

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

BEATRIZ MARCATTO TINELLI

Efeito de protocolos de higiene sobre as propriedades mecânicas e físicas e sobre o biofilme misto formado na superfície de duas resinas para confecção de prótese total obtidas por impressão 3D e caracterizadas por meio da pigmentação extrínseca

ORIENTADORA: PROF^a. DR^a. CLÁUDIA HELENA LOVATO DA SILVA

RIBEIRÃO PRETO

2023

BEATRIZ MARCATTO TINELLI

Efeito de protocolos de higiene sobre as propriedades mecânicas e físicas e sobre o biofilme misto formado na superfície de duas resinas para confecção de prótese total obtidas por impressão 3D e caracterizadas por meio da pigmentação extrínseca

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Cirurgiã-Dentista.

ORIENTADORA: PROF^a. DR^a. CLÁUDIA HELENA LOVATO DA SILVA

RIBEIRÃO PRETO

2023

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

AGRADECIMENTOS

A Deus, fonte da minha determinação para trilhar essa jornada, superar os obstáculos e realizar esse trabalho.

Aos meus pais e demais familiares, matrizes de amor e amparo, por me incentivarem nos momentos difíceis, compreenderem minha ausência enquanto me dedicava a esse projeto e me fazerem entender que o futuro é feito a partir da constante dedicação no presente.

À Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, corpo docente e funcionários, pela elevada qualidade do ensino oferecido e pelas valiosas contribuições para a minha formação intelectual e profissional.

À minha orientadora, pela oportunidade, confiança depositada, suporte e correções, me conduzindo com tamanha eficiência, paciência e dedicação, esclarecendo inúmeras dúvidas e estando sempre disponível a compartilhar seu vasto conhecimento.

Ao grupo do Laboratório de Pesquisa em Reabilitação Oral e ao Departamento de Materiais Dentários e Prótese, pelo compartilhamento de saberes, um grande diferencial que contribuiu direta ou indiretamente para o desenvolvimento e execução desse trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pela concessão da bolsa de iniciação científica e pelo apoio financeiro para a realização desse estudo (Processo nº 2020/11054-8).

Aos meus colegas de curso, em especial à minha dupla Letícia Moda, com quem convivi intensamente durante os últimos anos, pelo companheirismo, ajuda mútua e troca de experiências que me permitiram crescer não só como acadêmica, mas também como pessoa.

Por fim, à colaboração das empresas dOne 3D (<https://done3d.com.br/>) e SmartDent (<https://loja.smartdent.com.br/>), pelo fornecimento e impressão de materiais que foram fundamentais para o desenvolvimento desta pesquisa.

RESUMO

TINELLI, Beatriz Marcatto. **Efeito de protocolos de higiene sobre as propriedades mecânicas e físicas e sobre o biofilme misto formado na superfície de duas resinas para confecção de prótese total obtidas por impressão 3D e caracterizadas por meio da pigmentação extrínseca.** 2023. 61 f. Trabalho de Conclusão de Curso – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

Esse estudo avaliou o efeito de três protocolos de higiene sobre a alteração de cor, microdureza, rugosidade e resistência à flexão e sobre o biofilme misto formado na superfície de duas resinas para confecção de prótese total por impressão 3D [Yller Cosmos Denture (YL), SmartPrint Bio Denture (SP)] e caracterizadas por pigmentação extrínseca da superfície. Uma resina acrílica termopolimerizável (Clássico) foi usada como controle. Espécimes circulares (12 x 3mm) e retangulares (65 x 10 x 3mm) foram distribuídos nos grupos (n=10): E. escovação; EA. escovação e imersão em água; EHS. escovação e imersão em hipoclorito de sódio a 0,25%; ET. escovação e imersão em Triclosan a 0,15%. Foram simuladas três escovações diárias de 2 minutos em máquina de escovação (escova macia e sabão neutro) e imersões diárias de 20 minutos. As variáveis foram mensuradas em T0 e após a simulação de 01, 03 e 05 anos. O efeito dos protocolos de higiene sobre biofilme misto de *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus mutans* (n=9/grupo) foi mensurado pela contagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) após escovação manual de 2 minutos e imersão de 20 minutos. A Microscopia Confocal (n=4) foi realizada em T0 e após cada período simulado. Foram empregados os teste Anova com medidas repetidas e pós-teste de Tukey, Anova (Three-way) com pós-teste de Tukey, Modelo linear generalizado com ajuste de Bonferroni, Anova (Two-way) com pós-teste de Tukey ($p < 0,05$). Alterações de cor ($p = 0,036$) e de dureza Knoop ($p = 0,000$) foram promovidas pela interação entre os fatores. A rugosidade de superfície sofreu alterações significativas pela interação protocolo de higiene/resina ($p = 0,000$) e tempo/resina ($p = 0,001$). Houve interação tempo/protocolo de higiene na resistência à flexão dos materiais ($p = 0,014$). Para *C. albicans*, houve interação entre os fatores ($p = 0,033$). Para *S. aureus*, a contagem de UFC foi influenciada apenas pelos protocolos ($p = 0,000$). Para *S. mutans*, os protocolos EHS e ET reduziram a zero a contagem de microrganismos e a estatística indicou significância apenas do protocolo ($p = 0,000$). Pode-se concluir que a maior variação de cor ocorreu com a resina Yller, porém, os valores de ΔE estão abaixo de 3,3 e, portanto, são clinicamente aceitáveis. As resinas impressas

apresentaram menores valores de microdureza se comparadas à resina convencional e todos os protocolos promoveram redução dos valores no período de 5 anos. As resinas impressas apresentaram valores de rugosidade mais elevados do que os da resina convencional; para SP, foram mais elevados com os protocolos E_{HS} e E_T e menores com a simulação de 3 e 5 anos de imersão; para YL, os maiores valores foram encontrados com a escovação (E) e escovação com imersão em água (EA). Todas as resinas apresentaram diminuição da resistência flexural quando submetidas a todos os protocolos de higiene e controle após a simulação de 5 anos. A E_{HS} foi mais eficiente contra o biofilme, seguida pela E_T. O tipo de resina não influenciou a contagem de UFC, exceto quando a resina Yller foi higienizada com escovação e imersão em Triclosan e apresentou maior contagem de *C. albicans*.

Palavras-chave: Prótese total. Resina acrílica. CAD/CAM. Desinfecção. Propriedades.

ABSTRACT

TINELLI, Beatriz Marcatto. **Effect of hygiene protocols on the mechanical and physical properties and on the mixed biofilm formed on the surface of two denture base resins obtained by 3D printing and characterized by extrinsic pigmentation.** 2023. 61 f. Trabalho de Conclusão de Curso – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

This study evaluated the effect of three hygiene protocols on the color stability, hardness, roughness and flexural strength and on the mixed biofilm formed on the surface of two denture base resins obtained by 3D printing [Yller Cosmos Denture (YL), SmartPrint Bio Denture (SP)] and characterized by extrinsic surface pigmentation. A heat-polymerized acrylic resin (Clássico) was used as a control. Disc-shaped (12 x 3mm) and rectangular (65 x 10 x 3mm) specimens were distributed into groups (n=10): E. brushing; EA. brushing and immersion in water; EHS. brushing and immersion in 0.25% sodium hypochlorite; ET. brushing and immersion in 0.15% Triclosan. Three daily 2-minutes brushings were simulated in a brushing machine (soft brush and neutral soap) and daily 20-minutes immersions. The variables were measured in T0 and after the simulation of 01, 03 and 05 years. The effect of hygiene protocols on mixed biofilm of *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus mutans* (n=9/group) was measured by counting Colony Forming Units (CFU) after 2 minutes of manual brushing and 20 minutes of immersion. Confocal Microscopy (n=4) was performed at T0 and after each simulated period. Data were compared by Anova with repeated measures and Tukey's post-test, Anova (Three-way) with Tukey's post-test, Generalized linear model with Bonferroni adjustment, and Anova (Two-way) with Tukey's post-test (p<0.05). Changes in color (p=0.036) and Knoop hardness (p=0.000) were promoted by the interaction between the factors. Surface roughness suffered significant changes due to the hygiene protocol/resin (p=0.000) and time/resin (p=0.001) interaction. There was interaction time/hygiene protocol in the flexural strength of the materials (p=0.014). For *C. albicans*, there was interaction between the factors (p=0.033). For *S. aureus*, CFU count was influenced only by protocols (p=0.000). For *S. mutans*, the EHS and ET protocols reduced the microorganism count to zero and the statistics indicated significance only for the protocol (p=0,000). It can be concluded that the greatest color variation occurred with the Yller resin, however, the ΔE values are below 3.3 and, therefore, are clinically acceptable. The printed resins showed lower hardness values compared to the conventional resin and all protocols

promoted a reduction in values over a period of 5 years. The printed resins showed higher roughness values than the conventional resin; for SP, they were higher with the EHS and ET protocols and lower with the simulation of 3 and 5 years of immersion; for YL, the highest values were found with brushing (E) and brushing with immersion in water (EA). All resins showed a decrease in flexural strength when subjected to all hygiene and control protocols after the 5-year simulation. EHS was more efficient against biofilm, followed by ET. The type of resin did not influence the CFU count, except when the Yllier resin was cleaned with brushing and immersion in Triclosan and showed a higher count of *C. albicans*.

Keywords: Denture. Acrylic resin. CAD/CAM. Disinfection. Properties.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 PROPOSIÇÃO	14
3 MATERIAIS E MÉTODOS	15
3.1 Avaliação das propriedades físicas e mecânicas	16
3.1.1 Confeção dos corpos de prova	16
3.1.1.1 Resina acrílica convencional	16
3.1.1.2 Resina acrílica impressa	17
3.1.2 Formação dos grupos e aplicação dos protocolos de higiene	19
3.1.3 Realização dos ensaios	20
3.1.3.1 Ensaio de alteração de cor	20
3.1.3.2 Ensaio de microdureza	20
3.1.3.3 Ensaio de rugosidade superficial	21
3.1.3.4 Ensaio de resistência à flexão	21
3.1.3.5 Avaliação da superfície por meio de microscopia confocal	21
3.2 Carga microbiana de biofilme misto formado por <i>C. albicans</i> , <i>S. aureus</i> e <i>S. mutans</i>	22
3.2.1 Confeção dos corpos de prova	22
3.2.2 Esterilização dos espécimes	22
3.2.3 Formação do biofilme	22
3.2.4 Formação dos grupos e aplicação dos protocolos de higiene	23
3.2.5 Avaliação da carga microbiana	24
3.3 Análise dos dados	25
4 RESULTADOS	26
4.1 Propriedades físicas e mecânicas	26
4.1.1 Alteração de cor	26
4.1.2 Microdureza	28
4.1.3 Rugosidade de superfície	30
4.1.4 Resistência à flexão	33
4.1.5 Microscopia confocal	34
4.2 Carga microbiana	35
5 DISCUSSÃO	42
5.1 Propriedades físicas e mecânicas	43
5.1.1 Alteração de cor	43

5.1.2 Microdureza	44
5.1.3 Rugosidade de superfície	45
5.1.4 Resistência à flexão	46
5.1.5 Microscopia confocal	47
5.2 Carga microbiana	47
6 CONCLUSÃO	49
REFERÊNCIAS	50

1 INTRODUÇÃO

O aumento da expectativa de vida, condições socioeconômicas limitadas e baixo nível de instrução são fatores predisponentes para o edentulismo total e, conseqüentemente, para a reabilitação com próteses totais (Petersen et al., 2005). Esses dispositivos auxiliam na preservação dos tecidos bucais remanescentes, restauração da função, da estética e da fonética e manutenção da saúde bucal, sistêmica e psicossocial dos indivíduos (Allen, McMillan, 2003).

Recentemente, a tecnologia CAD/CAM foi introduzida na Odontologia para a fabricação de próteses totais visando a diminuição do número de consultas, previsibilidade dos resultados, simplificação do trabalho laboratorial e melhoria da qualidade dos aparelhos protéticos (Baba, 2016; Steinmassl et al., 2017; Dayan et al., 2019; Raszewski et al., 2021; Srinivasan et al., 2021 a; Tasin et al., 2022). De acordo com Goodacre et al. (2012) e Kattadiyil et al. (2015), a tecnologia CAD/CAM ainda favorece a duplicação das próteses. Por meio dela, o emprego de alta temperatura e pressão resulta em próteses com menor liberação de monômero residual, redução da rugosidade, maior estabilidade de cor, dureza superior e melhor adaptação quando comparada ao método convencional de prensagem e polimerização. Em contrapartida, sua utilização exige maior conhecimento por parte do cirurgião-dentista e envolve materiais economicamente menos acessíveis se comparados aos convencionais, elevando o custo do tratamento para o paciente (Tavares et al., 2018; Dayan et al., 2019).

A confecção de próteses totais por CAD/CAM pode ser realizada por método aditivo ou de subtração. A fabricação por adição consiste na deposição de camadas sucessivas de uma resina acrílica para impressão tridimensional (3D), utilizando como referência um objeto criado a partir de imagens de um arquivo digital. Por outro lado, a técnica de subtração se baseia na usinagem de um bloco de resina acrílica por Comando Numérico Computadorizado (CNC), removendo fisicamente o material até alcançar a geometria desejada (Bidra et al., 2013). Comparativamente, o método subtrativo apresenta algumas limitações: é mais dispendioso, o contorno preciso da superfície interna da dentadura depende do tamanho das fresas empregadas, essas ferramentas sofrem abrasão/desgaste e uma quantidade considerável de resina é desperdiçada pela remoção de partes do monobloco. Ademais, a técnica de impressão possibilita a caracterização da peça protética por meio da adição de pigmentos (Torabi et al., 2015; Kattadiyil, Al Helal, 2017).

Independentemente da técnica de obtenção das próteses por CAD/CAM, o material empregado deve apresentar características satisfatórias de cor para a preservação da estética, além de dureza e resistência à flexão, a fim de evitar fraturas e aumentar sua durabilidade.

Nessas propriedades, se inclui também a rugosidade da superfície, a qual está intimamente relacionada à retenção de micro-organismos e ao desenvolvimento de processos inflamatórios na cavidade bucal (Bidra et al., 2013; Jackson et al., 2014; Tavares et al., 2018; Dayan et al., 2019). Com a utilização de resinas acrílicas convencionais, todas essas propriedades podem ser influenciadas negativamente pelo protocolo de higiene empregado e pelo tempo de uso da dentadura (Jackson et al., 2014). Apesar dos estudos apontarem estabilidade das resinas impressas, há necessidade de avaliação do efeito dos métodos de higiene sobre a manutenção de suas características após caracterização, feita com o intuito de superar a limitação estética da técnica (Choi et al., 2021).

Dentre os métodos de higienização das próteses totais, o mais comumente empregado é a escovação com escova dental e dentifrício ou sabão. Segundo a literatura, é um método eficaz, de custo acessível e tem como objetivo remover mecanicamente o biofilme. Embora estudos indiquem a eficiência da escovação (Panzeri et al., 2009; Paranhos et al., 2013; Segundo et al., 2014), muitos autores preconizam sua associação ao método químico como forma de obter maior êxito na remoção do biofilme e eliminação dos micro-organismos (Paranhos et al., 2007; Silva-Lovato et al., 2010; Papadiochou, Polyzois, 2018). Quanto ao método químico, este consiste na imersão da prótese em substâncias químicas com diferentes componentes e mecanismos de ação com objetivo de desorganizar o biofilme e causar a morte dos micro-organismos.

Muitos estudos laboratoriais e clínicos têm avaliado os efeitos dessas soluções sobre as propriedades físicas e mecânicas dos materiais constituintes das próteses totais, bem como a capacidade de remoção de biofilme, atividade antimicrobiana e remissão da estomatite relacionada à prótese (Pisani et al., 2010b, Pisani et al., 2012; Paranhos et al., 2013; Paranhos et al., 2014; Salles et al., 2015; Sorgini et al., 2015; Badaró et al., 2017b; Arruda et al., 2017; Arruda et al., 2018; Badaró et al., 2020). Dentre as soluções avaliadas, aquelas à base de hipoclorito de sódio a 0,25% e de Triclosan a 0,15% têm apresentado resultados satisfatórios, podendo ser indicadas clinicamente (Bueno, 2016; Arruda et al., 2017; Badaró et al., 2017; Arruda et al., 2018; Badaró et al., 2020; Bueno, 2020). No que diz respeito às resinas 3D, algumas pesquisas também avaliaram os efeitos dessas substâncias químicas para controle do biofilme e sua influência nas propriedades dos materiais (Alqanas et al., 2022; Coelho et al., 2023; Alfouzan et al., 2023).

Em que pese as pesquisas atuais demonstrarem superioridade das próteses totais confeccionadas pelo sistema CAD/CAM em relação às obtidas convencionalmente (Tavares et al., 2018), informações sobre o comportamento do material de confecção de bases

caracterizadas quando exposto aos métodos de higiene são escassas e, portanto, estudos de tempo prolongado são necessários (Srinivasan et al., 2021 a) para obtenção de resultados que possam auxiliar na previsão da durabilidade e da qualidade dos dispositivos protéticos.

2 PROPOSIÇÃO

O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito de três protocolos de higiene sobre alteração de cor, microdureza, rugosidade de superfície e resistência à flexão e sobre a carga microbiana de biofilme em modelo complexo formado por *C. albicans*, *S. aureus* e *S. mutans* sobre a superfície de duas resinas de impressão 3D para prótese total e caracterizadas por meio da pigmentação extrínseca da superfície. A hipótese nula baseou-se na ausência de diferenças entre as resinas e entre os protocolos de higiene para nenhuma das variáveis de resposta.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

As especificações dos materiais utilizados estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Materiais empregados no estudo.

<i>Nome comercial</i>	<i>Fabricante</i>
Resina acrílica termopolimerizável	Clássico Artigos Odontológicos, Campo Limpo Paulista, SP, Brasil
Resina Yller Cosmos Denture	Yller Biomaterials, Pelotas, RG, Brasil
Resina SmartPrint Bio Denture	SmartDent, São Carlos, SP, Brasil
Signum Connector	Kulzer Mitsui chemical group, São Paulo, SP, Brasil
R50 gengiva flow, Pala Cre active	Kulzer Mitsui chemical group, São Paulo, SP, Brasil
Colorfluid pink, Pala Cre active	Kulzer Mitsui chemical group, São Paulo, SP, Brasil
Escova Tek cerdas macias	Johnson & Johnson do Brasil Ind. e Com. Prod. para Saúde Ltda., S. J. dos Campos, SP, Brasil
Sabão neutro	Pleasant, Perol Com. e Ind. Ltda., Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil
*Triclosan (**10 mL de solução de hidróxido de sódio 0,056M+0,15 g Triclosan=0,15% (1,5mg/mL)	*Mix das essências, Belo Horizonte, MG, Brasil.
Hipoclorito de sódio (**Hipoclorito de sódio a 0,25%)	Super Candida ® Indústria Anhembí, Osasco, SP, Brasil

* Princípio ativo puro; ** Soluções preparadas no Laboratório de Pesquisa em Reabilitação Oral da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto.

As variáveis de resposta foram:

A) Alteração de cor, microdureza, rugosidade de superfície e resistência à flexão frente aos fatores de variação:

1. Protocolos de higiene em quatro níveis, sendo: escovação, escovação e imersão em água, escovação e imersão em hipoclorito de sódio a 0,25% e escovação e imersão em Triclosan a 0,15%;
2. Tempo de avaliação: imediatamente após a obtenção dos corpos de prova e após a simulação de 01, 03 e 05 anos, com escovação diária de 6 minutos (três escovações de 2 minutos) e imersões diárias de 20 minutos.

Para análise de alteração de cor, microdureza e rugosidade, foram utilizados 10 corpos de prova de cada material, por grupo; para o ensaio de resistência à flexão, 10 corpos de prova a mais foram obtidos para serem ensaiados imediatamente após sua obtenção.

B) Carga microbiana de biofilme misto composto por *C. albicans*, *S. aureus* e *S. mutans* frente ao fator de variação:

1. Protocolos de higiene em quatro níveis, sendo: sem escovação, escovação e imersão em água, escovação e imersão em hipoclorito de sódio a 0,25% e escovação e imersão em Triclosan a 0,15%, simulando uma escovação diária de 2 minutos e uma imersão diária de 20 minutos.

Para avaliação do efeito dos protocolos de higiene sobre a carga microbiana de biofilme formado foram utilizados 9 corpos de prova para cada material por grupo e 2 corpos adicionais para confirmação da esterilização dos mesmos.

C) Avaliação da superfície por meio de Microscopia Confocal foi realizada em 4 corpos de prova de cada material por grupo; um para análise imediatamente após sua obtenção e outro para análise após sua exposição aos protocolos de higiene, em cada período simulado, sendo eles 01, 03 e 05 anos.

