^2$. The disinfection methods showed drastic reductions in the microbial load adhered to the resin discs: >99,9% for 0.5% sodium hypochlorite ($p=0.005$), 99.2% for 0.2% chlorhexidine gluconate ($p=0.014$) and 97.8% for Corega tablets ($p=0.009$). Additionally, no changes in the surface roughness of the resin were observed after the disinfection procedures compared to the basal disc ($p>0.05$): $2.100 \pm 0.279 \text{ }\mu\text{m}$ on the basal; $2.299 \pm 0.442 \text{ }\mu\text{m}$ after treatment with 0.5% sodium hypochlorite; $2.283 \pm 0.908 \text{ }\mu\text{m}$ with 0.2% chlorhexidine gluconate, and $1.683 \pm 0.797 \text{ }\mu\text{m}$ with Corega tablets. **Conclusion:** All disinfection methods evaluated reduced the

fungal load without impairing the integrity of the NextDent Denture 3D+ resin surface. Future investigations with varied immersion times, different concentrations of disinfectant solutions, and throughout several disinfection cycles are recommended, as well as *in vivo* studies to validate the results obtained *in vitro*.

Keywords: 3D printing; *Candida albicans*; antifungal agents; acrylic resins; dental prosthesis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Provete de resina. Imagem de autoria própria.	26
Figura 2. Desenho do provete de resina em stl (8x3mm). Imagem de autoria própria.	26
Figura 3. Produtos desinfetantes – A. Hipoclorito de sódio 0,5%; B. Gluconato de clorexidina 0,2%; C. Pastilhas efervescentes.....	27
Figura 4. Incubadora orbital IKA KS 4000 i control.	28
Figura 5. Tubos de ensaio de vidro estéreis - Grupos 2, 3, 4 e 5.....	28
Figura 6. Densitômetro McFarland.	29
Figura 7. Vortex V-1 plus.....	30
Figura 8. Banho de ultrassons	30
Figura 9. A. Diluição de amostras não desinfetadas. B. Sementeira em triplicado em Ágar Sabouraud.	30
Figura 10. Sementeira das amostras basal e desinfetadas.....	31
Figura 11. Perfilômetro de contato.	31
Figura 12. Carga fúngica aderida aos provetes de resina NextDent Denture 3D+ com e sem desinfecção em valores absolutos (A) e escala Log10 (B).....	33
Figura 13. Percentagem de Candida albicans remanescente após desinfecção com diferentes métodos.....	34
Figura 14. Rugosidade média da resina NextDent Denture 3D+ com e sem desinfecção (basal).	35

LISTA DE TABELAS

Tabela I. Informações do fabricante para resina NextDent Denture 3D+(29)	25
--	----

SIGLAS E ABREVIATURAS

3D – Três dimensões

CAD – Design assistido por computador

CAM – Manufatura assistida por computador

CF – Cloranfenicol

CHX 0,2% – Clorexidina a 0,2%

DLP – Processamento digital de luz

MA – Manufatura aditiva

NaOCl 0,5% – Hipoclorito de sódio a 0,5%

PMMA – Polimetilmetacrilato

SLA – Estereolitografia

SLS – Sinterização a laser

UV – Ultravioleta

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	19
2. MATERIAIS E MÉTODOS	25
2.1. FABRICAÇÃO DOS PROVETES.....	25
2.2. ESTUDO EXPERIMENTAL	27
2.2.1. Preparação de <i>Candida albicans</i>	28
2.2.2. Preparação dos provetes.....	28
2.2.3. Aplicação dos diferentes métodos de desinfecção	29
2.2.4. Avaliação da adesão	30
2.2.5. Quantificação da massa de biofilme	31
2.3. AVALIAÇÃO DA RUGOSIDADE DE SUPERFÍCIE.....	31
2.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA	32
3. RESULTADOS	33
3.1. AVALIAÇÃO DA ADESÃO DE <i>CANDIDA ALBICANS</i>	33
3.2. AVALIAÇÃO DA RUGOSIDADE	35
4. DISCUSSÃO	36
5. CONCLUSÃO	42
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
ANEXOS	48

1. INTRODUÇÃO

Com o aumento da esperança média de vida, os cuidados com a saúde oral, enquanto parte integrante da saúde geral, têm impulsionado a procura por soluções inovadoras e duradouras na área de prótese dentária. Esta demanda justifica-se pela relação direta entre o avanço da idade e a perda dentária, o que leva à necessidade de substituição dos dentes perdidos. A perda dentária impacta não só a função mastigatória, mas também a estética e a qualidade de vida. Contudo, a crescente utilização de próteses dentárias traz também desafios, sendo um dos mais conhecidos o risco de infeção por *Candida albicans*.

Candida albicans é um fungo oportunista comumente presente na cavidade oral. Embora geralmente não cause problemas em indivíduos saudáveis, a presença de fatores predisponentes, como a má higienização das próteses, a utilização de próteses mal ajustadas, desequilíbrios imunológicos dos pacientes e o uso de sprays de corticosteroides, pode conduzir à sua proliferação excessiva e à formação de biofilmes (1,2). Além disso, estudos mostram que a adesão e o desenvolvimento destes biofilmes são influenciados pelas características físicas dos materiais de prótese, como rugosidade, hidrofobicidade e energia livre de superfície (2–4). Estes biofilmes mostram ainda uma propensão a aderir a fissuras e imperfeições do acrílico convencional das próteses, o que contribui para sua persistência e resistência ao tratamento (5).

A estomatite protética é uma das complicações mais prevalentes entre os utilizadores de próteses dentárias, afetando entre 20 a 80% destes (6). Esta condição é caracterizada pela inflamação da mucosa oral coberta pela prótese e pode causar desconforto significativo e dor, além de poder causar problemas sistémicos, principalmente em pacientes imunocomprometidos, com impacto direto no seu estado nutricional e na sua qualidade de vida. Diversos fatores contribuem para o seu desenvolvimento, incluindo a idade avançada, o tempo de utilização das próteses, práticas inadequadas de higiene oral e infeções por microrganismos, especialmente *C. albicans* (5). Assim, a manutenção da higiene adequada das próteses dentárias é essencial para prevenir estas infeções (7,8).

Existem diferentes métodos para a limpeza de próteses, entre eles os métodos mecânicos, químicos ou uma combinação de ambos. Por um lado, a eficácia da

desinfecção química muitas vezes depende de uma limpeza mecânica prévia adequada. Por outro lado, a limpeza mecânica pode ser difícil para pacientes idosos ou para aqueles que possuam uma coordenação motora comprometida (9). Para ultrapassar este desafio, os produtos químicos desinfetantes surgem como uma alternativa viável, proporcionando uma desinfecção eficaz quando usados corretamente. A combinação de escovagem com pasta dentífrica não abrasiva e métodos químicos tem se mostrado mais eficaz na redução da adesão microbiana do que a escovagem apenas com água (10). Contudo, a escolha de produtos de higiene deve equilibrar a eficácia antimicrobiana com a preservação das propriedades físicas dos materiais.

Existem vários desinfetantes químicos amplamente utilizados para a higienização de próteses dentárias, incluindo hipoclorito de sódio, gluconato de clorexidina e pastilhas efervescentes de peróxido alcalino (11). O hipoclorito de sódio é reconhecido por suas propriedades fungicidas e bactericidas, devido à sua forte ação oxidante que destrói a membrana celular dos microrganismos e os componentes intracelulares, sendo eficaz na remoção de biofilmes e manchas (12,13). No entanto, o uso prolongado e em concentrações elevadas pode causar danos às próteses, como descoloração e corrosão de componentes metálicos (12,14,15). O gluconato de clorexidina, por outro lado, é um agente antimicrobiano com um amplo espectro de ação e baixa toxicidade, sendo eficaz tanto na eliminação de diversos microrganismos, incluindo *C. albicans*, como na prevenção do desenvolvimento de biofilmes e na melhoria das condições da mucosa oral. O seu mecanismo de ação envolve várias alterações celulares, como a fragmentação da parede celular e a degeneração citoplasmática, resultando em um efeito fungicida (16). Por fim, as pastilhas efervescentes de peróxido alcalino constituem uma opção prática para os pacientes, uma vez que combinam limpeza mecânica e química. A ação mecânica é atribuída à efervescência que auxilia na remoção dos detritos aderidos, enquanto a ação química envolve a oxidação de componentes orgânicos do biofilme, destruindo assim a estrutura celular dos microrganismos (14). No entanto, o impacto das pastilhas efervescentes nas propriedades das resinas acrílicas de próteses impressas em 3D ainda requer mais investigação (10).

