



CATÓLICA
FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA

VISEU

ADESÃO DA *CANDIDA ALBICANS* À SUPERFÍCIE DE UMA RESINA DE IMPRESSÃO 3D PARA CONFEÇÃO DE BASES PROTÉTICAS

Dissertação apresentada à Universidade Católica Portuguesa para
a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária.

Juan Manuel Gomez Heredia

Viseu, 2024



CATÓLICA
FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA

VISEU

ADESÃO DA *CANDIDA ALBICANS* À SUPERFÍCIE DE UMA RESINA DE IMPRESSÃO 3D PARA CONFEÇÃO DE BASES PROTÉTICAS

Dissertação apresentada à Universidade Católica Portuguesa para
a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Por

Juan Manuel Gomez Heredia

Orientadora: Professora Doutora Helena Salgado

Coorientadores: Professora Doutora Ana Peixoto; Mestre Filipe Araújo

Viséu, 2024

*Para ser grande, sê inteiro: nada
Teu exagera ou exclui.
Sê todo em cada coisa. Põe quanto és
No mínimo que fazes.
Assim em cada lago a lua toda
Brilha, porque alta vive.*

Ricardo Reis

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, pelo seu exemplo na luta da vida, pelo suor que escorre pelas suas faces, por me transmitirem o valor de que ninguém pode abdicar dos seus sonhos. Mãe, Pai, quero que me desculpem as horas que sobrestai da minha presença, pelas lágrimas de saudades e de preocupações. Mas, agora chegou o momento de celebrarmos a vitória, com lágrimas de alegria. Por Vós e convosco lutarei sempre, para que não nos retirem o direito de concretizar os nossos sonhos.

Ao meu irmão, companheiro de todas as horas, juntos temos caminhado lado a lado, sempre resilientes, para que os esforços dos nossos pais não fossem em vão, mas se transformassem na mais brilhante batalha das suas vidas, a nossa realização pessoal e profissional.

AGRADECIMENTOS

A elaboração do presente trabalho não teria sido possível sem a ajuda de quem, tão amavelmente me acompanhou neste percurso.

Cumpro, assim, primeiramente, agradecer à Professora Doutora Helena Salgado e à Professora Doutora Ana Peixoto, bem como ao Mestre Filipe Araújo, a quem expresso a minha enorme gratidão por todo o seu ensinamento e sabedoria, sempre com grande dedicação e disponibilidade.

Agradeço à Universidade Católica Portuguesa por me ter acolhido e a todos os Professores que contribuíram para a minha formação académica.

Agradeço ao meu irmão, Manuel, por me acompanhar em todos os desafios da vida; por todo o amor, carinho e motivação constantes, ao longo de todo este processo académico.

Agradeço aos meus pais, pela força e incentivo constante que me deram, por terem sido capazes de compreender o pouco tempo disponibilizado junto deles fisicamente e por serem os meus maiores exemplos de vida.

Por fim, a todos aqueles que de uma forma direta ou indireta colaboraram comigo.

OBRIGADO

RESUMO

Introdução: Em Medicina Dentária, a tecnologia CAD/CAM melhorou o planeamento e a previsibilidade dos tratamentos, tornando-os mais céleres e cómodos para os pacientes. As resinas acrílicas de polimetilmetacrilato continuam a ser as mais utilizadas na confeção de próteses removíveis, mas com a inovação tecnológica, novas resinas foram desenvolvidas e passaram a ser utilizadas na confeção de próteses por fresagem e impressão 3D. Os estudos do comportamento biológico destas resinas são ainda escassos. A *Candida albicans* é um fungo que faz parte do microbioma oral e adere à superfície das próteses podendo desencadear patologias como a estomatite protética. O objetivo deste estudo é avaliar a adesão de *Candida albicans* a uma resina de impressão 3D utilizada na confeção de bases protéticas.

Material e métodos: Foram confeccionados 5 provetes de cada tipo de resina (termopolimerizável, impressão 3D a 90° e impressão 3D a 0°), de forma circular e dimensões padronizadas (10X2mm). Os provetes foram submetidos ao mesmo protocolo de polimento. A adesão de *Candida albicans* à superfície dos três grupos em estudo foi avaliada através da interpretação de imagens de microscopia eletrónica de varrimento. Também foi realizada a quantificação da biomassa aderida desse fungo à superfície dos provetes. Os resultados obtidos foram sujeitos a análise estatística, com um limiar de significância $p < 0,05$.

Resultados: Verificou-se uma maior adesão da *Candida albicans* na resina de impressão 3D impressa a 90°, seguida da resina termopolimerizável e por fim da resina impressa a 0°. A quantificação da biomassa aderida demonstrou que apesar de não haver diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$), a resina de impressão 3D impressa a 90° foi a que mostrou um valor de biomassa aderida maior.

Conclusão: As resinas de impressão 3D impressas a 0° parecem ser, a nível biológico, uma solução alternativa viável às resinas convencionais para a confeção de bases protéticas.

Palavras-chave: prótese removível; PMMA; *Candida albicans*; impressão 3D; adesão

ABSTRACT

Introduction: In Dentistry, CAD/CAM technology has improved treatment planning and predictability, making them faster and more comfortable for patients. Acrylic resins made of polymethyl methacrylate continue to be the most used material for removable dentures. However, with technological innovation, new resins have been developed and are now used for milling and 3D printing of dentures. Biological studies on the behavior of these resins are still limited. *Candida albicans*, a fungus present in the oral microbiome, adheres to the surface of dentures and can lead to conditions such as denture stomatitis. The aim of this study is to evaluate the adhesion of *Candida albicans* to a 3D printing resin used in denture base fabrication.

Material and methods: Five specimens of each resin (thermopolymerizable, 3D printing at 90°, and 3D printing at 0°) were prepared with circular shape and standardized dimensions (10x2mm). The specimens underwent the same polishing protocol. The adhesion of *Candida albicans* to the surface of the three study groups was evaluated through the interpretation of scanning electron microscopy images. Additionally, quantification of the adhered biomass of this fungus to the specimen surfaces was performed. The obtained results were subjected to statistical analysis, with a significance threshold of $p < 0.05$.

Results: Greater adhesion of *Candida albicans* was observed in the 3D-printed resin at 90°, followed by the conventional resin and finally the resin printed at 0°. Quantification of the adhered biomass demonstrated that, despite no statistically significant differences ($p > 0.05$), the 3D-printed resin at 90° exhibited the highest biomass value.

Conclusion: The 3D-printed resins at 0° appear to be a biologically viable alternative to conventional resins for fabricating prosthetic bases.

