



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO



TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**Efeito das soluções experimentais de quitosana e da  
pastilha efervescente na rugosidade da resina acrílica e da  
liga metálica de cobalto-cromo**

---

**Leonardo Xavier de Almeida**

Aluno de Graduação da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto

**Profa. Dra. Valéria Pagnano de Souza (Orientadora)**

Professora Associada do Departamento de Materiais Dentários e Prótese da Faculdade  
de Odontologia de Ribeirão Preto – USP

Ribeirão Preto  
2019

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>04</b>
<b>2</b>	<b>PROPOSIÇÃO.....</b>	<b>07</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODO .....</b>	<b>08</b>
<b>3.1</b>	<b>Delineamento Experimental.....</b>	<b>08</b>
<b>3.2</b>	<b>Preparo de Amostras.....</b>	<b>08</b>
<b>3.2.1</b>	<b>Espécimes Metálicos.....</b>	<b>08</b>
<b>3.2.2</b>	<b>Espécimes em Resina Acrílica.....</b>	<b>11</b>
<b>3.3</b>	<b>Preparo de Soluções.....</b>	<b>13</b>
<b>3.3.1</b>	<b>Solução de Quitosana.....</b>	<b>13</b>
<b>3.3.2</b>	<b>Solução de Quitosana nanoparticulada.....</b>	<b>13</b>
<b>3.4</b>	<b>Divisão de Grupos Experimentais.....</b>	<b>13</b>
<b>3.5</b>	<b>Imersão nas Soluções Higienizadoras.....</b>	<b>13</b>
<b>3.6</b>	<b>Ensaio de Rugosidade de Superfície.....</b>	<b>14</b>
<b>3.7</b>	<b>Análise Estatística.....</b>	<b>14</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>15</b>
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>16</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>18</b>
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>19</b>

## Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar *in vitro* os efeitos de soluções experimentais à base de quitosana e de pastilha efervescente na rugosidade de superfície da liga metálica de cobalto-cromo (Co-Cr) e da resina acrílica termopolimerizável. Para avaliação a amostra foi composta por 40 discos metálicos (14 mm x 3 mm), 40 espécimes retangulares (65,0 x 10,0 x 3,3 mm) em resina acrílica. Os espécimes foram distribuídos em 4 grupos de imersão: SQ – Solução sem quitosana (Água destilada pH 5); Q - Solução de quitosana 0,5%; QN – Solução de quitosana nanoparticulada 0,5% e PE – Pastilha efervescente. Os espécimes foram polidos e imersos nas soluções SQ, Q, QN e PE por 15 minutos, simulando 3 e 5 anos de uso, a rugosidade (Ra,  $\mu\text{m}$ ) (n=10) foi avaliada por meio de rugosímetro de superfície. As variáveis Ra não apresentaram distribuição normal e assim foi aplicado o teste de Brunner-Langner para verificar a diferença entre grupos, tempos e a interação entre as variáveis, foi aplicado pós-teste de Friedman-Conover corrigido por Bonferroni ( $\alpha = 0,05$ ) Para Ra dos espécimes metálicos, não foram encontradas diferenças significantes entre os tempos (p=0,922), tratamentos (p=0,279) e a interação tempo x tratamento (p=0,735) não foi significativa. Nos espécimes de resina acrílica, não foram encontradas diferenças significantes entre os tratamentos (p=0,770) e não houve interação tempo x tratamento (p=0,190). Houve diferença significativa entre os tempos (p=0,010), no entanto, ao aplicar pós teste de Friedman-Conover corrigido por Bonferroni, não foram encontradas diferenças significantes. Com base nos resultados obtidos nesse dado estudo, conclui-se que a quitosana pode ser uma alternativa promissora, de baixo custo e eficiente como método químico de higienização de prótese, uma vez que não houve diferença de ação entre a quitosana e a pastilha efervescente na rugosidade dos materiais constituintes da prótese.

**Palavras-chave:** Higienizadores de próteses, quitosana, pastilha efervescente, resina acrílica, liga de cobalto cromo, rugosidade de superfície.

## 1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A higienização das próteses é de extrema importância para a saúde geral de seus usuários, dado que os microrganismos presentes em suas cavidades orais são diferentes das dos indivíduos que não fazem uso de qualquer aparelho protético (Teles et al., 2012; O'Donnell et al., 2015), devido à presença de superfícies que favorecem a adesão microbiana (Socransky; Haffajee, 2000), tornando imprescindíveis os cuidados específicos quanto à higiene, tanto da prótese, quanto da cavidade oral.

Atualmente há uma vasta gama de materiais empregados na confecção das próteses, como polímeros, metais e resina acrílica, os quais tornam a higienização ainda mais complexa (Kiesow et al., 2016), pois há relação entre o material utilizado e a formação de biofilme, uma vez que há convergência entre rugosidade e energia livre de superfície (Teughels et al., 2006).

Adicionalmente, observa-se uma mudança no perfil de pacientes a serem reabilitados, ou seja, com o avanço científico da Odontologia junto à maior acessibilidade dos indivíduos em relação a esses recursos, observa-se menor taxa de pacientes totalmente desdentados (usuários de prótese total) e aumento de indivíduos parcialmente desdentados, candidatos a serem usuários de Prótese Parcial Removível.

A Prótese Parcial Removível (PPR) é uma modalidade de tratamento utilizada em larga escala na Odontologia, há um grande período de tempo. Com isso, muitos pacientes parcialmente desdentados usam, ou irão usar em algum momento da reabilitação oral (seja como prótese terapêutica, provisória ou definitiva) a PPR. Ademais, a vasta utilização desse tipo de prótese também se deve ao seu custo reduzido e bons resultados, quanto à função.

