

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
CAMPUS AVANÇADO GOVERNADOR VALADARES
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA VIDA**

Amanda Pinho Souza

**Efeito das nanopartículas de quitosana nas propriedades físicas
de superfície da resina acrílica após desinfecção química**

Governador Valadares

2021

Amanda Pinho Souza

**Efeito das nanopartículas de quitosana nas propriedades físicas
de superfície da resina acrílica após desinfecção química**

Monografia apresentada ao Departamento de Odontologia, da Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Governador Valadares, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Odontologia.

Orientadora: Prof^a. Dra. Fabíola Galbiatti de Carvalho Carlo

Governador Valadares

2021

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Souza, Amanda Pinho.

Efeito das nanopartículas de quitosana nas propriedades físicas de superfície da resina acrílica após desinfecção química / Amanda Pinho Souza. -- 2021.

31 f. : il.

Orientadora: Fabíola Galbiatti de Carvalho Carlo
Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Avançado de Governador Valadares, Faculdade de Odontologia, 2021.

1. Nanopartículas. 2. Quitosana. 3. Resina acrílica. 4. Prótese dentária. 5. Desinfecção. I. Carlo, Fabíola Galbiatti de Carvalho, orient. II. Título.

Amanda Pinho Souza

Efeito das nanopartículas de quitosana nas propriedades físicas de superfície da resina acrílica após desinfecção química

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Departamento de Odontologia, do Instituto de Ciências da Vida, da Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Governador Valadares, como requisito parcial à obtenção do grau de bacharel em Odontologia.

Aprovada em 23 de junho de 2021

BANCA EXAMINADORA

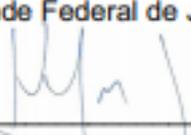


Profa. Fabíola Galbiatti de Carvalho Carlo - Orientador(a)
Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Governador Valadares

Fabiola Galbiatti de C. Carlo por Taís Chaves Magalhães



Mestranda Taís Chaves Magalhães
Universidade Federal de Juiz de Fora



Prof. Hugo-Lemes Carlo

Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Governador Valadares

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus, por ser meu sustento em todo o tempo e em todas as situações, me mostrando que os planos dele são sempre melhores do que os meus. “O coração do homem traça o seu caminho, mas o Senhor Ihe dirige os passos” Provérbios 16:9.

Agradeço aos meus pais por me permitirem seguir o meu caminho e pelas oportunidades proporcionadas para que eu pudesse ter uma formação acadêmica, sem vocês isso não seria possível! Todo o esforço valeu a pena!

Ao meu irmão Vitor, que me inspira com sua determinação a ser uma pessoa melhor, espero sempre ser uma referência pra você!

Ao meu esposo Cássio, que nunca mediu esforços para me incentivar a ir além e por acreditar no meu potencial, agradeço por todo amor e dedicação.

À minha orientadora Fabíola por sua paciência, confiança e por estar sempre disponível para ensinar, obrigada por exercer com excelência sua profissão e me influenciar a ser como você.

À minha colega de pesquisa Lilian, agradeço por toda ajuda e por seu tempo aplicado a essa pesquisa.

As minhas amigas de faculdade que se estenderam a minha vida pessoal, Ackilla e Inara, obrigada por estarem ao meu lado compartilhando dos meus sonhos e minhas conquistas.

Aos demais professores do curso de odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora – campus Governador Valadares que por meio dos seus conhecimentos contribuíram para a minha formação profissional, muito obrigada!

RESUMO

Introdução: As nanopartículas de quitosana possuem propriedades antifúngicas que possibilitam a sua aplicação como inibidor da formação de biofilme sobre próteses dentárias. Alguns agentes desinfetantes utilizados no mercado podem causar alteração nas propriedades físicas da resina acrílica. **Objetivo:** Avaliar o efeito da suspensão de nanopartículas de quitosana (ChNPs) na rugosidade e estabilidade de cor de superfície da resina acrílica termopolimerizável, quando utilizados como desinfetante de prótese dental. **Metodologia:** Vinte amostras de resina acrílica foram confeccionadas (4 x 2mm). Foram formados quatro grupos (n=5), de acordo com o agente desinfetante: 1- Hipoclorito de sódio a 0,5% (controle positivo); 2- Suspensão de ChNPs; 3- Solução de Quitosana; 4- Água destilada (controle negativo). Os agentes desinfetantes foram aplicados na superfície das amostras, de acordo com cada grupo, por 20 minutos, uma vez ao dia, durante 30 dias; permanecendo em água destilada no restante do período. As medidas de rugosidade de superfície (Ra) e de estabilidade de cor (ΔE - método CIE $L^*a^*b^*$) foram realizadas no período inicial (antes da primeira aplicação) e após 30 dias. Os dados foram analisados pelo teste T Student e Anova one-way ($\alpha= 0,05$). **Resultados:** As amostras de resina acrílica não apresentaram alteração de rugosidade, em 30 dias, comparando o período inicial e final, após aplicação das soluções dos grupos ChNPs ($0,08 \pm 0,03$) e água destilada ($0,09 \pm 0,03$). Os grupos quitosana ($0,08 \pm 0,02$) e hipoclorito ($0,17 \pm 0,10$) apresentaram aumento significativo de rugosidade quando comparado o período inicial e final, sendo que o grupo hipoclorito apresentou o maior valor de Ra. Todos os grupos apresentaram alteração de cor após aplicação das soluções (Hipoclorito=5,3; ChNPs= 6,3; Quitosana=5,9; Água= 4,9), sem diferença estatística entre eles. Pode-se concluir que o uso da suspensão de ChNPs como agente desinfetante da resina acrílica não alterou a rugosidade e causou alteração de cor, a qual não diferiu dos outros agentes investigados.

Palavras-chave: Nanopartículas, Quitosana, Resina acrílica, Prótese dentária, Desinfecção.