Características de superfície como rugosidade, dureza e molhabilidade são fatores determinantes no desenvolvimento de estomatite protética, influenciando diretamente a adesão microbiana e a durabilidade das próteses (17). De notar que as

possíveis alterações na rugosidade podem comprometer não só a eficácia da desinfecção, mas também afetar negativamente a funcionalidade e a estética das próteses.

A tecnologia CAD-CAM, que integra o design assistido por computador (CAD) e a manufatura assistida por computador (CAM), foi inicialmente desenvolvida na década de 50 e integrada na medicina dentária a partir da década de 80, proporcionando atualmente tratamentos mais precisos, rápidos e confortáveis (18).

O processo de fabricação de próteses totais por meio da tecnologia CAD-CAM é maioritariamente efetuado com recurso a técnicas subtrativa ou aditiva. Na primeira, as próteses são fresadas a partir de blocos de polimetilmetacrilato (PMMA) pré-polimerizados, que são posteriormente submetidos a alta temperatura e pressão para garantir uma polimerização completa e uniforme. Por sua vez, a Manufatura Aditiva (MA), ou impressão 3D, introduz uma nova era de fabricação de objetos camada por camada (19). Inicialmente, esta tecnologia era restrita a grandes centros de fabricação devido aos elevados custos de aquisição e operação dos equipamentos. Com o avanço tecnológico e a consequente redução dos custos, tornou-se progressivamente mais acessível aos laboratórios dentários. Desde 2002, o setor odontológico vem se beneficiando da aplicação da sinterização a laser (SLS) para a fabricação de estruturas metálicas, e da estereolitografia (SLA) para a produção de modelos e guias cirúrgicos, ampliando, assim, as possibilidades de aplicação na área de reabilitação oral (20).

Atualmente, a tecnologia de impressão 3D permite a criação de próteses com precisão e detalhe elevados, sendo possível fabricá-las com menos desperdício de material e custos reduzidos, o que a torna uma alternativa mais sustentável e económica. A capacidade de imprimir múltiplas próteses simultaneamente otimiza ainda o tempo de produção, aumentando a eficiência de trabalho. Além disso, possibilita a criação de desenhos complexos que muitas vezes não podem ser alcançados com métodos de fresagem tradicionais, proporcionando aos profissionais maior precisão e detalhe das estruturas para atender às necessidades específicas de cada paciente (21).

Novas resinas acrílicas têm sido integradas à tecnologia de impressão 3D para confecção de bases de próteses dentárias. São polímeros termopolimerizáveis sensíveis à luz na sua forma líquida, e podem ser processadas por técnicas como estereolitografia (SLA) e processamento digital de luz (DLP), que apresentam

diferenças no processo de impressão (22). Na SLA, um feixe de laser é utilizado para escanear e polimerizar áreas específicas da superfície da resina, realizando esse processo camada por camada. A plataforma de impressão é submersa na resina líquida, enquanto o laser, refletido por espelhos motorizados, delineia uma seção transversal do objeto a ser construído. Após a polimerização de cada camada, a plataforma é descida, permitindo que a resina não polimerizada cubra a camada já solidificada. Este ciclo de impressão se repete sucessivamente até que o objeto esteja completamente formado. Por outro lado, a tecnologia de processamento digital de luz (DLP) utiliza um dispositivo microespelho para curar camadas inteiras simultaneamente. Nesse processo, a luz é projetada na base do compartimento que contém a resina, ativando os pixels correspondentes à camada do modelo em construção. Conforme cada camada é formada, a plataforma de suporte se eleva, imprimindo o modelo de forma inversa (23). Após a impressão, as peças passam por um processo de pós-cura com luz ultravioleta (UV), que promove a reticulação adicional dos monômeros residuais, melhorando as propriedades mecânicas das próteses (22).

Neste contexto, o estudo de Unkovskiy *et al.* (2021) reforça a diferença entre estas técnicas ao demonstrar que, apesar da similaridade na precisão, a exatidão das bases produzidas por SLA é superior em relação às de DLP, especialmente em ângulos específicos de impressão. As diferenças observadas podem ser atribuídas à anisotropia dos métodos, com a SLA apresentando maior exatidão em áreas verticais e o DLP em camadas horizontais (24). Outros estudos indicam que as resinas impressas pelo método DLP podem apresentar uma maior adesão microbiana inicial em comparação com as resinas fotopolimerizadas convencionais, sugerindo a necessidade de otimização das condições de impressão para minimizar este risco (25–27).

A resina NextDent Denture 3D+ (3D Systems) é um dos materiais utilizados na impressão 3D de próteses dentárias, sendo conhecida por sua resistência, estabilidade na cavidade oral e baixa taxa de citotoxicidade (28).

A suscetibilidade das resinas acrílicas de base de prótese impressas em 3D à colonização por microrganismos patogênicos, como *Candida albicans*, é uma preocupação presente na área de reabilitação oral, já que características físicas como rugosidade, hidrofobicidade e energia livre superficial influenciam a adesão e o desenvolvimento de biofilmes na superfície das próteses (4,14). Apesar dos avanços

tecnológicos, é necessário um maior desenvolvimento de estudos que investiguem a interação entre estas resinas e os biofilmes orais. A técnica de impressão e os parâmetros de processamento, como a espessura da camada e o ângulo de impressão, desempenham também um papel importante na adesão microbiana. Resinas impressas com camadas mais espessas ou em ângulos inadequados podem apresentar uma maior propensão à colonização por microrganismos (25).

Como mencionado anteriormente, diante da evolução crescente da tecnologia de impressão 3D na medicina dentária e da necessidade de prevenir a colonização microbiana em próteses dentárias, torna-se importante investigar métodos eficazes de desinfecção para esses materiais. Assim, o presente estudo visa, por um lado, avaliar a eficácia de 3 métodos de desinfecção distintos (hipoclorito de sódio 0,5%, gluconato de clorexidina 0,2% e pastilha efervescente de peróxido alcalino) e, por outro, avaliar as alterações induzidas por estes métodos de desinfecção na rugosidade de superfície das resinas.

As hipóteses nulas deste estudo postulam que: H01 - Não existem diferenças estatisticamente significativas na efetividade da desinfecção pelos vários desinfetantes; H02 - Não existem diferenças estatisticamente significativas na rugosidade média da superfície com a aplicação dos vários desinfetantes.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Neste estudo foi utilizada a resina NextDent Denture 3D+ (3D Systems) (Tabela I) destinada para a fabricação de bases de próteses removíveis parciais e totais impressas em 3D. Esta resina é composta por metacrilatos (oligómeros e monómeros), agente de carga, fotoiniciador e pigmento, cujas propriedades físicas e características de superfície incluem uma resistência flexural de 65 MPa, uma sorção $\leq 35 \mu\text{g}/\text{mm}^3$ e uma solubilidade $\leq 3,0 \mu\text{g}/\text{mm}^3$ (29).

O tamanho da amostra foi definido com base num estudo prévio semelhante sobre a adesão microbiana de *Candida albicans* em resinas impressas em 3D (33). De acordo com esse estudo, seriam necessárias, no mínimo, três amostras por grupo, considerando um desvio padrão de 0,4 reportado em estudos similares (30–32), com um nível de significância de 0,05 e uma potência estatística de 0,80.