Keywords: denture removable; PMMA; *Candida albicans*; three-dimensional printing; adhesion

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 1 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS | 15 |
| 2.1. Desenho do estudo..... | 17 |
| 2.2. Amostra..... | 17 |
| 2.3. Protocolo de confecção dos provetes | 17 |
| 2.3.1. Resina acrílica termopolimerizável..... | 17 |
| 2.3.2. Resina de impressão 3D | 18 |
| 2.4. Protocolo de polimento | 19 |
| 2.5. Estudos de adesão da <i>C. albicans</i> | 21 |
| 2.5.1. Condições de crescimento da <i>C. albicans</i> | 21 |
| 2.5.2. Estudo de adesão microbiana por Microscopia Eletrónica de Varrimento(MEV) | 21 |
| 2.5.3. Quantificação da biomassa através da coloração de violeta de cristal | 22 |
| 3. RESULTADOS | 23 |
| 3.1. Adesão da <i>C. albicans</i> por MEV..... | 25 |
| 3.2. Quantificação da biomassa de <i>C. albicans</i> aderida | 26 |
| 4. DISCUSSÃO | 27 |
| 5. CONCLUSÕES | 35 |
| 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 39 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1 - Resinas em estudo: A - resina termopolimerizável; B - resina de impressão 3D..... | 17 |
| Figura 2 - Confeção de molde para os provetes de resina convencional: A - desenho CAD; B - Impressora 3D (Ultimaker 3); C - Molde impresso em PLA | 18 |
| Figura 3 - Confeção dos provetes de resina convencional | 18 |
| Figura 4 - Ficheiro STL do provete..... | 19 |
| Figura 5 - A: Provette impresso a 0°; B: Provette impresso a 90° | 19 |
| Figura 6 - Sequência das brocas de polimento..... | 20 |
| Figura 7 - Micromotor e peça de mão..... | 20 |
| Figura 8 - Imagens de MEV das resinas: convencional, impressão 3D a 0° e a 90° incubadas com <i>C. albicans</i> durante 24h. Número de células visualizadas: Resina Conv - 5; Resina 0°- 2; Resina 90°- 10 | 25 |
| Figura 9 - Biomassa de <i>C. albicans</i> aderida à superfície das resinas: convencional, impressão 3D a 0° e 90° | 26 |

ÍNDICE DE SIGLAS E ACRÓNIMOS

CAD-CAM – *Computer Aided Design – Computer Aided Manufacturing*

DLP – processamento digital de luz

FDM – *fused deposition modeling*

kV – quilovolts

MEV – microscópio eletrônico de varrimento

mm – milímetro

mL – mililitro

nm – nanometro

PBS – *phosphate-buffered saline*

pH – potencial hidrogeniônico

PLA – ácido polilático

PMMA – polimetilmetacrilato

SDA – *Sabouraud Dextrose agar*

SDB – *Sabouraud Dextrose Broth*

SLA – estereolitografia

SLS – sinterização seletiva a laser

STL – *standard tessellation language*

UV – ultravioleta

µL – microlitro

1. INTRODUÇÃO

Edentulismo é o termo utilizado para descrever a perda dentária, quer seja ela parcial ou total (1). A etiologia da perda dentária é diversa e a evidência demonstra que é mais prevalente em mulheres, principalmente em países com baixo nível socioeconómico e com o aumento da idade (2). Em países civilizados, especialmente considerando populações mais jovens, a doença periodontal e a cárie dentária são as principais causas para a extração dentária (3).

A perda de dentes resulta na perda de estruturas orofaciais, incluindo estruturas ósseas, nervos, recetores e músculos. Como consequência, a maioria das funções do sistema estomatognático fica comprometida em pacientes edêntulos (4)

A Prostodontia é a área especializada da Medicina Dentária que se centra no diagnóstico, planeamento e reabilitação de pacientes com dentes e estruturas orais em falta ou danificados, utilizando próteses removíveis ou fixas (5). Engloba um conjunto de procedimentos e técnicas com o objetivo de se restaurar a função oral, a estética e contribuindo assim desta forma também para a saúde geral do paciente. As próteses são feitas à medida para se adaptarem à anatomia oral única de cada pessoa, desempenhando um importante papel na melhoria da qualidade de vida, permitindo o restabelecimento da capacidade de comer, falar e sorrir com confiança (5, 6).

Atualmente, observa-se uma redução nas taxas de edentulismo total, o que é contrário ao esperado, se considerarmos o aumento da esperança média de vida. Isso ocorre principalmente devido ao aumento da consciencialização da população em relação à importância da saúde oral e da prevenção das doenças a ela associadas. No entanto, apesar disso o número de edêntulos parciais mantém-se considerável, de modo que é imperativa a procura de soluções terapêuticas (3).

As próteses dentárias são importantes na melhoria da qualidade de vida dos pacientes desdentados, uma vez que possibilitam devolver à cavidade oral a sua funcionalidade natural e aspeto. As próteses removíveis podem ser: parciais quando substituem um ou mais dentes ou totais quando substituem a totalidade dos dentes de um ou de ambos os maxilares (6).

No tratamento de pacientes totalmente desdentados, existem várias opções terapêuticas, incluindo próteses totais convencionais, totalmente mucosuportadas e próteses totais implanto-suportadas, que podem ser

removíveis (sobredentaduras) ou fixas (7, 8)

Os implantes dentários tornaram-se uma abordagem terapêutica recorrente na prática diária e, devido à sua elevada taxa de sobrevivência ao longo do tempo, tornaram-se a opção de tratamento de eleição para a reabilitação protética dos espaços edêntulos. Apesar da previsibilidade relativamente elevada das reabilitações protéticas com implantes trata-se de uma solução de tratamento que acarreta custos elevados para o paciente (8, 9, 10). Infelizmente, nem todos os pacientes têm acesso a reabilitações dentárias fixas, uma vez que para além do fator económico, muitas vezes existem limitações anatómicas ou sistémicas. Neste contexto, as próteses removíveis continuam a desempenhar um papel relevante no tratamento da perda dentária e dos tecidos moles (10, 11).

As próteses parciais removíveis podem ser classificadas tendo em conta o tipo de material em que são confeccionadas: acrílicas ou esqueléticas (12). A prótese esquelética ou convencional é composta por um esqueleto de metal fundido, geralmente uma liga de cromo-cobalto, e por dentes artificiais acrílicos. Já a prótese acrílica tem como material base uma resina acrílica à base de polimetilmetacrilato (PMMA), na qual são incorporados meios de retenção, como os ganchos pré-formados de aço inoxidável. (13)

1.1. Tipos de resinas utilizadas em Prostodontia

Em diferentes aplicações em Medicina Dentária são utilizados vários tipos de resinas (14).