ABSTRACT

Introduction: Chitosan nanoparticles have antifungal properties that allow their application as an inhibitor of biofilm formation on dental prostheses. Some disinfectant agents commercially used can cause changes in the physical properties of the acrylic resin. **Objective:** To evaluate the effect of chitosan nanoparticles (ChNPs) suspension on the surface roughness and color stability of thermopolymerizable acrylic resin, when used as a dental denture disinfectant. **Methodology:** Twenty samples of acrylic resin were made (4 x 2mm). Four groups were formed (n=5), according to the disinfectant agent: 1- 0.5% sodium hypochlorite (positive control); 2- Suspension of ChNPs; 3- Chitosan Solution; 4- Distilled water (negative control). Disinfectant agents were applied to the surface of the samples, according to each group, for 20 minutes, once a day, for 30 days; remaining in distilled water for the remainder of the period. Surface roughness (Ra) and color stability measurements (ΔE - CIE L*a*b* method) were performed in the initial period (before the first application) and after 30 days. Data were analyzed using the Student t test and one-way Anova ($\alpha= 0,05$). **Results:** The acrylic resin samples showed no change in roughness in 30 days, comparing the initial and final period, after application of the solutions of the groups ChNPs (0.08 ± 0.03) and distilled water ($0.09 \pm 0, 03$). The chitosan (0.08 ± 0.02) and hypochlorite (0.17 ± 0.10) groups showed a significant increase in roughness when compared to the initial and final period, and the hypochlorite group had the highest Ra value. All groups showed color change after application of the solutions (Hypochlorite=5.3; ChNPs=6.3; Chitosan=5.9; Water=4.9), with no statistical difference between them. It can be concluded that the use of ChNPs suspension as a disinfectant agent for acrylic resin did not change the roughness and caused color change, which did not differ from other investigated agents.

Keywords: Nanoparticles, Chitosan, Acrylic resin, Dental prosthesis, Disinfection.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
2	OBJETIVOS	11
3	MATERIAIS E MÉTODOS	12
3.1	Preparo das amostras	12
3.2	Preparo da suspensão de nanopartículas de quitosana	12
3.3	Aplicação das soluções desinfetantes e grupos do estudo	14
3.4	Análise de rugosidade de superfície e estabilidade de cor	16
3.5	Análise estatística	18
4	RESULTADOS	19
5	DISCUSSÃO	21
6	CONCLUSÃO	26
	REFERÊNCIAS	27

1 INTRODUÇÃO

A estomatite protética é caracterizada por lesão inflamatória da mucosa de suporte da prótese, resultando em uma área eritematosa na região afetada. A etiologia da doença é multifatorial, associada tanto a fatores sistêmicos como locais, principalmente: trauma na mucosa por má adaptação da prótese, próteses antigas, doenças sistêmicas e pobre higiene, de modo que aproximadamente 15% a 70% dos pacientes usuários de próteses são acometidos (Felton et al., 2011; Heidrich et al., 2018; Namangkalakul et al., 2019). Apesar da etiologia multifatorial, já foi demonstrado que *Candida albicans* e outras espécies de fungos e bactérias encontrados no biofilme foram consideradas importantes agentes para instalação, manutenção e exacerbação desta doença (Felton et al., 2011; Skupien et al., 2013; Heidrich et al., 2018).

Nesse contexto, o tratamento da estomatite protética envolve a orientação da higienização das próteses e da cavidade bucal, a remoção de um possível fator irritante (próteses dentárias mal adaptadas e insatisfatórias), o uso de antifúngicos e a confecção de uma nova prótese. Os métodos mecânicos (escovação) e químicos são frequentemente aconselhados para a higiene das próteses dentárias para evitar colonização de micro-organismos, devido às irregularidades e poros da superfície do material (Yildirim-Bicer et al., 2014; Pawashe et al., 2017), de modo que a associação do método químico ao mecânico tem mostrado maior efetividade na limpeza e descontaminação da prótese (Kawasaki et al., 2016).

Os métodos químicos incluem a imersão da prótese em soluções contendo peróxidos alcalinos, hipoclorito de sódio, enzimas, ácidos e enxaguatórios bucais (Yildirim-Bicer et al., 2014; Pawashe et al., 2017). Entretanto, estudos prévios demonstraram que a imersão da prótese em soluções de desinfecção pode ocasionar mudanças nas propriedades físicas e mecânicas da resina acrílica, principalmente os desinfetantes a base de peróxidos e hipoclorito de sódio (Felton et al., 2011; Panariello et al., 2015; Heidrich et al., 2018). Desta forma, a busca por produtos alternativos que possuam potencial antimicrobiano, fácil uso, custo acessível, não sejam tóxicos e não alterem as propriedades do material também se torna relevante.

A quitina é um biopolímero linear de unidades de N-acetilglicosamina ligadas por união glicosídicas β -(1-4) presente nos exoesqueletos da maioria dos

crustáceos, sendo considerado o segundo maior biopolímero disponível na natureza (Dash et al., 2011). A parcial desacetilação alcalina da quitina resulta na quitosana, a qual é um polissacarídeo composto de unidades de glicosamina (2-amino-2-deoxi-D-glicopirranose) e N-acetilglicosamina (2-acetamido-2-deoxi-D-glicopirranose) ligados por união glicosídica β -(1-4) (Kong et al., 2010). A quitosana possui propriedades biológicas interessantes, incluindo biocompatibilidade e biodegradabilidade em produtos não tóxicos e fisiologicamente inertes; e atividades hemostática, fungistática, antibacteriana e antitumoral (Kong et al., 2010). Essas propriedades proporcionam à aplicação da quitosana em diversas áreas do conhecimento, principalmente na odontologia.