Tabela I. Informações do fabricante para resina NextDent Denture 3D+(29)

Marca	NextDent, 3D Systems
Impressora	NextDent 5100
Comprimento de onda	405 nm
Tecnologia de impressão	LED-based Digital Light Processing (DLP)
Composição	Oligómeros, monómeros, fotoiniciador, estabilizador e pigmento
Orientação	90°
Espessura da camada	100 μm
Limpeza	Limpeza com etanol (96%) durante três minutos seguida de limpeza com etanol limpo (96%) durante dois minutos. Repouso durante 10 minutos
Pós-polimerização	NextDent Cure, 230V – 30 min 60°C

2.1. FABRICAÇÃO DOS PROVETES

O software Meshmixer v. 3.5 (Autodesk Inc.) foi utilizado para o desenho digital de um provete com as seguintes dimensões: 8mm de diâmetro, 3mm de altura (Figura 1). O ficheiro .stl foi preparado para impressão 3D e as estruturas de suporte foram fixadas exclusivamente numa parte do provete (na altura do cilindro) de forma a evitar a necessidade de qualquer intervenção manual adicional nas áreas da superfície plana da prótese que entram em contato direto com a mucosa oral. Em seguida, os dados foram enviados para a impressora DLP NextDent 5100 (3D Systems) para a produção dos provetes no ângulo de impressão 90° e uma espessura de camada de

50 μ m, respeitando as recomendações do fabricante. O processo incluiu uma limpeza inicial com solução de álcool isopropílico a 96% durante três minutos, seguida de uma segunda limpeza com álcool isopropílico novo a 96% por dois minutos, e um período de repouso de 10 minutos. Após este procedimento, foi realizada a pós-polimerização em uma unidade de cura de luz UV (NextDent Cure - 230V) durante 30 minutos a 60°C, assegurando a conversão completa dos monómeros não reagidos. Por fim, realizou-se a remoção dos suportes.

Para os objetivos desta pesquisa, os provetes de resina foram mantidos no seu estado original de fabricação, sem a realização de qualquer procedimento de acabamento ou polimento (apenas para amenizar sinais da remoção dos suportes) (Figura 2). Isto se justifica pelo fato de que, na prática clínica, tais intervenções não são comumente realizadas na superfície de contacto mucoso das próteses removíveis.

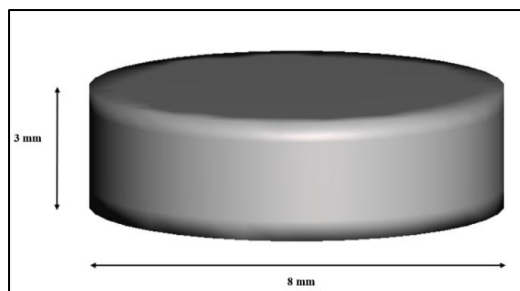


Figura 1. Provette de resina. Imagem de autoria própria.



Figura 2. Desenho do provete de resina em stl (8x3mm). Imagem de autoria própria.

2.2. ESTUDO EXPERIMENTAL

O estudo envolveu a avaliação da adesão de *C. albicans* e dos parâmetros da rugosidade de superfície depois da imersão dos provetes em diferentes produtos desinfetantes (Figura 3).

Material de base de prótese: Resina fotopolimerizável NextDent Denture 3D+

Grupos de estudo:

Grupo 1 (n=5) – Basal

Grupo 2 (n=5) – Controlo – Soro fisiológico estéril

Grupo 3 (n=5) – Hipoclorito de sódio 0,5% (Instituto Galénico, Lisboa, Portugal): Provetes imersos por 10 minutos

Grupo 4 (n=5) – Gluconato de Clorexidina 0,2% (Diasseptyl, Ducray, Paris, França): Provetes imersos por 10 minutos

Grupo 5 (n=5) – Pastilhas Corega Oxigénio Bio-Ativo (Haleon, Inglaterra): Provetes imersos por 3 minutos

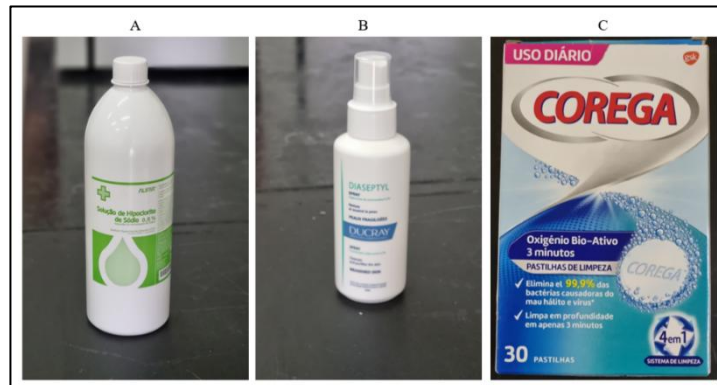


Figura 3. Produtos desinfetantes – A. Hipoclorito de sódio 0,5%; B. Gluconato de clorexidina 0,2%; C. Pastilhas efervescentes.

2.2.1. Preparação de *Candida albicans*

Um isolado clínico identificado como *Candida albicans* foi repicado em meio Sabouraud Agar e incubado por 24 horas a 37°C com agitação de 100 rpm/min (IKA-Werke GmbH & Co. KG, Staufen im Breisgau, Alemanha) (Figura 4).



Figura 4. Incubadora orbital IKA KS 4000 i control.
<https://www.ika.com/pt/Produtos-LabEq/Agitadores-pg179/KS-4000-ic-control-3510100/>.

2.2.2. Preparação dos provetes

Os provetes de resina foram esterilizados a 121°C e, de seguida, foram colocados num tubo de ensaio de vidro esterilizado com 2 mL de meio Sabouraud Caldo com Cloranfenicol (CF) (Figura 5). A todos estes tubos foi adicionada solução de *Candida albicans* previamente preparada numa turvação a 0,5 McFarland (Biosan DEN-1. Biosan; Letónia) (Figura 6), com exceção do grupo 1 (basal). Todos os tubos foram mantidos na incubadora durante 48 h com agitação de 100 rpm a 37°C.



Figura 5. Tubos de ensaio de vidro estéreis - Grupos 2, 3, 4 e 5.



Figura 6. Densitômetro McFarland.

<https://www.neoreax.com/produto/den-1b-densitometro-mcfarland-1-und/>.

2.2.3. Aplicação dos diferentes métodos de desinfecção

Após a formação de biofilme por *Candida albicans*, o meio contido dentro dos tubos foi descartado cuidadosamente para manter o provete dentro dos mesmos. Foi realizada uma dupla lavagem com 2mL de soro fisiológico estéril para remover as células não aderidas à resina e os seguintes protocolos de desinfecção foram realizados:

- a. Sem desinfecção;
- b. Desinfecção com 1 ml de Hipoclorito de Sódio 0,5% durante 10 minutos;
- c. Desinfecção com 1 ml de Gluconato de Clorexidina 0,2% durante 10 minutos;
- d. Desinfecção com 30g de Pastilhas efervescentes Corega Oxigénio Bio-Ativo diluídas em 1ml de soro fisiológico, durante 3 minutos.

Após o procedimento de desinfecção, as amostras foram lavadas duas vezes com 2 mL de soro fisiológico estéril. O volume foi removido e adicionado 1mL de soro fisiológico estéril e 1 micro colher de esferas de vidro estéreis de 1mm. Os tubos foram agitados em vórtex (Vortex V-1 Plus. Biosan; Letónia) e sonificados (Sonicador J.P. Selecta, Espanha) durante 5 segundos, intervaladamente, 3 vezes para dispersar as células aderidas na superfície dos discos (Figuras 7 e 8).



Figura 7. Vortex V-1 plus



Figura 8. Banho de ultrassons

2.2.4. Avaliação da adesão

Os provetes não desinfetados foram diluídas na proporção de 10^{-2} em soro fisiológico estéril (Figura 9A). Em seguida, 10 μ L foram semeados por espalhamento em placas de Sabouraud com cloranfenicol (CF) triplicado (Figura 9B). Das amostras basais e desinfetadas semeou-se 100 μ L por espalhamento numa placa de Sabouraud com CF (Figura 10).

Todas as culturas foram incubadas por 72h a 37°C.