3.1 Avaliação das propriedades físicas e mecânicas

3.1.1 Confeção dos corpos de prova

3.1.1.1 Resina acrílica convencional

Para os ensaios de alteração de cor e microdureza os corpos de prova de resina acrílica termopolimerizável convencional foram obtidos a partir de matrizes metálicas com 13mm de diâmetro e 4mm de espessura (Seção de Oficinas de Precisão, USP, Ribeirão Preto, SP, Brasil), incluídas em muflas metálicas convencionais (OGP Produtos Odontológicos Ltda., São Paulo, SP, Brasil) com gesso pedra tipo III (Gesso Rio, Orlando Antônio Bussioli ME, Rio Claro, SP, Brasil). Em cada mufla, foram colocadas dez matrizes. Após a presa do gesso, as muflas foram separadas e as matrizes metálicas removidas dos moldes. A resina foi manipulada de acordo com as instruções do fabricante, acondicionada nos moldes por meio do uso de uma espátula número 36 (Duflex, SSWhite, Rio de Janeiro, Brasil) e, com uma prensa de bancada (Prensa Hidráulica Protecni, Protecni Equip. Med., Araraquara, SP, Brasil), foi realizada a prensagem da resina com carga inicial de 500kgf e final de 1.200kgf, a qual foi mantida por 30 minutos. Posteriormente, foi realizada a polimerização de acordo com as recomendações do fabricante em uma polimerizadora eletrônica (Termocycler T100, Ribeirão Preto, SP, Brasil), seguindo o ciclo de polimerização de 30 minutos para o aquecimento até 65°C, manutenção dessa temperatura por 1 hora; 30 minutos para elevar a temperatura de 65°C para 100°C e manutenção à 100°C por 1 hora. Em seguida, as muflas foram mantidas em

temperatura ambiente por 12 horas para o seu resfriamento e demuflagem dos corpos de prova.

Os excessos de resina dos corpos de prova foram removidos com fresas (Maxi-Cut; Malleifer SA, Ballaigues, Switzerland). As dimensões finais (12mm x 3mm) e o polimento foram obtidos em politriz horizontal (DPU-10, Panambra Industrial e Técnica AS, São Paulo, SP, Brasil) com lixas d'água (nº 150, 320, 600 e 1.200, Norton Saint Gobain Acessórios Ltda., Guarulhos, SP, Brasil) em todos os lados para eliminar qualquer irregularidade visível e, posteriormente, em politriz de bancada (Nevoni, São Paulo, SP, Brasil), com rodas de algodão e branco de espanha (Branco Rio Orlando, Antônio Bussioli ME, Rio Claro, SP, Brasil). As dimensões dos corpos de prova foram confirmadas com um paquímetro (CD-6" CSX-B – Mitutoyo Sul Americana Ltda., Suzano, SP, Brasil) e a rugosidade superficial foi padronizada em 0,2µm por meio do rugosímetro Surface Roughness Tester SJ-201P (Mitutoyo Corp, Kawasaki, Japão), com um cut off de 0,8mm e curso da agulha de 4,8mm. Cada corpo de prova foi identificado, em sua lateral, com uma marcação realizada com broca (PM 701 – Labordental Ltda, São Paulo, SP, Brasil).

Para os ensaios de resistência à flexão (ISO 20795-1:2008), rugosidade superficial (ISO 20795-1:2008) e microscopia confocal, corpos de prova retangulares com 66,0 de comprimento x 12,0 de largura x 5,0mm de espessura foram obtidos a partir de uma matriz nas proporções citadas para a manutenção das medidas ideais requeridas para os testes após o procedimento de acabamento e polimento (65,0 x 10,0 x 3,3mm). Todos os corpos de prova foram obtidos pela mesma metodologia descrita anteriormente.

3.1.1.2 Resina acrílica impressa

Os corpos de prova foram projetados e desenhados (nas mesmas dimensões e formatos descritos para obtenção dos espécimes em resina convencional termopolimerizável) em software Rhinoceros 6.0. Para a resina Yller (YL), a impressão 3D foi realizada com a impressora Flashforge Hunter 3D Printer (Done 3D, Ribeirão Preto, SP, Brasil), com altura de camada de 0,05mm paralela ao eixo Z (ângulo de impressão de 0°). O tempo de cura foi de 3,0 segundos, com tempo de cura das camadas de aderência de 20 segundos e intensidade de luz de 80%. Os corpos de prova impressos foram lavados com etanol por 3 minutos, submetidos à pós cura por 3 minutos (Forno de Cura, Done 3D, Ribeirão Preto, SP, Brasil) e limpos com álcool isopropílico (Forno de Cura, dOne 3D, Ribeirão Preto, SP, Brasil). Para a impressão dos corpos de prova com a resina SmartPrint (SP) foi empregada a impressora Miicraft 125 ultra (Miicraft, Taiwan, China), altura de camada de 0,05mm paralela ao eixo Z

e tempo de cura de 3,3 segundos. O tempo de cura das camadas de aderência foi de 30 segundos e a intensidade de luz de 100%. A lavagem foi realizada com etanol por 5 minutos, o tempo de pós cura de 10 minutos (Forno de Cura Magna box, EDG Soluções, São Carlos, SP, Brasil) e a limpeza com álcool isopropílico por 1 minuto.

Para simular a caracterização da gengiva uma das superfícies foi asperizada por jateamento com óxido de alumínio (Al_2O_3) ($60\mu m$ a 4 bar) e, para a eliminação do resíduo, os espécimes foram lavados com água corrente e sabão neutro e secos com papel toalha. Sobre a superfície asperizada, foi aplicada uma fina camada de adesivo (Signum conector, Kulzer Mitsui Chemical Group, SP, Brasil) que foi polimerizada, após 2 minutos, por 1 minuto e 30 segundos (Polimerizadora UniXS®, Kulzer, São Paulo, SP, Brasil). Em seguida, uma camada de aproximadamente 0,2mm de R50 (R50 gengiva flow, Pala Cre active, Kulzer Mitsui chemical group, SP, Brasil) para gengiva foi aplicada e polimerizada por 7 minutos. O mesmo foi feito para o pigmento rosa (Colorfluid pink, Pala Cre active, Kulzer Mitsui chemical group, SP, Brasil). Para impedir a formação da camada de dispersão, 0,5 mm de espessura de gel para isolamento (Signum insulating gel, Kulzer Mitsui chemical group, SP, Brasil) foi aplicado e polimerizado por 14 minutos. Após lavagem, foi aplicada uma fina camada de glaze e selante fotopolimerizável Megaseal (Megadenta Dentalprodukte GmbH, Ribeirão Preto, SP, Brasil) e, após 20 segundos, polimerizada por 5 minutos. Todo o processo de pigmentação extrínseca foi realizado com pincéis limpos e finos, sempre pelo mesmo operador.

Cada corpo de prova foi identificado na lateral por uma marcação com broca (PM 701 – Labordental Ltda, São Paulo, SP, Brasil).

Figura 1 - Corpo de prova circular da resina SmartPrint



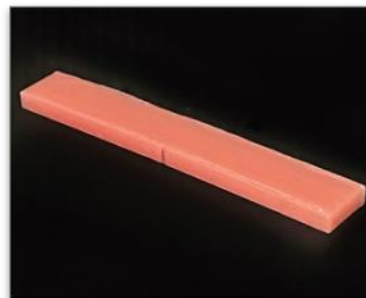
Figura 2 - Corpo de prova circular da resina Yller



Figura 3 - Corpo de prova retangular da resina SmartPrint



Figura 4 - Corpo de prova retangular da resina Yller



3.1.2 Formação dos grupos e aplicação dos protocolos de higiene

Os corpos de prova foram distribuídos, aleatoriamente, em 4 grupos de higiene: Grupo 1) Escovação (E); Grupo 2) Escovação e imersão em água (EA); Grupo 3) Escovação e imersão em hipoclorito de sódio a 0,25% (EHS); Grupo 4) Escovação e imersão em Triclosan a 0,15% (ET).

A escovação mecânica foi realizada em máquina do tipo Pepsodent (MAVTEC – Com. Peças, Acess. e Serv. Ltda. ME, Ribeirão Preto, SP, Brasil) de acordo com a especificação da ISO/DTS 145691 (International Organization for Standardization. Technical Specification 14569-1. Dental Materials – Guidance on testing of wear resistance – Part 1: Wear by tooth brushing. Geneva, ISO;1999). Os corpos de prova foram perfeitamente adaptados à cavidades de diâmetro, largura e espessura correspondentes, estas preparadas em placas de Plexiglass (DayBrasil, Ribeirão Preto, SP, Brasil) (Badaró et al., 2019), e escovados com escova macia com 26 tufo de cerdas de nylon (0,25mm de diâmetro e 10mm de altura; Tek, Johnson & Johnson, São José dos Campos, SP, Brasil). A máquina trabalhou com uma taxa de 356rpm, carga de 200g e com um curso percorrido pela escova de 3,8cm, escovando cinco espécimes simultaneamente. Como agente de escovação foi empregada uma suspensão de sabão neutro e água, a qual foi vertida nas cubas da máquina, sobre os corpos de prova. As suspensões foram preparadas na proporção de 10mL de água destilada e 2mL de sabão. O tempo de escovação foi de 50 minutos (T1; 17.800 ciclos), 125 minutos (T2; 44.500 ciclos) e 250 minutos (T3; 89.000 ciclos), que correspondem a aproximadamente 12, 30 e 60 meses, respectivamente, de exposição à escovação por um indivíduo saudável (Sorgini et al., 2015; Badaró et al., 2019). As suspensões foram substituídas a cada 50 minutos e as escovas a cada 100 minutos.

Para a imersão, 200mL de cada solução foram adicionados em recipientes limpos contendo os corpos de prova, os quais foram posicionados de forma que as soluções

envolvessem todas as superfícies dos mesmos. O efeito das soluções foi avaliado após a simulação de 12 (121 horas), 30 (302 horas) e 60 (604 horas) meses de imersões diárias de 20 minutos. O conjunto foi mantido fechado e em temperatura ambiente (Sorgini et al., 2015). As soluções foram trocadas a cada 24 horas.

Para o grupo 1, as variáveis alteração de cor, microdureza e rugosidade superficial foram mensuradas após a obtenção dos corpos de prova (T0) e após cada período de escovação (T1, T2 e T3). Para os grupos 2, 3 e 4, as mensurações foram em T0 e após cada ciclo, sendo: T1 - 50 minutos de escovação e 121 horas de imersão (simulação de 12 meses); T2 - 75 minutos de escovação e 181 horas de imersão (T1 + T2 = simulação de 30 meses) e T3 - 125 minutos de escovação e 302 horas de imersão (T1 + T2 + T3 = simulação de 60 meses). Como o ensaio de resistência à flexão é destrutivo, o teste foi realizado em T0 e T3.

3.1.3 Realização dos ensaios

Previamente à realização dos ensaios, os corpos de prova foram lavados em água corrente e secos com papel toalha.

3.1.3.1 Ensaio de alteração de cor

Foi realizado com espectrocolorímetro portátil do modelo Color Guide 45/0 (BYK-Gardner GmbH – 07/2002, Geretsried, Alemanha), o qual utiliza o sistema de cores Standard Commission Internationale de L'Eclairage (CIE Lab), recomendado pela American Dental Association. Esse sistema representa um espaço tridimensional de cor, tendo componentes de clareza (L), vermelho-verde (a) e amarelo-azul (b). Um aspecto importante do sistema CIE Lab é que a diferença de cor entre os tempos pode ser dada usando um parâmetro, ΔE_{ab} . A alteração de cor entre cada corpo de prova, cada uma dada em termos de L, a e b, foi calculada pela seguinte fórmula: $\Delta E_{ab} = [(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2]^{1/2}$. A análise da cor foi realizada com os espécimes posicionados com sua identificação voltada para a parte frontal do aparelho, onde foi traçada uma linha vertical coincidindo com essa identificação, permitindo que a leitura da cor fosse feita sempre na mesma posição e na mesma face, antes e após os protocolos de higiene. Para eliminar a diferença de cor no segundo plano, sobre o corpo de prova foi colocado um padrão branco.

3.1.3.2 Ensaio de microdureza

Os corpos de prova circulares foram divididos em 4 quadrantes para obtenção de duas leituras em cada um deles, com auxílio do Microdurômetro Microhardness Tester Shimadzu,

modelo HMV-2 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão) e uma carga de 25g por 5 segundos. A medida final de microdureza para cada corpo de prova foi o resultado da média dos 8 valores encontrados.

3.1.3.3 Ensaio de rugosidade superficial

Os corpos de prova retangulares tiveram uma de suas superfícies dividida em três áreas iguais. Cada área foi submetida a uma leitura para a obtenção da média de rugosidade. As mensurações foram realizadas no aparelho Surface Roughness Tester SJ-201P (Mitutoyo Corp, Kawasaki, Japão) com um cut off de 0,8mm e percurso de 4,8mm durante cada leitura.

3.1.3.4 Ensaio de resistência à flexão

Os corpos de prova foram submetidos à flexão em 3 pontos, que consiste em dois apoios localizados a 50mm um do outro e carga de flexão aplicada no centro do corpo de prova (British Standard Specification for Denture Base Polymers 2487:1989), com o auxílio da Máquina de ensaios mecânicos modelo MEM 2000 (EMIC, São José dos Pinhais, PR, Brasil), com velocidade de deformação constante e igual a 5mm/min.

A carga de fratura dos corpos de prova foi convertida para resistência à flexão por meio da fórmula abaixo e expressa em Megapascais:

$$R = \frac{3 \times F \times l}{2 \times B \times H^2}, \text{ sendo: } F = \text{carga máxima aplicada (N); } l = \text{distância entre os dois pontos de apoio; } B = \text{largura do corpo de prova; } H =$$

espessura do corpo de prova.

3.1.3.5 Avaliação da superfície por meio de microscopia confocal

A análise qualitativa da superfície dos corpos de prova foi efetuada por Microscopia Confocal a Laser, nos corpos de prova antes e após a exposição aos protocolos de higiene, em cada período simulado. O Microscópio utilizado (Olympus LEXT OLS4000®, Japão) permitiu a análise morfológica da superfície dos espécimes através de imagens 3D obtidas das áreas mais representativas de cada região e seus respectivos grupos. Os espécimes foram posicionados paralelamente à mesa do microscópio com auxílio de paralelômetro. Após selecionar a área mais representativa da superfície do espécime, foi obtida a imagem com objetiva de 5x e zoom óptico de 107 vezes de aumento.

3.2 Carga microbiana de biofilme misto composto por *C. albicans*, *S. aureus* e *S. mutans*

3.2.1 Confeção dos corpos de prova

Foram obtidos corpos de prova circulares em resina acrílica convencional e impressa com 12mm de diâmetro e 3mm de espessura, de acordo com a metodologia já descrita. Para simular o que acontece na clínica, uma superfície da resina termopolimerizável foi polida de forma a obter rugosidade superficial de, no máximo, 0,2 μ m, representando a superfície polida; para simular a superfície interna da prótese, a outra face do corpo de prova teve a rugosidade padronizada com Ra variando de 2,7 a 3,7 μ m (Panariello et al., 2016). Para as resinas impressas, não houve nenhuma alteração de superfície.

3.2.2 Esterilização dos espécimes

Para eliminação de micro-organismos contaminantes do meio ambiente, os corpos de prova foram esterilizados por plasma de peróxido de hidrogênio, através do esterilizador STERRAD® (Multilav Esterilizações Ltda., Hospital São Lucas, Ribeirão Preto-SP). Dois espécimes adicionais para cada grupo foram imersos em tubos de ensaio, contendo meio de cultura Brain Heart Infusion (BHI) a 37°C por 14 dias, com o objetivo de confirmar a efetividade da esterilização, uma vez verificada a ausência de crescimento bacteriano após esse período.

3.2.3 Formação do biofilme

Candida albicans (ATCC 90028), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) e *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) foram cultivados em tubos de ensaio, contendo meio de cultura líquido e tempo de incubação específico para cada microrganismo (tabela 2). As suspensões foram centrifugadas por 5 minutos a 4.200g. A padronização dos inóculos foi realizada em solução Tampão Fosfato Salina (PBS). A turvação da suspensão bacteriana foi verificada em espectrofotômetro, com leitura da absorbância específica, sendo de 0,150 para *S. mutans* e de 0,085 a 0,095 para *S. aureus*, obtendo 10⁸ UFC/mL. Para as leveduras, a padronização de 10⁶ UFC/mL foi realizada por contagem em Câmara de Neubauer. A confirmação da concentração dos inóculos foi avaliada através de semeadura em placa.

Tabela 2 - Meios de culturas utilizados.

	<i>Preparo do inóculo</i>	<i>Semeadura</i>
<i>C. albicans</i>	Sabourand Dextrose Broth (Kasvi, Itália) e incubação por 48h a 37°C em estufa microbiológica (De Leo – Equip. para Lab., Porto Alegre, RS, Brasil)	Sabourand Dextrose Agar
<i>S. aureus</i>	Mueller Hinton Broth (Kasvi, Itália) e incubação por 48h a 37°C em estufa microbiológica	Mueller Hinton Agar
<i>S. mutans</i>	Brain Heart Infusion Broth modificado (37g BHI caldo, 5g extrato de levedura, 10g glicose, 20g sacarose, 1.000mL água destilada) e incubação a 37°C em microaerofilia em estufa microbiológica	Brain Heart Infusion Agar Modificado

Assepticamente, em câmara de fluxo laminar (Pachane, Pa 400-ECO, Piracicaba, São Paulo, Brasil), os espécimes foram distribuídos em placas de cultura celular de 24 poços (Techno Plastic Products, Trasadingen, Suíça). Para a formação do biofilme, cada poço recebeu 1,5mL de BHI com as três espécies de microrganismos, com exceção do grupo controle negativo, o qual recebeu meio de cultura estéril. As placas foram incubadas a 37°C, por 1 hora e 30 minutos, sob agitação de 75rpm (Incubadora Shaker, CE-320 Cienlab – Equipamentos Científicos, Campinas, SP, Brasil) e em microaerofilia para aderência dos micro-organismos aos espécimes. Após esse período, cada corpo de prova e poço foi lavado duas vezes com PBS estéril para a remoção dos micro-organismos não aderidos. Na sequência, 1,5mL de meio de cultura estéril foi novamente inserido em cada poço. As placas foram incubadas a 37°C, sob agitação de 75rpm, por 24 horas, em microaerofilia, e metade do meio foi substituída por meio de cultura novo, para fornecimento de nutrientes ao biofilme. As placas foram incubadas por mais 24 horas para a maturação do mesmo.

3.2.4 Formação dos grupos e aplicação dos protocolos de higiene

Os espécimes contaminados foram distribuídos aleatoriamente em 4 grupos de acordo com cada protocolo, os quais foram aplicados da seguinte forma:

Grupo 1) Sem escovação (SE): os corpos de prova foram removidos da placa de cultura celular com auxílio de uma pinça estéril, enxaguados em PBS e inseridos, individualmente, em tubos de ensaio devidamente identificados contendo 10mL de meio Letheen Broth (LB) (HiMedia Laboratories Pvt. Ltda. Mumbai, MH, Índia).

Esse grupo sem higienização serviu de controle para a comprovação da formação de biofilme e garantia de que a redução ou eliminação dos micro-organismos foi promovida pelos protocolos de higiene.

Grupos 2, 3 e 4) Escovação associada à imersão em água (2 - EA), hipoclorito de sódio a 0,25% (3 - EHS) ou Triclosan a 0,15% (4 - ET): placas de Plexiglass contendo orifício com

diâmetro do tamanho do corpo de prova foram utilizadas para padronização do processo de escovação; elas foram esterilizadas em micro-ondas (Consul Facilite, Manaus, AM, Brasil) a 650W, na potência 8, por 6 minutos. A esterilização das escovas novas (sem uso) (Tek, Johnson & Johnson, São José dos Campos, SP, Brasil) foi feita sob luz UV por 20 minutos em câmara de fluxo laminar para eliminação de microbiota ambiente.

Em câmara de fluxo laminar, com auxílio de pinça estéril, cada espécime foi retirado da placa de cultura celular, enxaguado em PBS e posicionado na placa de Plexiglass, inicialmente com a superfície contendo o biofilme exposta para escovação por 20 segundos. A escovação foi realizada manualmente, com pressão constante e movimentos circulares abrangendo toda a superfície dos corpos de prova, sempre pelo mesmo operador. Em seguida, com uma pinça estéril, o corpo de prova foi girado em 180° e encaixado na placa de Plexiglass para escovação da superfície oposta por mais 20 segundos. Após a escovação, os corpos de prova foram enxaguados 3 vezes com PBS e colocados em tubos de polipropileno de 50mL (Techno PlasticProducts- TPP, Trasadingen, Cantão Schaffhausen, Suíça) devidamente identificados, contendo 10mL água destilada, hipoclorito de sódio a 0,25% ou Triclosan a 0,15% para imersão por 20 minutos. Em seguida, os corpos de prova foram novamente lavados com PBS por 3 vezes e colocados, individualmente, em tubos de ensaio devidamente identificados, contendo 10mL do meio Lethen Broth (LB) (HiMedia Laboratories Pvt. Ltda. Mumbai, MH, Índia).