A maioria dos estudos que investigaram a ação da quitosana na cavidade bucal mostraram efeito antimicrobiano, principalmente contra *Streptococcus mutans* e *Candida albicans* (Ing et al., 2012; Peña et al., 2013; de Carvalho et al., 2019). Como a quitosana é um dos biopolímeros mais usados na síntese de nanopartículas e as mesmas possuem um grande potencial para liberação de agentes terapêuticos na cavidade bucal (de Carvalho et al., 2019), estudos foram conduzidos e demonstraram que as nanopartículas de quitosana possuem maior capacidade de absorção e adesão a estrutura dentária comparada à solução de quitosana (Liu et al., 2007) e maior inibição de fungos e potencial de penetrar no interior do biofilme devido as dimensões nanométricas (Ing et al., 2012).

As nanopartículas de quitosana podem ser sintetizadas por geleificação iônica (Calvo et al., 1997). Este processo promove a formação de nanopartículas por meio de interações eletrostáticas entre as cadeias de quitosana carregadas positivamente e poliânions utilizados como agentes de reticulação, como o tripolifosfato de sódio (TPP). O TPP tem sido bastante utilizado porque não é tóxico, possui rápida capacidade de geleificação e interage com a quitosana em um método rápido e simples (Ing et al., 2012).

O estudo de Gondim et al., em 2018, demonstrou o potencial das nanopartículas de quitosana em reduzir o biofilme de espécies de *Candida* na superfície de resina acrílica termopolimerizável com o tempo de 8h de exposição, além de possuir menor alteração de dureza e rugosidade de superfície comparada ao hipoclorito de sódio, principal agente utilizado para desinfecção de prótese dentária. Porém, não foi analisada a alteração de cor dos agentes desinfetantes na resina acrílica. Além disso, a literatura mostra que tempos menores que 8 h de

exposição aos agentes desinfetantes poderiam ocasionar menor alteração das propriedades físico-mecânicas das resinas acrílicas, principalmente da rugosidade de superfície, a qual é intimamente relacionada ao acúmulo de biofilme na superfície (Izumida et al., 2011; Panariello et al., 2015; Muscat et al., 2016; Badaró et al., 2017).

Desta forma, este estudo objetivou investigar o efeito da suspensão de nanopartículas de quitosana na rugosidade e estabilidade de cor de superfície da resina acrílica termopolimerizável, investigado o tempo de exposição de 20 min dos agentes desinfetantes ao material.

2 OBJETIVOS

Avaliar o efeito da suspensão de nanopartículas de quitosana na rugosidade e estabilidade de cor de superfície da resina acrílica termopolimerizável, com tempo de exposição de 20 min dos agentes desinfetantes ao material durante 30 dias.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Preparo das amostras

Vinte cilindros de resina acrílica termopolimerizável (Vipi Wave; VIPI, Pirassununga, SP, Brasil) foram confeccionados por padrões de cera com as mesmas dimensões (4 x 2 mm). O padrão de cera foi incluído em mufla de fibra de vidro e gesso pedra tipo III (Herodent, Vigodent S/A Ind. Com, Rio de Janeiro, Brasil) e silicone de condensação consistência densa (Zetalabor, Zermack, S.p.A., Labordental Ltda, São Paulo, SP, Brasil). Em seguida, as metades da mufla foram separadas e a cera foi removida com água fervente. Uma camada de película separadora de acrílico (Cel-Lac; S.S. White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) foi aplicada na superfície do gesso pedra. A resina acrílica termopolimerizada foi misturada de acordo com as instruções do fabricante e inserida no modelo de gesso. Uma prensa hidráulica (PM 2000, Nova Techno, Várzea Paulista, SP, Brasil) foi utilizada para compactação da resina a 1250 kgf, mantida por 30 min. As amostras foram polimerizadas em um microondas com 900 W com 20 min a 20% da potência e 5 min com 60% da potência, de acordo com as instruções do fabricante. Em seguida, as amostras foram retiradas dos frascos e submetidas ao acabamento com broca de tungstênio (1508 Edenta AG, Haupistrasse, Suíça) e polimento com lixas d'água (granulação 220, 330, 600 e 1200) sob refrigeração, e disco de feltro embebido em pasta de pedra-pomes (Figura 1).



Figura 1 – Amostras de resina acrílica utilizadas na pesquisa

3.2 Preparo da suspensão de nanopartículas de quitosana

Para a síntese da suspensão de nanopartículas de quitosana (ChNPs) foi utilizada a quitosana de baixo peso molecular (107 kDa, 75-85% grau de

desacetilação) (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA). Foi dissolvido 150mg de quitosana em solução de ácido acético 1% m/v (Química Moderna, Barueri, São Paulo, Brasil), na concentração de 5 mg/mL, e mantida sob agitação com agitador magnético por 24h, em temperatura ambiente. Foram preparadas 30 mL de quitosana, quantidade necessária para os primeiros 15 dias de desinfecção, este processo foi repetido após duas semanas para completar os 30 dias de experimento. Dessas 30 mL de solução, 15 mL foram utilizados para preparar a suspensão de nanopartículas de quitosana. A suspensão de nanopartículas de quitosana foi obtida pelo método de geleificação iônica com ânions tripolifosfato de sódio (TPP), como descrito no estudo de Calvo et al., 1997, utilizando bomba de infusão com gotejamento de 4,5 ml da solução de TPP (2,4 mg/mL) na solução de quitosana de (60 mL/h) (Figura 2). A concentração final da suspensão de ChNPs foi de 4,4 mg/mL, e a formação de nanopartículas é visualizada pela turbidez da solução com o gotejamento do TPP (Calvo et al., 1997) (Figura 3).