Desta forma, para que tenha êxito no tratamento reabilitador protético, é imprescindível adequada higienização dos aparelhos protéticos. Para tanto, é empregado tanto o método mecânico, quanto o método químico, visando maior eficácia na remoção de biofilme (Nikawa et al., 1999). Quanto ao primeiro método, a escovação é a forma mais utilizada (Shay et al 2000; Felton et al., 2011), devido a sua simplicidade, facilidade e menor custo, porém, não é possível remover biofilme em áreas retentivas e de difícil acesso, fazendo-se necessário o uso do método químico, o qual consegue combater o biofilme nessas áreas de difícil acesso (Paranhos et al., 2007). Assim, a associação de métodos tem sido preconizada na literatura como a melhor forma de eliminação do biofilme (Paranhos et al., 2014).

Ademais, na literatura atual, não se encontra um consenso quanto ao melhor higienizador de prótese, o qual tenha efetividade antimicrobiana e ausência ou mínimos efeitos adversos relacionados à superfície do aparelho protético (Ferreira et al., 2009; Paranhos et al., 2009; Cruz et al., 2011; Felipucci et al., 2011a;

Papadopoulos et al., 2011; Nishi et al., 2012; Davi et al., 2012; Pahuja et al., 2013; Paranhos et al., 2014; Cakan et al., 2015; Salles et al., 2015).

Contudo, mesmo com os avanços de novos produtos, aplicados como método químico de higienização de próteses, que demonstram bons resultados quanto a propriedade antimicrobiana e remoção de biofilme (Faot et al., 2014; Andrade et al., 2014; Aoun et al., 2015; Salles et al., 2015), nenhum apresenta todos os requisitos para um produto ideal, como ser de fácil manuseio, efetivo na remoção dos depósitos orgânicos, inorgânicos e manchas, bactericida e fungicida, atóxico, não promover efeitos deletérios aos materiais constituintes do aparelho protético e ser de baixo custo (Jagger; Harrison, 1995; Felton et al., 2011).

Como o material mais empregado usualmente pelos portadores de próteses, tem-se o hipoclorito de sódio, o qual possui alto poder de ação contra bactérias e fungos, além de ter baixo custo no mercado (Salles et al., 2015; Kiesow et al., 2016). Porém, apresenta efeitos adversos com relação aos materiais constituintes das próteses, como aumento de rugosidade, alteração de cor e diminuição da dureza da resina acrílica (Porwal et al., 2017), perda de brilho, oxidação e deslustre em metais (Keyf, Gungor, 2003; Felipucci et al., 2011a; Paranhos et al., 2014; Kiesow et al., 2016), além de causar, nos dentes artificiais, aumento de rugosidade e diminuição da microdureza (Yuzugullu et al., 2016).

Além do hipoclorito de sódio, outro método químico muito utilizado e recomendado por profissionais é a a pastilha efervescente higienizadora de prótese. Esse material apresenta como melhor propriedade o alto poder de remoção de biofilme (Cruz et al., 2011), porém foram constatados efeitos deletérios, após uso contínuo, relacionados à superfície metálica, como liberação de íons (Felipucci et al., 2011) e oxidação da superfície (Keyf, Gungor, 2003; Felipucci et al., 2011a; Papadopoulos et al., 2011) e rugosidade da superfície da resina acrílica (Davi et al., 2012; Pahuja et al., 2013; Cakan et al., 2015). Porém, tais efeitos na rugosidade não correspondem à uma grande alteração na superfície, que possa aumentar a quantidade de biofilme na prótese (Bolem et al, 1997; Curylofo et al, 2018).

Dessa forma, a literatura afirma que ainda não existe um produto que se enquadre nas características ideais de um higienizador para próteses dentais, o que faz com que o processo de higienização não seja eficaz e que possa até causar injúrias às superfícies dos aparelhos protético, fazendo com que haja diminuição de longevidade e, além disso, aumento do risco de contração de doenças orais como a estomatite protética (Evren et al., 2011; Gendreau et al., 2011), inflamação da mucosa oral causada por *Candida albicans*, que consegue se instalar na cavidade oral com maior facilidade devido ao desequilíbrio entre microrganismos presentes na cavidade.

Além da estomatite, a má higienização de próteses pode viabilizar aumento de microrganismos que trazem outras consequências sérias relacionadas à saúde sistêmica (como doenças pulmonares); aos dentes pilares (cárie dental e à mucosa oral (doença periodontal) (Paju et al., 2007; Russell et al., 2009; Urushibara et al. 2014; Przybyłowska et al., 2015; O'Donnell et al., 2016; Przybyowska et al., 2016).

Levando em consideração o cenário exposto, é notável a busca por um produto higienizador ideal, que englobe todos os requisitos abordados, mudando o processo de higienização hoje empregado para uma forma eficaz e econômica de combate ao biofilme, almejando atividade antimicrobiana e ausência de efeitos adversos às superfícies protéticas.

Com isso, buscam-se novos produtos de origem natural, que garantam uma forma sustentável e de baixo custo que possam suprir as demandas referentes a um higienizador ideal, proporcionando melhor saúde geral do paciente e consequente reabilitação oral adequada. Tais produtos vêm sendo testados por representarem uma alternativa frente aos produtos atualmente disponíveis no mercado, devido ao seu baixo custo e, consequente, melhor acesso às populações de baixa renda, garantindo higienização correta para todos os pacientes das mais variadas classes sociais. Além disso, o que vem sendo levantado como característica importante desses materiais, é sua ação antimicrobiana (Shetty et al., 2014; Sales et al., 2015; Badaró et al., 2017).

Como exemplo, a quitosana aparece como um material com potencial para obtenção dos requisitos necessários. Consiste em um biopolímero policatiônico obtido por meio de desacetilação alcalina da quitina, que é o principal componente do exoesqueleto dos crustáceos (Muzzarelli et al., 1973). Diversos estudos vêm sendo realizados (Azcurra et al., 2006; Chávez de Paz et al., 2011; Li et al., 2015; Del Carpio-Perochena et al., 2017) a respeito de sua capacidade antimicrobiana relacionada à formação do biofilme oral e aos microrganismos causadores de infecções orais (Hayashi et al., 2007; Verlee et al., 2017) e por ser inofensiva, biodegradável, renovável à natureza.