3.2.5 Avaliação da carga microbiana

O conjunto tubo de ensaio/espécime foi levado a uma cuba de ultrassom 40KHz, 200W (Altsonic, Clean 9CA, Ribeirão Preto, SP, Brasil), por 20 minutos, para o desprendimento dos micro-organismos que não foram removidos pela escovação, agitado individualmente em agitador de tubos de ensaio (Phoenix, AP 56, Araraquara, São Paulo, Brasil) e 0,025mL da suspensão foi semeada, com diluições variando de 10^0 a 10^{-4} , em meios de cultura específicos para a contagem das UFC dos micro-organismos, isoladamente. Sendo assim, foram empregados Ágar Sacarose Bacitracina Modificado (SB-20) (15g casitona; 5g extrato de levedura; 0,2g L-cisteína; 0,1g sulfito de sódio; 0,2UI/mL bacitracina; 20g acetato de sódio; 200g açúcar cristal; 15g ágar-ágar; 1.000mL água), suplementado com 200UI/mL de Nistatina, 0,004mg/mL de bacitracina e 20% de Sacarose para *S. mutans*; ÁgarManitol Salgado (Interlab Ltda., São Paulo, SP, Brasil), suplementado com 200UI/mL de Nistatina para *S. aureus*; e CHROMagar (Az Labor, Ribeirão Preto, SP, Brasil) para *C. albicans*. As placas de Petri foram incubadas a 37°C, por 48 horas, em estufa microbiológica. Para *S.*

mutans, a incubação foi realizada em microaerofilia.

A contagem das UFC foi realizada com auxílio de lupa microscópica (Mod. SQZ-DS4, Equipar Ltda., Curitiba, PR, Brasil) e o cálculo das UFC/espécime foi realizado considerando a diluição em que a contagem variou entre 1 a 300 colônias e aplicação da fórmula:

$$\text{UFC/mL} = \frac{\text{n}^\circ \text{ de colônias} \times 10^n}{q}$$

sendo: **n**: valor absoluto da diluição (0, 1, 2, 3 ou 4)
q: quantidade, em mL, pipetada para cada diluição quando da semeadura (0,025)

Os tubos de ensaio contendo os corpos de prova foram incubados a 37°C, por 28 dias, em estufa microbiológica para acompanhamento da presença ou ausência de turvação do meio de cultura e comparação com o crescimento de micro-organismos nas placas semeadas.

3.3 Análise dos dados

Todos os dados obtidos foram testados quanto à distribuição e homocedasticidade por meio dos Testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente, para definição dos testes estatísticos a serem utilizados, sendo:

- Alteração de cor, microdureza e rugosidade: Teste Anova com medidas repetidas e Pós-teste de Tukey;
- Resistência à flexão: Teste Anova (Three-way) com Pós-teste de Tukey;
- Unidades formadoras de colônias de *C. albicans* e *S. aureus*: Modelo linear generalizado com ajuste de Bonferroni;
- Unidades formadoras de colônias de *S. mutans*: Teste Anova (Two-way) com Pós-teste de Tukey.

Os dados foram avaliados considerando um intervalo de confiança de 95% por meio do software SPSS 21.0 (SPSS Inc, Chicago, Ill, USA).

4 RESULTADOS

4.1 Propriedades físicas e mecânicas

As tabelas apresentadas abaixo mostram os resultados de alteração de cor, microdureza Knoop, rugosidade de superfície e resistência à flexão da resina acrílica termopolimerizável (Clássico, CL) e das resinas impressas (SmartPrint, SP; Yller, YL) imediatamente após a obtenção dos espécimes e após o período de aplicação dos protocolos de higiene, sendo: escovação (E), escovação e imersão em água (EA), escovação e imersão em hipoclorito de sódio a 0,25% (EHS), escovação e imersão em Triclosan a 0,15% (ET).

4.1.1 Alteração de cor

A tabela 3 apresenta os resultados de alteração de cor das resinas imediatamente após a obtenção dos espécimes e após o período de aplicação dos protocolos de higiene.

Tabela 3 - Valores de alteração de cor das resinas CL, SP e YL após obtenção dos espécimes (T0) e simulação de 01 ($\Delta E1$), 03 ($\Delta E3$) e 05 ($\Delta E5$) anos de higiene.

	$\Delta E1$				$\Delta E3$				$\Delta E5$			
	E	EA	EHS	ET	E	EA	EHS	ET	E	EA	EHS	ET
CL	0,71	1,66	1,55	0,81	1,00	1,06	2,04	1,10	2,23	1,45	1,07	1,03
	1,08	0,79	0,81	1,00	0,98	3,34	0,84	1,85	1,34	0,58	0,94	0,77
	1,53	1,23	1,15	0,71	1,76	2,10	2,16	0,67	1,24	2,46	2,24	0,47
	1,23	2,55	0,70	1,09	1,64	1,52	1,97	1,16	1,91	0,64	0,59	0,85
	2,49	0,85	2,30	0,91	0,70	2,65	0,84	1,73	1,89	0,61	0,92	0,84
	1,00	1,05	2,29	1,62	0,98	0,91	0,66	1,23	1,48	1,11	0,95	0,53
	1,00	1,01	1,65	0,97	1,37	2,74	1,72	1,27	0,89	1,12	2,45	0,87
	0,98	2,19	2,52	1,04	1,05	1,28	2,77	0,76	0,95	1,89	1,81	0,67
	2,02	1,14	1,25	1,01	1,15	0,60	1,20	1,86	1,49	1,24	1,01	0,98
	0,79	1,15	0,83	0,94	1,29	2,10	1,11	0,83	0,39	0,69	0,73	0,59
SP	0,87	1,39	1,39	0,37	0,74	1,59	1,14	0,67	1,25	1,28	2,38	0,66
	3,20	0,80	0,57	0,67	0,46	0,64	0,88	0,75	0,42	0,78	1,10	0,61
	0,29	0,26	0,88	0,37	0,34	0,59	1,03	0,53	0,34	0,53	1,46	0,60
	1,08	0,50	0,80	0,62	1,00	0,74	0,76	0,72	0,99	0,84	1,33	0,74
	1,33	0,42	0,77	0,30	0,52	0,63	1,22	0,64	1,21	0,54	2,20	0,82
	0,44	0,76	0,58	0,91	1,06	0,57	1,21	1,03	1,33	0,71	1,38	0,85
	1,36	0,70	0,72	0,19	1,13	0,70	0,85	0,34	1,04	0,70	1,50	0,37
	0,30	0,30	0,45	0,50	0,23	0,61	0,77	0,83	0,48	0,57	2,08	0,37
	1,04	0,65	9,69	0,34	1,20	0,83	9,19	1,13	1,38	0,90	9,27	0,80
	0,42	0,45	0,42	0,71	0,46	0,39	0,80	0,69	0,46	0,82	1,11	0,78
YL	0,95	1,57	1,27	1,40	0,79	1,83	1,22	1,11	0,99	2,27	1,24	1,21
	1,12	2,31	1,57	1,69	1,40	2,76	1,66	2,53	1,41	2,99	1,77	2,87
	2,39	0,89	1,98	1,10	2,36	1,63	1,32	1,11	1,82	1,78	1,65	1,02
	0,82	1,18	1,98	1,07	1,00	1,71	0,94	1,51	1,23	1,84	1,06	1,62
	0,95	1,69	1,98	1,02	1,60	2,43	1,68	1,34	1,85	3,13	1,88	1,29
	1,81	1,17	1,98	1,34	2,37	1,39	2,26	1,48	2,63	1,52	2,50	1,42
	0,88	1,08	1,98	1,23	1,39	1,26	1,82	1,48	1,29	1,48	1,85	1,60
	1,31	1,57	1,98	1,14	1,30	1,42	2,17	1,32	1,46	1,57	2,42	1,39
	2,05	1,71	1,98	1,40	1,47	2,67	3,09	1,62	1,72	2,81	3,47	1,79
	0,89	1,42	1,98	1,28	1,03	1,68	1,42	0,90	0,89	2,03	1,51	1,42

A análise dos dados indicou alteração de cor promovida pela interação entre os fatores (tempo, protocolo de higiene e resina), com $p=0,036$ (Tabela 4; Figura 5).

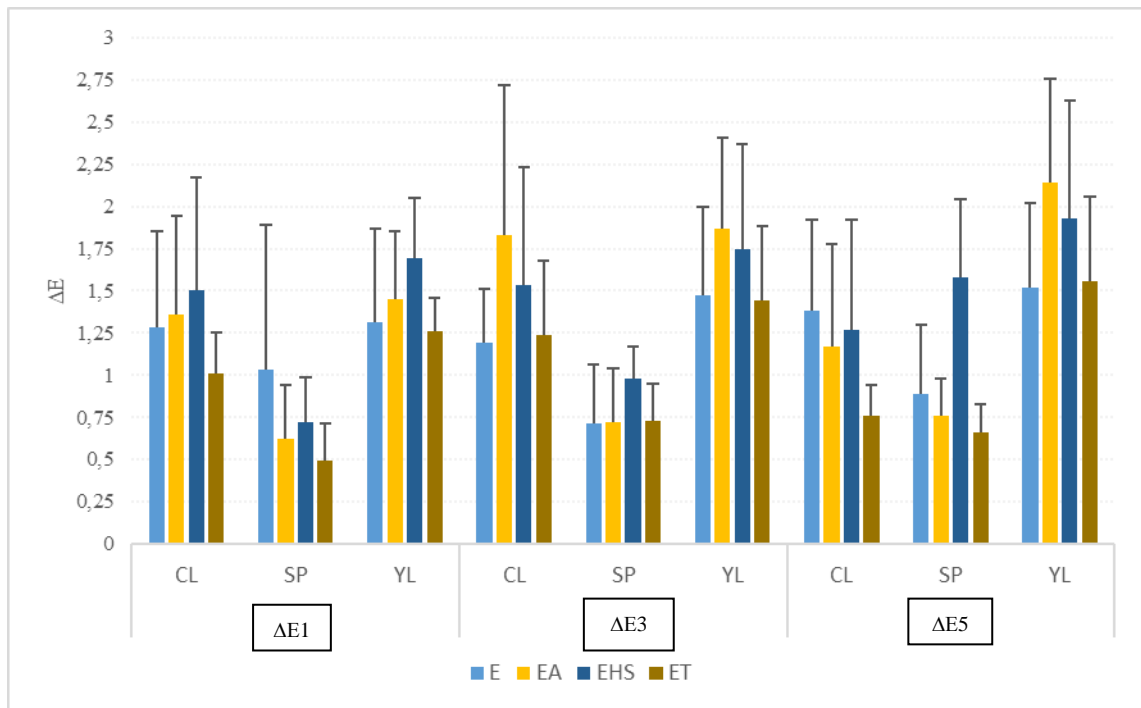
Tabela 4 - Comparação das médias (desvio-padrão - DP) da alteração de cor.

		$\Delta E1$			$\Delta E2$			$\Delta E3$		
		CL	SP	YL	CL	SP	YL	CL	SP	YL
E	Média	1,28	1,03	1,31	1,19	0,71	1,47	1,38	0,89	1,52
	DP	0,57	0,86	0,56	0,32	0,35	0,53	0,54	0,41	0,50
		<i>Aa*</i>	<i>Aa*</i>	<i>Aa*</i>	<i>Aa*</i>	<i>Aa*</i>	<i>Aa*</i>	<i>Aa*</i>	<i>Aa*</i>	<i>Aa*</i>
EA	Média	1,36	0,62	1,45	1,83	0,72	1,87	1,17	0,76	2,14
	DP	0,58	0,32	0,40	0,89	0,32	0,54	0,61	0,22	0,62
		<i>Aa*^o</i>	<i>Aa*</i>	<i>Aa*</i>	<i>Aa*</i>	<i>Ba*</i>	<i>Aa*^o</i>	<i>Aa^o</i>	<i>Aa*</i>	<i>Ba^o</i>
EHS	Média	1,50	0,72	1,69	1,53	0,98	1,75	1,27	1,58	1,93
	DP	0,67	0,27	0,36	0,70	0,19	0,62	0,65	0,46	0,70
		<i>Aa*</i>	<i>Ba*</i>	<i>Aa*</i>	<i>AB*</i>	<i>Aa*</i>	<i>Ba*</i>	<i>Aa*</i>	<i>ABb^o</i>	<i>Ba*</i>
ET	Média	1,01	0,49	1,26	1,24	0,73	1,44	0,76	0,66	1,56
	DP	0,24	0,22	0,20	0,44	0,22	0,44	0,18	0,17	0,50
		<i>Aa*^o</i>	<i>Aa*</i>	<i>Aa*</i>	<i>Aa*</i>	<i>Aa*</i>	<i>Aa*</i>	<i>Aa^o</i>	<i>Aa^o</i>	<i>Aa*</i>

Letras maiúsculas: comparam resinas para o mesmo tempo e protocolo de higiene; letras minúsculas: comparam protocolos de higiene para a mesma resina e tempo; Símbolos: comparam as mesmas resinas nos tempos diferentes e mesmo protocolo de higiene; letras e símbolos iguais indicam igualdade estatística.

Comparando as resinas em cada tempo e protocolo de higiene para o período de 1 ano ($\Delta E1$), houve diferença entre elas quando expostas ao protocolo EHS, no qual a alteração de cor foi menor para a resina SP e estatisticamente diferente das demais. Após 3 anos ($\Delta E2$), a resina SP apresentou menor alteração de cor quando exposta ao protocolo EA; a resina YL apresentou a maior variação com o protocolo EHS enquanto a resina CL apresentou valores intermediários. Após 5 anos ($\Delta E3$), a maior variação de cor ocorreu com a resina YL quando submetida aos protocolos EA e EHS; a resina SP apresentou valores intermediários quando exposta ao protocolo EHS. Comparando os protocolos para a mesma resina e tempo, verifica-se que houve diferença significativa entre os protocolos para a resina SP após 5 anos, com maior alteração de cor. O tempo promoveu alteração significativa de cor para as resinas CL e YL com o protocolo EA; para a resina SP com o protocolo EHS e para as resinas CL e SP com o protocolo ET.

Figura 5 - Comparação das médias da alteração de cor.



4.1.2 Microdureza

A tabela 5 apresenta os resultados de microdureza Knoop das resinas imediatamente após a obtenção dos espécimes e após o período de aplicação dos protocolos de higiene.

Tabela 5 - Valores de microdureza Knoop das resinas CL, SP e YL após obtenção dos espécimes (T0) e simulação de 01 (T1), 03 (T3) e 05 (T5) anos de higiene.

	T0				T1				T3				T5			
	E	EA	EHS	ET	E	EA	EHS	ET	E	EA	EHS	ET	E	EA	EHS	ET
CL	17,75	18,26	16,35	16,94	16,63	15,15	15,39	15,05	18,60	16,98	16,55	16,99	18,05	17,65	17,21	16,95
	17,33	17,93	16,61	17,14	16,68	15,35	15,71	14,88	19,41	17,33	17,24	16,84	18,58	17,19	17,65	16,86
	17,46	17,74	16,83	17	17,01	15,14	15,34	14,94	20,11	17,16	16,60	17,01	18,69	16,95	16,95	17,01
	16,80	17,78	16,71	17,34	16,6	14,86	15,56	15,08	19,39	16,58	17,24	17,24	18,65	17,30	17,43	16,48
	15,18	17,44	17,35	16,99	17,45	14,78	15,76	14,79	19,26	16,51	18,36	16,81	18,68	17,56	18,20	16,95
	17,91	17,28	17,33	17,41	17,26	14,76	15,58	15,16	18,50	17,14	18,14	17,43	18,94	17,40	17,63	16,98
	16,78	17,91	16,76	17,64	17,13	15,40	15,64	15,13	19,20	17,46	17,68	17,16	19,15	17,86	17,49	17,54
	15,95	17,03	17,08	17,29	17,11	14,73	15,19	14,76	18,64	16,95	17,16	17,09	18,31	17,23	17,40	16,89
	16,51	17,61	17,46	17,4	16,75	15,10	14,70	14,81	18,51	17,46	16,73	16,78	18,15	17,58	16,91	16,86
	17,31	17,23	16,95	17,36	17,03	15,39	15,51	15,19	18,08	17,01	17,09	16,90	18,83	16,86	17,70	17,75
SP	16,00	12,01	9,23	11,92	12,23	8,87	8,57	14,82	10,13	10,02	8,46	11,18	11,38	8,61	7,48	9,61
	12,70	15,11	8,35	11,27	10,14	11,74	10,73	14,70	11,09	12,24	8,13	10,23	8,81	9,31	9,41	11,24
	13,23	11,73	9,32	11,31	10,63	9,13	10,68	12,47	9,29	8,60	9,27	10,46	9,21	9,53	9,75	11,55
	10,97	10,37	8,60	11,97	10,61	8,43	10,65	14,31	8,67	8,39	10,62	14,11	9,37	9,46	10,25	11,04
	10,96	9,85	8,01	12,87	10,05	8,61	7,26	16,69	8,43	8,06	6,49	10,24	9,58	7,51	6,59	13,36
	9,56	13,76	16,24	12,27	11,14	10,7	8,50	11,95	8,77	10,13	8,61	10,98	7,85	9,53	8,29	9,67
	11,51	12,39	14,79	11,26	14,04	9,14	14,28	13,34	10,52	8,99	7,77	11,13	12,96	9,70	10,63	9,42
	11,61	12,58	10,69	10,29	14,11	8,36	12,62	12,85	9,77	8,26	11,92	9,31	10,41	11,39	10,21	10,12
	11,88	11,03	11,24	13,15	11,66	10,42	12,43	15,33	8,04	9,40	10,18	12,07	8,64	8,46	8,52	8,25
	14,68	10,67	13,89	12,74	12,66	10,85	10,83	10,33	10,00	8,22	12,50	13,94	10,58	8,05	10,01	9,28
YL	12,91	12,34	8,85	10,86	11,39	9,53	6,87	10,26	13,54	9,09	9,91	12,90	10,27	8,70	10,36	9,33
	12,43	8,97	9,51	10,20	9,78	10,97	6,02	9,25	12,75	11,39	10,97	14,48	12,08	9,38	8,04	11,43
	16,79	11,01	10,25	9,08	15,17	13,22	8,23	9,44	16,29	11,84	10,48	10,92	14,68	9,47	8,64	8,80
	13,60	9,01	13,40	8,85	10,16	11,05	9,56	12,34	12,95	12,18	14,33	11,70	10,43	12,32	10,12	8,97
	15,02	8,25	11,16	8,53	13,05	8,28	7,03	11,32	12,22	8,89	9,49	11,50	11,44	8,20	7,09	12,08
	13,74	8,55	8,36	10,11	13,04	8,61	6,83	9,03	14,40	7,90	8,68	13,06	12,51	10,65	11,45	11,48
	10,84	7,61	9,01	8,93	10,81	9,92	5,86	11,28	12,79	11,61	8,53	9,26	11,90	9,74	10,80	10,17
	12,99	14,93	11,54	11,96	13,27	9,65	8,31	13,07	11,07	14,19	7,25	10,48	13,75	9,47	9,11	9,96
	10,15	8,74	8,83	7,17	8,80	10,78	7,66	12,80	9,82	13,00	9,46	8,45	9,86	11,88	10,00	11,38
	11,76	10,14	8,69	10,26	11,51	11,00	7,06	12,82	9,45	11,88	7,98	13,18	8,55	9,14	11,68	10,74

A microdureza Knoop das resinas foi influenciada pela interação entre os fatores estudados (protocolo de higiene, material e tempo) com $p=0,000$. A tabela 6 apresenta a comparação das médias e o desvio padrão (DP) dos protocolos de higiene com as resinas em cada tempo. A figura 6 apresenta a comparação da interação protocolo de higiene e tempo para cada resina.