Figura 2 - Preparo da solução de Tripolifosfato de Sódio (TPP - 2,4 mg/mL), e gotejamento com bomba de infusão (60 mL/h)

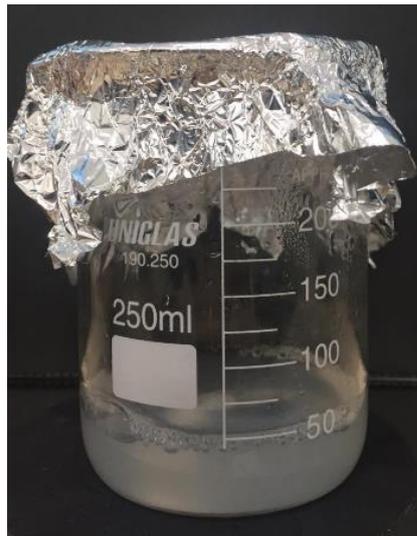


Figura 3 - Suspensão de Nanopartículas de Quitosana (ChNPs) – 4,4 mg/mL. Suspensão “turva” demonstrando a formação de nanopartículas.

A caracterização das nanopartículas, como tamanho das mesmas, foi realizada por nosso grupo de pesquisa em outro trabalho publicado (de Carvalho et al., 2019).

3.3 Aplicação das soluções desinfetantes e grupos do estudo

Quatro grupos (n=5) foram formados de acordo com as soluções desinfetantes aplicadas na superfície das amostras (Figura 4):

- 1 - Hipoclorito de sódio a 0,5% - fabricado e distribuído por: Asfer indústria química Ltda, São Caetano do Sul, São Paulo, Brasil (controle positivo);
- 2- Suspensão de ChNPs 4,4 mg/mL;
- 3- Quitosana 5 mg/mL;
- 4- Água destilada (controle negativo).



Figura 4 – Grupos do estudo de acordo com as soluções desinfetantes aplicadas nas amostras: Hipoclorito 0,5%; Suspensão de nanopartículas de quitosana 4,4 mg/mL; Quitosana 5 mg/mL e água destilada.

Para a aplicação das soluções desinfetantes, as amostras foram colocadas individualmente em um compartimento plástico com tampa (Figura 5). Os agentes desinfetantes foram aplicados uma vez ao dia, com auxílio de uma pipeta depositando 170 μ L, quantidade exata para cobrir toda a extensão da superfície da amostra (Figura 6), permanecendo sobre esta por 20 minutos (Badaró et al., 2017). Após os 20 minutos, as amostras foram retiradas do compartimento para serem lavadas com água destilada, e logo após, retornaram para o compartimento plástico onde foram imersas em 15 mL de água destilada durante o período que não estavam em contato com os agentes desinfetantes. Esses procedimentos foram realizados durante 30 dias. Depois desse período as amostras foram secas para análise de rugosidade de superfície e estabilidade de cor.

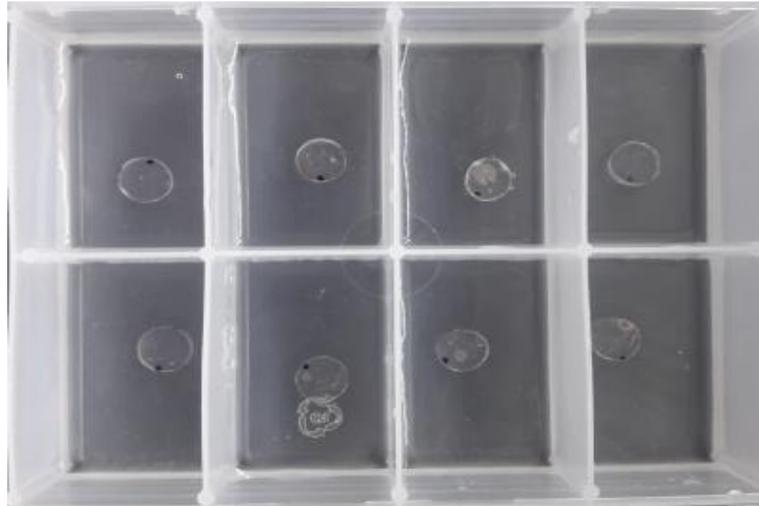


Figura 5 – Amostras em compartimento plástico.

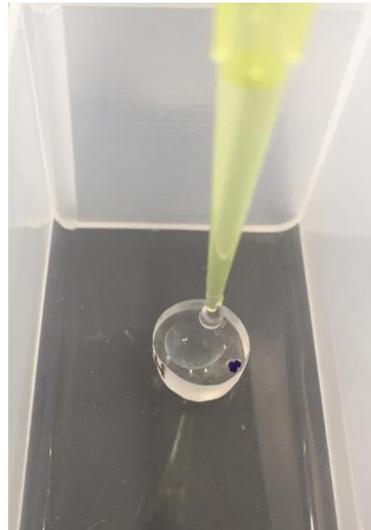


Figura 6 – Aplicação do agente desinfetante, com auxílio da pipeta, na superfície da amostra.

3.4 Análise de rugosidade de superfície e estabilidade de cor

As medidas de rugosidade de superfície (R_a) e estabilidade de cor (ΔE^*) foram realizadas antes da primeira aplicação dos agentes – medida inicial - e após 30 dias.

As medidas de rugosidade de superfície foram realizadas em rugosímetro (TR200, Digimess, São Paulo, SP, Brasil), com velocidade constante de 0,05 mm/s com força de 0,7 m/N e valor cutoff fixo a 0,8 mm no filtro de Gauss. Três leituras foram realizadas em cada amostra para obtenção do valor médio (Figura 7).