Outrossim, estudos vêm sendo realizados de forma a comparar essa propriedade antimicrobiana da quitosana com os demais produtos higienizadores do mercado (Costa et al., 2014a), e os resultados alcançados foram promissores em relação à quitosana: enxaguatórios bucais à base desse produto garantiram melhor combate ao biofilme oral e baixa toxicidade aos tecidos orais, quando comparados à clorexidina e óleos essenciais. Além disso, esse material vem sendo comprovado como eficaz contra *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *C. Krusei*, (Ardestani et al., 2016).

Logo, em razão do seu potencial promissor, a quitosana deve ser testada como higienizador químico de PPRs, analisando, assim, seus efeitos adversos com relação à liga de Co-Cr e à resina acrílica, devido a sua propriedade antimicrobiana, baixo custo, grande acessibilidade e sustentabilidade que são fatores importantes para seleção como higienizadores de prótese.

## 2. PROPOSIÇÃO

O objetivo desse estudo foi avaliar *in vitro* os efeitos das soluções higienizadoras experimentais à base de quitosana, comparativamente a uma pastilha efervescente, em relação à rugosidade de superfície da resina acrílica e de uma liga metálica de cobalto-cromo (Co-Cr), no início e após a simulação de 3 e 5 anos de imersão.

A hipótese nula do trabalho foi que não haveria diferença de ação entre as soluções testadas e a pastilha efervescente, em relação à rugosidade de superfície, tanto da resina acrílica como da liga metálica (Co-Cr).

### 3. MATERIAL E MÉTODO

#### 3.1. Delineamento experimental

Os fatores de variação do estudo foram: *Soluções higienizadoras*, em quatro níveis: **1.** Solução sem quitosana (Água destilada pH 5) (SQ) (controle); **2.** Solução de quitosana a 0,5% (Q); **3.** Solução de quitosana nanoparticulada a 0,5% (QN) e; **4.** Pastilha efervescente (PE). *Tempo de uso*, em três níveis: **1.** Pré imersão (Inicial); **2.** Após 3 anos (T3) e **3.** Após 5 anos (T5).

A variável da amostra foi a rugosidade ( $R_a$ ,  $\mu\text{m}$ ) da superfície da liga metálica e da resina acrílica.

O cálculo amostral foi realizado por meio do programa estatístico Siqueira Campos, considerando o poder da amostra de 0,80 e nível de significância de 0,05. Para a rugosidade, segundo os resultados obtidos por Felipucci et al. (2011b), para corpos de prova em resina acrílica com desvio padrão de 0,015,  $n=5$  e para corpos de prova em metal com desvio padrão de 0,017,  $n=10$ .

Com a finalidade de padronizar o experimento, os grupos, tanto os de resina acrílica quanto os de metal, tiveram  $n=10$ . Desta forma, a amostra do experimento foi composta por 40 espécimes metálicos de Co-Cr e 40 espécimes de resina acrílica (divididos aleatoriamente entre as soluções (10 espécimes x 4 soluções).

#### 3.2 Preparo das amostras

##### 3.2.1 Espécimes metálicos

Para a realização deste trabalho foram obtidos 40 padrões de cera para incrustações (GEO, Renfert GmbH, Hilzingen, Alemanha) em formato de discos (14 mm de diâmetro x 3 mm de espessura) a partir de uma matriz metálica vazada, confeccionada na Oficina de Precisão do Departamento de Materiais Dentários e Prótese da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto-USP (FORP-USP). A cera foi liquefeita em plastificador elétrico (BRAVAC, São Paulo, SP, Brasil) com temperatura média de 80°C e vertida com gotejador no interior da matriz (Figura 1).

Após a solidificação da cera, os excessos foram removidos com auxílio de espátula número 24 (Schobell Industrial Ltda, Rio Claro, SP, Brasil) aquecida.

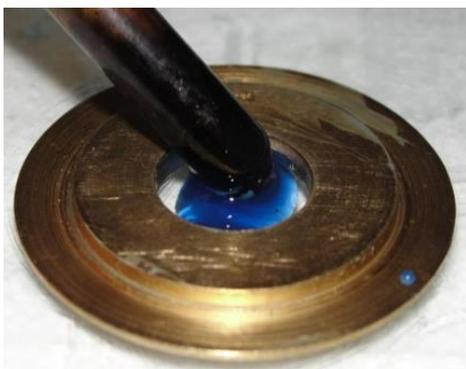


Figura 1. Cera vertida na matriz metálica.

Foram adicionados aos discos de cera canais de alimentação (Cerafix Manuf. E Com. de Ceras para Moldes Ltda, Pradópolis, SP, Brasil) com câmaras de compensação de tamanho grande e, em seguida, foram posicionados na base formadora do cadinho. Cinco discos foram posicionados, de maneira equidistante, em cada anel de silicone e, posteriormente, aplicado o agente anti-bolhas (Silikon & Wachs, Entspannen, Alemanha) (Figura 2).

Os padrões de cera foram incluídos em revestimento fosfatado Micro Fine 1700 (Talladium do Brasil, Curitiba, PR, Brasil) (Figura 3), manipulado na seguinte proporção: 180 g de pó, 32 mL de líquido e 12 mL de água destilada. O revestimento foi manipulado a vácuo (Polidental Ind. e Com. Ltda, Cotia, SP, Brasil) por 60 segundos e, para a presa final, foram aguardados 30 minutos.



Figura 2. Padrões de cera posicionados para a inclusão.

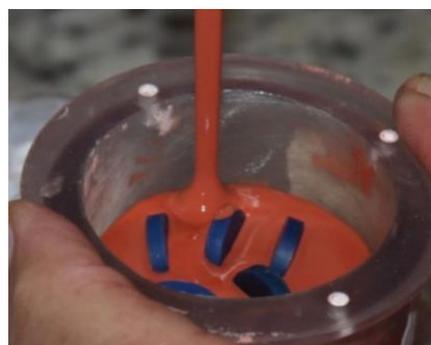


Figura 3. Padrões de cera incluídos no revestimento.