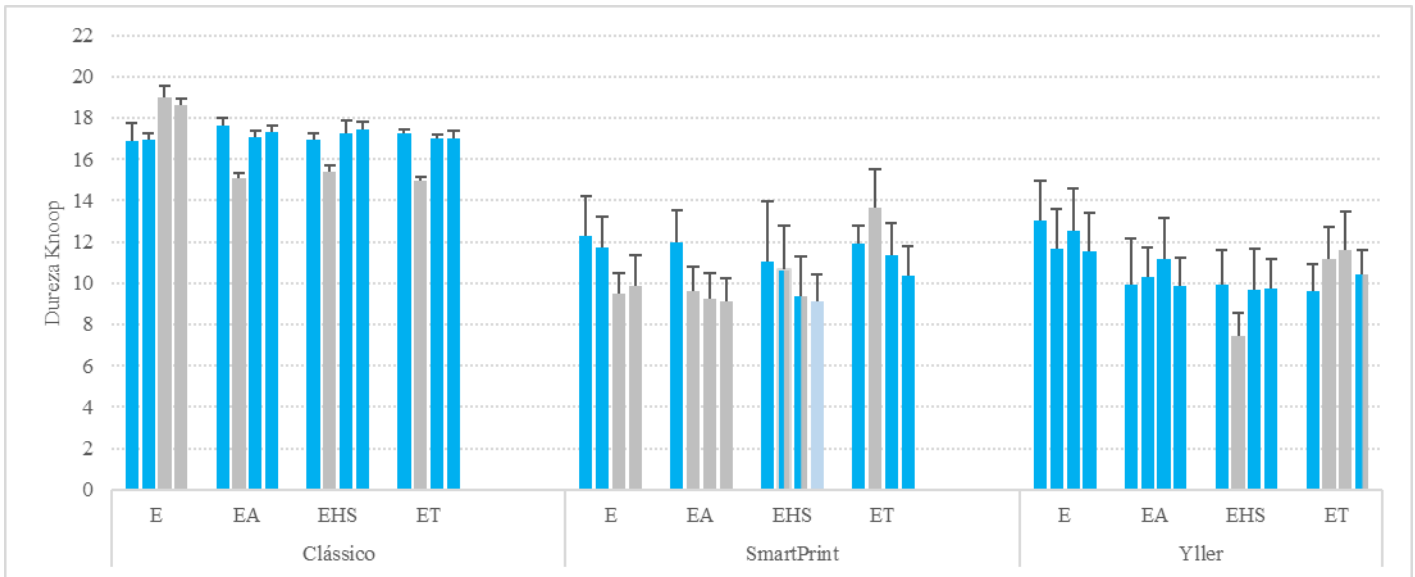
De modo geral, as resinas impressas apresentaram diferença significativa em relação à resina convencional em todos os protocolos de higiene e tempos, com exceção da resina SP quando exposta ao Triclosan após 1 ano, quando sua microdureza foi semelhante à da resina CL e diferente da resina YL. Ao final de 5 anos, as resinas impressas apresentaram microdureza semelhante entre si, após exposição aos protocolos EA, EHS e ET. Houve diferença entre as resinas impressas, com comportamentos divergentes em função do tempo e protocolo, sendo que a resina YL apresentou maiores valores de microdureza que a resina SP nos tempos T3 e T5 do grupo controle e no tempo T3 com o protocolo EA; a resina SP apresentou os maiores valores no tempo T0 com os protocolos EA e ET e no tempo T1 com o protocolo EHS.

Tabela 6 - Comparação das médias e DP de microdureza Knoop.

		T0			T1			T3			T5		
		CL	SP	YL	CL	SP	YL	CL	SP	YL	CL	SP	YL
E	Média	16,89	12,31	13,02	16,96	11,72	11,69	18,97	9,47	12,52	18,6	9,87	11,54
	DP	0,84	1,9	1,94	0,28	1,5	1,92	0,6	0,99	2,05	0,34	1,49	1,84
		<i>Aa</i>	<i>Ba</i>	<i>Ba</i>	<i>Aa</i>	<i>Ba</i>	<i>Ba</i>	<i>Aa</i>	<i>Ba</i>	<i>Ca</i>	<i>Aa</i>	<i>Ba</i>	<i>Ca</i>
EA	Média	17,62	11,95	9,95	15,06	9,62	10,3	17,05	9,23	11,19	17,35	9,15	9,89
	DP	0,37	1,6	2,24	0,26	1,19	1,42	0,32	1,29	1,96	0,31	1,07	1,32
		<i>Aa</i>	<i>Ba</i>	<i>Cb</i>	<i>Ab</i>	<i>Bb</i>	<i>Ba</i>	<i>Ab</i>	<i>Ba</i>	<i>Cab</i>	<i>Aab</i>	<i>Ba</i>	<i>Bb</i>
EHS	Média	16,94	11,03	9,96	15,42	10,65	7,43	17,27	9,39	9,7	17,45	9,11	9,72
	DP	0,35	2,94	1,62	0,31	2,12	1,12	0,61	1,89	1,97	0,38	1,33	1,48
		<i>Aa</i>	<i>Ba</i>	<i>Bb</i>	<i>Aab</i>	<i>Bab</i>	<i>Cb</i>	<i>Aab</i>	<i>Ba</i>	<i>Bb</i>	<i>Aab</i>	<i>Ba</i>	<i>Bb</i>
ET	Média	17,25	11,9	9,59	14,97	13,67	11,16	17,02	11,36	11,59	17,02	10,35	10,43
	DP	0,22	0,88	1,35	0,16	1,85	1,58	0,2	1,58	1,87	0,36	1,46	1,16
		<i>Aa</i>	<i>Ba</i>	<i>Cb</i>	<i>Ab</i>	<i>Ac</i>	<i>Ba</i>	<i>Ab</i>	<i>Bb</i>	<i>Ba</i>	<i>Ab</i>	<i>Ba</i>	<i>Bab</i>

Letras maiúsculas: comparam resinas para o mesmo tempo e protocolo de higiene; letras minúsculas: comparam protocolos de higiene para a mesma resina e tempo; letras iguais indicam igualdade estatística.

Figura 6 - Comparação da interação protocolo de higiene e tempo para cada resina.



Cores iguais indicam igualdade estatística entre os tempos para o mesmo protocolo de higiene e resina.

Para a resina Clássico pode-se verificar que os menores valores de microdureza foram encontrados após 1 ano de exposição aos protocolos EA, EHS e ET, com diferença significativa dos tempos T0, T3 e T5. Para a resina SmartPrint verifica-se que a microdureza foi menor após 3 e 5 anos no controle; 1, 3 e 5 anos no protocolo A; 5 anos no protocolo EHS e imediatamente após a obtenção e em 3 e 5 anos no protocolo ET. A resina Yller apresentou menor microdureza em 1 ano no protocolo EHS e em T0 no protocolo ET.

4.1.3 Rugosidade de superfície

A tabela 7 apresenta os resultados de rugosidade de superfície das resinas, imediatamente após a obtenção dos espécimes e após o período de aplicação dos protocolos de higiene.

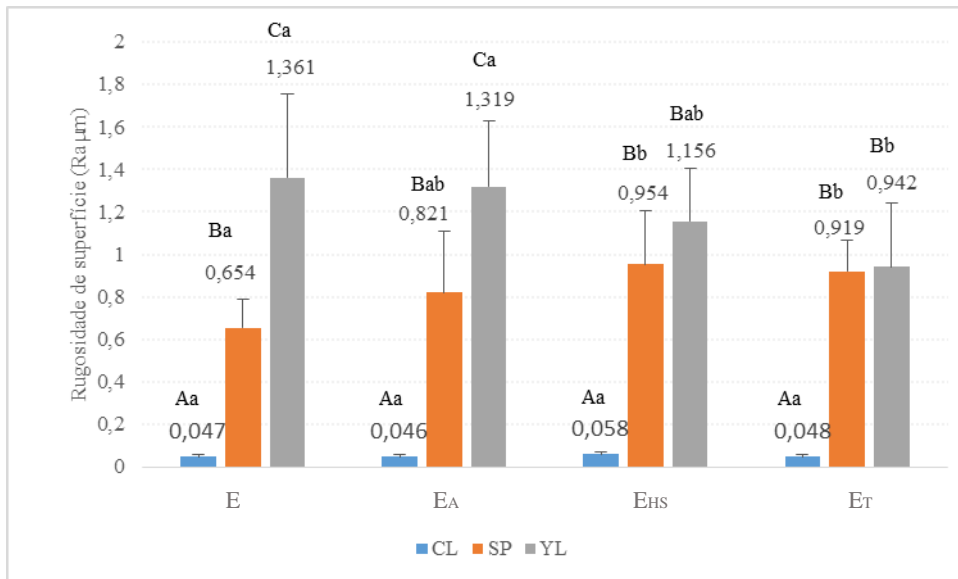
Tabela 7 - Valores de rugosidade de superfície das resinas CL, SP e YL após obtenção dos espécimes (T0) e simulação de 01 (T1), 03 (T3) e 05 (T5) anos de higiene.

	T0				T1				T3				T5			
	E	EA	EHS	ET	E	EA	EHS	ET	E	EA	EHS	ET	E	EA	EHS	ET
CL	0,05	0,06	0,05	0,06	0,06	0,05	0,06	0,05	0,05	0,05	0,04	0,07	0,06	0,05	0,05	0,07
	0,03	0,03	0,05	0,04	0,04	0,03	0,04	0,04	0,04	0,05	0,04	0,04	0,04	0,05	0,03	0,04
	0,05	0,05	0,06	0,05	0,07	0,07	0,07	0,05	0,06	0,06	0,06	0,05	0,07	0,07	0,06	0,06
	0,04	0,04	0,07	0,05	0,05	0,09	0,08	0,05	0,06	0,04	0,08	0,05	0,05	0,05	0,07	0,05
	0,04	0,04	0,06	0,04	0,05	0,04	0,07	0,05	0,06	0,04	0,07	0,04	0,05	0,04	0,08	0,05
	0,04	0,04	0,07	0,04	0,06	0,05	0,07	0,04	0,04	0,04	0,07	0,05	0,04	0,04	0,06	0,05
	0,07	0,04	0,04	0,04	0,08	0,05	0,04	0,07	0,06	0,04	0,06	0,07	0,05	0,04	0,06	0,04
	0,05	0,05	0,06	0,05	0,04	0,05	0,06	0,06	0,05	0,05	0,06	0,06	0,04	0,05	0,06	0,06
	0,06	0,03	0,06	0,03	0,05	0,04	0,06	0,03	0,07	0,04	0,06	0,04	0,05	0,05	0,06	0,03
0,03	0,05	0,05	0,04	0,04	0,05	0,06	0,04	0,04	0,05	0,06	0,04	0,04	0,05	0,04	0,04	
SP	0,67	0,75	0,68	0,99	0,55	0,82	0,62	0,85	0,53	0,86	0,69	1,01	0,66	0,78	0,65	0,74
	0,58	0,61	1,28	0,82	0,66	0,58	1,06	1,00	0,59	0,51	1,07	0,85	0,59	0,50	1,04	0,81
	1,00	0,83	1,52	0,79	0,90	0,71	1,34	0,88	0,88	0,69	1,28	0,85	0,85	0,64	1,12	0,92
	0,49	1,07	1,23	0,75	0,80	1,10	0,82	0,79	0,63	0,90	1,11	1,03	0,67	1,04	0,87	0,78
	0,49	1,35	1,18	1,03	0,46	1,29	1,30	0,97	0,49	1,16	1,33	0,89	0,46	1,26	0,97	0,89
	0,54	0,88	0,67	0,92	0,66	0,56	0,77	0,89	0,70	0,65	0,69	0,90	0,58	0,73	0,72	0,71
	0,83	1,24	1,37	1,21	0,54	1,33	1,16	1,26	0,56	1,35	1,12	1,25	0,55	1,30	0,96	1,09
	0,90	0,69	0,82	0,65	0,80	0,76	0,96	0,76	0,78	0,65	0,71	0,70	0,76	0,77	0,71	0,77
	0,65	0,53	0,87	1,10	0,61	0,65	1,13	0,96	0,64	0,65	0,90	0,80	0,56	0,56	0,94	0,78
0,64	0,56	0,63	1,03	0,66	0,48	0,67	1,15	0,65	0,56	0,59	0,93	0,60	0,51	0,69	0,90	
YL	1,52	0,97	1,16	0,60	1,31	0,97	1,25	0,53	1,34	0,99	1,06	0,61	1,38	0,97	1,00	0,54
	1,40	1,36	0,86	1,06	1,51	1,08	0,79	0,86	1,17	1,03	0,89	1,07	1,23	1,19	0,80	1,05
	0,55	1,27	0,88	1,26	0,76	1,07	0,79	1,20	0,69	1,13	0,76	1,52	0,95	1,08	0,77	1,54
	1,41	1,54	1,12	1,01	1,44	1,52	1,14	0,97	1,40	1,59	1,12	0,85	1,48	1,44	1,08	0,94
	1,19	1,09	1,06	1,04	1,30	1,22	1,53	0,82	1,20	1,15	1,40	0,90	1,24	1,49	1,57	1,03
	1,95	1,54	1,26	0,83	1,98	1,44	1,15	0,94	2,09	1,59	1,08	0,84	1,97	1,50	1,14	0,97
	1,09	1,02	1,13	1,33	1,02	0,86	1,18	1,19	1,10	0,88	1,10	1,29	1,06	1,35	1,21	1,21
	1,81	1,22	1,27	0,54	2,18	0,94	1,80	0,56	1,83	1,37	1,70	0,63	1,91	1,20	1,24	0,50
	1,43	1,43	1,35	1,09	1,59	1,59	1,49	1,35	1,21	1,44	1,40	1,24	1,60	1,52	1,36	1,20
	1,02	1,67	1,08	0,61	1,09	2,07	1,00	0,65	0,91	2,10	1,24	0,64	1,14	1,89	1,06	0,70

A análise dos dados indicou que a rugosidade de superfície sofreu alterações significativas pela interação protocolo de higiene/resina ($p=0,000$) e tempo/resina ($p=0,001$).

A resina Clássico apresentou os menores valores de rugosidade e foi estatisticamente diferente das demais em todos os protocolos de higiene, os quais não causaram alterações da rugosidade, sendo semelhantes entre si. A resina Yller apresentou maior rugosidade de superfície se comparada à SmartPrint, enquanto ambas estiveram expostas ao controle e ao protocolo EA. Quando empregados os protocolos EHS e ET, os valores médios de rugosidade das duas resinas não apresentaram diferenças entre si. Os protocolos EHS e ET promoveram aumento da rugosidade da resina SP quando comparados ao controle ao passo que o protocolo EA apresentou resultado intermediário. A resina YL associada ao protocolo ET apresentou menor valor de rugosidade, com diferença significativa dos protocolos E e EA; com o protocolo EHS, os valores foram intermediários (figura 7).

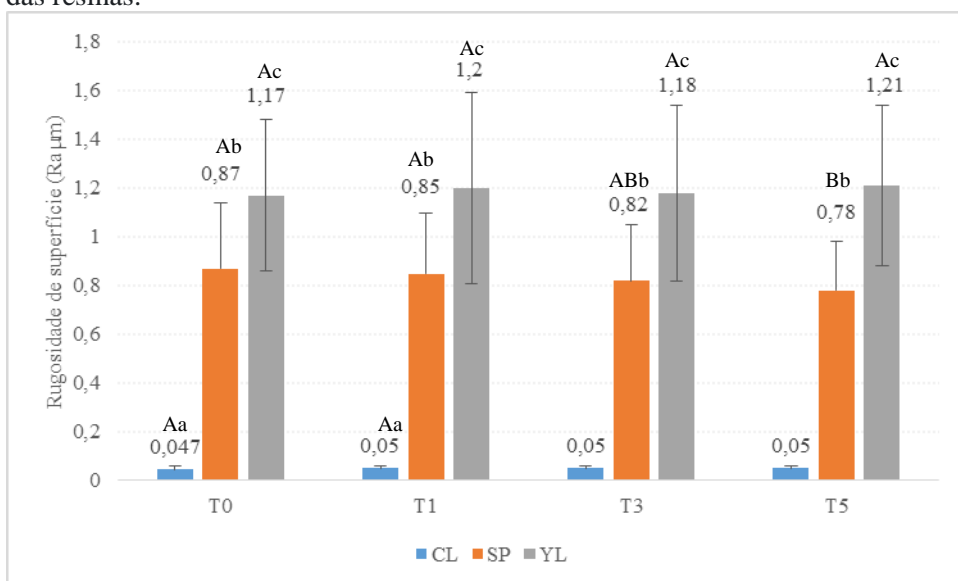
Figura 7 - Comparação do efeito da interação protocolo de higiene/resina sobre as médias de rugosidade de superfície das resinas.



Letras maiúsculas: comparam resinas para o mesmo protocolo de higiene; letras minúsculas: comparam protocolos de higiene para a mesma resina; letras iguais indicam igualdade estatística.

Analisando a interação tempo/resina, verifica-se que as resinas CL e YL não apresentaram alteração da rugosidade ao longo do tempo. A resina SP apresentou redução significativa da rugosidade em T5 e, em T3, os valores foram intermediários aos encontrados entre T5 e T0 e T1, os quais foram semelhantes entre si. A resina YL apresentou as maiores médias de rugosidade em todos tempos, seguida da resina SP (figura 8).

Figura 8 - Comparação do efeito da interação tempo/resina sobre as médias de rugosidade de superfície das resinas.



Letras maiúsculas: comparam os tempos para a mesma resina; letras minúsculas: comparam as resinas para o mesmo tempo; letras iguais indicam igualdade estatística.

4.1.4 Resistência à flexão

A tabela 8 apresenta os resultados de resistência à flexão das resinas, imediatamente após a obtenção dos espécimes e o período de aplicação dos protocolos de higiene.

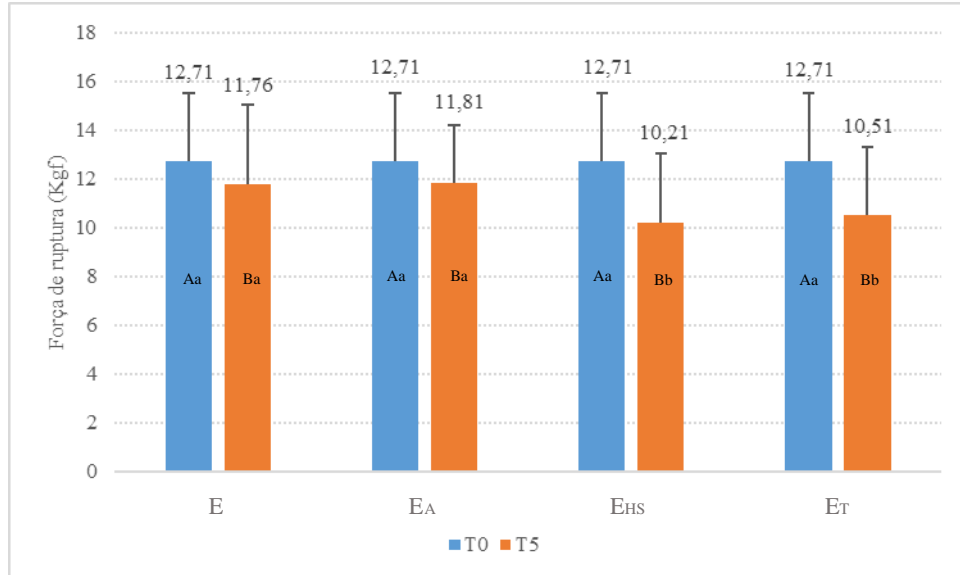
Tabela 8 - Valores de resistência à flexão das resinas CL, SP e YL após obtenção dos espécimes (T0) e simulação de 05 (T5) anos de higiene.