De acordo com a composição química, o processo de polimerização e a marca comercial é possível distinguir diferentes tipos de resinas para confecção de bases protéticas (15). Muitos estudos têm sido realizados no sentido de comparar os diversos tipos de resinas após a exposição ao meio oral por período prolongado no que diz respeito à alteração de cor do material, ao grau de desgaste e à adesão microbiana à sua superfície. (16)

Das propriedades das resinas com maior relevância clínica destacam-se a porosidade e a rugosidade de superfície que influenciam as características estéticas, físicas, mecânicas e de comportamento biológico do material (17).

Desde 1930, uma variedade de resinas tem vindo a ser utilizada para a confeção de próteses dentárias e a sua eficácia tem-se baseado nas propriedades físicas, químicas e biológicas (18).

O PMMA é um polímero de metilmetacrilato (MMA) que tem a seguinte fórmula química $(C_5H_8O_2)_n$ e é incolor e inodoro. A reação de polimerização dá-se na presença de um iniciador, por norma, o peróxido de benzoílo que, se ativado quimicamente ou por ação de uma fonte energética (calor, luz ou micro-ondas), decompõe-se e origina radicais livres, os quais, por sua vez, atuam ao nível do grupo vinil do MMA dando abertura à ligação dupla de carbono, resultando numa nova ligação simples carbono-carbono (19, 20).

O PMMA continua a ser o biomaterial mais utilizado no fabrico de próteses dentárias devido às suas propriedades favoráveis, que incluem a facilidade de processamento e reparação, propriedades mecânicas satisfatórias, uma boa relação custo/benefício e baixa toxicidade (21, 22). Convencionalmente, as próteses removíveis à base de PMMA podem ser fabricadas através de técnicas de compressão, moldagem por injeção ou processamento por micro-ondas (23).

Alqutaibi *et al.* (22) verificaram que, embora as resinas de PMMA possuam vários benefícios e tenham ganho popularidade como material de base de prótese, têm algumas desvantagens e não podem ser classificadas como um biomaterial ideal. Estes mesmos autores referem que têm sido realizados estudos para melhorar as propriedades físicas e mecânicas dessas resinas através de modificações químicas e reforço mecânico utilizando fibras, nanopartículas ou nanotúbulos (22).

De acordo com Alshamrani *et al.* (12), o processo de polimerização envolvido na conversão do monómero em polímero, é um fator crucial para maximizar as propriedades físicas e biológicas das resinas acrílicas para bases protéticas.

De acordo com a Especificação nº 12 da *American Dental Association* (ADA) (25), as resinas usadas na confeção de dispositivos protéticos classificam-se em vários tipos, de acordo com a ativação da reação de polimerização e a sua composição: tipo I (termopolimerizáveis), tipo II (autopolimerizáveis) e tipo III (resinas termoplásticas). A Normativa ISO 20795 – 1 2013 (26) acrescentou os polímeros do tipo IV (fotopolimerizáveis) e do tipo V (polimerizados por micro-ondas).

A polimerização das resinas acrílicas pode ser desencadeada de diferentes formas: ativação química, ativação por luz visível e ativação por ação de calor, podendo este ser gerado utilizando água quente ou energia de micro-ondas (28). Independentemente do fator ativador da reação de polimerização das resinas, a conversão de monómeros em polímeros não ocorre na totalidade e alguns monómeros que não reagiram, chamados de monómeros residuais, são libertados da base da prótese. Encontram-se descritas na literatura reações alérgicas a resinas acrílicas autopolimerizadas e polimerizadas por calor ou micro-ondas resultantes da presença do MMA residual (28).

A concentração residual do monómero MMA que se encontra relacionada com a eficiência da conversão da polimerização tem sido analisada por diversos autores, uma vez que este fator influencia as propriedades físicas e mecânicas da resina, como a resistência ao desgaste, a dureza e a suscetibilidade a reações de descoloração (28).

Nas resinas acrílicas convencionais a reação de polimerização das cadeias poliméricas ocorre com a libertação de calor que tal como a produção de monómeros residuais pode afetar negativamente as propriedades físicas, mecânicas e biológicas da base da prótese (20). Para colmatar esta situação, surgiram recentemente novos procedimentos de endurecimento: técnicas de processamento como a moldagem por injeção, energia de micro-ondas, autoclavagem ou polimerização térmica de alta pressão (20).

As propriedades dos materiais dentários têm um papel importante no que se refere ao seu desempenho clínico, estando relacionadas com a sua composição e técnica de processamento (29).

As propriedades dos materiais podem ser divididas em três categorias: físicas, químicas e biológicas. As propriedades físicas baseiam-se nas leis da física que descrevem a massa, a energia, a força, a luz, o calor, a eletricidade e outros fenómenos físicos. A cor, as propriedades de superfície e a condutividade térmica são exemplos de propriedades físicas importantes dos materiais a utilizar na cavidade oral. As propriedades mecânicas descrevem a capacidade de um material resistir a forças. Estas propriedades dependem da quantidade de material e do tamanho e forma do objeto. Exemplos são a resistência à flexão e a dureza. As propriedades químicas descrevem as reações de fixação (neste caso polimerização), bem como a decomposição ou degradação dos materiais.

As propriedades biológicas são os efeitos e interações que os materiais têm nos tecidos vivos. (30, 31).

1.2. Tecnologia *Computer-Aided Design/Computer-Aided Manufacturing*

Nos últimos 20 anos, o *computer-aided design* (CAD), desenho assistido por computador e o *computer-aided manufacturing* (CAM) fabrico assistido por computador tornaram-se comuns em Medicina Dentária. *Inlays*, *onlays*, próteses parciais fixas, coroas sobre implantes e próteses removíveis parciais ou totais podem ser confeccionadas através deste método (32, 33).

A tecnologia CAD/CAM foi desenvolvida com o objetivo de criar restaurações que parecessem naturais de forma mais fácil, rápida e exata, tornando o processo mais célere e com a necessidade de realização de menos consultas (32, 33, 34).

Esta técnica foi introduzida na Medicina Dentária, em 1989, por Mormann e Brandestinni, na Alemanha, e foi desenvolvida para o fabrico em consultório de restaurações de cerâmica, permitindo ao Médico Dentista produzir uma ou várias restaurações no consultório, numa única consulta (20). Nas últimas décadas, registou-se um aumento substancial na utilização da tecnologia CAD/CAM (32), o que alterou significativamente a previsibilidade dos tratamentos e a confecção de próteses (33, 34, 35).