Os moldes de material refratário foram levados ao forno Edgcon 5P (EDG, São Carlos, SP, Brasil) (Figura 4) e submetidos a ciclos térmicos para a expansão do revestimento e eliminação da cera. O ciclo de aquecimento dos moldes foi realizado da seguinte maneira: aquecimento à velocidade de 15°C/min da temperatura ambiente até 300°C, permanecendo nesta temperatura por 30 minutos; aquecimento de 15°C/min até 950°C, permanecendo nesta temperatura por 20 minutos; resfriamento de 15°C/min até 900°C, permanecendo nesta temperatura por 60 minutos.

Posteriormente, os moldes de material refratário foram levados à máquina eletrônica Neutrodyn Easyti (F. Lli Manfredi, Torino, Itália) (Figura 5), cuja fundição da liga de Co-Cr (DeguDent®, Dentsply Ind. e Com. Ltda, São Paulo, Brasil) foi realizada por indução a vácuo, com padronização de temperatura em 1380°C e torque constante da centrífuga.



Figura 4 – Forno para expansão do molde



Figura 5– Máquina Eletrônica de fundição

Após resfriamento dos anéis, as fundições foram desincluídas e jateadas com óxido de alumínio de granulação de 100  $\mu\text{m}$  (Aluminum Oxide 100; Asfer Chemical Industry, São Caetano do Sul, Brasil) sob pressão de 3 bar, por cinco segundos, no Microjet III (EDG, São Carlos, Brasil) para remoção dos excessos de revestimento. Depois de recortados e separados dos canais de alimentação com discos de carborundum, os discos metálicos foram submetidos ao acabamento e polimento.

O acabamento e polimento dos discos metálicos foram realizados por meio de politriz (AROPOL-E, Arotec, Cotia, SP, Brasil) (Figura 6), lixas de granulação 220, 400, 600 e 1200 (Norton Abrasivos Brasil, Saint-Gobain, França) a 999 rpm.

Em seguida, foi realizado o polimento manual com lixa 1200 (Norton Abrasivos Brasil, Saint-Gobain, França) e, ao final, os discos foram levados ao torno (Kota, Cotia, SP, Brasil) com pasta para polimento com granulação de 2 a 3 microns. (Saphir, Renfert, Hilzingen, Alemanha) até que fosse obtida uma superfície homogênea e brilhante (Figura 7). Os espécimes foram padronizados com a rugosidade entre 0,04 a 0,10  $\mu\text{m}$  (Curylofo et al., 2018).



Figura 6. Politriz



Figura 7. Espécime polido

Ao término, os discos metálicos foram colocados em ultrassom com álcool isopropílico por 10 minutos (Ultra Cleaner USC 750; Unique, São Paulo, SP, Brasil) para lavagem da superfície e remoção de qualquer resíduo.

### 3.2.2 Espécimes em resina acrílica

Foram confeccionados 40 corpos de prova retangulares de resina acrílica termopolimerizável (Clássico, Artigos Odontológicos Clássico Ltda., São Paulo, SP, Brasil), utilizados no ensaio de rugosidade (65,0 de comprimento x 10,0 de largura x 3,3 mm de espessura) (ISO 20795-1:2008).

Os corpos de prova foram obtidos por meio de matrizes metálicas de aço inoxidável que foram incluídas em muflas metálicas convencionais número 7 (Jon, Jon Indústria Brasileira, São Paulo, Brasil) com gesso pedra tipo III (Gesso Rio, Orlando Antônio Bussioli ME, Rio Claro, SP, Brasil). Foram colocadas duas matrizes para as muflas de corpos de prova em formato retangular (Figura 8). Após a presa do gesso, as muflas foram separadas e as matrizes metálicas removidas. A resina foi manipulada conforme instruções do fabricante (proporção de 3:1; polímero/monômero) e acondicionada nos moldes por meio do uso de uma espátula de aço inoxidável número 24.



Figura 8. Molde para espécimes retangulares .

Após o fechamento da mufla, foi realizada a prensagem da resina com carga inicial de 500 Kgf e final de 1000 Kgf, a qual foi mantida por 60 minutos (Prensa Hidráulica Protecni, Protecni Equip. Med., Araraquara, SP, Brasil). A polimerização ocorreu em polimerizadora eletrônica (Termocicler 100, Oficina de Precisão da Prefeitura do Campus da USP de Ribeirão Preto) (Figura 9). A mufla foi colocada em prensa manual e imersa em água com temperatura ambiente, atingindo 65°C em 30 minutos e permanecendo por 1

hora. Em seguida a temperatura foi elevada a 100°C, em meia hora, e mantida por 1 hora de acordo com as instruções do fabricante (Badaró et al., 2016).



Figura 9. Polimerizadora eletrônica.

Após a polimerização, as muflas foram mantidas em temperatura ambiente até seu resfriamento para demuflagem dos corpos de prova. Em seguida, os espécimes foram imersos em água destilada a 50°C por 24 horas em estufa (Odontobrás Ind. e Com. Equip. Med. Odont. Ltda., Ribeirão Preto, SP, Brasil) para eliminação do monômero residual (Barbosa et al., 2007).

Os excessos de resina foram removidos com fresa de corte fino (Malleifer AS, Ballaiguer, Suíça). As dimensões finais e o polimento foram obtidos em uma politriz horizontal (Arotec, Arapol E, Cotia, SP, Brasil) com a lixa 150 para os espécimes do estudo, para que se obtivesse rugosidade entre 2,7 e 3,7  $\mu\text{m}$ , correspondendo à rugosidade da superfície interna da prótese (Zissis et al, 2000; Panariello, 2013).

As dimensões dos corpos de prova polidos (Figura 10) foram confirmadas com paquímetro digital (CD – 6” CSX - B - Mitutoyo Sul Americana Ltda., Suzano/SP, Brasil).