	E		EA		EHS		ET	
	T0	T5	T0	T5	T0	T5	T0	T5
CL	14,59	13,52	14,59	14,19	14,59	12,42	14,59	13,89
	14,75	14,11	14,75	14,17	14,75	15,49	14,75	15,08
	16,49	12,55	16,49	13,86	16,49	14,87	16,49	12,77
	15,32	14,56	15,32	14,26	15,32	11,98	15,32	14,65
	13,09	14,04	13,09	14,05	13,09	13,42	13,09	14,87
	14,10	15,03	14,10	16,45	14,10	13,16	14,10	11,97
	14,66	12,42	14,66	15,16	14,66	14,84	14,66	13,18
	16,27	13,36	16,27	13,16	16,27	13,68	16,27	12,47
	14,92	13,69	14,92	14,47	14,92	12,55	14,92	13,54
	16,81	17,74	16,81	13,74	16,81	12,42	16,81	13,02
SP	14,59	14,77	14,59	10,15	14,59	10,74	14,59	10,13
	13,46	13,53	13,46	11,20	13,46	9,87	13,46	10,88
	13,70	12,24	13,70	12,10	13,70	10,18	13,70	9,81
	12,70	15,03	12,70	12,24	12,70	9,95	12,70	9,94
	14,57	5,00	14,57	12,06	14,57	10,70	14,57	5,33
	14,73	13,87	14,73	12,69	14,73	10,00	14,73	8,74
	12,54	13,59	12,54	12,53	12,54	10,5	12,54	10,88
	13,11	11,37	13,11	9,66	13,11	9,52	13,11	10,76
	11,21	14,91	11,21	10,81	11,21	8,51	11,21	11,29
	13,49	15,05	13,49	10,80	13,49	9,19	13,49	10,98
YL	8,07	9,52	8,07	8,45	8,07	5,62	8,07	4,76
	4,42	8,87	4,42	7,86	4,42	5,18	4,42	8,35
	10,86	6,78	10,86	12,09	10,86	7,69	10,86	8,22
	10,91	8,99	10,91	8,70	10,91	8,75	10,91	6,91
	9,48	11,22	9,48	10,62	9,48	7,10	9,48	5,55
	11,99	8,68	11,99	9,00	11,99	7,53	11,99	8,32
	11,27	6,97	11,27	12,87	11,27	8,40	11,27	9,14
	12,03	6,19	12,03	6,29	12,03	5,07	12,03	8,62
	8,94	7,06	8,94	11,07	8,94	8,60	8,94	11,31
	8,30	8,21	8,30	9,67	8,30	8,55	8,30	10,17

A análise dos dados indicou efeito da interação tempo/protocolo de higiene na resistência à flexão dos materiais ($p=0,014$). Na figura 9, verifica-se que, no tempo T0, a resistência à flexão dos corpos de prova foi igual, uma vez que o ensaio foi realizado imediatamente após a obtenção dos espécimes e o valor obtido foi utilizado como padrão para todos os grupos. Comparando os valores de resistência à flexão dos protocolos após 5 anos de simulação, verifica-se que os protocolos EHS e ET foram iguais entre si e reduziram

significativamente os valores de resistência quando comparados ao controle e protocolo EA. A comparação entre T0 e T5 evidencia redução significativa dos valores de resistência à flexão em todos os protocolos e controle após 5 anos.

Figura 9 - Comparação das médias e desvios-padrão do efeito da interação tempo/protocolo de higiene sobre a resistência à flexão.



Letras maiúsculas: comparam tempo para o mesmo protocolo de higiene; letras minúsculas: comparam protocolos de higiene para o mesmo tempo.

4.1.5 Microscopia confocal

A comparação das imagens antes e após a exposição dos corpos de prova aos protocolos de higiene (Figuras 10 a 12) mostrou que a pigmentação extrínseca das resinas de impressão SP e YL gerou bolhas na superfície (Figuras 11 e 12). Contudo, a morfologia das superfícies não evidenciou nenhuma mudança em decorrência da escovação, como riscos e sulcos (Figuras 13 a 21). As ranhuras identificadas estão relacionadas ao processo de polimento durante a confecção dos espécimes.

Figura 10 - imagem 3D de uma área da resina CL em T0

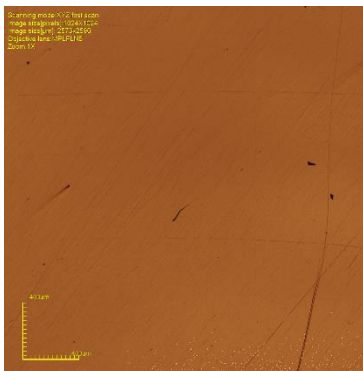


Figura 11 - imagem 3D de uma área da resina SP em T0

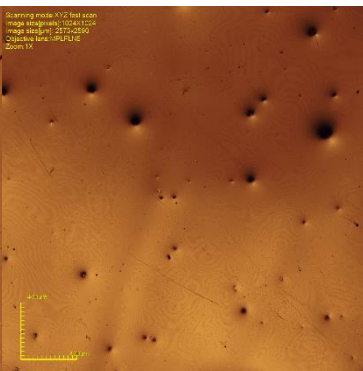


Figura 12 - imagem 3D de uma área da resina YL em T0

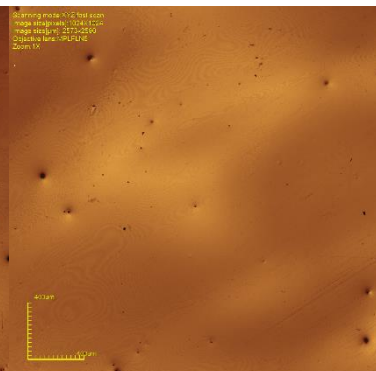


Figura 13 - imagem 3D de uma área da resina CL em T1

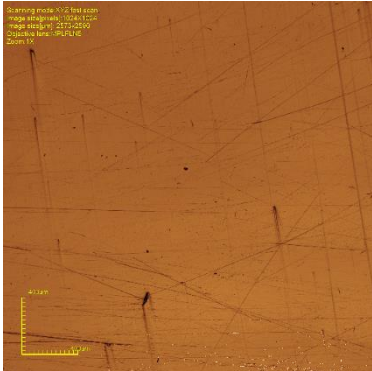


Figura 14 - imagem 3D de uma área da resina SP em T1

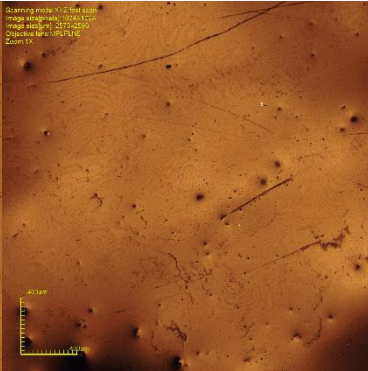


Figura 15 - imagem 3D de uma área da resina YL em T1

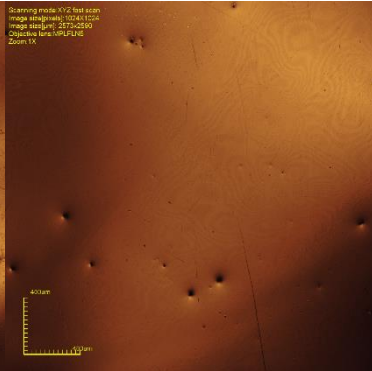


Figura 16 - imagem 3D de uma área da resina CL em T3

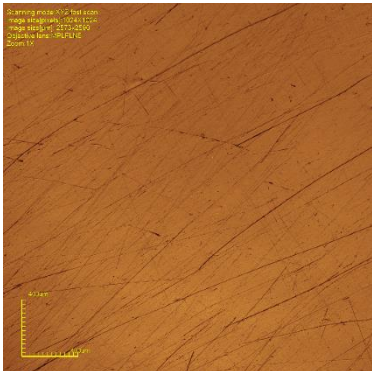


Figura 17 - imagem 3D de uma área da resina SP em T3

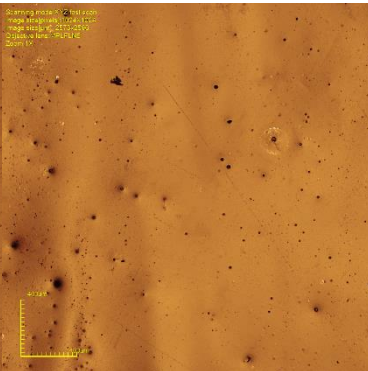


Figura 18 - imagem 3D de uma área da resina YL em T3

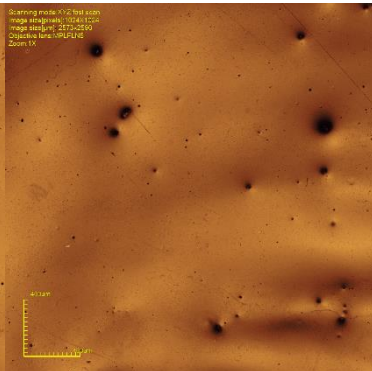


Figura 19 - imagem 3D de uma área da resina CL em T5

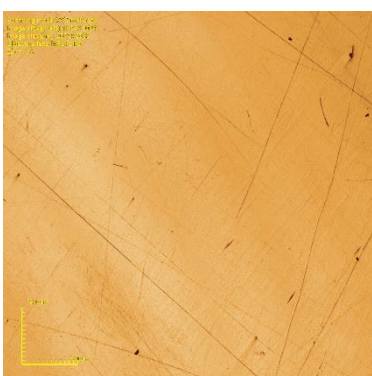


Figura 20 - imagem 3D de uma área da resina SP em T5

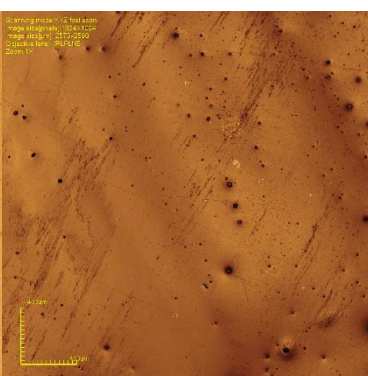
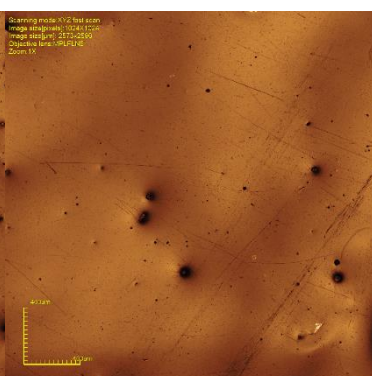


Figura 21 - imagem 3D de uma área da resina YL em T5



4.2 Carga microbiana

Na tabela 9, encontram-se os valores, médias e desvios-padrão (DP) da carga microbiana de *C. albicans*, *S. aureus* e *S. mutans* da resina acrílica termopolimerizável (Clássico, CL) e das resinas impressas (SmartPrint, SP; Yller, YL), após a aplicação dos protocolos de higiene em quatro níveis. São eles: sem escovação (SE), escovação e imersão em água (EA), escovação e imersão em hipoclorito de sódio a 0,25% (EHS) e escovação e imersão em Triclosan a 0,15% (ET).

Tabela 9 - Valores, médias e desvios- padrão (DP) da carga microbiana de *C. albicans*, *S. aureus* e *S. mutans* das resinas CL, SP e YL após aplicação dos 4 protocolos de higiene.

	<i>C. albicans</i>				<i>S. aureus</i>				<i>S. mutans</i>			
	SE	EA	EHS	ET	SE	EA	EHS	ET	SE	EA	EHS	ET
CL	4,84	3,27	0,00	1,61	7,24	3,81	0,00	0,00	5,67	4,68	0,00	0,00
	4,49	2,64	0,00	0,00	7,33	3,84	0,00	3,60	6,29	4,08	0,00	0,00
	4,67	3,12	0,00	0,00	7,41	3,65	0,00	0,00	6,70	4,51	0,00	0,00
	4,91	3,20	0,00	1,61	7,51	4,00	0,00	0,00	6,43	2,86	0,00	0,00
	4,95	2,86	0,00	1,61	7,37	3,57	0,00	0,00	5,62	3,81	0,00	0,00
	5,06	2,98	0,00	1,91	7,35	3,19	0,00	0,00	5,96	3,66	0,00	0,00
	5,89	3,96	0,00	1,61	6,89	3,75	0,00	0,00	5,64	4,64	0,00	0,00
	5,30	3,25	0,00	3,08	6,48	3,68	0,00	0,00	4,21	4,68	0,00	0,00
Média	5,10	3,20	0,00	1,59	7,16	3,72	0,00	0,58	5,74	4,23	0,00	0,00
DP	0,47	0,38	0,00	1,07	0,34	0,25	0,00	1,25	0,75	0,70	0,00	0,00
SP	4,64	3,00	0,00	0,00	7,74	4,72	0,00	2,21	5,88	5,19	0,00	0,00
	4,90	3,54	0,00	2,90	7,80	4,63	0,00	1,61	6,27	5,38	0,00	0,00
	4,83	3,06	0,00	2,08	7,41	4,41	0,00	0,00	6,53	4,43	0,00	0,00
	5,93	3,92	0,00	2,75	7,71	4,68	0,00	0,00	7,01	3,31	0,00	0,00
	5,89	4,46	0,00	0,00	7,48	4,61	0,00	0,00	6,94	2,64	0,00	0,00
	5,80	4,44	0,00	0,00	7,33	4,08	0,00	0,00	6,90	3,59	0,00	0,00
	6,41	4,64	0,00	2,94	7,03	3,69	0,00	0,00	5,26	4,06	0,00	0,00
	6,51	4,56	0,00	2,72	6,99	4,05	0,00	0,00	5,49	3,68	0,00	0,00
Média	5,72	4,06	0,00	1,89	7,43	4,33	0,00	0,42	6,30	4,08	0,00	0,00
DP	0,75	0,71	0,00	1,46	0,29	0,36	0,00	0,86	0,64	0,89	0,00	0,00
YL	4,76	3,25	0,00	1,91	7,76	4,07	0,00	0,00	6,26	5,38	0,00	0,00
	4,81	3,08	0,00	2,21	7,57	4,01	0,00	0,00	5,43	4,52	0,00	0,00
	5,38	2,88	0,00	1,91	7,55	3,43	0,00	4,08	6,21	4,78	0,00	0,00
	6,41	0,00	0,00	2,81	8,08	3,55	0,00	0,00	5,86	2,72	0,00	0,00
	5,98	0,00	0,00	3,03	7,84	4,01	0,00	2,60	6,31	2,86	0,00	0,00
	5,91	4,03	0,00	3,16	7,77	4,15	0,00	0,00	5,96	3,00	0,00	0,00
	6,89	4,33	0,00	3,36	7,89	3,84	0,00	0,00	5,73	4,74	0,00	0,00
	6,35	4,63	0,00	3,59	7,33	3,65	0,00	0,00	5,26	4,37	0,00	0,00
Média	5,38	2,73	0,00	2,69	6,94	3,49	0,00	0,75	5,30	3,69	0,00	0,00
DP	1,78	1,82	0,00	0,75	2,35	1,12	0,00	1,43	1,68	1,34	0,00	0,00

Para *C. albicans* houve interação entre os fatores ($p=0,033$; tabela 10), sendo que a resina YL apresentou a maior contagem de UFC frente ao protocolo ET de higiene. Para as resinas CL e SP todos os protocolos foram diferentes entre si, sendo que o ET foi o mais eficiente, seguido do EA.

Para *S. aureus* a contagem de UFC foi influenciada apenas pelos protocolos ($p=0,000$), com melhor efetividade do protocolo ET, seguido pelo EA (tabela 11). Para essas duas espécies o protocolo EHS reduziu a zero a contagem de micro-organismos.

Para *S. mutans* os protocolos EHS e ET reduziram a zero a contagem de micro-organismos. A estatística indicou significância apenas do fator grupo ($p=0,000$), com maior redução da contagem de UFC promovida pelo protocolo EA ($4,10\pm 0,83$) se comparado ao grupo sem higienização ($5,95\pm 0,64$).

Tabela 10 - Comparação da interação entre os fatores da contagem de UFC (log10+1) de *C. albicans*, após o uso de diferentes protocolos de higiene.

		SE	EA	Et	P
CL	Média (DP)	5,09 (0,47)	3,20 (0,38)	1,59 (1,06)	0,033
	Mediana	4,95 ^{Aa}	3,20 ^{Ca}	1,61 ^{Ba}	
	IC	4,73 – 5,46	2,90 – 3,49	0,77 – 2,41	
SP	Média (DP)	5,72 (0,75)	4,06 (0,71)	1,88 (1,46)	
	Mediana	5,89 ^{Aa}	4,44 ^{Ca}	2,72 ^{Bab}	
	IC	5,14 – 6,3	3,51 – 4,60	0,75 – 3,01	
YL	Média (DP)	5,89 (0,76)	2,95 (1,78)	2,82 (0,65)	
	Mediana	5,98 ^{Aa}	3,25 ^{Ba}	3,03 ^{Bb}	
	IC	5,3 – 6,48	1,58 – 4,32	2,31 – 3,32	

Letras iguais indicam igualdade estatística; letras maiúsculas: comparação entre protocolos para uma mesma resina; letras minúsculas: comparação entre resinas de um mesmo protocolo. Protocolo EHS: reduziu a zero (0) a contagem de UFC de *C. albicans*. DP: desvio-padrão; IC: intervalo de confiança. Comparação entre resinas: p=0,041; comparação entre protocolos: p=0,000.

Tabela 11 - Comparação da contagem de UFC (log10+1) de *S. aureus*, após o uso de diferentes protocolos de higiene.

	SE	EA	Et
Média (DP)	7,42 (0,35)	3,96 (0,38)	0,58 (1,19)
Mediana	7,5 ^A	4,0 ^B	0 ^C
IC	7,13 – 7,70	3,67 – 4,24	0,29 – 0,86

Letras iguais indicam igualdade estatística; letras maiúsculas: comparação entre protocolos. Protocolo EHS: reduziu a zero (0) a contagem de UFC de *S. aureus*. DP: desvio-padrão; IC: intervalo de confiança. Comparação entre resinas: p=0,363; interação: p=0,374.

As figuras 22 a 57 apresentam resultados do crescimento dos micro-organismos por resina e protocolo de higiene.

Figura 22 - placa semeada para contagem de UFC de *C. albicans* após aplicação do protocolo SE na resina CL

Figura 23 - placa semeada para contagem de UFC de *C. albicans* após aplicação do protocolo SE na resina SP

Figura 24 - placa semeada para contagem de UFC de *C. albicans* após aplicação do protocolo SE na resina YL

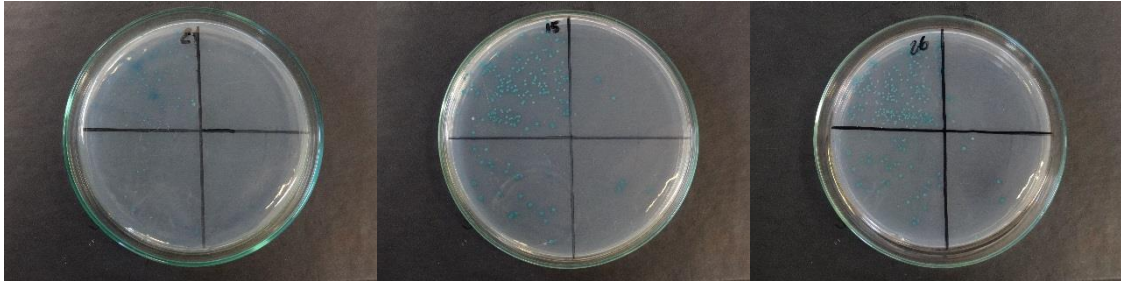


Figura 25 - placa semeada para contagem de UFC de *C. albicans* após aplicação do protocolo EA na resina CL

Figura 26 - placa semeada para contagem de UFC de *C. albicans* após aplicação do protocolo EA na resina SP

Figura 27 - placa semeada para contagem de UFC de *C. albicans* após aplicação do protocolo EA na resina YL

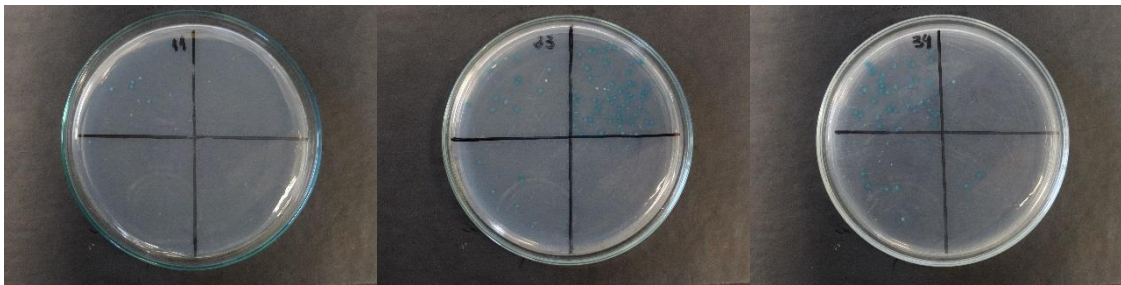


Figura 28 - placa semeada para contagem de UFC de *C. albicans* após aplicação do protocolo EHS na resina CL

Figura 29 - placa semeada para contagem de UFC de *C. albicans* após aplicação do protocolo EHS na resina SP

Figura 30 - placa semeada para contagem de UFC de *C. albicans* após aplicação do protocolo EHS na resina YL

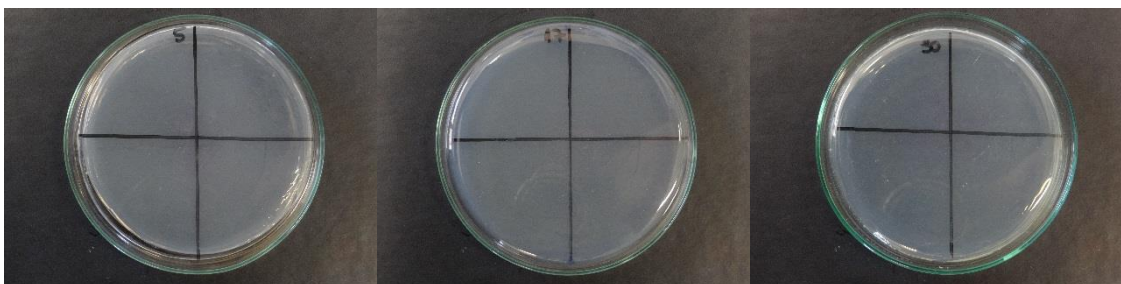


Figura 31 - placa semeada para contagem de UFC de *C. albicans* após aplicação do protocolo ET na resina CL