Figura 7 – Medida de rugosidade superficial da amostra em rugosímetro (TR200, Digimess, São Paulo, SP, Brasil)

As análises de estabilidade de cor foram realizadas em espectrofotômetro digital (Easyshade Advance 4.0 Vita, VITA Zahnfabrik, Alemanha) pelo método CIE $L^*a^*b^*$ (Figura 8). Para isso, as amostras foram posicionadas sobre papel *kraft* de cor parda para padronizar a cor do fundo para a análise de cor, devido as amostras terem sido confeccionadas em resina acrílica de cor transparente. A estabilidade de cor foi avaliada pela diferença de cor total (ΔE^*) entre as amostras, calculada por: $\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$, onde o parâmetro ΔL^* representa a variação de luminosidade, o Δa^* representa a variação verde-vermelho (-a = verde; +a = vermelho) e o Δb^* denota a variação azul-amarelo (-b = azul; + b = amarelo) (Panariello et al., 2015).

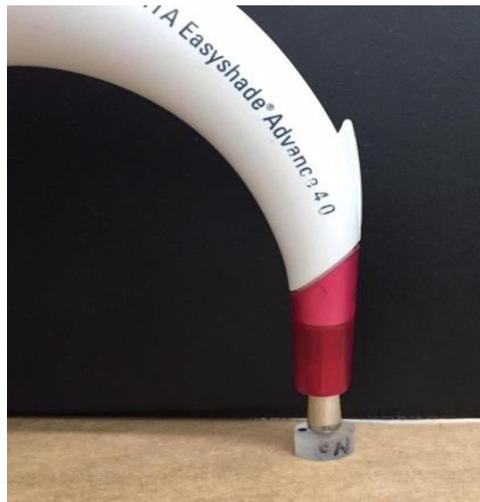


Figura 8 – Análise de estabilidade de cor na superfície da amostra realizada em espectrofotômetro digital (Easyshade Advance 4.0 Vita, VITA Zahnfabrik, Alemanha).

3.5 Análise estatística

Os dados foram analisados quanto a normalidade dos dados pelo teste de Kolmogorov–Smirnov. Após, foram submetidos aos testes One-Way ANOVA e Tukey para comparação da Ra e ΔE^* entre os agentes desinfetantes em cada período experimental e o teste T- Student foi utilizado para análise da Ra e ΔE^* entre os períodos experimentais (início e após 30 dias) para cada agente. O nível de significância foi 0,05.

4 RESULTADOS

Os resultados de rugosidade são apresentados na Tabela 1. No período inicial não houve diferença estatística nos valores de Ra entre os agentes desinfetantes. Após 30 dias, o grupo de hipoclorito de sódio 0,5% apresentou maiores valores de Ra comparado aos outros grupos, e não houve diferença significativa entre os grupos ChNPs, Quitosana e Controle.

Ao se comparar o efeito da aplicação do agente desinfetante no período inicial e após 30 dias dentro de cada grupo, os grupos Hipoclorito de Sódio 0,5% e Quitosana apresentaram aumento significativo dos valores de Ra. Já, os grupos ChNPs e Controle não apresentaram diferença estatística nos valores de Ra entre os períodos inicial e 30 dias (Tabela 1).

Tabela 1. Valores da rugosidade de superfície (Ra) das amostras de resina acrílica inicial e após 30 dias de desinfecção química com os agentes desinfetantes investigados. Valores descritos em μm (média \pm desvio padrão).

Valores de rugosidade (Ra)		
	INICIAL	30 DIAS
ChNPs (4,4 mg/mL)	0,06 \pm 0,04 ^{A,a *}	0,08 \pm 0,03 ^{A**, b}
Hipoclorito de Sódio (0,5%)	0,07 \pm 0,03 ^{A,a}	0,17 \pm 0,10 ^{B, a}
Quitosana (5 mg/mL)	0,04 \pm 0,01 ^{A,a}	0,08 \pm 0,02 ^{B, b}
Água Destilada (controle)	0,09 \pm 0,03 ^{A,a}	0,09 \pm 0,03 ^{A, b}

**Letras maiúsculas iguais significam que não houve diferença estatística nos valores de Ra para cada agente desinfetante entre os períodos experimentais (inicial e 30 dias) (Teste T student, $p > 0,05$). * Letras minúsculas iguais significam que não houve diferença estatística nos valores de Ra entre os agentes dentro de cada período do estudo (inicial e 30 dias) (Anova e Tukey, $p > 0,05$)

Os resultados de alteração de cor são apresentados na Tabela 2. Após 30 dias não houve diferença na alteração de cor entre os agentes desinfetantes testados.

Tabela 2. Valores de alteração de cor (ΔE) da superfície das amostras de resina acrílica após 30 dias de desinfecção química com os agentes desinfetantes investigados. Valores descritos como média \pm desvio padrão.

Valores de alteração de cor (ΔE)	
ChNPs (4,4 mg/mL)	6,3 \pm 1,6 ^{A*}
Hipoclorito de Sódio (0,5%)	5,3 \pm 1,9 ^A
Quitosana (5 mg/mL)	5,9 \pm 1,1 ^A
Água Destilada (controle)	4,9 \pm 0,8 ^A

* Letras maiúsculas iguais significam que não houve diferença estatística nos valores de ΔE entre os agentes desinfetantes após 30 dias de desinfecção química (Anova e Tukey, $p > 0,05$)

5 DISCUSSÃO

A higienização eficaz de próteses é de extrema importância, uma vez que a falta da mesma pode resultar em acúmulo de biofilme e proliferação de bactérias, podendo causar infecções recorrentes no indivíduo (Pawashe et al., 2017). Essa higienização pode ser feita com o auxílio de uma solução desinfetante, onde a prótese possa ser imersa diariamente, além de ser escovada com escova dentária ou limpador de prótese eficaz e não abrasivo para proteger suas propriedades (Yildirim-Bicer et al., 2014; Kawasaki et al., 2016). Neste estudo para higiene da base de prótese foi realizada somente a desinfecção química, sem associar com a higiene mecânica, pois o objetivo era avaliar o efeito isolado dos agentes desinfetantes testados na superfície da resina acrílica termopolimerizável, já que se trata de um agente experimental – suspensão de nanopartículas de quitosana.