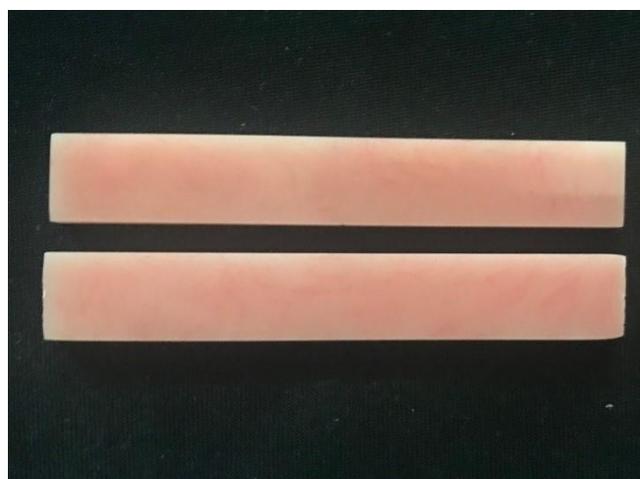


Figura 10. Espécimes de resina acrílica.

### 3.3 Preparo das soluções a serem testadas

#### 3.3.1 Solução de quitosana (Q)

O preparo da solução de quitosana foi obtido por meio do protocolo descrito por Costa et al. (2014a,b), utilizando quitosana de baixo peso molecular (75-85% de desacetilação) onde a solução resultante foi de 0,5% em massa de quitosana, com pH entre 4,6 e 5,0.

#### 3.3.2 Solução de quitosana nanoparticulada (QN)

Para o preparo das nanopartículas de quitosana foi utilizada a metodologia de gelação iônica descrita por Calvo et al. (1997). A quitosana utilizada foi de baixo peso molecular (75-85% de desacetilação) e o pH foi elevado entre 4,6 a 5,0. A solução resultante conteve 0,5 % de quitosana nanoparticulada.

Ambas as soluções foram preparadas no Laboratório de Gerenciamento de Resíduos Odontológicos do Departamento de Odontologia Restauradora da FORP-USP.

### 3.4 Divisão dos grupos experimentais

Os espécimes em resina acrílica e metálicos foram distribuídos em quatro grupos experimentais de acordo com as soluções auxiliares de higienização empregadas para imersão. **1.** Solução sem quitosana (Água destilada pH 5) (SQ) (controle); **2.** Solução de quitosana a 0,5% (Q); **3.** Solução de quitosana nanoparticulada (QN) 0,5% e; **4.** Solução à base de ácido cítrico (AC).

### 3.5 Imersão nas soluções higienizadoras

Os corpos de prova foram imersos em 150 mL de cada solução em recipiente plástico fechado hermeticamente. A solução com a pastilha efervescente foi mantida a 37°C em estufa correspondendo a temperatura recomendada pelo fabricante. O período correspondente a 5 anos, com simulação de 15 minutos de imersão diária, foi realizado por 456 horas para as soluções SQ, Q, QN com base no cálculo de Pisani et al. (2012a) e 130 horas para AC simulando 15 minutos de imersão duas vezes por semana, com base no cálculo de Vasconcelos et al. (2018).

Para o cálculo do tempo, em horas, que simule no total 5 anos de imersão foi considerado o tempo de imersão diária de cada solução. Para tal, calcula-se, por meio de uma regra de três simples, dentro de uma hora (A) quantas simulações de imersão diária seriam possíveis (B). Adicionalmente, calculam-se quantas simulações de imersão diária seriam possíveis (X, incógnita) em 24 horas (C). Em seguida, com a incógnita

do cálculo anterior, uma nova regra de três simples é formulada, onde, em um dia (D) quantas imersões seriam possíveis (E) e quantos dias seriam necessários (Y, incógnita) para simular a quantidade de imersão diária referente a 5 anos (F). Ao final, a cónita, deverá ser multiplicada por 24 horas.

Foram realizadas trocas das soluções para que se mantivesse sua composição ao longo do experimento.

### 3.6 Ensaio de rugosidade de superfície

Com o auxílio de uma ponta analisadora de superfície acoplada a um rugosímetro de superfície (Surftest SJ-201P, Mitutoyo Corporation, Japão), três leituras foram obtidas na superfície polida de cada espécime metálico e de resina acrílica a fim de se obter a média aritmética dos desvios de rugosidade do perfil (Ra,  $\mu\text{m}$ ) (n=10).

As mensurações foram obtidas com um *cut off* de 0,8 mm de forma que a ponta da agulha percorresse uma área de 4,8 mm durante cada leitura. As leituras foram realizadas antes (pré-imersão) e após a simulação de 3 e 5 anos de imersão nas soluções higienizadoras.

### 3.7 Análise estatística

Os resultados obtidos foram avaliados de acordo com os Conceitos da Estatística Clássica, após análise exploratória dos dados. Como houve homogeneidade de variância e distribuição normal das curvas do modelo matemático, a avaliação quantitativa dos dados foi realizada por meio de teste paramétrico, ANOVA, com nível de significância de 5%.

#### 4. RESULTADOS

Os dados de rugosidade de superfície (Ra) não apresentaram distribuição normal e assim foi aplicado o teste não paramétrico de Brunner-Languer para verificar a diferença entre grupos, tempos e a interação entre os fatores de variação, foi aplicado o pós-teste de Friedman-Conover corrigido por Bonferroni ( $\alpha=0,05$ ) Para a rugosidade dos espécimes metálicos, não foram encontradas diferenças significantes entre os tempos ( $p=0,922$ ), tratamentos ( $p=0,279$ ) e não houve interação tempo x tratamento ( $p=0,735$ ) (Tabela 1). Nos espécimes de resina acrílica, não foram encontradas diferenças significantes entre os tratamentos ( $p=0,770$ ) e também não houve interação tempo x tratamento ( $p=0,190$ ). Houve diferença significativa entre os tempos ( $p=0,010$ ), no entanto, ao aplicar pós teste de Friedman-Conover corrigido por Bonferroni, não foram encontradas diferenças significantes (Tabela 2).

Tabela 1 - Mediana (desvio padrão) da rugosidade de superfície (Ra) dos espécimes metálicos para os diferentes tempos/soluções higienizadoras e comparações estatísticas entre as soluções.