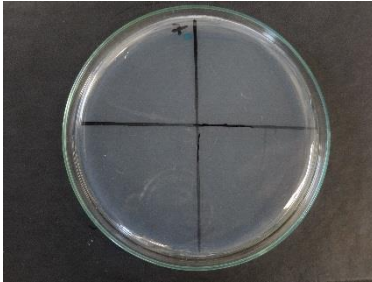


Figura 32 - placa semeada para contagem de UFC de *C. albicans* após aplicação do protocolo ET na resina SP

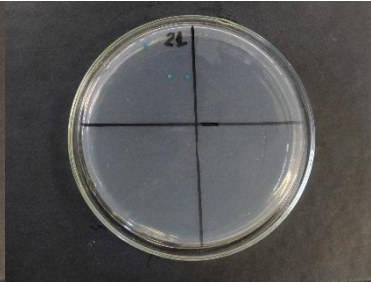


Figura 33 - placa semeada para contagem de UFC de *C. albicans* após aplicação do protocolo ET na resina YL

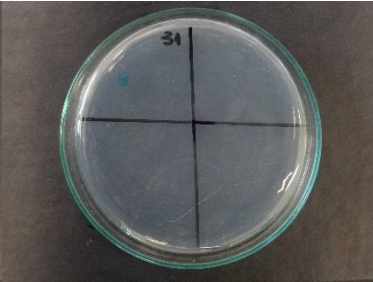


Figura 34 - placa semeada para contagem de UFC de *S. aureus* após aplicação do protocolo SE na resina CL

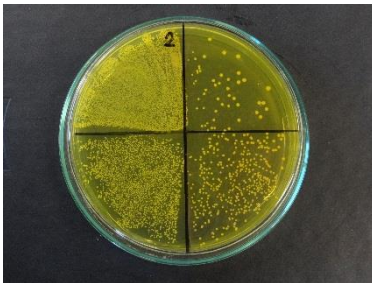


Figura 35 - placa semeada para contagem de UFC de *S. aureus* após aplicação do protocolo SE na resina SP

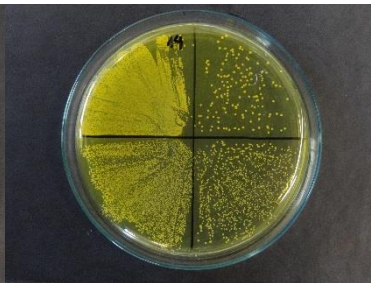


Figura 36 - placa semeada para contagem de UFC de *S. aureus* após aplicação do protocolo SE na resina YL

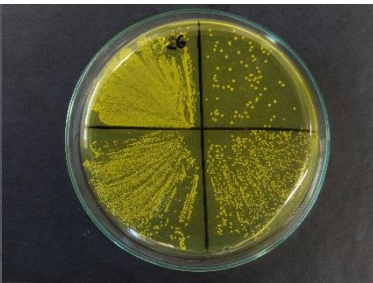


Figura 37 - placa semeada para contagem de UFC de *S. aureus* após aplicação do protocolo EA na resina CL

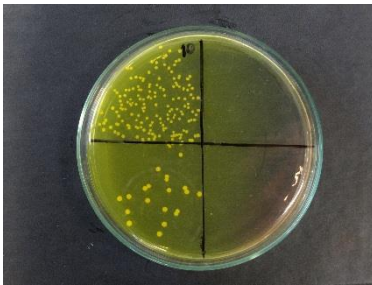


Figura 38 - placa semeada para contagem de UFC de *S. aureus* após aplicação do protocolo EA na resina SP

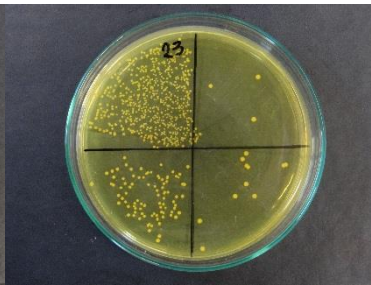


Figura 39 - placa semeada para contagem de UFC de *S. aureus* após aplicação do protocolo EA na resina YL

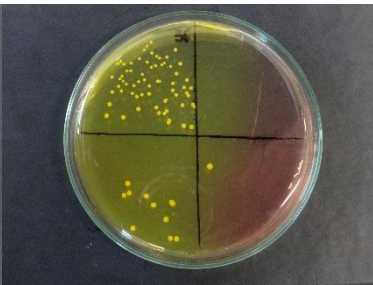


Figura 40 - placa semeada para contagem de UFC de *S. aureus* após aplicação do protocolo EHS na resina CL

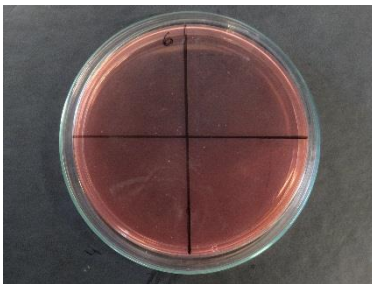


Figura 41 - placa semeada para contagem de UFC de *S. aureus* após aplicação do protocolo EHS na resina SP

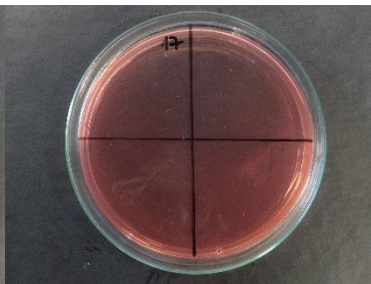


Figura 42 - placa semeada para contagem de UFC de *S. aureus* após aplicação do protocolo EHS na resina YL

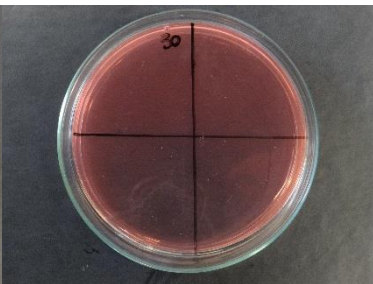


Figura 43 - placa semeada para contagem de UFC de *S. aureus* após aplicação do protocolo ET na resina CL

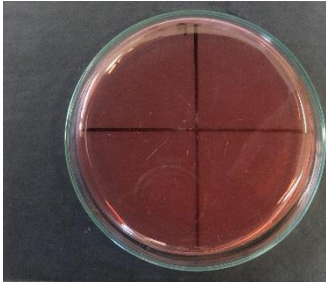


Figura 44 - placa semeada para contagem de UFC de *S. aureus* após aplicação do protocolo ET na resina SP

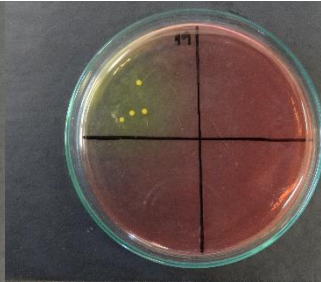


Figura 45 - placa semeada para contagem de UFC de *S. aureus* após aplicação do protocolo ET na resina YL

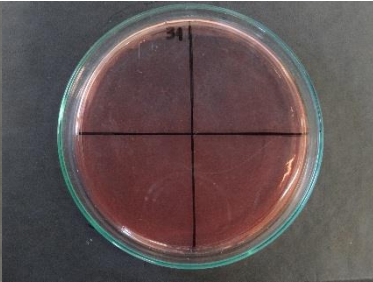


Figura 46 - placa semeada para contagem de UFC de *S. mutans* após aplicação do protocolo SE na resina CL

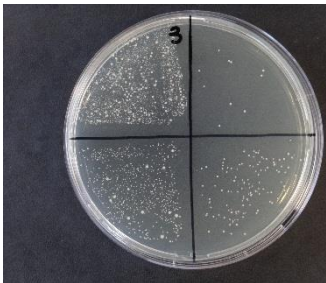


Figura 47 - placa semeada para contagem de UFC de *S. mutans* após aplicação do protocolo SE na resina SP

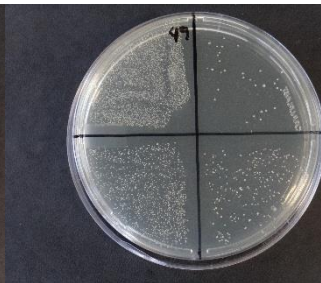


Figura 48 - placa semeada para contagem de UFC de *S. mutans* após aplicação do protocolo SE na resina YL

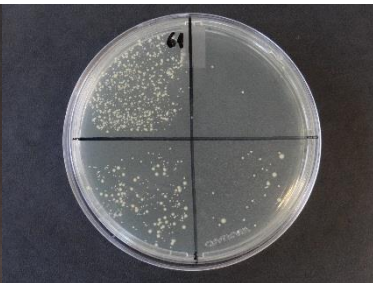


Figura 49 - placa semeada para contagem de UFC de *S. mutans* após aplicação do protocolo EA na resina CL

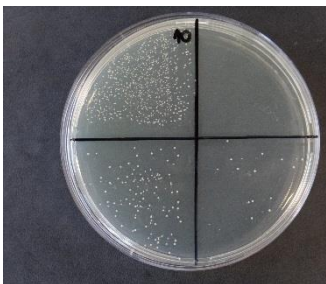


Figura 50 - placa semeada para contagem de UFC de *S. mutans* após aplicação do protocolo EA na resina SP

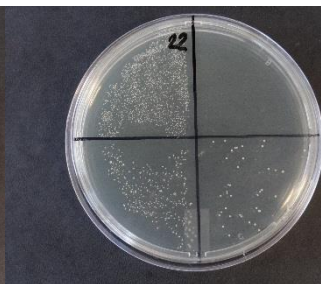


Figura 51 - placa semeada para contagem de UFC de *S. mutans* após aplicação do protocolo EA na resina YL

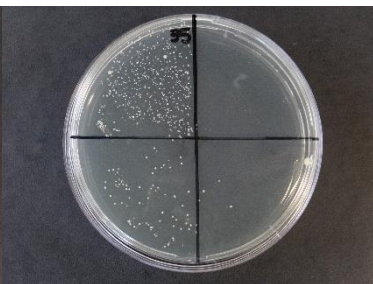


Figura 52 - placa semeada para contagem de UFC de *S. mutans* após aplicação do protocolo EHS na resina CL

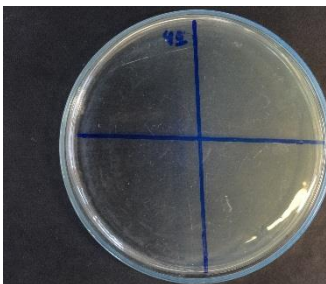


Figura 53 - placa semeada para contagem de UFC de *S. mutans* após aplicação do protocolo EHS na resina SP

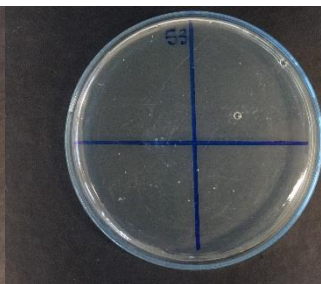


Figura 54 - placa semeada para contagem de UFC de *S. mutans* após aplicação do protocolo EHS na resina YL

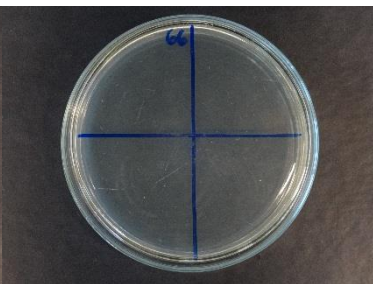
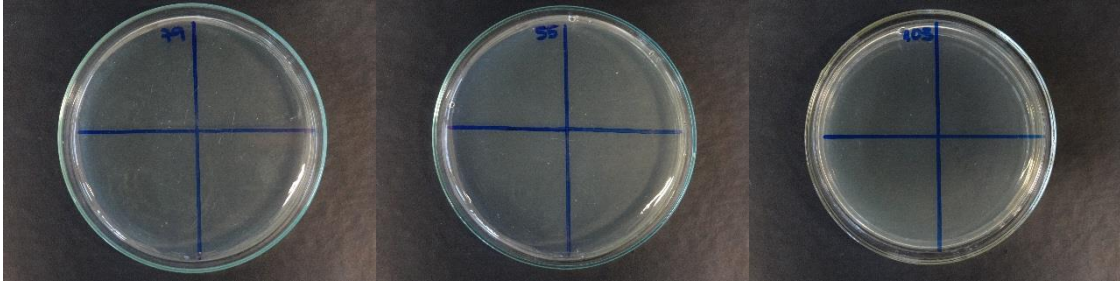


Figura 55 - placa semeada para contagem de UFC de *S. mutans* após aplicação do protocolo ET na resina CL

Figura 56 - placa semeada para contagem de UFC de *S. mutans* após aplicação do protocolo ET na resina SP

Figura 57 - placa semeada para contagem de UFC de *S. mutans* após aplicação do protocolo ET na resina YL



5 DISCUSSÃO

As resinas impressas são materiais novos e, portanto, poucos estudos experimentais existem na literatura a seu respeito. Uma vez que são indicadas para a confecção de próteses totais, é importante conhecer seu comportamento quando expostas ao uso. Sendo assim, esse estudo avaliou o efeito de quatro protocolos de higiene sobre propriedades relevantes desses materiais e sua eficácia do controle do biofilme.

As próteses são feitas de polimetilmetacrilato de metila (PMMA) e, quando introduzidas na cavidade bucal, são rapidamente colonizadas por uma variedade de bactérias, fungos e vírus, que se aderem inicialmente à superfície da dentadura e, posteriormente, penetram através de um complexo de poros e ranhuras formados pela liberação de gases durante o processo de polimerização (Chau et al., 1995; Lin et al., 1999). A escovação remove as partículas sólidas da superfície, mas não é suficiente para eliminar os microrganismos que se acumulam nas micro-irregularidades (Cruz et al., 2011; Salles et al., 2015). A imersão leva à penetração da solução desinfetante nos poros da resina acrílica, resultando na destruição dos micro-organismos (Furukawa, 1998). Assim, a associação entre métodos mecânico e químico é recomendada para uma higiene mais adequada (Paranhos et al., 2007; Silva-Lovato et al., 2010; Papadiochou, Polyzois, 2018).

Dentre os micro-organismos presentes no biofilme das próteses totais, *Candida albicans* é a espécie de maior ocorrência e a mais relacionada ao desenvolvimento da estomatite protética (Nikawa, Hamada, Yamamoto, 1998; Gendreau, Loewy, 2011). *Streptococcus mutans* tem sido associado à presença de tais fungos sendo, conseqüentemente, de grande importância para a formação e estabilização da massa microbiana (Campos et al., 2008; Chopde et al., 2012). Por sua vez, *Staphylococcus aureus* estão entre os agentes causadores de infecções nosocomiais, com risco de vida para indivíduos com enfermidades e imunocomprometidos, e são fortemente relacionados à formação de biofilme (Leoney et al., 2020).

Por sua ação bactericida e fungicida (Yilmaz et al., 2005; Buergers et al., 2008), somada ao baixo custo e fácil implementação (de Sousa Porta et al., 2015; Jurezyk et al., 2016; Arruda et al., 2017; Badaró et al., 2017), é comum a indicação do hipoclorito de sódio para controle do biofilme e limpeza dos aparelhos protéticos (Polyzois et al., 1997; Paranhos et al., 2009; Silva-Lovato et al., 2010; Paranhos et al., 2013; Salles et al., 2015; Peracini et al., 2016; Arruda et al., 2018; Valentini-Mioso et al., 2019; Badaró et al., 2020). A concentração de 0,25% foi selecionada por ser segura e, ao mesmo tempo, eficaz (Salles et al., 2015; Badaró et al., 2017; Badaró et al., 2020). O Triclosan a 0,15% tem mostrado boa ação

antimicrobiana e efeitos aceitáveis sobre os materiais de base de próteses totais (Bueno, 2016; Arruda et al., 2017; Badaró et al., 2017; Arruda et al., 2018; Badaró et al., 2020; Bueno, 2020). Como há poucos estudos, essa solução foi incluída como uma alternativa ao hipoclorito de sódio, o qual possui um odor desagradável, pode causar manchamento de roupas e ser irritante aos tecidos (Felipucci et al., 2011; Paranhos et al., 2013; Badaró et al., 2014; Chia et al., 2016; Guivare'h et al., 2017; Badaró et al., 2020). Além deles, a água também foi empregada, já que é indicada para imersão dos dispositivos protéticos durante o período do sono (Souza et al., 2009) e previne a liberação de íons (Felipucci et al., 2011; Davi et al., 2012).

É fundamental observar o efeito das soluções de higiene após um longo tempo de uso (no caso, 01, 03 e 05 anos), visto que raramente os usuários trocam suas dentaduras antes desse período (Pisani et al., 2010). O regime usado foi a simulação de escovações diárias de 6 minutos (três escovações de 2 minutos) e imersões diárias de 20 minutos, sendo ambos recomendados pelos dentistas aos seus pacientes (Arruda et al., 2018).

5.1 Propriedades físicas e mecânicas

5.1.1 Alteração de cor

Mudanças de cor podem ocorrer por absorção e adsorção, degradação química, pelo envelhecimento, aspereza da superfície e oxidação das matrizes poliméricas (Anil et al., 2000). Além disso, para a resina termopolimerizável convencional, a inclusão de óleos e umidade das mãos do operador ao manipular a massa pode ocasionar alteração na coloração (Robinson, McCabe, Storer, 1985; Arab, Newton, Lloyd, 1989). Nesse estudo, a interação encontrada entre resinas, tempos e protocolos de higiene para alteração de cor sugere que a hipótese nula não deve ser aceita.

A resina Yllor foi a que apresentou as maiores médias de alteração de cor, que podem estar associadas aos maiores valores de rugosidade identificados. O tempo acarretou variações significativas de cor para todas as resinas e protocolos, com exceção do controle, o qual empregou apenas a escovação. Esse resultado sugere que há influência da sorção das soluções nas propriedades ópticas desses materiais. Sendo assim, as imersões das próteses devem ser feitas em temperaturas, concentrações e tempos recomendados, a fim de evitar essas alterações (Arab, Newton, Lloyd, 1989).

Os protocolos com imersão em água e em hipoclorito de sódio a 0,25% foram os que geraram diferença significativa de cor entre as resinas após a simulação de 1, 3 e 5 anos.

Buchalla et al. (2002) e Alqanas et al. (2022) concluíram que valores distintos de ΔE podem estar relacionados à alteração nas características ópticas desses materiais devido à absorção de água. Por sua vez, quando o hipoclorito de sódio é empregado, há uma dissociação dos íons cloreto, que são extremamente reativos, podendo causar mudanças na superfície e manchas (Backenstose, Wells, 1977; Sutton, Rogers, 2001). Desse modo, a possibilidade de clareamento da resina acrílica é uma desvantagem dessa solução (Polyzois, 1997; Paranhos et al., 2009). Cabe salientar que alterações de cor perceptíveis clinicamente foram identificadas com as resinas Clássico e Yllor após 3 anos de escovação e imersão em água e com a resina Yllor em todos os períodos e protocolos de higiene avaliados. Sendo assim, os resultados sugerem que, em relação à cor, a resina SmartPrint apresentou melhores resultados clínicos com todos os protocolos de higiene, o que é promissor para área de aplicação.

5.1.2 Microdureza

A capacidade de sorção e a solubilidade das resinas acrílicas, quando imersas em meio líquido, estão relacionadas à presença de espaços e à polaridade (Miettinen, Vallittu, Docent, 1977), a qual está associada ao grupamento carboxílico (Camacho et al., 2014). O fato desses materiais serem hidrofílicos faz com que as soluções atuem como plastificantes, provocando o rompimento das ligações entre as cadeias do polímero e, por conseguinte, diminuição da microdureza (Braden, 1964; Dogan et al., 1995; Yiu et al., 2004). Somado a isso, a existência de monômero residual age como plastificante (Camacho et al., 2014) e microfissuras formadas pelo uso das próteses facilitam a infiltração de soluções, acelerando o processo de plastificação (Assunção et al., 2010).