O funcionamento do sistema CAD-CAM resume-se a 3 etapas principais:

1. digitalização das estruturas da cavidade oral diretamente em boca ou do modelo de gesso do paciente;
2. desenho da restauração através de um programa de planeamento e desenho virtual;
3. fabrico da restauração orientada por computador (36).

Na sequência do avanço da Medicina Dentária digital, nomeadamente no domínio da prostodontia, surgiram novos biomateriais para a confecção de próteses removíveis digitais (37). Com o sistema CAD/CAM as próteses removíveis passaram a ser confeccionadas através de técnicas de fabrico aditivo ou subtrativo utilizando-se para isso novas resinas adaptadas a essas tecnologias (37, 38).

A confecção aditiva, mais conhecida como impressão tridimensional (3D) de próteses baseia-se na fotopolimerização de uma resina líquida, que é depositada camada a camada até à construção do objeto final. Por outro lado, as próteses obtidas pelo método subtrativo são fabricadas através da fresagem de discos de resina pré-polimerizada (38, 39).

As técnicas CAD/CAM, tanto de fresagem como de impressão 3D oferecem várias vantagens em relação aos métodos de confecção convencionais, tais como a redução do tempo de confecção, o arquivo de dados e a confecção automatizada das próteses. Contudo, a tecnologia CAD/CAM apresenta limitações quando comparada aos métodos convencionais: clinicamente, não consegue determinar a posição e inclinação do plano oclusal e, laboratorialmente, acarreta em aumento dos custos envolvidos (40, 41).

A técnica de impressão 3D é uma técnica mais sustentável do que a fresagem uma vez que existe menos desperdício de material, sendo um método com maior potencial para a confecção de estruturas personalizadas detalhadas e de maior complexidade (42).

A impressão 3D surgiu no mercado no início da década de 1980 (21, 42, 43). Os pioneiros no domínio da impressão 3D incluem figuras notáveis como Charles W. Hull (3D Systems), S. Scott Crump (Stratasys) e a dupla Hans J. Langer e Hans Steinbichler (fundadores da EOS) (21). No entanto, a evolução desta tecnologia ocorreu a uma velocidade notável nos anos seguintes (21) estendendo a sua influência também ao domínio da Medicina Dentária (44). A dimensão das unidades de impressão diminuiu assim como o seu custo, sendo cada vez maior a sua área de aplicabilidade (44, 45). Simultaneamente, os materiais utilizados nesta tecnologia tornaram-se diversificados, sendo possível, atualmente, a impressão 3D de polímeros, metais ou cerâmicas e até tecidos biológicos (45).

A evolução da tecnologia digital que se tornou nos últimos anos uma realidade também na Medicina Dentária tem possibilitado um melhor planeamento e previsibilidade dos tratamentos efetuados, assim como tem tornado a execução dos mesmos mais célere e em alguns casos de forma mais confortável para o paciente (45). Nos últimos anos, tem-se registado um grande desenvolvimento no campo da impressão 3D. Esta tecnologia tomou -se mais precisa e fiável, passando a ser utilizada em muitos setores da saúde, incluindo

a Medicina, a Medicina Dentária, a Ortopedia, assim como para a confecção de diversos dispositivos médicos (21, 44, 45).

A tecnologia de impressão 3D consiste no processo de transformação de modelos digitais em estruturas reais. Para isso numa primeira fase é criado um ficheiro digital em formato *standard tessellation language* (STL) com o desenho virtual do objeto e, em seguida, esse desenho é obtido por deposição camada a camada do material de impressão (46). Atualmente existem diversas tecnologias de impressão 3D que podem utilizar um ou mais tipos de materiais. As mais utilizadas em Medicina Dentária são: a estereolitografia (SLA), o processamento digital de luz (DLP), a *fused deposition modeling* (FDM), a sinterização seletiva a laser (SDS) e a impressão a jato de tinta (46).

A SLA é uma técnica que utiliza um feixe de laser ultravioleta (UV) para solidificar uma resina líquida camada a camada, criando assim o modelo 3D desejado. É frequentemente utilizada para fabricar modelos e estruturas protéticas (41, 47, 48).

Uma tecnologia semelhante à SLA é a DLP. Neste método, um projetor de luz é utilizado para projetar uma imagem em camadas da forma desejada sobre um tanque de resina líquida. A luz UV solidifica a resina em cada camada, construindo o objeto camada a camada até que esteja completo. Esta tecnologia é conhecida pela sua capacidade de produzir peças com detalhes finos e superfícies lisas. Além disso, o processo de fabrico é rápido e eficiente, tornando-a uma opção popular para prototipagem célere e produção em pequena escala (47, 49).

A tecnologia FDM envolve um processo no qual um filamento de material termoplástico é derretido e depositado camada por camada para formar o objeto desejado. É frequentemente utilizada no fabrico de guias cirúrgicas e dispositivos de alinhamento ortodôntico. Esta técnica é menos precisa e apresenta um acabamento da superfície inferior quando comparada às técnicas descritas anteriormente (SLA, DLP), no entanto, este tipo de impressão é valorizado pela sua acessibilidade, facilidade de uso e variedade de materiais que se podem utilizar (48, 50).

Na impressão por SLS é utilizado um laser para fundir partículas de pó metálico ou cerâmico de forma a criar o objeto desejado. É frequentemente utilizado para fabricar estruturas metálicas para coroas e pontes dentárias. (37)

Na técnica de impressão a jato de tinta, um agente de fusão é depositado em camadas sobre um leito de pó de polímero, que é então fundido com recurso a calor ou a uma fonte de luz. É frequentemente utilizado para fabricar modelos protéticos e guias cirúrgicas (41, 47).

O pós-processamento das resinas de impressão 3D desempenha um papel importante nas suas propriedades. A cura adicional, a limpeza e os tratamentos de superfície são procedimentos típicos de pós-processamento deste tipo de resinas (45, 46). A limpeza é essencial para remover completamente qualquer resina residual não curada, solventes ou estruturas de suporte para garantir a pureza dos objetos impressos (46). Além disso, os tratamentos de superfície, como o polimento desempenham um papel importante na obtenção da qualidade de superfície, contribuindo para uma menor probabilidade de adesão microbiana às estruturas quando colocadas na cavidade oral (51). Estes processos de pós-processamento são fundamentais para melhorar o desempenho geral e a usabilidade das resinas impressas em 3D em várias aplicações biomédicas (46, 52).