Desta forma, a finalidade de imergir a base de prótese em um agente desinfetante é para remover qualquer biofilme e descontaminar a superfície, diminuindo o número de micro-organismos, como também tentar prevenir a recolonização de patógenos. No entanto, o agente desinfetante não deve afetar as propriedades físicas e mecânicas da base da prótese e dentes artificiais (Porta et al., 2013) levando em consideração o longo período de uso desses produtos. Além disso, os usuários de próteses geralmente possuem capacidade motora limitada, já que sua grande maioria são da terceira idade, e por este motivo a escovação pode ser de difícil realização (Yildirim-Bicer et al., 2014). Sendo assim, os agentes desinfetantes que possuam efetividade na eliminação dos micro-organismos são de grande importância para higiene das próteses.

O tempo de 20 minutos de aplicação dos agentes desinfetantes como protocolo de rotina para desinfecção de próteses foi usado neste estudo para analisar a eficácia dos agentes em um tempo de aplicação reduzido (menor que 8 h), visto que este é um requisito importante para agentes desinfetantes de próteses (Arruda et al., 2018). A curta imersão diária em soluções da prótese é indicada para uso doméstico, por ser um método de higiene simples.

O agente desinfetante mais usado e indicado é o hipoclorito de sódio 0,5% (Gondim et al., 2018) visto que ele cumpre bem a função de eliminar bactérias e fungos, além de possuir custo acessível. Porém, possui as desvantagens de apresentar gosto desagradável, aumento da rugosidade de superfície da resina

acrílica e, a longo prazo, a alteração da cor da prótese (Pisani et al., 2010; Paranhos et al., 2013; Badaró et al., 2017).

Clinicamente, a variação da rugosidade de superfície da resina é uma alteração importante, pois o aumento da rugosidade tem demonstrado grande influência na adesão e formação de biofilme de *Candida* spp (Gondim et al., 2018), o que pode resultar em acréscimo da probabilidade do usuário de prótese ter infecção no palato (estomatite protética, principalmente), pela retenção de micro-organismos (Panariello et al., 2015). Além disso, com superfícies mais rugosas, ocorre a retenção de mais micro-organismos, aumentando a probabilidade destes permanecerem na superfície após a prótese ter passado por higienização de rotina (Badaró et al., 2017). Por isso também se ressalta a importância do polimento adequado das próteses e da limpeza minuciosa, utilizando uma combinação de métodos mecânicos e químicos adequados que não causem aumento da rugosidade e exibam atividade antimicrobiana (Badaró et al., 2017).

No presente estudo, após 30 dias de aplicação de hipoclorito de sódio 0,5%, houve aumento significativo de rugosidade de superfície comparado aos outros grupos testados (Tabela 1). De acordo com a literatura, outros estudos também encontraram aumento de rugosidade em resina termopolimerizável com o uso de hipoclorito de sódio 0,5% (Neppelenbroek et al., 2005; Pisani et al., 2010; Paranhos et al., 2013; Badaró et al., 2017; Gondim et al., 2018).

Apesar do hipoclorito de sódio demonstrar excelentes propriedades de limpeza, estudos afirmam que a imersão de próteses neste desinfetante pode degradar os componentes da resina acrílica, dependendo da concentração e do tempo de imersão (Porta et al., 2013; Paranhos et al., 2013; Badaró et al., 2017). O hipoclorito de sódio pode ser utilizado em diferentes concentrações, mas as concentrações de 1% e 0,5%, são as mais eficazes contra micro-organismos e biofilme formados nas bases de próteses (Badaró et al., 2017). Como o hipoclorito de sódio é uma substância oxidante e corrosiva, espera-se que sua ação seja intensificada em concentrações mais elevadas, causando alterações na superfície por oxidação de compostos orgânicos como a resina acrílica (Badaró et al., 2017).

Esses dados ainda indicam a importância da concentração do hipoclorito e do tempo de imersão do agente desinfetante para que seja considerada segura a sua indicação (Arruda et al., 2018).

Os resultados de rugosidade de superfície também mostraram que os grupos Hipoclorito de sódio 0,5% e Quitosana foram os únicos que apresentaram aumento dos valores de Ra entre os períodos inicial e 30 dias (Tabela 1). Provavelmente o aumento de rugosidade constatado para o grupo Hipoclorito de sódio 0,5% se deve as explicações mencionadas acima entre o efeito do agente desinfetante e o material.

O aumento de rugosidade em resina acrílica termopolimerizável no grupo quitosana é um dado novo na literatura, pode ser devido ao pH da solução. O pH da quitosana no nosso estudo foi de 6.05, e pode ter contribuído para o amolecimento da superfície da resina acrílica (Gondim et al., 2018). O pH da quitosana inicialmente era 3.76, porém foi acrescentado hidróxido de sódio na solução com a intenção de apumentar o pH dessa solução para se aproximar do caráter básico do hipoclorito de sódio 0,5% (pH 11.55) usado no estudo, já a suspensão de ChNPs ficou com o pH no valor de 6.81. No entanto, o pH ácido da quitosana é necessário, porque a atividade antimicrobiana da quitosana e seus derivados é exibida apenas quando o pH está abaixo do respectivo pKa, valor no qual a molécula solúvel poderia ser desassociada como íons na solução (Dash et al., 2011). A presença dos grupos amino na quitosana indica que o pH altera substancialmente o estado carregado e as suas propriedades, pois em pH baixo, a amina torna-se protonada e carregada positivamente, o que torna a quitosana um polieletrólito catiônico solúvel em água. Por outro lado, conforme o pH aumenta acima de 6, as aminas da quitosana se tornam desprotonadas e o polímero perde sua carga e se torna insolúvel. A transição solúvel-insolúvel ocorre em seu valor de pKa em torno de pH entre 6 e 6,5. Como o valor de pKa é altamente dependente do grau de desacetilação, a solubilidade da quitosana depende do método de desacetilação usado (Dash et al., 2011). Entretanto, outros estudos precisam ser realizados para confirmar o aumento de rugosidade causado pela quitosana em resina acrílica termopolimerizável.