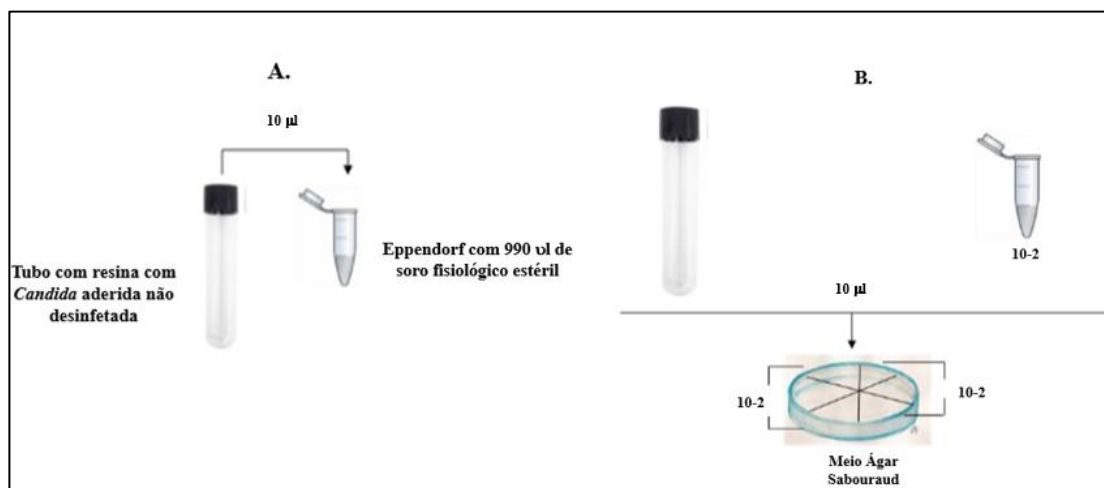


Figura 9. A. Diluição de amostras não desinfetadas. B. Sementeira em triplicado em Ágar Sabouraud.

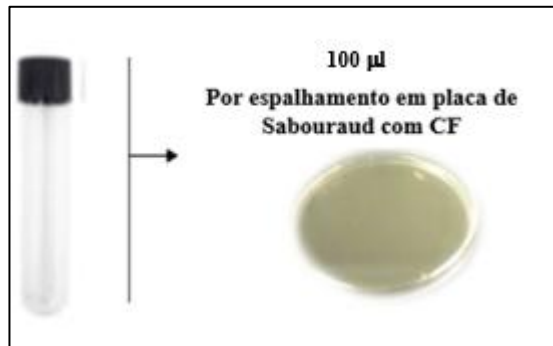


Figura 10. Sementeira das amostras basal e desinfetadas.

2.2.5. Quantificação da massa de biofilme

A quantidade de *Candida albicans* aderida após tratamento foi quantificada através da contagem de UFC pelo método de contagem em placa. O valor aderido por mm² foi calculado com base na superfície total dos provetes.

2.3. AVALIAÇÃO DA RUGOSIDADE DE SUPERFÍCIE

A rugosidade da superfície dos provetes, selecionados aleatoriamente, foi medida após os processos de desinfecção utilizando um perfilômetro de contato HommelWerke LV-50 (HommelWerke GMBH, Alemanha) (Figura 11). A avaliação foi realizada por meio de uma ponta de diamante de 5µm de raio, com carga constante, percorrendo um comprimento retilíneo de 4,8mm durante 10 segundos. Para cada amostra, foram efetuadas 5 medições, e a rugosidade média (Ra) foi calculada.

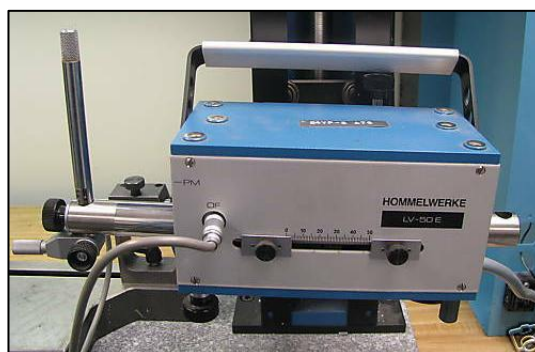


Figura 11. Perfilômetro de contato.

<https://bullseyecalibration.com/shop/hommelwerke-t2000-surface-profile-gage-profilometer/>.

2.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística dos dados foi realizada utilizando o software IBM SPSS Statistics v.24 (IBM SPSS Statistics for Windows, Versão 24.0. IBM Corp, Estados Unidos). Foi realizada a comparação entre os diferentes protocolos de desinfecção, assumindo-se *alpha* de 5%. Os dados de UFC/mm² sofreram uma transformação logarítmica. Foram aplicados os testes de Shapiro-Wilk para avaliar a normalidade dos dados e o teste de Levene para verificar a homogeneidade das variâncias. Dado que alguns grupos não seguiram uma distribuição normal, utilizou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. No estudo microbiológico, foram ainda realizadas comparações múltiplas por meio do teste de Mann-Whitney, com o objetivo de identificar quais grupos diferiram entre si em relação à eficácia dos desinfetantes.

As hipóteses nulas deste estudo postulam que: H01 - Não existem diferenças estatisticamente significativas na efetividade da desinfecção pelos vários desinfetantes; H02 - Não existem diferenças estatisticamente significativas na rugosidade média da superfície com a aplicação dos vários desinfetantes.

3. RESULTADOS

3.1. AVALIAÇÃO DA ADESÃO DE *CANDIDA ALBICANS*

Neste estudo, foram analisadas as UFC de *Candida albicans* em diferentes condições de desinfecção aplicadas a provetes de resina de base de prótese impressa em 3D – NextDent Denture 3D+. Os métodos de desinfecção investigados foram: hipoclorito de sódio 0,5%, gluconato de clorexidina 0,2%, e pastilhas efervescentes de peróxido alcalino. As análises descritivas foram realizadas sobre os dados transformados em logaritmo base 10 (log10), conforme é comum em estudos microbiológicos para normalizar a distribuição dos dados.

Os resultados mostraram que os grupos apresentaram as seguintes médias em UFC Log10 CFU/mm²: Sem desinfecção ($3,580 \pm 0,504$), NaOCl 0,5% (0 ± 0), CHX 0,2% ($1,245 \pm 0,836$), e pastilhas Corega ($0,978 \pm 1,593$) (Figura 12).

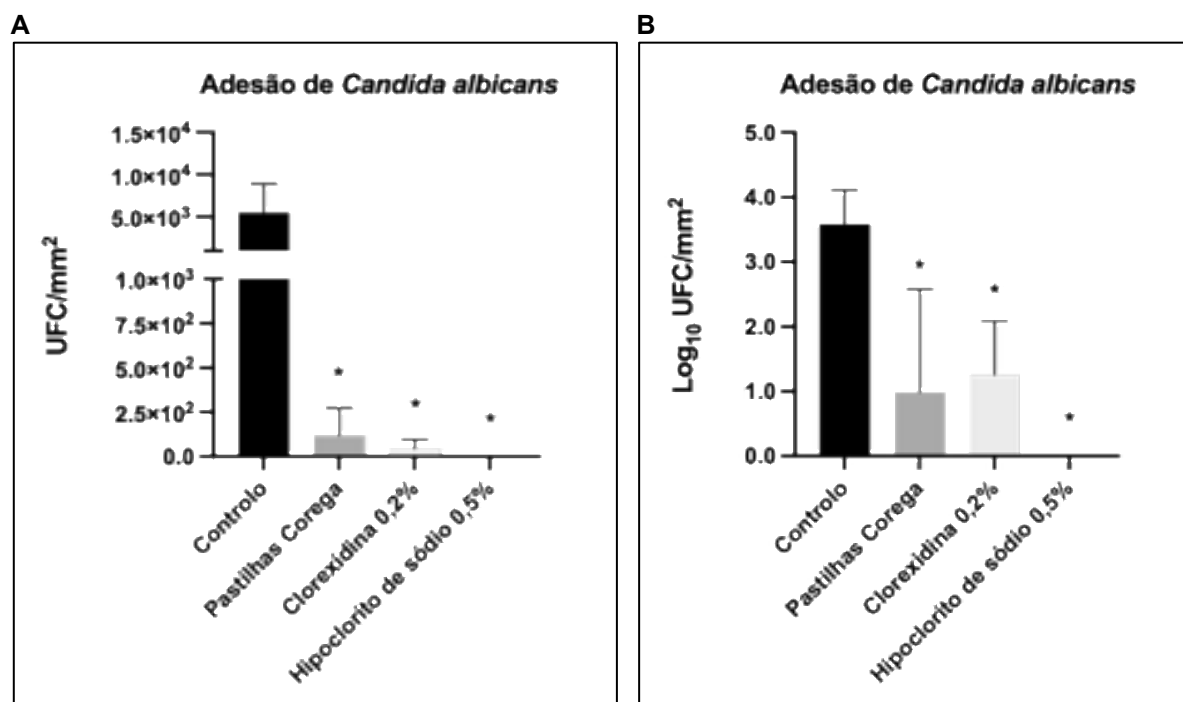


Figura 12. Carga fúngica aderida aos provetes de resina NextDent Denture 3D+ com e sem desinfecção em valores absolutos (A) e escala Log10 (B).