A impressão 3D oferece vantagens como a capacidade de criar reabilitações protéticas com formas complexas e pré-concebidas, utilizar novos biomateriais e fabricar estruturas personalizadas num menor número de consultas (54). No entanto, a esta tecnologia também apresenta desafios, como o facto de ser um processo que consome muita energia, a disponibilidade ainda limitada de materiais processáveis, o custo elevado e a produção relativamente lenta (54).

1.3. Microbioma oral e a adesão microbiana a resinas protéticas

A cavidade oral tem o segundo maior e mais diversificado microbiota do corpo humano, a seguir ao intestino, albergando mais de 700 espécies de microrganismos que incluem bactérias, fungos e vírus. Para além de ser o ponto de partida da digestão, o microbioma oral é crucial para a manutenção da saúde oral e sistémica (55).

O aparecimento de novas tecnologias genómicas, incluindo a sequenciação de nova geração e a bioinformática, revelou as complexidades do

microbioma oral. A cavidade oral, com os seus vários nichos, é um habitat excepcionalmente complexo onde os microrganismos colonizam as superfícies duras dos dentes e os tecidos moles da mucosa oral. Estas superfícies podem ser revestidas por uma infinidade de bactérias, formando o biofilme bacteriano (56).

A temperatura normal da cavidade oral é, em média, 37°C sem alterações significativas, o que proporciona às bactérias um ambiente estável para sobreviverem. A saliva também tem um pH estável de 6,5 -7, o que é favorável para a maioria das espécies de bactérias. Mantém as bactérias hidratadas e serve também de meio para o transporte de nutrientes para os microrganismos (56). O *Fusobacterium nucleatum* tem sido o microrganismo cultivável mais comumente encontrado. No entanto, outros microrganismos que podem também ser encontrados no microbioma oral pertencem aos géneros *Streptococcus*, *Actinomyces*, *Veillonella* e *Neisseria* (56).

Para além das superfícies naturais da cavidade oral, os microrganismos podem formar biofilmes de forma eficaz nas superfícies duras artificiais que são introduzidas com as restaurações dentária. A formação de biofilme em materiais de restauração está positivamente correlacionada com uma maior rugosidade e energia livre de superfície (57). Entre os biofilmes que colonizam superfícies duras artificiais, os que se formam em implantes dentários têm atraído muita atenção na investigação. Os implantes saudáveis albergam microbiotas muito distintos em comparação com os dentes e, dependendo do estudo, tem sido sugerido que diferentes espécies microbianas estão envolvidas no desenvolvimento de doenças peri-implantares (56, 57). Em contraste, as comunidades bacterianas que colonizam as próteses dentárias, outra superfície artificial importante presente na cavidade oral de uma parte significativa da população, continuam, em grande parte, ainda em investigação (56).

As doenças orais mais comuns, como a cárie, a gengivite ou a periodontite são induzidas por microrganismos, que podem formar o biofilme oral (58). O microbioma oral em pacientes com próteses removíveis ou fixas pode ser caracterizado por uma prevalência mais elevada de alguns microrganismos do que de outros, dependendo das condições de saúde oral, dos materiais protéticos utilizados e de quaisquer condições patológicas provocadas por um fabrico protético inadequado ou por uma má higiene oral. Além disso, no caso

de utilizadores de próteses removíveis, podem ser encontradas na cavidade oral numerosas espécies bacterianas, presentes nas bolsas periodontais e fortemente associadas a patologias sistémicas (56, 58, 59).

Um dos microrganismos mais associados à adesão à superfície das próteses é a *Candida albicans* (*C. albicans*). Este é um fungo tipo levedura presente no corpo humano que está frequentemente relacionado com doenças infecciosas orais, designadas por candidíase oral. Os utilizadores de próteses removíveis são especialmente suscetíveis a infeções associadas à *C. albicans*, sendo a estomatite protética a mais frequente (59). Esta tem uma etiologia multifatorial, porém sabe-se que determinados fatores existentes na cavidade oral tais como a saliva, os níveis de acidez elevados e os microrganismos da microflora oral podem criar condições que provocam a acumulação de biofilme na superfície das bases protéticas. Desta forma, a base das próteses pode funcionar como um reservatório de várias espécies bacterianas e fúngicas, ampliando a probabilidade de desenvolvimento de cárie dentária nos dentes pilares e de estomatite protética (59).

Os utentes com próteses dentárias removíveis são, na sua maioria idosos, que frequentemente não apresentam capacidade funcional para o autocuidado e higiene oral adequados, e podem estar em maior risco de doenças orais e sistémicas. O estado de saúde geral do paciente pode influenciar a colonização e a virulência da *C. albicans*. Os isolados deste fungo em indivíduos imunodeprimidos (por exemplo, portadores de VIH) apresentam intensa atividade exoenzimática, e mesmo a diabetes mellitus tipo 2 controlada promove a expressão da proteinase de *C. albicans*. Esses indivíduos, assim como pacientes em tratamento oncológico, apresentam um maior risco de candidíase oral e sistémica (60).

Este facto aumenta a necessidade de os materiais da base da prótese serem minimamente suscetíveis à colonização microbiana (59, 60).

As resinas utilizadas para a confeção de bases protéticas com as novas tecnologias CAD/CAM, apesar de terem na base da sua constituição o PMMA, são processadas de formas diferentes o que lhes pode conferir características físicas, mecânicas e biológicas também diferentes (55).

Estas resinas tal como as resinas convencionais, devem, idealmente, combinar um conjunto de propriedades que possam atenuar a formação de

biofilme. A interação das resinas adaptadas ao sistema CAD/CAM, nomeadamente as utilizadas na impressão 3D, com os microrganismos orais ainda está pouco estudada, sendo por isso necessários mais estudos para compreender o desempenho biológico destes novos materiais (55, 56).

1.4. Objetivo do estudo

O principal objetivo deste estudo laboratorial *in vitro* é estudar a adesão do fungo *C. albicans* a uma resina de impressão 3D impressa com duas angulações distintas em relação ao plano horizontal, utilizada na confecção de bases protéticas e comparar os resultados com os obtidos com uma resina acrílica termopolimerizável.

Como hipótese nula considera-se que não existem diferenças estatisticamente significativas na adesão da *C. albicans* à superfície da resina de impressão 3D quando comparada com uma resina acrílica convencional.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Desenho do estudo

Trata-se de um estudo do tipo experimental *in vitro* no qual foi avaliada qualitativa e quantitativamente a adesão de *C. albicans* a dois tipos de resina diferentes, ambos habitualmente utilizados na confecção de bases protéticas: uma resina acrílica termopolimerizável (Probase Hot, Ivoclar Vivadent, Liechtenstein) e uma resina de impressão 3D (V – Print dentbase, VOCO GmbH, Alemanha) (Figura 1).