A suspensão de nanopartículas de quitosana (ChNPs) foi sintetizada por gelificação iônica com o tripolifosfato de sódio (TPP), um método fácil e rápido de ser realizado, no qual a formação de nanopartículas ocorre espontaneamente por meio da interação eletrostática entre o grupo amino carregado positivamente da quitosana e polianions carregados negativamente do TPP (Ing et al., 2012). No presente estudo, as ChNPs não causaram alteração na rugosidade da superfície da resina acrílica após os 30 dias de aplicação, e nem entre o período inicial e final do

experimento (Tabela 1). O estudo de Gondim et al., 2018 mostrou que as ChNPs apresentaram menor alteração de Ra comparado ao Hipoclorito de sódio 1%, estando de acordo com nossos resultados. No entanto, não existem dados na literatura que expliquem a ausência de aumento de Ra com a aplicação de ChNPs na superfície da resina acrílica termopolimerizável. Este resultado é relevante pois pode indicar a possibilidade de utilização desta suspensão de forma eficaz como desinfetante de prótese, já que evita a ocorrência de efeitos adversos na resina acrílica e possui efeito antifúngico (Gondim et al., 2018). Uma hipótese para esse resultado seria a presença de nanopartículas do agente poder penetrar nas porosidades e irregularidades do material e prevenir o aumento da rugosidade, já que as ChNPs podem apresentar em torno de 80 nm (dados não publicados) e possuem capacidade de penetrar no interior do biofilme devido as suas dimensões nanométricas (Ing et al., 2012).

Apesar da variação de Ra encontrada para todos os grupos, de acordo com Zissis et al, em 2000, valores abaixo de 0,2 μm são clinicamente aceitáveis para resina acrílica de base de prótese, pois é o valor limite para acúmulo de biofilme. Além disso, um fator importante a ser destacado é que as ChNPs tem biocompatibilidade com os tecidos de suporte das próteses (Dash et al., 2011), sendo que o hipoclorito de sódio pode apresentar citotoxicidade e efeito residual na mucosa, podendo causar irritação em pacientes sensíveis (Alkahtani et al., 2014).

Com relação a alteração de cor, os resultados do presente estudo mostraram que a aplicação dos agentes desinfetantes por 20 minutos diários durante 30 dias consecutivos causaram alteração de cor nos espécimes de resina acrílica para todos os grupos, porém sem significância estatística entre eles (Tabela 2). Esse resultado seria preocupante na clínica, pois poderia indicar que todos os agentes, em função do tempo, podem alterar a cor do material. Muitos fatores podem contribuir para alteração de cor das resinas termopolimerizáveis, como: acúmulo de pigmentos, absorção de água, dissolução de componentes e rugosidade de superfície (Zoidis et al., 2019). Não existem dados na literatura que mostrem o efeito de ChNPs e Quitosana na alteração de cor da resina acrílica usada para base de prótese, sendo necessário outros estudos para comprovarem o resultado obtido.

Os resultados revelaram que a aplicação de ChNPs, por 20 minutos diários, em resina acrílica termopolimerizável usada para base de prótese como agente desinfetante é eficaz para preservar a rugosidade da resina. Sugerindo sua possível

indicação como alternativa para a higiene da prótese, de forma a ser usado como um protocolo diário de limpeza simples e eficaz (Arruda et al., 2018), podendo ser uma alternativa ao hipoclorito de sódio 0,5%. Porém, nosso estudo apresenta limitações que devem ser investigadas em futuras pesquisas para indicação clínica de ChNPs como agente desinfetante de base de prótese, como: 1) a associação da desinfecção química com a mecânica para higiene da base de prótese; 2) a avaliação de outros testes mecânicos (por ex. dureza superficial e resistência flexural); 3) associação dos efeitos do agente desinfetante em ensaios de biofilme multiespécies.

6 CONCLUSÃO

A solução experimental de suspensão de nanopartículas de quitosana sintetizada neste estudo mostrou um bom potencial de aplicação para desinfecção de próteses, uma vez que não alterou a rugosidade de superfície. O uso da suspensão de ChNPs causou alteração de cor, a qual não diferiu dos outros compostos investigados. Esses resultados são relevantes, pois indicam a possibilidade de utilização de um agente desinfetante eficaz em um curto tempo de imersão, evitando a ocorrência de efeitos adversos à resina acrílica.

REFERÊNCIAS

Alkahtani A, Alkahtany SM, Anil S. An *in vitro* evaluation of the cytotoxicity of varying concentrations of sodium hypochlorite on human mesenchymal stem cells. *J Contemp Dent Pract* 2014;15:473-81.

Arruda CNF, Salles MM, Badaró MM, Sorgini DB, Oliveira VC, Macedo AP et al. Evaluation of biofilm removal and adverse effects on acrylic resin by diluted concentrations of sodium hypochlorite and *Ricinus communis* solutions. *Gerodontology*. 2018; 00:1-8.

Badaró MM, Salles MM, Arruda CNF, Oliveira VC, Souza RF, Paranhos HFO, et al. *In Vitro* Analysis of Surface Roughness of Acrylic Resin Exposed to the Combined Hygiene Method of Brushing and Immersion in *Ricinus communis* and sodium hypochlorite. *J of Prosthodontics*. 2017; 26(6):516-521.