O teste de normalidade de Shapiro-Wilk indicou que os dados para os grupos sem lavagem e pastilhas Corega não seguem uma distribuição normal, com *p-values* de 0,049 e 0,123, respetivamente. No grupo NaOCl 0,5% não foi possível avaliar a normalidade devido a todos os valores serem zero. Por fim, o grupo desinfetado com

CHX 0,2%, apresentou o *p-value* de 0,683 sendo possível concluir que o mesmo segue uma distribuição normal. Devido a falta de normalidade em alguns dos grupos, optou-se por utilizar o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, para comparar a eficácia dos diferentes métodos de desinfecção.

Os resultados do teste de Kruskal-Wallis indicam que há uma diferença estatisticamente significativa na distribuição de UFC/mm² entre os diferentes grupos de tratamento ($H = 15,75$; *p-value* = 0,001). Assim, é possível concluir que pelo menos um dos grupos de tratamento tem uma eficácia de desinfecção diferente dos demais grupos.

Para identificar quais grupos diferem entre si, foram realizadas comparações múltiplas usando o teste de Mann-Whitney. Assim, em comparação com o controle negativo, os provetes de resina desinfetados apresentaram uma redução significativa no número de UFC/mm² de *C. albicans*: >99,99% para NaOCl ($p=0,005$), 99,21% para CHX ($p=0,014$) e 97,81% para pastilhas Corega ($p=0,009$) (Figura 13).

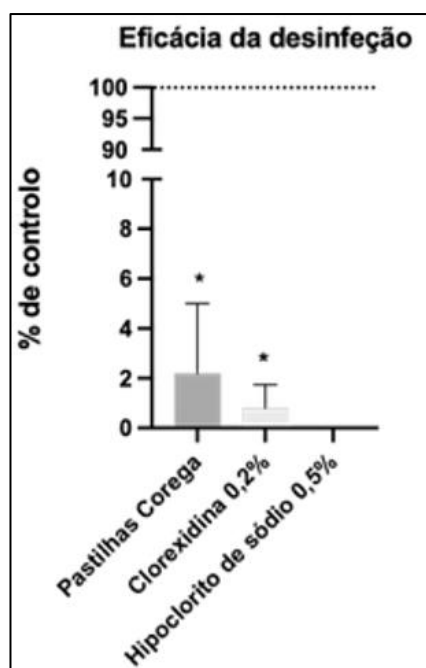


Figura 13. Percentagem de *Candida albicans* remanescente após desinfecção com diferentes métodos.

3.2. AVALIAÇÃO DA RUGOSIDADE

Os resultados de rugosidade da superfície da resina NextDent Denture 3D+ mostraram as seguintes médias (μm): Basal ($2,096 \pm 0,279$), Pastilhas Corega ($1,683 \pm 0,797$), CHX 0.2% ($2,283 \pm 0,908$), e NaOCl 0,5% ($2,299 \pm 0,442$) (Figura 14).

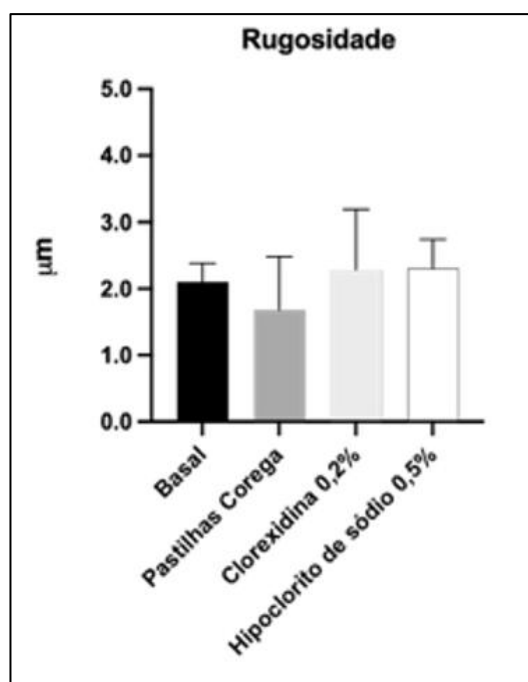


Figura 14. Rugosidade média da resina NextDent Denture 3D+ com e sem desinfecção (basal).

O teste de normalidade de Shapiro-Wilk foi realizado para avaliar a distribuição dos dados de rugosidade. Os resultados indicaram que os dados do grupo basal e do grupo CHX 0,2% seguiam uma distribuição normal, enquanto os dados dos grupos NaOCl 0,5% e Pastilha Corega não seguiam uma distribuição normal. O teste de Levene indicou a violação da homogeneidade das variâncias ($p\text{-value} < 0,001$), levando à utilização do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, adequado para variâncias não homogêneas. Os resultados do teste de Kruskal-Wallis ($H = 4,18$; $p\text{-value} = 0,249$) não indicaram diferenças estatisticamente significativas na rugosidade entre os diferentes métodos de desinfecção.

4. DISCUSSÃO

O presente estudo teve como objetivo fornecer evidências sobre a eficácia de três métodos de desinfecção, nomeadamente, o hipoclorito de sódio 0,5%, o gluconato de clorexidina 0,2% e as pastilhas efervescentes Corega, na remoção de *Candida albicans* aderida a uma resina para base de prótese dentária fabricadas por impressão 3D. Além disso, avaliou-se a possível implicação destes métodos na manutenção da rugosidade da superfície da resina.

No estudo efetuado foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos tratados com substâncias desinfetantes e o grupo controlo. O grupo controlo, sem desinfecção (água), apresentou adesão de *Candida albicans*, evidenciando a necessidade de desinfecção das resinas. Todos os métodos testados para a desinfecção da resina NextDent Denture 3D+ foram muito eficazes na redução da carga fúngica aderida, inibindo a adesão em taxas superiores a 95%. O grupo NaOCl 0,5% apresentou contagens de UFC nulas, sugerindo uma eficácia de ~100% nas condições testadas. Contudo, é importante referir que o método de deteção utilizado poderá não ter a sensibilidade necessária, podendo este não detetar níveis inferiores do microrganismo, apesar de outros estudos presentes na literatura demonstrarem resultados semelhantes quanto à eliminação completa dos microrganismos pelo NaOCl 0,5%, apresentando crescimento nulo de colónias para *Candida albicans* (11,32).

O hipoclorito de sódio é amplamente conhecido por pela sua forte atividade antimicrobiana. Estudos demonstram que esta substância é eficaz na eliminação de *Candida albicans*, no entanto, pode causar alterações significativas na rugosidade da superfície da resina através da formação de microfissuras e irregularidades nos locais onde os microrganismos se alojam (4,9). Contudo, em nosso estudo, não observamos alterações na rugosidade, possivelmente porque foi realizada apenas uma imersão.

A clorexidina é um antisséptico que também apresenta propriedades antimicrobianas, porém com uma ação menos agressiva, resultando em menores alterações na rugosidade da superfície da resina (12). Isto pode ser considerado vantajoso, já que uma superfície menos rugosa é considerada menos propícia a colonização microbiana. Os resultados obtidos no presente estudo demonstraram que a CHX a 0,2% foi eficaz na eliminação de *C. albicans* (99,21%), considerando um período de imersão de 10 minutos. Por outro lado, Machado de Andrade *et al.* (2012)

demonstraram a eficácia da clorexidina 0,12% na eliminação de *C. albicans* após 20 minutos de imersão (34).

As pastilhas efervescentes atuam pela libertação de oxigénio ativo, que provoca a remoção de resíduos, mas que podem também provocar a decomposição e a hidrólise das resinas, levando a alterações na dureza (14) e na cor das próteses (35). O estudo realizado por Alqanas *et al.* (2022) indica que as pastilhas efervescentes causaram uma redução significativa na dureza superficial após imersões prolongadas (14). Por sua vez, Da Silva *et al.* (2008) revelaram que as pastilhas efervescentes apresentaram atividade antimicrobiana limitada contra *Candida albicans* e aumentaram significativamente a rugosidade após os ciclos de desinfecção, alertando para estudos a longo prazo (12). No nosso trabalho, as pastilhas efervescentes, após 3 minutos de imersão foram eficazes na remoção de *Candida albicans*, apresentando uma taxa de eficácia de 97,81%.