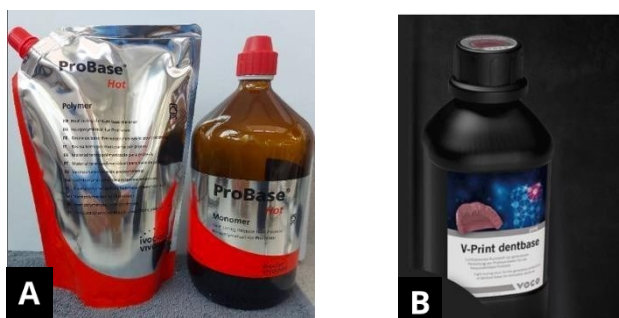


Figura 1 - Resinas em estudo: A - resina termopolimerizável; B - resina de impressão 3D

O manuseamento de cada resina foi efetuado de acordo com as instruções do fabricante.

2.2. Amostra

Para a realização deste estudo experimental foram confeccionados 5 provetes de cada tipo de resina, com forma circular e dimensões padronizadas de 10mm de diâmetro e 2mm de espessura.

2.3. Protocolo de confecção dos provetes

2.3.1. Resina acrílica termopolimerizável

1. Desenho virtual de um molde num programa informático CAD Solidworks® (Figura 2A);
2. Desenho CAD convertido num ficheiro de impressão STL;
3. Impressão do molde numa impressora 3D de tecnologia FDM (Ultimaker 3) com ácido polilático (PLA) (Figuras 2B e 2C);

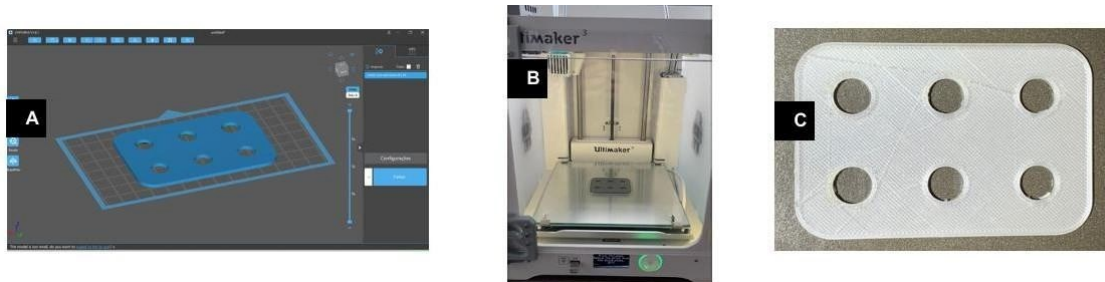


Figura 2 - Confeção de molde para os provetes de resina convencional: A - desenho CAD; B - Impressora 3D (Ultimaker 3); C - Molde impresso em PLA

4. Preparação da resina misturando o pó e o líquido conforme as instruções do fabricante;
5. Depois de devidamente vaselinado, em cada poço do molde foi colocada a resina e este foi mantido sob pressão entre duas placas de vidro (Figura 3);

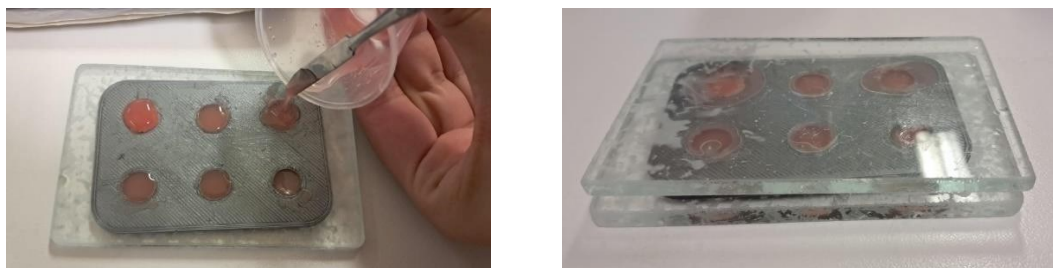


Figura 3 - Confeção dos provetes de resina convencional

6. Colocação do molde dentro da panela de pressão, com a temperatura a 55°C, durante 30 minutos, e, depois submersão em água fria por 15 min;
7. Armazenamento dos provetes em mangas esterilizadas, seladas e etiquetadas para evitar contaminação ou deterioração até ao início do protocolo de polimento.

2.3.2. Resina de impressão 3D

1. Desenho virtual dos provetes realizado no programa informático de CAD (Solidworks®, Dassault Systèmes S.A, França) tendo sido esse desenho depois convertido num ficheiro STL (Figura 4);

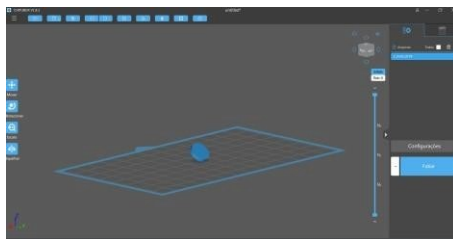


Figura 4 - Ficheiro STL do provete

2. Envio do ficheiro STL para a impressora 3D de tecnologia DLP (Asiga Max UV 3D Printer, ASIGA, Alemanha);
3. Impressão dos provetes com duas angulações em relação ao plano horizontal: 0° e 90° (Figura 5);

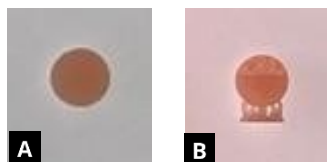


Figura 5 - A: Provette impresso a 0° ; B: Provette impresso a 90°

4. Lavagem dos provetes em dois ciclos de banho ultrassónico com álcool isopropílico com duração de 2 minutos cada (Sonorex Super RK 102H, Bandelin, Alemanha), respeitando as instruções do fabricante;
5. Polimerização pós impressão com radiação no comprimento de onda compreendido entre os 280-580nm (Otoflash G171, Flashing Unit, NK-Optik GmbH, Alemanha);
6. Armazenamento dos provetes em mangas esterilizadas, seladas e etiquetadas para evitar contaminação ou deterioração até ao início do protocolo de polimento.

2.4. Protocolo de polimento

Os provetes de cada resina foram submetidos a igual polimento, para excluir a influência da rugosidade de superfície nas amostras, utilizando-se um

protocolo de polimento de resinas de base protética. O protocolo de polimento foi executado pelo mesmo operador.