A hipótese nula desse estudo deve ser rejeitada pois os resultados demonstraram diferenças significativas para os valores de microdureza em função da interação entre resinas, tempos e protocolos de higiene. A resina SmartPrint apresentou resultados semelhantes aos da resina Clássico, após 1 ano de exposição ao protocolo com imersão em Triclosan a 0,15%. Nas demais condições, as resinas impressas apresentaram microdureza menor que a resina termopolimerizável, concordando com a literatura (Fouda et al., 2022). Alqanas et al. (2022) concluíram que o uso de limpadores de dentadura resultou em uma diminuição da microdureza dependente do tempo, ratificando o encontrado. A redução da microdureza da superfície da resina impressa em 3D pode ser resultado de sua fabricação em camadas, pós-cura, baixa conversão de dupla ligação e presença de monômero residual (Alifui-Segbaya et al., 2019; Gad et al., 2021).

A diminuição da microdureza é causada não somente por fatores físico-químicos, mas também por fatores biológicos, como enzimas salivares e microbiota bucal (Matsuo et al., 2015). Esses últimos não foram reproduzidos nesse estudo, representando uma limitação metodológica.

5.1.3 Rugosidade de superfície

Superfícies com menor rugosidade são recomendadas para reduzir a retenção microbiana e, portanto, prevenir infecções locais e deterioração precoce da prótese total (Ehrnford, 1980). Nesse sentido, valores abaixo de $0,2\mu\text{m}$ contribuem para dificultar a adesão de micro-organismos e o acúmulo de biofilme (Bollen et al., 1997; Oliveira et al., 2007; Pereira-Cenci et al., 2007).

Nesse estudo, a resina termopolimerizável apresentou valores de rugosidade de superfície significativamente menores em comparação às resinas de impressão 3D; os protocolos de higiene interferiram nos resultados para as resinas impressas (SP e YL) e o tempo de aplicação exerceu influência sobre a resina SmartPrint. Logo, a hipótese nula não deve ser aceita.

Trabalhos anteriores verificaram que o uso de determinadas soluções químicas higienizadoras não altera a rugosidade superficial da resina acrílica convencional (Ma, Johnson, Gordon, 1997; Azevedo et al., 2006; Lima et al., 2006; Paranhos et al., 2009; Davi et al., 2010; Machado et al., 2012), concordando assim com esse estudo, no qual a resina Clássico exibiu os menores valores, estes abaixo do limite aceitável de $0,2\mu\text{m}$. Para a resina SmartPrint, os valores foram superiores a $0,2\mu\text{m}$, sendo maiores frente aos protocolos EHS e Et e diminuindo com a simulação de 3 e 5 anos de imersão. Nos períodos iniciais, a superfície pode ter sido afetada pelo efeito oxidante das soluções químicas (Kassab et al., 2009), que foi estabilizado com o passar do tempo.

O fato de as resinas acrílicas impressas não terem sido polidas e sua caracterização ter sido feita através de pigmentação extrínseca podem explicar os valores de rugosidade mais elevados em comparação à resina termopolimerizável, os quais estão de acordo com os achados da análise qualitativa das superfícies dos corpos de prova pela Microscopia Confocal a Laser. Choi et al. (2020), avaliando tal propriedade em espécimes cobertos com um glaze, relataram que alguns materiais de revestimento de dentadura excedem o limite de $0,2\mu\text{m}$ e podem comprometer o desempenho clínico dos dispositivos onde são aplicados. A colonização microbiana (Al-Fouzan, Al-Mejrad, Albarrag, 2017; Murat et al., 2019) e a estabilidade de cor podem ser negativamente afetadas por essa maior aspereza da superfície

(Alp et al., 2019; Al-Qarni et al., 2020; Gruber et al., 2021), que passa a exigir do usuário uma limpeza mais vigorosa.

Vale ressaltar que a pigmentação extrínseca manual das resinas impressas, mesmo quando realizada pelo mesmo e experiente técnico, nunca fornecerá uma padronização completa, pois a pressão de contato e a ação do oxigênio do ar, por exemplo, são fatores que não podem ser totalmente controlados, podendo resultar em variações mínimas das condições da superfície.

5.1.4 Resistência à flexão

A resistência à flexão depende de fatores como peso molecular do polímero, polaridade, presença de monômeros residuais, plastificantes e temperatura, carga e conteúdo de água (Asad, Watkinson, Huggett, 1992; Jalali et al., 2012; Mehrpour et al., 2016). Para os espécimes obtidos por impressão 3D, a fraca ligação entre as sucessivas camadas impressas também pode ser um fator de influência (Gad et al., 2021). A imersão das próteses totais em soluções higienizadoras pode afetar a estrutura das resinas acrílicas, a resistência à flexão e, por consequência, elevar o risco de fraturas dentro e fora da boca (Robinson, McCabe, Storer, 1985).

Os resultados demonstraram que a hipótese nula deve ser rejeitada porque, embora não tenha havido diferença relevante entre as resinas, a resistência flexural diminuiu significativamente para todos os protocolos e controle após a simulação de 5 anos. Isso sugere que, além das soluções de limpeza, o método mecânico de higienização e o tempo de uso já são capazes de reduzir a resistência desses materiais. Há uma consistência com o estudo de Abualsaud e Gad (2022), em que o método CAD/CAM aditivo foi comparável à técnica convencional de termopolimerização. Porém, Prpić et al. (2020) relataram os maiores valores com PMMA fresado, seguido de polimerização por calor e, por último, PMMA impresso em 3D. Nos estudos de Fouda et al. (2022) e Freitas et al. (2022), as resinas impressas em 3D também apresentam a menor resistência à flexão.

Os protocolos com imersão em hipoclorito de sódio a 0,15% e em Triclosan a 0,15% foram semelhantes entre si e geraram uma diminuição maior da resistência à flexão, o que está de acordo com os relatos de Austin e Basker (1982), os quais mostraram que o hipoclorito de sódio é capaz de alterar a cadeia polimérica da resina, visto que a absorção de líquidos que agem como plastificantes pode causar um enfraquecimento das ligações intermoleculares, contribuindo para uma redução da resistência flexural. Apesar da

diminuição encontrada, os valores respeitam a recomendação pela norma ISO (20795-1:2013) (65Mpa), diferentemente dos obtidos por Freitas et al. (2022) ($57,23 \pm 9,07$; $p < 0,05$).

5.1.5 Microscopia confocal

A pigmentação extrínseca manual, mesmo quando realizada pelo mesmo e experiente técnico, nunca fornecerá uma padronização completa pois a pressão de contato e a ação do oxigênio do ar, por exemplo, são fatores que não podem ser totalmente controlados. Isso pode resultar em variações mínimas das condições da superfície.

Estudos revelam que a adesão dos microrganismos geralmente começa nos poros de superfícies ásperas, os quais fornecem proteção contra forças de cisalhamento e, por conseguinte, tempo para adesão irreversível de células microbianas (Taylor et al., 1998). Assim, os resultados do presente estudo sugerem que as resinas impressas submetidas à caracterização extrínseca para obtenção de estética adequada sejam mais susceptíveis a essa colonização. Em 1968, a Academy of Denture Prosthetics declarou que as estruturas devem estar livres de poros para garantir uma limpeza adequada e resistência à manchas e à aderência de micro-organismos.

Ainda, com o uso contínuo das próteses, a resina perde gradualmente o polimento da superfície, o que também contribui para a penetração de microrganismos nos poros do material e o crescimento do biofilme (Silva-Lovato et al., 2010).

Estudos futuros devem avaliar os corpos de prova de resinas impressas antes do procedimento de caracterização. Além do mais, para afirmar que mudanças na superfície ocorreram pela aplicação dos protocolos de higiene, o ideal seria obter as imagens a partir do mesmo espécime e selecionando sempre a mesma área. Somado a isso, os mesmos apresentavam superfície plana, ao contrário das próteses fabricadas para uso clínico. Por fim, diferentes marcas de resina disponíveis no mercado para a confecção de próteses totais assumem comportamentos distintos de acordo com a composição e tecnologia de impressão.

5.2 Carga microbiana

A remoção eficiente de biofilme por métodos mecânicos e químicos auxilia no controle da estomatite protética (Nikawa et al., 1999), uma patologia comumente observada na população idosa (Hutchins, Parker, 1973). Para isso, o conhecimento sobre a eficácia de diferentes protocolos de limpeza de próteses totais pode melhorar a orientação aos pacientes (Paranhos et al., 2007), diminuindo a incidência de tal doença.

Os resultados do estudo sugerem que a hipótese nula não deve ser aceita, uma vez que houve diferença na formação de biofilme entre as resinas quando a YL foi submetida ao protocolo ET, apresentando maior contagem de *C. albicans* do que as demais, e o protocolo EHS mostrou ser o mais eficiente, já que reduziu as contagens de UFC dos três micro-organismos a zero. Isso é consistente com as descobertas de outros estudos, como de Salles et al. (2015), Badaró et al. (2017), Badaró et al. (2020) e Rocha et al. (2021). Sendo assim, a concentração de 0,25% tem eficácia contra leveduras e bactérias (gram positivas e negativas) (Vieira et al., 2010; Freitas et al., 2011; Salles et al., 2015; Sousa Porta et al., 2015; Peracini et al., 2016; Badaró et al., 2017). Além disso, a literatura mostrou que concentrações elevadas, isto é, 1%, não devem ser empregadas por causarem mudanças na cor e diminuição da resistência à flexão (Davi et al., 2010; Pisani et al., 2010).

A superioridade da atividade antimicrobiana do hipoclorito de sódio está relacionada à sua ação em sítios enzimáticos essenciais em bactérias, promovendo sua inativação irreversível por meio dos íons hidroxila e cloraminação (Porta et al., 2013). Ainda, a ação solvente de lipídios e ácidos graxos dissolve as substâncias orgânicas e reduz a tensão superficial (Estrela et al., 2002). Contudo, o Triclosan também se mostrou eficaz e capaz de substituir o protocolo EHS, o que é consistente com os achados de outros estudos (de Sousa Porta et al., 2015; Salles et al., 2015; Arruda et al., 2017; Badaró et al., 2017; Badaró et al., 2020; Araujo et al., 2021). Isso porque essa substância causa lise celular por afetar a síntese de RNA e proteínas (Stewart et al., 1999; Schweizer, 2001; Yueh, Tukey, 2016; Hughes, Ferguson, 2017).

Como a água não apresenta princípios ativos em sua composição, a redução da contagem de UFC nas amostras submetidas ao protocolo EA evidencia que a escovação deve ser indicada como um elemento essencial para a limpeza das dentaduras (Paranhos et al., 2007). Embora o controle químico do biofilme seja útil e apropriado, deve sempre ser acompanhado do controle mecânico (Paranhos et al., 2007).

Apesar de não ter havido diferença na formação inicial do biofilme, o protocolo ET foi menos eficaz para a eliminação de *C. albicans* na resina YL. Isso pode estar associado à hidrofobicidade e ao maior nível de mucina na superfície. As mucinas se aderem aos substratos através da porção hidrofóbica de proteína da sua macromolécula, deixando suas cadeias laterais de carboidratos disponíveis como sítio de ligação para micro-organismos (Käsdorf et al., 2017), interferindo no processo de formação do biofilme, bem como na sua quantidade e rigidez (Li et al., 2012).

É válido ressaltar que a resina acrílica termopolimerizável (CL) foi polida em politriz horizontal com lixas d'água e, posteriormente, em politriz de bancada com rodas de algodão e branco de espanha, o que não foi feito para as resinas acrílicas impressas (SP e YL). Em virtude da formação de biofilme ter sido semelhante, podemos considerar que os materiais de impressão 3D dispensam essa etapa.

Uma limitação desse estudo foi a não reprodutibilidade das condições clínicas e desafios orais (como a presença da microbiota bucal, alterações de pH, mudanças térmicas e forças mastigatórias), que teriam tido certa influência nas propriedades físicas dos materiais e na ação dos produtos de limpeza. Um outro fator a ser considerado é a importância de simular o período de imersão de 8 horas, visto que é recomendado e rotineiramente usado por usuários de próteses totais (Axe et al., 2016).

6 CONCLUSÃO

Por meio dos resultados, pode-se concluir que:

- As resinas impressas apresentaram variação de cor em função do tempo e protocolos de higiene, sendo que a maior variação foi verificada com a resina Yllor. Porém, os valores de ΔE estão abaixo de 3,3 e, portanto, são clinicamente aceitáveis;
- As resinas impressas apresentaram menores valores de microdureza se comparadas à resina convencional e todos os protocolos promoveram redução dos valores no período simulado de 5 anos;
- As resinas impressas apresentaram valores de rugosidade mais elevados do que os da resina convencional. Para a resina SmartPrint, foram maiores frente aos protocolos EHS e ET, diminuindo com a simulação de 3 e 5 anos de imersão. Para a resina Yllor, os maiores valores foram encontrados quando empregados os protocolos escovação (E) e escovação com imersão em água (EA);
- Todas as resinas apresentaram diminuição da resistência flexural quando submetidas a todos os protocolos de higiene e controle após a simulação de 5 anos;
- A pigmentação extrínseca gerou imperfeições na superfície, mas essa não foi alterada pelos protocolos de higiene;
- A escovação associada à imersão em hipoclorito de sódio a 0,25% foi o protocolo mais eficiente, seguido pela escovação com imersão em Triclosan a 0,15%. O tipo de resina não influenciou a contagem de UFC, exceto quando a resina Yllor foi higienizada com escovação e imersão em Triclosan e apresentou maior contagem de *C. albicans*.

REFERÊNCIAS

1. Abualsaud R, Gad MM. Flexural Strength of CAD/CAM Denture Base Materials: Systematic Review and Meta-analysis of In-vitro Studies. *J Int Soc Prev Community Dent.* 2022;8;12(2):160-170.
2. 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):402-408.
3. Alfouzan AF, Alotiabi HM, Labban N, Al-Otaibi HN, Taweel SMA, AlShehri HA. Color stability of 3D-printed denture resins: effect of aging, mechanical brushing and immersion in staining médium. *J Adv Prosthodont.* 2021;13(3):160-171.
4. Alfouzan AF, Tuwaym M, Aldaghri EN, Alojaymi T, Alotiabi HM, Taweel SMA, Al-Otaibi HN, Ali R, Alshehri H, Labban N. 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.
5. Alifui-Segbaya F, Bowman J, White AR, George R, Fidan I. Characterization of the Double Bond Conversion of Acrylic Resins for 3D Printing of Dental Prostheses. *Compend Contin Educ Dent.* 2019;40(10):e7-e11
6. Allen PF, McMillan AS. A Review of the functional and psychosocial outcomes of edentulousness treated with complete replacement dentures. *J Can Dent Assoc.* 2003;69(10):662.
7. Alp G, Johnston WM, Yilmaz B. Optical properties and surface roughness of prepolymerized poly(methyl methacrylate) denture base materials. *J Prosthet Dent.* 2019;121(2):347-352.
8. 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.

9. Al-Qarni FD, Goodacre CJ, Kattadiyil MT, Baba NZ, Paravina RD. Stainability of acrylic resin materials used in CAD-CAM and conventional complete dentures. *J Prosthet Dent.* 2020;123(6):880-887.
10. Anıl N, Hekimoglu C, Büyükbas N, Ercan MT. Microleakage study of various soft denture liners by autoradiography: effect of accelerated aging. *J Prosthet Dent.* 2000;84(4):394-9.
11. Arab J, Newton JP, Lloyd CH. The effect of an elevated level of residual monomer on the whitening of a denture base and its physical properties. *J Dent.* 1989;17(4):189-94.
12. Araujo CB, Ribeiro AB, Fortes CV, Bueno FL, De Wever B, Oliveira VC, Macedo AP, Paranhos HFO, da Silva CHL. Effect of local hygiene protocols on denture-related stomatitis, biofilm, microbial load, and odor: A randomized controlled trial. *J Prosthet Dent.* 2021;15:S0022-3913(20)30808-8.
13. Arruda CNF, Salles MM, Badaró MM, Oliveira VC, Macedo AP, Silva-Lovato CH, Paranhos HFO. Effect of sodium hypochlorite and *Ricinus communis* solutions on control of denture biofilm: A randomized crossover clinical trial. *J Prosthet Dent.* 2017;117(6):729-34.
14. Arruda CNF, Salles MM, Badaró MM, Sorgini DB, Oliveira VC, Macedo AP, Silva-Lovato CH, Paranhos HFO. Evaluation of biofilm removal and adverse effects on acrylic resin by diluted concentrations of sodium hypochlorite and *Ricinus communis* solutions. *Gerodontology.* 2018;35(3):246-53.
15. Asad T, Watkinson AC, Huggett R. The effect of disinfection procedures on flexural properties of denture base acrylic resins. *J Prosthet Dent.* 1992;68(1):191-5.
16. Assunção WG, Gomes EA, Barão VA, Barbosa DB, Delben JA, Tabata LF. Effect of storage in artificial saliva and thermal cycling on Knoop hardness of resin denture teeth. *J Prosthodont Res.* 2010;54(3):123-7.
17. Austin AT, Basker RM. Residual monomer levels in denture bases. The effects of varying short curing cycles. *Br Dent J.* 1982;21;153(12):424-6.

18. Axe AS, Varghese R, Bosma M, Kitson N, Bradshaw DJ. Dental health professional recommendation and consumer habits in denture cleansing. *J Prosthet Dent.* 2016;115(2):183-8.
19. Azevedo A, Machado AL, Vergani CE, Giampaolo ET, Pavarina AC, Magnani R. Effect of disinfectants on the hardness and roughness of reline acrylic resins. *J Prosthodont* 2006;15:235-242.
20. Baba NZ. Materials and processes for CAD/CAM complete denture fabrication. *Curr Oral Health Rep.* 2016;3(3):203–8.
21. Backenstose WM, Wells JG. Side effects of immersion-type cleansers on the metal components of dentures. *J Prosthet Dent.* 1977;37(6):615-21.
22. 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.
23. Badaró MM, Salles MM, Leite VMF, Arruda CNF, Oliveira VC, Nascimento C, Souza RF, Paranhos HFO, Silva-Lovato CH. Clinical trial for evaluation of *Ricinus communis* and sodium hypochlorite as denture cleanser. *J Appl Oral Sci.* 2017;25(3):324-34.
24. Badaró MM, Salles MM, Leite VMF, Arruda CNF, Oliveira VC, Souza RF, et al. *R communis* and sodium hypochlorite's clinical evaluation for denture cleansing. *J Dent Res* 2014;93(B):282.
25. Bidra AS, Taylor TD, Agar JR. Computer-aided technology for fabricating complete dentures: Systematic review of historical background, current status, and future perspectives. *J Prosthet Dent.* 2013;109(6):361-6.
26. Bollen C, Lambrechts P, Quirynen M: Comparison of surface roughness of oral hard materials to the threshold surface roughness for bacterial plaque retention: a review of the

literature. *Dent Mater.* 1997;13:258-269.

27. Braden M. The absorption of water by acrylic resins and other materials. *Journal of Prosthetic Dentistry.* 1964;14(2):307-16.

28. Buchalla W, Attin T, Hilgers RD, Hellwig E. The effect of water storage and light exposure on the color and translucency of a hybrid and a microfilled composite. *J Prosthet Dent.* 2002;87(3):264-70.

29. Bueno, FL. Avaliação dos efeitos adversos de soluções desinfetantes nas propriedades físicas e mecânicas de materiais para confecção de próteses totais [dissertação]. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto; 2016 [citado 2020-08-05].

30. Bueno, FL. Utilização do triclosan em próteses dentárias removíveis: avaliação da ação antimicrobiana e efeito sobre as propriedades físico-mecânicas na resina acrílica para base de próteses e corrosão em liga metálica de cobalto-cromo [tese]. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto; 2020 [citado 2020-07-31].

31. Buegers R, Rosentritt M, Schneider-Brachert W, Behr M, Handel G, Hahnel S. Efficacy of denture disinfection methods in controlling *Candida albicans* colonization in vitro. *Acta Odontol Scand.* 2008;66(3):174-80.

32. Camacho DP, Svidzinski TIE, Furlaneto MC, Lopes MB, Corrêa GO. Acrylic resins for dental use based polymethylmethacrylate. *Braz J Surg Clin Res.* 2014;6(3):63-72.

33. Campos MS, Marchini L, Bernardes LA, Paulino LC, Nobrega FG. Biofilm microbial communities of denture stomatitis. *Oral Microbiol Immunol.* 200;23(5):419-24.

34. Chau VB, Saunders TR, Pimsler M, Elfring DR. In-depth disinfection of acrylic resins. *J Prosthet Dent.* 1995;74(3):309-13.