Relativamente à avaliação da rugosidade, não foram verificadas diferenças estatisticamente significativas entre os diferentes métodos de desinfecção. Apesar disso, observaram-se variações nas médias de rugosidade entre os grupos. O grupo basal apresentou uma média de rugosidade de 2,096 μ m, com valores relativamente homogêneos, enquanto o grupo tratado com pastilhas Corega, apesar de ter a menor média de rugosidade (1,683 μ m), exibiu maior variabilidade de resultados. Os grupos tratados com CHX 0,2% e NaOCl 0,5% mostraram médias de rugosidade semelhantes (2,283 μ m e 2,299 μ m, respetivamente), porém com maior variabilidade no grupo CHX 0,2%. Este resultado é corroborado pelo estudo conduzido por Fotovat *et al.* (2024), que não encontraram diferenças significativas quanto à alteração da rugosidade da resina *Freeprint Denture* (Detax) pelos diferentes desinfetantes analisados (NaOCl 0,5%, CHX 2% e peróxido de hidrogénio 1%) (9).

Próteses acrílicas bem polidas e lisas são mais eficazes na prevenção da acumulação de placa bacteriana, adesão de microrganismos e retenção de pigmentos, em comparação às superfícies rugosas, que facilitam essas condições podendo comprometer a durabilidade das bases da prótese (36). Está descrito que a rugosidade superficial das próteses dentárias não deve exceder um limite de 0,2 μ m (37), contudo, uma vez que o presente estudo foi realizado em superfície não polida, não é possível efetuar uma comparação direta com o limite estabelecido. Porém, o estudo de Foggi *et al.* (2016) indicou que, mesmo com uma ampla variação nos

valores de rugosidade, não houve uma relação direta significativa entre a rugosidade da superfície e a colonização por *Candida albicans*. Isto sugere que outros fatores, como a composição da resina e a hidrofobicidade da superfície, podem desempenhar um papel mais relevante na adesão microbiana (37).

A evolução tecnológica na medicina dentária tem permitido avanços significativos na fabricação de próteses dentárias por impressão 3D, oferecendo vantagens em termos de personalização e eficiência de produção, mas também desafios relacionados com as propriedades de superfície das resinas. A resina NextDent Denture 3D+, por exemplo, deverá demonstrar resistência à colonização microbiana e manter a integridade estrutural após repetidos ciclos de desinfecção, uma vez que, para uma proporção significativa de pacientes idosos, as próteses totais permanecem como a única solução prática disponível, sendo essencial que o material da base dessas próteses ofereça propriedades de superfície excelentes (28).

Neste estudo, o tempo de imersão dos provetes em hipoclorito de sódio a 0,5% e clorexidina a 0,2% foi estabelecido em 10 minutos, com base em estudos semelhantes da literatura, enquanto o tempo de imersão das pastilhas efervescentes seguiu as recomendações do fabricante. Contudo, observa-se uma falta de padronização nos tempos de imersão das próteses dentárias para os diferentes desinfetantes. Diversos estudos adotam tempos de exposição diferentes, não havendo um consenso claro. Por exemplo, Machado de Andrade *et al.* (2012) utilizaram uma solução de clorexidina a 2,0% durante 5 minutos (34), enquanto Silva-Lovato e Paranhos (2008) testaram diversos desinfetantes, incluindo hipoclorito de sódio a 1% e clorexidina a 2,0% com um tempo de imersão de 10 minutos (35). Outros estudos, como o de Alqanas *et al.* (2022), seguiram as instruções dos fabricantes, variando o tempo de imersão de 3 a 10 minutos, reforçando a falta de uniformidade nas recomendações (14).

O tipo de desinfetante e suas propriedades são fatores determinantes no tempo de imersão necessário para a eficácia da desinfecção. Estudos realizados por Lima *et al.* (2006) adotaram 10 minutos de imersão para o hipoclorito de sódio a 0,5% (13), enquanto Da Silva *et al.* (2008) utilizaram 10 minutos para o hipoclorito de sódio a 1% e o gluconato de clorexidina a 2% (12). Em contrapartida, Alfouzan *et al.* (2023) utilizaram tempos de imersão mais longos, como 20 minutos para hipoclorito de sódio a 0,5% (11).

Outro fator que influencia a variação nos tempos de imersão é o risco de degradação do material da prótese. O estudo de Bento *et al.* (2024) demonstrou que o hipoclorito de sódio a 1% foi eficaz na redução da colonização microbiana, apesar de ter causado alterações nas propriedades mecânicas das resinas, especialmente nas impressas em 3D, que apresentaram uma redução na microdureza e na resistência à flexão após os ciclos de desinfecção, sugerindo uma suscetibilidade destas resinas a desinfetantes mais concentrados (38). Por outro lado, Paranhos *et al.* (2013) observaram que o hipoclorito de sódio a 0,5% aumentou significativamente a rugosidade superficial das resinas acrílicas sem comprometer sua resistência à flexão (35).

Os diferentes estudos citados evidenciam a alta variação nos tempos de imersão adotados para a desinfecção de próteses dentárias, destacando a necessidade do desenvolvimento de protocolos mais detalhados, que possam ser amplamente aceitos e aplicados na prática clínica. Esses protocolos devem considerar as particularidades de cada desinfetante e suas interações com os diferentes materiais de próteses dentárias, com base em evidências científicas, de modo a assegurar uma higienização eficaz e a longevidade das próteses, sem comprometer a saúde dos pacientes.

Para a impressão da resina NextDent Denture 3D+, foram seguidas as recomendações do fabricante, utilizando uma orientação de 90° e uma espessura de 50µm. No entanto, a literatura apresenta controvérsias sobre a influência das diferentes orientações de impressão (0°, 45°, 90°) nas propriedades físicas, mecânicas e na adesão microbiana das resinas para bases de próteses. Shim *et al.* (2019) observaram maior adesão de *Candida albicans* em superfícies impressas com orientação de 0°, seguida de 45° e 90° (39). Por outro lado, Li *et al.* (2023) não identificaram influência significativa do ângulo de construção, mas indicaram que camadas mais espessas (100µm) resultaram em maior rugosidade de superfície e adesão microbiana comparadas a camadas mais finas (25µm e 50µm) (25). Adicionalmente, o estudo de Jin *et al.* demonstrou que, embora as diferenças nos ângulos de construção (90°, 100°, 135° e 150°) não tenham se mostrado estatisticamente significativas, o ângulo de 135° proporcionou melhor adaptação tecidual para a maxila, enquanto o ângulo de 100° foi mais adequado para a mandíbula. Esses achados sugerem que ângulos específicos de impressão podem

melhorar a adaptação da prótese, minimizando a discrepância na interface prótese-tecido, o que poderá reduzir o desconforto e melhorar a retenção da prótese (40).

Complementando a análise sobre os parâmetros de impressão, outros estudos *in vitro* que têm investigado a interação entre *Candida albicans* e resinas de base de prótese, sugerem que a técnica de fabricação tem impacto na sua adesão e na formação de biofilme. Meiorowitz *et al.* (2021) observaram maior adesão de *C. albicans* em resinas fabricadas por impressão 3D quando comparadas com as técnicas convencionais e de fresagem (26, 27). Em concordância, o estudo de Da Silva *et al.* (2023) revelou que as resinas de base de prótese impressas em 3D têm maior suscetibilidade à colonização microbiana em comparação com as resinas polimerizadas por calor devido à maior energia livre de superfície das resinas 3D, mesmo apresentando menor rugosidade (33). O estudo conduzido por Alfouzan *et al.* (2023) demonstrou que as próteses fabricadas por CAD/CAM apresentaram uma adesão significativamente reduzida de *Candida albicans* em comparação às próteses convencionais, sendo essa diferença atribuída principalmente à menor rugosidade superficial das resinas produzidas pelo método CAD/CAM (41).