A seqüência das brocas utilizadas encontra-se representada na Figura 6.



Figura 6 - Sequência das brocas de polimento

Inicialmente, para o alisamento da superfície foi utilizada a Broca 9572G, grão verde, que elimina as rugosidades presentes no acrílico, em seguida, o pré-polimento foi executado com a broca 9572M, grão cinzento, para obtenção do primeiro brilho sobre a superfície. A broca seguinte foi a 9572F, grão amarelo, para a obtenção de uma superfície totalmente suave e com brilho. A última broca utilizada foi a 1164 em combinação com a emulsão 1150 para obtenção de brilho e textura lisa.

O polimento foi executado com a seqüência de brocas anteriormente descrita, com recurso a uma peça de mão acoplada a um micromotor (STRONG 206, SAESHIN®, Coreia) a 5'000rpm. (Figura 7). Cada broca da série, foi utilizada durante 30 segundos.



Figura 7 - Micromotor e peça de mão

2.5. Estudos de adesão da *C. albicans*

2.5.1. Condições de crescimento da *C. albicans*

Para os estudos de adesão microbiana foi usada a espécie *C. albicans* ATCC 11225 que foi armazenada a -80°C em meio de crescimento líquido *Sabouraud Dextrose Broth* (SDB) com 20% de glicerol.

Este fungo foi subcultivado em *Sabouraud Dextrose* agar (SDA), e antes de cada ensaio, uma colônia isolada foi inoculada em 5 mL de SDB e colocada a crescer a 37°C durante a noite. Uma alíquota desta cultura (300 μL) foi transferida para meio líquido fresco e incubada nas mesmas condições.

Para os ensaios de adesão e quantificação da biomassa, a cultura de *C. albicans* crescida durante a noite e na fase estacionária foi diluída em meio SDB e a sua turbidez foi ajustada a 0,5 *Macfarland* (OD_{600nm} $\approx 0,7-0,9$ que corresponde a uma concentração final de $\approx 10^7$ unidades formadoras de colônia por mL).

2.5.2. Estudo de adesão microbiana por Microscopia Eletrônica de Varrimento (MEV)

Para evitar contaminação, antes de cada ensaio os provetes foram submetidos a radiação UV durante 30 minutos. Uma suspensão microbiana de *C. albicans* (1mL por poço) foi distribuída igualmente numa microplaca de 24 poços contendo os discos dos diferentes tipos de resina que foram incubados a 37°C durante 24h.

Terminado o período de incubação as amostras foram fixadas em glutaraldeído [2,5% em *phosphate-buffered saline* (PBS)] durante 40 minutos à temperatura ambiente. As amostras foram lavadas 3x com PBS, seguido de desidratação com uma série de soluções em gradiente de etanol (15%, 30%, 50%, 70%, 90%, 96%, 3 X 100%, 15 minutos cada). Os discos foram secos e colados em *stubs* que foram revestidos com ouro-paládio e examinados num microscópio eletrônico de varrimento (Hitachi S-4100) operado a 4.0kV. Foram observados e analisados, aleatoriamente, três campos de cada provete. Neste estudo foi utilizado um disco de cada grupo de resinas.

As micrografias obtidas por MEV mostram imagens representativas da superfície de cada disco em diferentes pontos. Para além da análise qualitativa por observação das micrografias, a análise quantitativa relativa por contagem do número de células visualizadas foi também realizada.

2.5.3. Quantificação da biomassa através da coloração de violeta de cristal

Tal como nos estudo de adesão por MEV, os provetes foram sujeitos ao mesmo processo de descontaminação e a suspensão de *C. albicans* foi distribuída igualmente numa microplaca de 24 poços contendo os discos dos diferentes tipos de resina e incubados a 37°C durante 24h.

Findo o período de incubação, o meio de cultura foi aspirado e as amostras foram lavadas 3 vezes com PBS. Os discos foram transferidos para poços vazios e fixados com metanol a 95%. As amostras foram novamente lavadas com PBS e coradas com uma solução de violeta de cristal a 0,5% durante 15 minutos, lavadas com PBS e secas à temperatura ambiente. O violeta de cristal foi dissolvido em ácido acético a 33% e mantido à temperatura ambiente durante 30 minutos. A absorvância a 570nm foi lida num leitor de microplacas (Synergy TM HT Multi-Detection Microplate Reader-Biotek®).

3. RESULTADOS

3.1 Adesão da *C. albicans* por MEV

A adesão da *C. albicans* à superfície dos provetes de cada resina foi avaliada por MEV, após estes serem incubados durante 24h com este fungo. As microfotografias mais representativas de cada provete são apresentadas na Figura 8. Os resultados mostram uma maior adesão da *C. albicans* na resina de impressão 3D impressa a 90°, seguida pela resina termopolimerizável. Pelo contrário, a resina de impressão 3D impressa a 0°C foi aquela que apresenta menor adesão deste fungo.