Calvo P, Remuñán-López C, Vila-Jato JL, Alonso MJ. Novel hydrophilic chitosan-polyethylene oxide nanoparticles as protein carriers. *J Appl Polym Sci*.1997; 63(1):125-132.

Dash M, Chiellini F, Ottenbrite RM, Chiellini E. Chitosan. A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. *Progress in Polymer Sci*. 2011; 36(8):981–1014.

de Carvalho FG, Magalhães TC, Teixeira NM, Gondim BLC, Carlo HL, Dos Santos RL, et al. Synthesis and characterization of TPP/chitosan nanoparticles: Colloidal mechanism of reaction and antifungal effect on *C. albicans* biofilm formation. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2019; Nov:104:109885.

Felton D, Cooper L, Duqum I, Minsley G, Guckes A, Haug S, et al. Evidence-Based Guidelines for the Care and Maintenance of Complete Dentures: A publication of the american college of prosthodontists. *J of Prosthodontics*. 2011; 20:S1–S12.

Gondim BLC, Castellano LRC, Castro RD, Machado G, Carlo HL, Valença AMG, et al. Effect of chitosan nanoparticles on the inhibition of *Candida spp.* biofilm on denture base surfasse. Archives of Oral Biology. 2018; 94:99-107.

Heidrich D, Fortes CBB, Mallmann AT, Vargas CM, Arndt PB, Scroferneker ML. Rosemary, Castor Oils, and Propolis Extract: activity against *Candida albicans* and alterations on properties of dental acrylic resins. J Prosthodont. 2018 Jan 11. doi: 10.1111/jopr.12746.

Ing LY, Zin NM, Sarwar A, Katas H. Antifungal activity of chitosan nanoparticles and correlation with their physical properties. Int J of Biomaterials. 2012; 1-9.

Izumida FE, Ribeiro RC, Giampaolo ET, Machado AL, Pavarina AC, Vergani CE. Effect of microwave disinfection on the surface roughness of three denture base resins after tooth brushing. Gerodontology. 2011 Dec;28(4):277-82.

Kawasaki K, Kamikawa Y, Sugihara K. *In vitro* and *in vivo* removal of oral *Candida* from the denture base. Gerodontology. 2016; Jun; 33(2):247-52.

Kong M, Chen XG, Xing K, Park HJ. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: a state of the art review. Int J Food Microbiol. 2010 Nov 15;144(1):51-63.

Liu H, Chen B, Mao Z, Gao C. Chitosan nanoparticles for loading of toothpaste actives and adhesion on tooth analogs. J Appl Polym Sci. 2007; 106:4248–56.

Muscat Y, Farrugia C, Camilleri L, Arias-Moliz MT, Valdramidis V, Camilleri J. Investigation of acrylic resin disinfection using chemicals and ultrasound. J Prosthodont. 2018 Jun; 27(5):461-468.

Namangkalakul W, Benjavongkulchai S, Pochana T, Promchai A, Satitviboon W, Howattanapanich S, et al. Activity of chitosan antifungal denture adhesive against

common *Candida* species and *Candida albicans* adherence on denture base acrylic resin. J prosthet dent. 2019; 123 (1):181.e1–181.e7.

Neppelenbroek, K. H., Pavarina, A. C., Vergani, C. E., & Giampaolo, E. T. Hardness of heat-polymerized acrylic resins after disinfection and long-term water immersion. J prosthet dent. 2005; 93(2), 171–176.

Panariello BH, Izumida FE, Moffa EB, Pavarina AC, Jorge JH, Giampaolo ET. Effects of shortterm immersion and brushing with different denture cleansers on the roughness, hardness, and color of two types of acrylic resin. Am J Dent. 2015 Jun;28(3):150-6.

Paranhos HFO, Davi LR, Peracini A, Soares RB, Lovato CH, Souza RF. Comparison of physical and mechanical properties of microwavopolymerized acrylic resin after disinfection in sodium hypochlorite solutions. Braz Dent J. 2009;20:331-5

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. Brazilian Dental Journal. 2013; 24(2): 152–156.

Pawashe KG, Tewary S, Sanyal PK, Nilesh K. An *in vitro* comparative evaluation of disinfectants on standard and clinical microbial strains on heat cure resins. J Clin Diagn Res. 2017 May;11(5):ZC54-8.

Peña A, Sánchez NS, Calahorra M. Effects of chitosan on *Candida albicans*: conditions for its antifungal activity. Biomed Res. 2013;2013:1-15.

Pisani MX, Silva CHL, Paranhos HFO, Souza RF, Macedo AP. The effect of experimental denture cleanser solution *Ricinus communis* on acrylic resin properties. Materials Research. 2010; 13(3): 369-73.

Porta SRS, Lucena-Ferreira SC, Silva WJ, Cury AADB. Evaluation of sodium hypochlorite as a denture cleanser: a clinical study. *Gerodontology*. 2013; 32(4):260-6.

Skupien JA, Valentini F, Boscato N, Pereira-Cenci T. Prevention and treatment of *Candida* colonization on denture liners: a systematic review. *J Prosthet Dent*. 2013 Nov;110(5):356-62.

Yildirim-Bicer AZ, Peker I, Akca G, Celik I. *In Vitro* antifungal evaluation of seven different disinfectants on acrylic resins. *Biomed Res Int*. 2014; 2014:519098.

Zissis AJ, Polyzois GL, Yannikakis SA, Harisson A. Roughness of denture materials: a comparative study. *Int J Prosthodont*. 2000;13:136-40.

Zoidis P, Polychronakis N, Lagouvardos P, Polyzois G, Ngo HC. Evaluation of a realistic cleansing protocol for preventing discoloration of denture resins. *J Prosthodont*. 2019; Jan;28(1):e89-e95.