35. Chhabra M, Kumar MN, RaghavendraSwamy KN, Thippeswamy HM. Flexural strength and impact strength of heat-cured acrylic and 3D printed denture base resins - A comparative in vitro study. *J Oral Biol Craniofac Res.* 2021;12(1):1-3.
36. Chia Shi Zhe G, Green A, Fong YT, Lee HY, Ho SF. Rare case of type I hypersensitivity reaction to sodium hypochlorite solution in a healthcare setting. *BMJ Case Rep.* 2016;21;2016:bcr2016217228.
37. Choi JJE, Ramani RS, Ganjigatti R, Uy CE, Plaksina P, Waddell JN. Adhesion of Denture Characterizing Composites to Heat-Cured, CAD/CAM and 3D Printed Denture Base Resins. *J Prosthodont.* 2021;30(1):83-90.
38. Choi JJE, Uy CE, Ramani RS, Waddell JN. Evaluation of surface roughness, hardness and elastic modulus of nanoparticle containing light-polymerized denture glaze materials. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2020;103:103601.
39. Chopde N, Jawale B, Pharande A, Chaudhari L, Hiremath V, Redasani R. Microbial colonization and their relation with potential cofactors in patients with denture stomatitis. *J Contemp Dent Pract.* 2012;1;13(4):456-9.
40. Coelho SRG, da Silva MDD, Nunes TSBS, Viotto HEC, Marin DOM, Pero AC. Effect of immersion in disinfectants on the color stability of denture base resins and artificial teeth obtained by 3D printing. *J Prosthodont.* 2023 Feb 5.
41. Cruz PC, Andrade IM, Peracini A, Souza-Gugelmin MC, Silva-Lovato CH, de Souza RF, Paranhos Hde F. The effectiveness of chemical denture cleansers and ultrasonic device in biofilm removal from complete dentures. *J Appl Oral Sci.* 2011;19(6):668-73.
42. Curylofo PA, Raile PN, Vasconcellos GLL, Macedo AP, Pagnano VO. Effect of denture cleansers on cobalt-chromium alloy surface: a simulated period of 5 years' use. *J Prosthodont.* 2020;29(2):142-50.

43. Davi LR, Felipucci DN, de Souza RF, Bezzon OL, Lovato-Silva CH, Pagnano VO, Paranhos Hde F. Effect of denture cleansers on metal ion release and surface roughness of denture base materials. *Braz Dent J.* 2012;23(4):387-93.
44. Davi LR, Peracini A, Ribeiro NQ, Soares RB, Silva CH, Paranhos HF, et al. Effect of the physical properties of acrylic resin of overnight immersion in sodium hypochlorite solution. *Gerodontology.* 2010;27(4):297-302.
45. Dayan C, Guven MC, Gencel B, Bural C. A Color stability comparison of conventional and cad/cam polymethyl methacrylate denture base materials. *Acta stomatol Croat.* 2019;53(2):158-67.
46. de Sousa Porta SR, de Lucena-Ferreira SC, da Silva WJ, Del Bel Cury AA. Evaluation of sodium hypochlorite as a denture cleanser: a clinical study. *Gerodontology.* 2015;32(4):260-6.
47. de Souza RF, de Freitas Oliveira Paranhos H, Lovato da Silva CH, Abu-Naba'a L, Fedorowicz Z, Gurgan CA. Interventions for cleaning dentures in adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2009; 7;(4):CD007395.
48. Doğan A, Bek B, Cevik NN, Usanmaz A. The effect of preparation conditions of acrylic denture base materials on the level of residual monomer, mechanical properties and water absorption. *J Dent.* 1995;23(5):313-8.
49. Ehrnford L, Dérand T, Larsson LA, Svensson A. An abrasion test for composite resins. *J Dent Res.* 1980;59(4):716-20.
50. 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.
51. Felipucci DN, Davi LR, Paranhos HF, Bezzon OL, Silva RF, Pagnano VO. Effect of different cleansers on the surface of removable partial denture. *Braz Dent J.* 2011;22(5):392-7.

52. Fernandez PK, Unkovskiy A, Benkendorff V, Klink A, Spintzyk S. Surface characteristics of milled and 3d printed denture base materials following polishing and coating: an in-vitro study. *Materials*. 2020;13(15):3305-17.
53. Fouda SM, Gad MM, Abualsaud R, Ellakany P, AlRumaih HS, Khan SQ, Akhtar S, Al-Qarni FD, Al-Harbi FA. Flexural Properties and Hardness of CAD-CAM Denture Base Materials. *J Prosthodont*. 2022.
54. Freitas Fernandes FS, Pereira-Cenci T, Silva WJ, Filho AP, Straioto FG, Del Bel Cury AA. Efficacy of denture cleansers on *Candida* spp. Biofilm formed on polyamide and polymethyl methacrylate resins. *J Prosthet Dent*. 2011;105(1):51-8.
55. Freitas RFCP, Duarte S, Feitosa S, Dutra V, Lin WS, Panariello BHD, Carreiro ADFP. Physical, Mechanical, and Anti-Biofilm Formation Properties of CAD-CAM Milled or 3D Printed Denture Base Resins: In Vitro Analysis. *J Prosthodont*. 2022; 4.
56. Furukawa KK. Effectiveness of chlorine dioxide in disinfection of two soft denture liners. *J Prosthet Dent*. 1998;80:723-729.
57. Gad MM, Fouda SM, Abualsaud R, Alshahrani FA, Al-Thobity AM, Khan SQ, Akhtar S, Ateeq IS, Helal MA, Al-Harbi FA. Strength and Surface Properties of a 3D-Printed Denture Base Polymer. *J Prosthodont*. 2021;4.
58. Gendreau L, Loewy ZG. Epidemiology and etiology of denture stomatitis. *J Prosthodont*. 2011;20(4):251-60.
59. Goodacre CJ, Garbacea A, Naylor WP, Daher T, Marchack CB, Lowry J. CAD/CAM fabricated complete dentures: concepts and clinical methods of obtaining required morphological data. *J Prosthet Dent*. 2012;107(1):34-46.
60. Gruber S, Kamnoedboon P, Özcan M, Srinivasan M. CAD/CAM Complete Denture Resins: An In Vitro Evaluation of Color Stability. *J Prosthodont*. 2021;30(5):430-439.

61. Guivarc'h M, Ordioni U, Ahmed HM, Cohen S, Catherine JH, Bukiet F. Sodium Hypochlorite Accident: A Systematic Review. *J Endod*. 2017;43(1):16-24.
62. Hughes C, Ferguson J. Phenotypic chlorhexidine and triclosan susceptibility in clinical *Staphylococcus aureus* isolates in Australia. *Pathology*. 2017;49(6):633-637.
63. Hutchins DW, Parker WA. A clinical evaluation of the ability of denture cleaning solutions to remove dental plaque from prosthetic devices. *NY State Dent J*. 1973;39:363-7.
64. Jackson S, Coulthwaite L, Loewy Z, Scallan A, Verran J. Biofilm development by blastospores and hyphae of *Candida albicans* on abraded denture acrylic resin surfaces. *J Prosthet Dent*. 2014;112(4):988-93.
65. Jalali H, Dorriz H, Hoseinkhezri F, Emadian Razavi SF. In vitro color stability of provisional restorative materials. *Indian J Dent Res*. 2012;23(3):388-92.
66. Jurczyk K, Nietzsche S, Ender C, Sculean A, Eick S. In-vitro activity of sodium-hypochlorite gel on bacteria associated with periodontitis. *Clin Oral Investig*. 2016;20(8):2165-2173.
67. Käs Dorf BT, Weber F, Petrou G, Srivastava V, Crouzier T, Lieleg O. Mucin-Inspired Lubrication on Hydrophobic Surfaces. *Biomacromolecules*. 2017;14;18(8):2454-2462.
68. Kassab NH, Mustafa EA, Hasan RH. Antifungal effect: comparison of commercial denture cleansers and microwave energy. *Al-Rafdain Dental J*. 2009;9(1), 24-31.
69. Kattadiyil MT, AlHelal A. An update on computer-engineered complete dentures: A systematic review on clinical outcomes. *J Prosthet Dent*. 2017;117(4):478-85.
70. Kattadiyil MT, Jekki R, Goodacre CJ, Baba NZ. Comparison of treatment outcomes in digital and conventional complete removable dental prosthesis fabrications in a predoctoral setting. *J Prosthet Dent*. 2015;114(6):818-25.

71. Leoney A, Karthigeyan S, Asharaf AS, Felix AJW. Detection and Categorization of Biofilm-forming *Staphylococcus aureus*, *Viridans streptococcus*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Escherichia coli* Isolated from Complete Denture Patients and Visualization Using Scanning Electron Microscopy. *J Int Soc Prev Community Dent.* 2022;28;10(5):627-633
72. Li J, Hirota K, Goto T, Yumoto H, Miyake Y, Ichikawa T. Biofilm formation of *Candida albicans* on implant overdenture materials and its removal. *J Dent.* 2012;40(8):686-92.
73. Lima EM, Moura JS, Del Bel Cury AA, Garcia RC, Cury JA. Effect of enzymatic and NaOCl treatments on acrylic roughness and on biofilm accumulation. *J Oral Rehabil* 2006;33:356-62.
74. Lin JJ, Cameron SM, Runyan DA, Craft DW. Disinfection of denture base acrylic resin. *J Prosthet Dent.* 1999;81(2):202-6.
75. Ma T, Johnson GH, Gordon GE. Effects of chemical disinfectants on the surface characteristics and color of denture resins. *J Prosthet Dent.* 1997;77:197-204.
76. 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.
77. Matsuo H, Suenaga H, Takahashi M, Suzuki O, Sasaki K, Takahashi N. Deterioration of polymethyl methacrylate dentures in the oral cavity. *Dent Mater J.* 2015;34(2):234-9.
78. Mehrpour H, Farjood E, Giti R, Barfi Ghasrdashti A, Heidari H. Evaluation of the Flexural Strength of Interim Restorative Materials in Fixed Prosthodontics. *J Dent (Shiraz).* 2016;17(3):201-6.
79. 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):221-228.

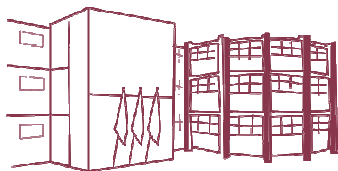
80. Miettinen VM, Vallittu PK, Docent DT. Water sorption and solubility of glass fiber-reinforced denture polymethyl methacrylate resin. *J Prosthet Dent*. 1997;77(5):531-4.
81. Murat S, Alp G, Alatalı C, Uzun M. In Vitro Evaluation of Adhesion of *Candida albicans* on CAD/CAM PMMA-Based Polymers. *J Prosthodont*. 2019;28(2):e873-e879.
82. Mutlu-Sagesen L, Ergün G, Ozkan Y, Semiz M. Color stability of a dental composite after immersion in various media. *Dent Mater J*. 2005;24(3):382-90.
83. Nikawa H, Hamada T, Yamamoto T. Denture plaque – past and recent concerns. *J Dent*. 1998;26:299-304.
84. Nikawa H, Hamada T, Yamashiro H, Kumagai H. A review of in vitro and in vivo methods to evaluate the efficacy of denture cleansers. *Int J Prosthodont*. 1999;12(2):153-9.
85. Oliveira LV, Mesquita MF, Henriques GE, Consani RL. The effect of brushing on surface roughness of denture lining materials. *J Prosthodont*. 2007;16(3):179-84.
86. Panariello BH, Izumida FE, Moffa EB, et al. Effect of mechanical toothbrushing combined with different denture cleansers in reducing the viability of a multispecies biofilm on acrylic resins. *American Journal of Dentistry*. 2016;29(3):154-160.
87. Panzeri H, Lara EHG, Paranhos HFO, Silva-Lovato CH, Souza RF, Gugelmin MCMS, Tirapelli C, Cruz PC, Andrade IM. In vitro and clinical evaluation of specific dentifrices for complete denture hygiene. *Gerodontology*. 2009;26(1):26-33.
88. Papadiochou S, Polyzois G. Hygiene practices in removable prosthodontics: A systematic review. *Int J Dent Hyg*. 2018;16(2):179-201.
89. Paranhos HFO, Bezzon OL, Davi LR, Felipucci DNB, Silva-Lovato CH, Pagnano VO. Effect of cleanser solutions on the color of acrylic resins associated with titanium and nickel-chromium alloys. *Braz Oral Res*. 2014;28(1):1-7.

90. Paranhos HF, Davi LR, Peracini A, Soares RB, Lovato CH, Souza RF. Comparison of physical and mechanical properties of microwavopolymerized acrylic resin after disinfection in NaOCl solutions. *Braz Dent J.* 2009;20:331-335.
91. Paranhos HFO, Peracini A, Pisani MX, Oliveira VC, Souza RF, Silva-Lovato CH. Color stability, surface roughness and flexural strength of an acrylic resin submitted to simulated overnight immersion in denture cleansers. *Braz Dent J.* 2013;24(2):152-56.
92. Paranhos HFO, Silva-Lovato CH, Souza RF, Cruz PC. Effects of mechanical and chemical methods on denture biofilm accumulation. *J Oral Rehabil.* 2007;34(8):606-12.
93. Peracini A, Regis RR, Souza RF, Pagnano VO, Silva CH, Paranhos HF. Alkaline peroxides versus sodium hypochlorite for removing denture biofilm: a crossover randomized trial. *Braz Dent J.* 2016;27:700-4.
94. Perea-Lowery L, Gibreel M, Vallittu PK, Lassila LV. 3D-Printed vs. heat-polymerizing and autopolymerizing denture base acrylic resins. *Materials.* 2021;14(19):5781-5791.
95. Pereira-Cenci T, Cury AA, Cenci MS, Rodrigues-Garcia RC. In vitro *Candida* colonization on acrylic resins and denture liners: influence of surface free energy, roughness, saliva, and adhering bacteria. *Int J Prosthodont.* 2007;20(3):308-10.
96. Petersen PE, Bourgeois D, Ogawa H, Estupinan-Day S, Ndiaye C. The global burden of oral diseases and risks to oral health. *Bull World Health Organ.* 2005;83(9):661-69.
97. Pisani MX, Bruhn JP, Paranhos HF, Silva-Lovato CH, de Souza RF, Panzeri H. Evaluation of the abrasiveness of dentifrices for complete dentures. *J Prosthodont.* 2010;19(5):369-73.
98. Pisani MX, Macedo AP, Paranhos HFO, Silva-Lovato CH. Effect of experimental *Ricinus communis* solution for denture cleaning on the properties of acrylic resin teeth. *Braz Dent J.* 2012;23(1):15-21.

99. Pisani MX, Silva-Lovato CH, Paranhos HFO, Souza RF, Macedo AP. The effect of experimental denture cleanser solution *Ricinus communis* on acrylic resin properties. *Mater Res*. 2010;13(3):369-73.
100. Polyzois GL, Yannikakis SA, Zissis AJ, Demetriou PP. Color changes of denture base materials after disinfection and sterilization immersion. *Int J Prosthodont*. 1997;10(1):83-9.
101. Prpić V, Schauerl Z, Čatić A, Dulčić N, Čimić S. Comparison of Mechanical Properties of 3D-Printed, CAD/CAM, and Conventional Denture Base Materials. *J Prosthodont*. 2020;29(6):524-528.
102. Raszewski Z, Nowakowska D, Więckiewicz W, Nowakowska-Toporowska A. The Effect of Chlorhexidine Disinfectant Gels with Anti-Discoloration Systems on Color and Mechanical Properties of PMMA Resin for Dental Applications. *Polymers*. 2021;13(11):1800.
103. Robinson JG, McCabe JF, Storer R. The whitening of acrylic dentures: the role of denture cleansers. *Br Dent J*. 1985; 19;159(8):247-50.
104. Rocha MM, Carvalho AM, Coimbra FCT, Arruda CNF, Oliveira VC, Macedo AP, Silva-Lovato CH, Pagnano VO, Paranhos HFO. Complete denture hygiene solutions: antibiofilm activity and effects on physical and mechanical properties of acrylic resin. *J Appl Oral Sci*. 2021;3;29:e20200948.
105. Salles MM, Badaró MM, Arruda CNF, Leite VMF, Silva-Lovato CH, Watanabe E, Oliveira VC, Paranhos HFO. 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.
106. Schweizer HP. Triclosan: a widely used biocide and its link to antibiotics. *FEMS Microbiol Lett* 2001;202:1-7.

107. Segundo Ade L, Pisani MX, Nascimento Cd, Souza RF, Paranhos Hde F, Silva-Lovato CH. Clinical trial of an experimental cleaning solution: antibiofilm effect and integrity of a silicone-based denture liner. *J Contemp Dent Pract.* 2014;15(5):534-42.
108. Silva-Lovato CH, De Wever B, Adriaens E, Paranhos HFO, Watanabe E, Pisani MX, Souza RF, Ito IY. Clinical and antimicrobial efficacy of NitrAdine™ - based disinfecting cleaning tablets in complete denture wearers. *J Appl Oral Sci.* 2010;18(6):560-65.
109. Sorgini DB, Silva-Lovato CH, Muglia VA, Souza RF, Arruda CNF, Paranhos HFO. Adverse effects on pmma caused by mechanical and combined methods of denture cleansing. *Braz Dent J.* 2015;26(3):292-96.
110. Srinivasan M, Kalberer N, Kamnoedboon P, Mekki M, Durual S, Özcan M, Müller F. CAD-CAM complete denture resins: an evaluation of biocompatibility, mechanical properties, and surface characteristics. *J Dent.* 2021;114:103785.
111. Stawarczyk B, Eichberger M, Uhrenbacher J, Wimmer T, Edelhoff D, Schmidlin PR. Three-unit reinforced polyetheretherketone composite FDPs: influence of fabrication method on load-bearing capacity and failure types. *Dent Mater J.* 2015;34(1):7-12.
112. Steinmassl PA, Wiedemair V, Huck C, Klaunzer F, Steinmassl O, Grunert I, Dumfahrt H. Do CAD/CAM dentures really release less monomer than conventional dentures? *Clin Oral Investig.* 2017;21(5):1697-1705.
113. Stewart MJ, Parikh S, Xiao G, Tonge PJ, Kisker C. Structural basis and mechanism of enoyl reductase inhibition by triclosan. *J Mol Biol.* 1999;290:859-65.
114. Sutton AJ, Rogers PM. Discoloration of a titanium alloy removable partial denture: a clinical report. *J Prosthodont.* 2001;10(2):102-4.
115. Tavares CC, Freire JCP, Freire SCP, Dias-Ribeiro E, Batista AUD. Applicability of CAD/CAM systems to total prosthesis: literature review. *Arch Health Invest.* 2018;7(11):482-85.

116. Taşın S, Ismatullaev A, Usumez A. Comparison of surface roughness and color stainability of 3-dimensionally printed interim prosthodontic material with conventionally fabricated and CAD-CAM milled materials. *J Prosthet Dent.* 2022;128(5):1094-1101. doi: 10.1016/j.prosdent.2021.01.027.
117. Taylor RL, Verran J, Lees GC, Ward AJ. The influence of substratum topography on bacterial adhesion to polymethyl methacrylate. *J Mater Sci Mater Med.* 1998;9(1):17-22.
118. Torabi K, Farjood E, Hamedani S. Rapid prototyping technologies and their applications in prosthodontics, a review of literature. *J Dent Shiraz Univ Med Sci.* 2015;16(1):1-9.
119. 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.
120. Vallittu PK. The effect of surface treatment of denture acrylic resin on the residual monomer content and its release into water. *Acta Odontol Scand.* 1996;54(3):188-92.
121. Vieira AP, Senna PM, Silva WJ, Del Bel Cury AA. Long-term efficacy of denture cleansers in preventing *Candida* spp. biofilm recolonization on liner surface. *Braz Oral Res.* 2010;24(3):342-8.
122. Yilmaz H, Aydin C, Bal BT, Özçelik B. Effects of disinfectants on resilient denture-lining materials contaminated with *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sobrinus*, and *Candida albicans*. *Quintessence Int.* 2005;36(5):373-81.
123. Yiu CK, King NM, Pashley DH, Suh BI, Carvalho RM, Carrilho MR, Tay FR. Effect of resin hydrophilicity and water storage on resin strength. *Biomaterials.* 2004;25(26):5789-96.
124. Yueh MF, Tukey RH. Triclosan: A Widespread Environmental Toxicant with Many Biological Effects. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2016;56:251-72.



Folha de Informação

Em consonância com a Resolução CoCEx-CoG nº 7.497/2018, informamos que a Comissão de Graduação da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FORP/USP) em sua 531ª Reunião Ordinária, realizada em 03 de junho de 2024, **aprovou**, fundamentando-se na sugestão da Subcomissão para Avaliação dos Trabalhos de Conclusão de Curso (TCCs) da Unidade, **a inclusão deste trabalho na Biblioteca Digital de Trabalhos Acadêmicos da USP (BDTA).**

Cumpre-nos destacar que a disponibilização deste trabalho na BDTA foi autorizada pelos autores (estudante e docente orientador), conforme menção constante no trabalho e documentação existente no Serviço de Graduação da FORP.

Ribeirão Preto, 03 de junho de 2024.

Prof. Dr. Michel Reis Messoria
Presidente da Comissão de Graduação
FORP/USP