Os resultados do estudo de Osman *et al.* (2023) indicaram que as próteses dentárias fabricadas por impressão 3D apresentaram uma adesão significativamente maior de *Candida albicans* em comparação com próteses fabricadas por métodos convencionais ou fresadas por CAD/CAM, resultado explicado pelo fenômeno *stair-stepping*, que ocorre devido à deposição em camadas, resultando na formação de degraus na superfície da prótese e criando sulcos e porosidades que aumentam a rugosidade superficial, criando áreas protegidas contra forças de cisalhamento. Além disso, a maior área de superfície criada pelas irregularidades contribui para um aumento na formação de biofilmes (27).

É importante ressaltar que neste trabalho preliminar foi utilizada uma só resina impressa, sem polimento, reforçando o impacto negativo da superfície não polida na adesão microbiana. A ausência de polimento adequado parece ser um fator adicional que aumenta a suscetibilidade à colonização por microrganismos, evidenciando a importância de técnicas de acabamento adequadas para otimizar a qualidade das superfícies das próteses fabricadas por impressão 3D.

Em suma, com base nos dados da carga microbiana aderida e na análise de rugosidade à resina, conclui-se que, apesar da elevada eficácia de todos os métodos testados, o NaOCl 0,5% é o método mais eficaz para a desinfecção de *Candida*

albicans, seguido pelo CHX 0,2% e, por último, pelas Pastilhas Corega e, que os diferentes métodos de desinfecção não resultam em alterações significativas nas rugosidades das resinas de base de prótese impressas em 3D.

Os resultados deste estudo contribuem para a literatura existente ao fornecer dados comparativos sobre a eficácia de métodos de desinfecção em próteses dentárias impressas em 3D, alinhando-se com os objetivos de proporcionar melhorias na saúde e bem-estar dos pacientes usuários de próteses.

Embora tenham sido obtidos resultados relevantes, algumas limitações foram identificadas no decorrer do estudo. Primeiramente, a generalização dos resultados pode ser limitada pela natureza *in vitro* do estudo, que não reproduz por completo as condições orais dos pacientes. Além disso, a análise da eficácia antimicrobiana foi realizada considerando em o tempo de exposição de 10 minutos para os desinfetantes hipoclorito de sódio 0,5% e gluconato de clorexidina 0,2%, o que pode não refletir a prática clínica real, onde tempos de desinfecção mais longos são frequentemente utilizados pelos pacientes pois muitos acreditam que deixar as próteses mais tempo em contato com os agentes desinfetantes irá garantir uma limpeza mais profunda e eficaz. Outro ponto relevante é o número reduzido de amostras por grupo (n=5), o que pode limitar o poder estatístico do estudo, e comprometer a capacidade de detetar diferenças significativas entre os grupos. Adicionalmente, este estudo apenas verificou a alteração da rugosidade da resina após um ciclo de desinfecção, sendo relevante fazer estudos longitudinais após vários ciclos.

Sendo que todos os desinfetantes utilizados estão comercialmente disponíveis, os resultados deste estudo devem ser interpretados com precaução na prática clínica, pois a aplicação repetida desses métodos de desinfecção pode comprometer as propriedades das próteses dentárias impressas em 3D, aspeto não testado neste trabalho.

5. CONCLUSÃO

O presente estudo preliminar foi realizado com o objetivo de avaliar duas componentes que influenciam o controlo de *Candida albicans* em resina de base de prótese impressas em 3D, nomeadamente, a eficácia de desinfeção e as alterações na rugosidade da superfície das resinas. Os principais resultados indicaram que todos os métodos testados apresentam elevada eficácia na redução da adesão da *Candida albicans*, sendo que o NaOCl 0,5% apresentou maior eficácia, apesar de a CHX 0,2% e as pastilhas Corega também demonstrarem elevada eficácia. Nenhum método de desinfeção afetou significativamente a rugosidade de superfície da resina testada após um ciclo de desinfeção.

Para estudos futuros, recomenda-se a aumentar o número de amostras para garantir uma análise mais robusta, além de investigar diferentes tempos de imersão, concentrações das soluções desinfetantes e realizar estudos longitudinais ao longo de vários ciclos de desinfeção, de modo a verificar variações na eficácia antifúngica e no impacto nas características de superfície do material. Estudos *in vivo* serão igualmente importantes para validar os resultados em condições clínicas reais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Zdanavičienė E, Sakalauskienė J, Gleiznys A, Gleiznys D, Žilinskas J. Host responses to *Candida albicans*. A review. *Balt Dent Maxillofac J*. 2017;19(4):109–32.
2. Susewind S, Lang R, Hahnel S. Biofilm formation and *Candida albicans* morphology on the surface of denture base materials. *Mycoses*. 2015;58(12):719–27.
3. Gad MM, Abualsaud R, Khan SQ. Hydrophobicity of denture base resins: A systematic review and meta-analysis. *J Int Soc Prev Community Dent*. 2022;12(2):139–59.
4. Mayahara M, Kataoka R, Arimoto T, Tamaki Y, Yamaguchi N, Watanabe Y, et al. Effects of surface roughness and dimorphism on the adhesion of *Candida albicans* to the surface of resins: scanning electron microscope analyses of mode and number of adhesions. *J Investig Clin Dent*. 2014;5(4):307–12.
5. Ramage G, Tomsett K, Wickes BL, López-Ribot JL, Redding SW. Denture stomatitis: A role for *Candida* biofilms. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2004;98(1):53–9.
6. McReynolds DE, Moorthy A, Moneley JOC, Jabra-Rizk MA, Sultan AS. Denture stomatitis—An interdisciplinary clinical review. Vol. 32, *Journal of Prosthodontics*. John Wiley and Sons Inc; 2023. p. 560–70.
7. Mothibe J V., Patel M. Pathogenic characteristics of *Candida albicans* isolated from oral cavities of denture wearers and cancer patients wearing oral prostheses. *Microb Pathog*. 2017; 110:128–34.
8. Gendreau L, Loewy ZG. Epidemiology and Etiology of Denture Stomatitis. *J Prosthodont*. 2011;20(4):251–60.
9. Fotovat F, Abassi S, Nikanjam S, Alafchi B, Baghiat M. Effects of various disinfectants on surface roughness and color stability of thermoset and 3D-printed acrylic resin. *Eur J Transl Myol*. 2024;34(1).
10. Martinez Y, Ausina V, Llena C, Montiel JM. Scientific evidence on the efficacy of effervescent tablets for cleaning removable prostheses. A systematic review and meta-analysis. *J Prosthet Dent*. 2024;131(6):1071-83.
11. Alfouzan AF, Tuwaym M, Aldaghri EN, Alojaymi T, Alotiabi HM, Taweel SMA, et al. Efficacy of Denture Cleansers on Microbial Adherence and Surface

- Topography of Conventional and CAD/CAM-Processed Denture Base Resins. *Polymers (Basel)*. 2023;15(2):460.
12. Da Silva FC, Kimpara ET, Mancini MNG, Balducci I, Jorge AOC, Koga-Ito CY. Effectiveness of six different disinfectants on removing five microbial species and effects on the topographic characteristics of acrylic resin. *J Prosthodont*. 2008;17(8):627–33.
 13. Lima EMCX, Moura JS, Del Bel Cury AA, Garcia RCMR, Cury JA. Effect of enzymatic and NaOCl treatments on acrylic roughness and on biofilm accumulation. *J Oral Rehabil*. 2006;33(5):356–62.
 14. Alqanas SS, Alfuhaid RA, Alghamdi SF, al-Qarni FD, Gad MM. Effect of denture cleansers on the surface properties and color stability of 3D printed denture base materials. *J Dent*. 2022; 120:104089.
 15. Davi LR, Felipucci DNB, Souza RF, Bezzon OL, Lovato-Silva CH, Pagnano VO, et al. Effect of Denture Cleansers on Metal Ion Release and surface roughness of denture base materials. *Braz Dent J*. 2012;23(4):387–93.
 16. Lima M, Mendes J, Souza S. Verification of the effectiveness of different dental prosthesis disinfectant agents in the control of denture stomatitis. *Arch Health Invest*. 2021;10(2):334–9.
 17. AL-Dwairi ZN, AL-Quran FA, AL-Omari OY. The effect of antifungal agents on surface properties of poly (methyl methacrylate) and its relation to adherence of *Candida albicans*. *J Prosthodont Res*. 2012;56(4):272–80.
 18. Uehara T, Sousa EL. Clássico e Digital - O elo de equilíbrio entre as especialidades na prótese dentária. In: Quintessence Pub. Co, editor. *Clássico e Digital - O elo de equilíbrio entre as especialidades na prótese dentária*. 1ª. São Paulo; 2019. p. 129–72.
 19. Yilmaz B, Azak AN, Alp G, Ekşi H. Use of CAD-CAM technology for the fabrication of complete dentures: An alternative technique. *J Prosthet Dent*. 2017; 118:140–3.
 20. Schweiger J, Edelhoff D, Güth JF. 3d printing in digital prosthetic dentistry: An overview of recent developments in additive manufacturing. *J Clin Med*. 2021;10(9):2010.
 21. Goodacre BJ, Goodacre CJ. Additive Manufacturing for Complete Denture Fabrication: A Narrative Review. *J Prosthodont*. 2022; 31:47–51.