	T0	T3	T5
SQ	0,05 (0,04; 0,07)	0,05(0,05; 0,06)	,0500 (0,05; 0,06)
Q	0,06 (0,05; 0,08)	0,05 (0,04; 0,08)	,0550 (0,05; 0,08)
QN	0,05 (0,05; 0,06)	0,06 (0,05; 0,07)	0,05 (0,04; 0,06)
PE	0,06 (0,05; 0,07)	0,06 (0,05; 0,07)	0,06 (0,05; 0,08)

(SQ- Solução sem quitosana; Q- Solução de quitosana; QN-Solução de quitosana nanoparticulada e; PE-Pastilha efervescente.)

Tabela 2 - Mediana (desvio padrão) da rugosidade de superfície (Ra) dos espécimes em resina acrílica para os diferentes tempos/soluções higienizadoras e comparações estatísticas entre as soluções.

	T0	T3	T5
SQ	0,06 (0,06; 0,07)	0,06 (0,05; 0,08)	0,07 (0,06; 0,07)
Q	0,07 (0,06; 0,08)	0,07 (0,06; 0,08)	0,06 (0,05; 0,07)
QN	0,07 (0,05; 0,07)	0,06 (0,05; 0,07)	0,06 (0,07; 0,05)
PE	0,06 (0,05; 0,07)	0,07 (0,06; 0,07)	0,06 (0,05; 0,07)

(SQ- Solução sem quitosana; Q- Solução de quitosana; QN-Solução de quitosana nanoparticulada e; PE-Pastilha efervescente.)

## 5. DISCUSSÃO

Neste trabalho foi avaliada a ação de soluções de quitosana e de pastilha higienizadora de prótese sobre a rugosidade das superfícies de resina acrílica e da liga metálica (Co-Cr). A hipótese nula foi rejeitada, pois, de acordo com os resultados obtidos, não houve diferença de ação entre as soluções testadas nas superfícies metálicas e de resina acrílica.

Dessa forma, tem-se que a solução de quitosana (Q) e de quitosana nanoparticulada (QN) não oferecem malefícios em relação à rugosidade de superfície.

Com os dados alcançados, a quitosana entra no cenário dos métodos químicos de higienização de Próteses Parciais Removíveis como uma solução promissora que consiga atingir as melhores características de um material higienizador, no que diz respeito a ausências de efeitos deletérios, longevidade da prótese, menor custo, propriedade antimicrobiana, sustentabilidade, acessibilidade à população.

Dessa forma, o estudo sobre os efeitos de uma solução higienizadora na rugosidade é de extrema relevância para o sucesso da Reabilitação Protética, uma vez que há uma correlação entre rugosidade de superfície e retenção de biofilme (Bollen et al., 1997).

No que diz respeito à sustentabilidade, a quitosana preenche tal requisito de forma efetiva, uma vez que é proveniente do exoesqueleto de crustáceos (Muzzarelli et al., 1973) e, portanto, biodegradável, contribuindo para a conservação do meio ambiente, além de ser inofensiva aos tecidos humanos e ser renovável na natureza, não sendo prejudicial sua extração da natureza.

Dado o tempo de estudo simulado de uso da prótese, ou seja de 5 anos, pode-se inferir ainda que de acordo com os resultados obtidos, tanto a solução de quitosana (Q) como a solução de quitosana nanoparticulada (QN) não causaram efeitos deletérios sobre as superfícies metálica e de resina acrílica ao longo do tempo avaliado.

Ainda, quando comparada à pastilha efervescente e à solução controle, a quitosana não apresentou diferenças na rugosidade. Assim, pode-se discutir o uso desse material sustentável em relação às pastilhas efervescentes, dado à similaridade nos resultados de alteração de superfície.

Kiesow et al. (2016) observaram a presença de alteração da superfície das PPRs quando imersas em soluções de pastilhas efervescentes, porém são mudanças mínimas na superfície protética que não representam grandes danos à prótese, dessa forma, as pastilhas efervescentes correspondem a um método higienizador de compatibilidade razoável com o metal presente nesse aparelho protético.

Seguindo a mesma lógica, outros estudos foram realizados com o intuito de analisar os efeitos adversos de superfícies causados por tais pastilhas, como no estudo de Cakan et al. (2015), que também observaram que não houve alteração na rugosidade de superfície em corpos de prova de resina acrílica, quando imersos em tais soluções.

Ademais, alguns estudos tem sido realizados e comprovam que o uso das pastilhas efervescentes como higienizadoras de Próteses Parciais Removíveis é seguro como descreveram Curylofo et al. (2018) em seu estudo, no qual essa solução foi utilizada para imersão de espécimes de Co-Cr, tendo com resultado a ausência de alteração da rugosidade de superfície, confirmando sua viabilidade de uso . Além desse estudo, Vasconcelos et al. (2019) também obtiveram os mesmos resultados, ou seja, ausência de alterações na rugosidade de superfície da liga metálica de Co-Cr, após a imersão em solução de pastilhas efervescentes.

Outrossim, é trivial ressaltar a comparação entre as soluções a base de pastilhas efervescentes e hipoclorito de sódio, uma vez que a utilização dos dois produtos é amplamente difundida na Odontologia, e pelo fato de as pastilhas efervescentes terem apresentado , no presente estudo, resultados similares à solução de quitosana no que diz respeito à rugosidade de superfície.

Na literatura o hipoclorito de sódio causa importantes efeitos deletérios à superfície protética, como visto no estudo de Felipucci et al. (2011), no qual observou-se não apenas maiores alterações de rugosidade de superfície em corpos de prova de metal imersas nessa solução, como presença de manchas e oxidação, enquanto que as pastilhas efervescentes mostraram menores alterações de rugosidade e ausência de manchas. Igualmente, Yuzugullu et al. (2016) observaram discrepância maior nos efeitos de rugosidade e microdureza na superfície nos grupos que foram imersos em NaOCl do que aqueles imersos em soluções de pastilhas efervescentes. Ainda, Sharma et al. (2017) demonstraram que há maior alteração de superfície em corpos de prova de resina acrílica imersos em hipoclorito de sódio quando comparado à imersão em solução de pastilhas efervescentes.

Todavia, é válido ressaltar que mesmo com melhores resultados das pastilhas efervescentes frente às soluções disponíveis no mercado, como verificado por Barochia et al. (2018) e Kiesow et al. (2016) que comprovaram esses produtos como seguros do ponto de vista de alteração de superfície, esses produtos ainda não preenchem todos os requisitos de um higienizador protético ideal , tendo em vista o seu alto custo no mercado , não atingindo assim, populações de baixa renda (Harrison, 1995; Felton et al., 2011). Nesse contexto, as soluções à base de quitosana, como não apresentaram alteração de superfície tanto no metal como na resina podem ser alternativas viáveis como higienizadores de prótese dentária, uma vez que também não diferiram das pastilhas efervescentes. Entretanto, estudos de ação antimicrobiana deverão ser realizados a fim de avaliar sua ação em biofilmes isolados ou multiespécies sobre essas superfícies.

## 6. CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos nesse dado estudo, parece lícito concluir que a quitosana pode ser uma alternativa promissora, de baixo custo e eficiente como novo método químico de higienização, uma vez que não houve diferença de ação na rugosidade de superfície entre as soluções de quitosana e a pastilha higienizadora de prótese.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ardestani SZ, Falahati M, Alborzi SS, Khozani AM, Khani RF, Bahador A. The effect of nanochitosans particles on *Candida* biofilm formation. *Curr Med Mycol*. 2016;2(2):28-33.
2. 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 May 23. doi: 10.1111/ger.12348.
3. Azcurra AI, Barembaum SR, Bojanich MA, Calamari SE, Aguilar J, Battellino LJ, Dorronsoro ST. Effect of the high molecular weight chitosan and sodium alginate on *Candida albicans* hydrophobicity and adhesion to cells. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2006;11(2):E120-5.
4. Badaró MM, Salles MM, Arruda CNF, Oliveira VC, Souza RF, Paranhos HFO, Silva-Lovato CH. In vitro analysis of surface roughness of acrylic resin exposed to the combined hygiene method of brushing and immersion in *Ricinus communis* and sodium hypochlorite. *J Prosthodont*. 2016: 1-6 doi: 10.1111/jopr.12436.
5. Badaró MM, Salles MM, Leite VMF, Arruda CNF, Oliveira VC, Nascimento CD, 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): 324–334.
6. Barochia J, Kamath S. Evaluation of the effect of denture cleansers on the surface roughness of hard denture base material: An *In vitro* study. *Indian J Dent Res* 2018;29:657-62.
7. Bollen CM, Lambrechts P, Quirynen M: Comparison of surfaceroughness of oral hard materials to the threshold surfaceroughness for bacterial plaque retention: a review of the literature. *Dent Mater* 1997;13:258-269.
8. Cakan U, Kara O, Kara HB. Effects of various denture cleansers on surface roughness of hard permanent relines. *Dent Mater J*.2015;34(2):246–51.
9. Calvo P, Remunan-Lopez C, Vila-Jato JL, Alonso MJ. Novel hydrophilic chitosan-polyethylene oxide nanoparticles as protein carriers. *J Appl Polym Sci* 1997;63:125–32.
10. Chávez de Paz LE, Resin A, Howard KA, Sutherland DS, Wejse PL. Antimicrobial effect of chitosan nanoparticles on *Streptococcus mutans* biofilms. *Appl Environ Microbiol*. 2011 Jun;77(11):3892-5.
11. Costa EM, Silva S, Costa MR, Pereira M, Campos DA, Odila J, Madureira AR, Cardelle-Cobas A, Tavaría FK, Rodrigues AS, Pintado MM. Chitosan mouthwash: toxicity and in vivo validation. *Carbohydr Polym*. 2014a;111:385-92.
12. Cruz PC, Andrade IM, Peracini A, Souza Gugelmin MCM, Silva-Lovato CH, Souza RF, Paranhos HFO. The effectiveness of chemical denture cleansers and ultrasonic device in biofilm removal from complete dentures *J Appl Oral Sci*. 2011;19(6):668-73.
13. 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*. 2018 Oct 31. doi: 10.1111/jopr.12996.
14. Davi LR, Felipucci DNB, Souza RF, Bezzon OL, Lovato-Silva CH, Pagnano VO, Paranhos HFO. Effect of Denture Cleansers on Metal Ion Release and Surface Roughness of Denture Base Materials. *Braz Dent J*. 2012;23(4):387-93.
15. Del Carpio-Perochena A, Kishen A, Felitti R, Bhagirath AY, Medapati MR, Lai C, Cunha RS. Antibacterial Properties of Chitosan Nanoparticles and Propolis Associated with Calcium Hydroxide against Single- and Multispecies Biofilms: An In Vitro and In Situ Study. *J Endod*. 2017 Jun 1. pii: S0099-2399(17)30307-2.
16. Evren BA, Uludamar A, Işeri U, Ozkan YK. The association between socioeconomic status, oral hygiene practice, denture stomatitis and oral status in elderly people living different residential homes. *Arch Gerontol Geriatr*. 2011;53(3):252-7.

17. Faot F, Cavalcanti YW, Mendonça e Bertolini MD, Pinto LR, da Silva WJ, Cury AA. Efficacy of citric acid denture cleanser on the *Candida albicans* biofilm formed on poly (methyl methacrylate): effects on residual biofilm and recolonization process. BMC Oral Health. 2014;14:77-84.
18. Felipucci DNB, Davi LR, Paranhos HFO, Bezzon OL, Silva RF, Junior FB, Pagnano VO. Effect of different cleansers on the weight ion release of removable partial denture: an *in vitro* study. J Appl Oral Sci. 2011a;19(5):483-7.
19. Felipucci DNB, Davi LR, Paranhos HFO, OL Bezzon, Silva RF, Pagnano VO. Effect of different cleansers on the surface of removable partial denture. Braz Dent J. 2011b; 22(5):392-7.
20. Ferreira MA, Pereira-Cenci T, Rodrigues de Vasconcelos LM, Rodrigues-Garcia RC, Del Bel Cury AA. Efficacy of denture cleansers on denture liners contaminated with *Candida species*. Clin Oral Investig. 2009;13(2):237-42.
21. Gendreau L, Loewy ZG. Epidemiology and etiology of denture stomatitis. J Prosthodont. 2011 Jun;20(4):251-60.
22. Hayashi Y, Ohara N, Ganno T, Ishizaki H, Yanagiguchi K. Chitosan-containing gum chewing accelerates antibacterial effect with an increase in salivary secretion. J Dent. 2007; 35(11):871-4.
23. Jagger DC, Harrison A. Denture cleansing-the best approach. Br Dent J. 1995;178(11):413- 17.
24. 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 Prosthodont. 2011;20 Suppl 1:S1-S12.
- Keyf F, Gungor T. Comparison of effects of bleach and cleansing tablet on reflectance and surface changes of a dental alloy used for removable partial dentures. J Biomater Appl. 2003;18(1):5-14.
25. Kiesow A, Sarembe S, Pizzey RL, Axe AS, Bradshaw DJ. Material compatibility and antimicrobial activity of consumer products commonly used to clean dentures. J Prosthet Dent. 2016;115(2):189-98.
26. Muzzarelli, R. Chitosan. in: Muzzarelli, R. Natural Chelating Polymers. Pergamon Press. Oxford, 1973, p 144–176
27. Li L, Meng H, Li JY, Wu WH, Liang RY. Study on antimicrobial effect of the mixture of Chinese medicine-chitosan to *Candida albicans* and the possibility as denture adhesive. Shanghai Kou Qiang Yi Xue. 2015;24(2):188-92
28. Nishi Y, Seto K, Kamashita Y, Take C, Kurono A, Nagaoka E. Examination of denture-cleaning methods based on the quantity of microorganisms adhering to a denture. Gerodontology. 2012;29(2):259-66.
29. 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.
30. Paju S, Scannapieco FA. Oral biofilms, periodontitis, and pulmonary infections. Oral Dis. 2007 Nov;13(6):508-12.
31. Pahuja RK, Garg S, Bansal S, Dang RH. Effect of denture cleansers on surface hardness of resilient denture liners at various time intervals- an *in vitro* study. J Adv Prosthodont 2013;5(3):270-7.
32. Papadopoulos T, Polyzois G, Tapanli A, Frangou M. The effect of disinfecting solutions on bending properties and weight changes of Co-Cr and Ti-6Al-7Nb alloys for dentures. Odontology. 2011;99(1):77-82.
33. 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.
34. Paranhos HFO, Silva-Lovato CH, Souza RF, Cruz PC, Freitas-Pontes KM, Peracini A. Effects of mechanical and chemical methods on denture biofilm accumulation. J Oral Rehabil. 2007;34(8): 606–12.
- Peter MG. Applications and environmental aspects of chitin and chitosan. J Macromol Sci. 1995;629–40.
35. Porwal A, Khandelwal M, Punia V, Sharma V. Effect of denture cleansers on color stability, surface roughness, and hardness of different denture base resins. J Indian Prosthodont Soc. 2017 Jan-

- Mar;17(1):61-67.
36. Przybyłowska D, Rubinsztajn R, Chazan R, Swoboda-Kopeć E, Kostrzewa-Janicka J, Mierzwińska-Nastalska E. The Prevalence of Oral Inflammation Among Denture Wearing Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Adv Exp Med Biol.* 2015;858:87-91.
  37. Salles MM, Oliveira VC, Souza RF, Silva-Lovato CH, Paranhos HFO. Antimicrobial action of sodium hypochlorite and castor oil solutions for denture cleaning – in vitro evaluation. *Braz Oral Res.* 2015;29(1):1-6.
  38. Sharma P, Garg S, Kalra NM. *J Clin Diagn Res.* 2017 Aug;11(8):ZC94-ZC97. doi: 10.7860/JCDR/2017/27307.10483. Epub 2017 Aug 1
  39. Shay K. Denture hygiene: a review and update. *J Contemp Dent Pract.* 2000;1(2):28-41.
  40. Shetty PJ, Hegde V, Gomes L. Anticandidal efficacy of denture cleansing tablet, Triphala, Aloe vera, and Cashew leaf on complete dentures of institutionalized elderly. *J Ayurveda Integr Med.* 2014 Jan;5(1):11-4.
  41. Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. *Periodontol.* 2005;38:135-87.
  42. Teughels W, Van Assche N, Sliepen I, Quirynen M. Effect of material characteristics and/or surface topography on biofilm development. *Clin Oral Implants Res.* 2006 Oct;17 Suppl 2:68-81. *Clin Oral Implants Res.* 2006; 2:68-81.
  43. Urushibara Y, Ohshima T, Sato M, Hayashi Y, Hayakawa T, Maeda N, Ohkubo C. An analysis of the biofilms adhered to framework alloys using in vitro denture plaque models. *Dent Mater J.* 2014;33(3):402-14.
  44. Vasconcelos GLL<sup>1</sup>, Curylofo PA<sup>1</sup>, Raile PN<sup>1</sup>, Macedo AP<sup>1</sup>, Paranhos HFO<sup>1</sup>, Pagnano VO<sup>1</sup>. Effect of Alkaline Peroxides on the Surface of Cobalt Chrome Alloy: An In Vitro Study. *J Prosthodont.* 2019 Jan;28(1):e337-e341. doi: 10.1111/jopr.12789. Epub 2018 Mar 24.
  45. Verlee A, Mincke S, Stevens CV. Recent developments in antibacterial and antifungal chitosan and its derivatives. *Carbohydr Polym.* 2017; 164:268-283.
  46. Yuzugullu B, Acar O, Cetinsahin C, Celik C. Effect of different denture cleansers on surface roughness and microhardness of artificial denture teeth. *J Adv Prosthodont.* 2016 Oct;8(5):333-338.