22. Mazurek-Popczyk J, Nowicki A, Arkusz K, Pałka Ł, Zimoch-Korzycka A, Baldy-Chudzik K. Evaluation of biofilm formation on acrylic resins used to fabricate dental temporary restorations with the use of 3D printing technology. *BMC Oral Health*. 2022;22(1):442.
23. Revilla-León M, Özcan M. Additive Manufacturing Technologies Used for Processing Polymers: Current Status and Potential Application in Prosthetic Dentistry. *J Prosthodont*. 2019;28(2):146–58.
24. Unkovskiy A, Schmidt F, Beuer F, Li P, Spintzyk S, Fernandez PK. Stereolithography vs. Direct light processing for rapid manufacturing of complete denture bases: An in vitro accuracy analysis. *J Clin Med*. 2021;10(5):1–14.
25. Li P, Fernandez PK, Spintzyk S, Schmidt F, Yassine J, Beuer F, et al. Effects of layer thickness and build angle on the microbial adhesion of denture base polymers manufactured by digital light processing. *J Prosthodont Res*. 2023;67(4):562–7.
26. Meirowitz A, Rahmanov A, Shlomo E, Zelikman H, Dolev E, Sterer N. Effect of denture base fabrication technique on candida albicans adhesion in vitro. *Materials*. 2021;14(1):1–8.
27. Osman RB, Khoder G, Fayed B, Kedia RA, Elkareimi Y, Alharbi N. Influence of Fabrication Technique on Adhesion and Biofilm Formation of Candida albicans to Conventional, Milled, and 3D-Printed Denture Base Resin Materials: A Comparative In Vitro Study. *Polymers (Basel)*. 2023; 15:1836.
28. Al-Dwairi ZN, Tahboub KY, Baba NZ, Goodacre CJ, Özcan M. A Comparison of the Surface Properties of CAD/CAM and Conventional Polymethylmethacrylate (PMMA). *J Prosthodont*. 2019;28(4):452–7.
29. Vertex-Dental B.V. NextDent Denture 3D+ [Internet]. [cited 2024 Jul 24]. Available from: <https://nextdent.com/products/denture-3dplus/>
30. Koujan A, Aggarwal H, Chen PH, Li Z, Givan DA, Zhang P, et al. Evaluation of Candida albicans Adherence to CAD-CAM Milled, 3D-Printed, and Heat-Cured PMMA Resin and Efficacy of Different Disinfection Techniques: An In Vitro Study. *J Prosthodont*. 2023;32(6):512–8.
31. Salles MM, Oliveira VDC, de Souza RF, da Silva CHL, Paranhos HDFO. Antimicrobial action of sodium hypochlorite and castor oil solutions for denture cleaning – in vitro evaluation. *Braz Oral Res*. 2015;29(1):1–6.

32. Salles MM, Badaró MM, de Arruda CNF, Leite VMF, da Silva CHL, Watanabe E, et al. 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):637–6342.
33. Silva MDD da, Nunes TSBS, Viotto HE do C, Coelho SRG, Souza RF de, Pero AC. Microbial adhesion and biofilm formation by *Candida albicans* on 3D-printed denture base resins. *PLoS One.* 2023;18(10).
34. Machado de Andrade I, Cruz PC, Silva-Lovato CH, de Souza RF, Cristina Monteiro Souza-Gugelmin M, de Freitas Oliveira Paranhos H. Effect of Chlorhexidine on Denture Biofilm Accumulation. *J Prosthodont.* 2012;21(1):2–6.
35. Paranhos H de FO, Peracini A, Pisani MX, Oliveira V de C, souza RF de, 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.
36. Gungor H, Gundogdu M, Duymus ZY. Investigation of the effect of different polishing techniques on the surface roughness of denture base and repair materials Clinical Implications. *J Prosthet Dent.* 2014;112:1271–7.
37. de Foggi CC, Machado AL, Zamperini CA, Fernandes D, Wady AF, Vergani CE. Effect of surface roughness on the hydrophobicity of a denture-base acrylic resin and *Candida albicans* colonization. *J Investig Clin Dent.* 2016;7(2):141–8.
38. Bento VAA, Sayeg JMC, Rosa CDDRD, Lopes LF de TP, Marques MCS, Pellizzer EP. Efficacy of denture cleansers on *Candida albicans* adhesion and their effects on the properties of conventional, milled CAD/CAM, and 3D-printed denture bases. *Clin Oral Investig.* 2024;28(7):402.
39. Shim JS, Kim JE, Jeong SH, Choi YJ, Ryu JJ. Printing accuracy, mechanical properties, surface characteristics, and microbial adhesion of 3D-printed resins with various printing orientations. *J Prosthet Dent.* 2019;123(4):468–75.
40. Jin MC, Yoon HI, Yeo IS, Kim SH, Han JS. The effect of build angle on the tissue surface adaptation of maxillary and mandibular complete denture bases manufactured by digital light processing. *J Prosthet Dent.* 2020;123(3).
41. Al-Fouzan AF, Al-Mejrad LA, Albarrag AM. Adherence of *Candida* to complete denture surfaces in vitro: A comparison of conventional and CAD/CAM complete dentures. *J Adv Prosthodont.* 2017;9(5):402–8.

ANEXOS

Parecer do Orientador

Na qualidade de orientadora da estudante do Mestrado em Reabilitação Oral, Fernanda Xavier Moreira Daemon, com a dissertação intitulada “Estudo da adesão de *Candida albicans* em resina de base de prótese impressa em 3D: estudo *in vitro*”, apresento o meu parecer sobre a admissibilidade a provas públicas:

1 – O trabalho de investigação foi realizado sob minha orientação, no decurso do Mestrado em Reabilitação Oral da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto.

2 – A dissertação cumpre todas as normas científicas e de apresentação escrita, satisfaz os objetivos a que se propôs, apresenta uma introdução completa e atualizada no que diz respeito aos conteúdos apresentados. Os materiais e métodos estão bem definidos e descritos, os resultados corretamente apresentados e discutidos com perspicácia. A bibliografia é recente, completa e adequa-se ao tema da investigação.

Após análise das correções efetuadas, sou da opinião de que a candidata reúne as condições necessárias para se submeter a provas públicas.

Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto, 12 de outubro de 2024.

O Orientador,



Maria Margarida Ferreira Sampaio Fernandes

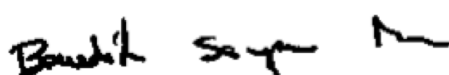
Professora Auxiliar Convidada com Agregação da Faculdade de Medicina Dentária da
Universidade do Porto

Parecer do Orientador

Na qualidade de coorientadora da estudante do Mestrado em Reabilitação Oral, Fernanda Xavier Moreira Daemon, com a dissertação intitulada ““Estudo da adesão de *Candida albicans* em resina de base de prótese impressa em 3D: estudo *in vitro*”, venho por este meio atestar que a aluna em questão desenvolveu o trabalho prático com qualidade e que os resultados apresentados foram por si obtidos. Mais acrescento que na minha opinião o trabalho se reveste de atualidade e que apresenta critérios de qualidade. Em suma, sou da opinião de que a candidata reúne as condições necessárias para se submeter a provas públicas.

Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto, 12 de outubro de 2024.

A coorientadora,



Benedita Sampaio Maia

Professora Associada com Agregação

Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto

FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA