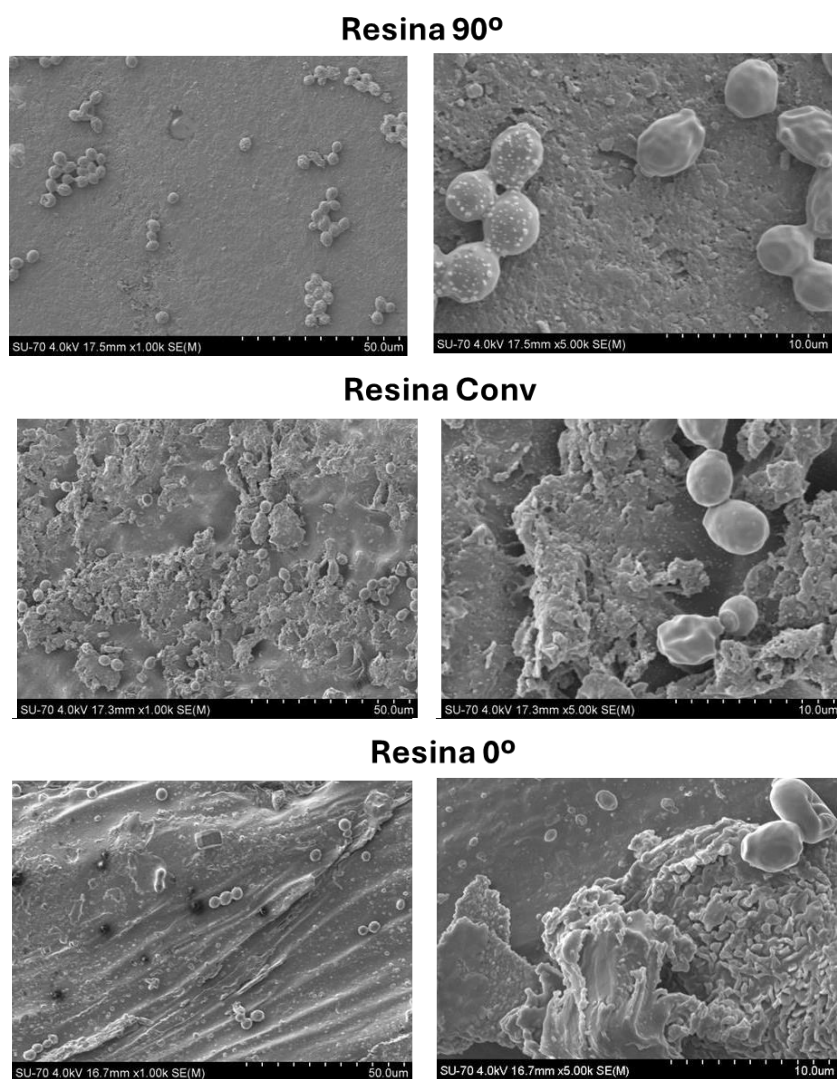


Figura 8 - Imagens de MEV das resinas: convencional, impressão 3D a 0° e a 90° incubadas com *C. albicans* durante 24h. Número de células visualizadas: Resina Conv - 5; Resina 0°- 2; Resina 90°- 10

3.2 Quantificação da biomassa de *C. albicans* aderida

O estudo da quantificação da biomassa de *C. albicans* aderida aos provetes das diferentes resinas foi realizado pelo método do violeta de cristal. Neste ensaio, a absorvância a 570nm é diretamente proporcional à biomassa aderida. Os resultados obtidos são apresentados na Figura 9 e mostram que, apesar de não haver diferenças estatisticamente significativas (ANOVA, $p > 0.05$), a resina de impressão 3D impressa a 90° é aquela que mostra um valor de biomassa aderida maior. Este resultado está de acordo com os resultados observados nos estudos de adesão à superfície por MEV.

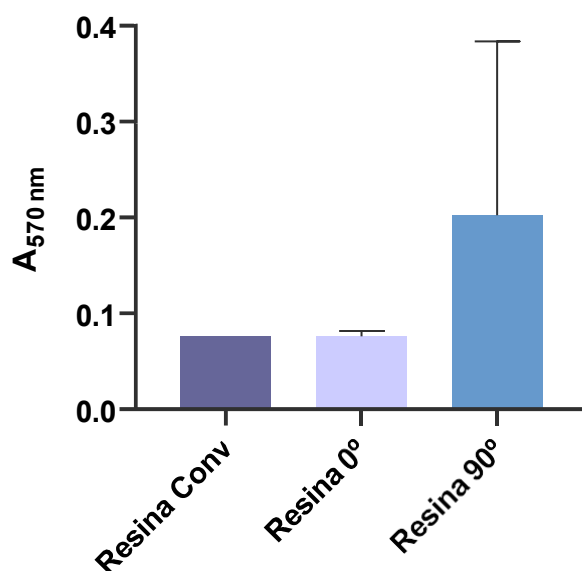


Figura 9 - Biomassa de *C. albicans* aderida à superfície das resinas: convencional, impressão 3D a 0° e 90°

4. DISCUSSÃO

A cavidade oral é um local com condições e características muito particulares que requerem que os materiais usados nas reabilitações protéticas possuam determinadas características que permitam uma maior longevidade e sucesso dos tratamentos. Os materiais dentários quando colocados na cavidade oral ficam em contacto com a saliva e com o fluído crevicular, para além de estarem sob a ação das forças mastigatórias e por isso estão sujeitos a um constante desgaste funcional. Por outro lado, grande parte desses materiais está em contacto direto com os tecidos orais e por um período prolongado, o que exige que esses materiais sejam biocompatíveis e não citotóxicos (61).

A investigação e a inovação no campo dos biomateriais têm vindo a crescer nos últimos anos, desempenhando um papel importante na evolução das técnicas e tratamentos desenvolvidos no âmbito da saúde e em particular na Medicina Dentária. A tecnologia CAD/CAM com o fabrico computadorizado quer pelo método de fresagem, quer mais atualmente com a impressão 3D são exemplo disso (62).

As novas resinas adaptadas à tecnologia de impressão 3D têm sido alvo de muita investigação no sentido de se conhecer melhor as suas propriedades e desta forma se compreender o seu desempenho clínico e prever a sua durabilidade. Dimitrova *et al* (63) na revisão narrativa que realizaram puderam verificar que na maior parte dos estudos, as resinas de impressão 3D apresentaram uma maior rugosidade de superfície e um pior desempenho mecânico (dureza, resistência à flexão e impacto) quando comparadas com as resinas convencionais termopolimerizáveis.

Também Mohammed *et al* (64) comparam as propriedades mecânicas e de superfície de uma resina de impressão 3D e uma resina convencional e concluíram que a resina de impressão 3D apresentava piores propriedades mecânicas e maior rugosidade de superfície.

A formação de biofilme oral e o crescimento microbiano são fatores que se encontram associados ao desenvolvimento de doenças infecciosas da cavidade oral com comprometimento da qualidade de vida dos pacientes. Exemplo disso é a acumulação e formação de placa bacteriana na base das próteses removíveis que potencia, nos seus portadores, o desenvolvimento de estomatite protética (65).

A adesão dos microrganismos à superfície das resinas protéticas é

influenciada por vários fatores: porosidade, energia livre de superfície, hidrofobicidade e rugosidade de superfície (65).

Estudos demonstraram que a rugosidade da superfície, a hidrofiliabilidade e a energia de superfície influenciam significativamente a extensão da adesão microbiana à base das próteses. A adesão dos microrganismos aumentou em superfícies mais rugosas, com valores de rugosidade variando entre 0,1 e 0,4 mm (66, 67). A hidrofiliabilidade da superfície atua de forma diferente dependendo da espécie microbiana. Microrganismos com propriedades hidrofóbicas facilmente se ligam a superfícies hidrofóbicas. A *C. albicans* é um fungo hidrofóbico, e por isso superfícies hidrofóbicas oferecem condições favoráveis para a adesão deste microrganismo (68, 69, 70). A energia livre de superfície aumentada também contribui para o aumento da adesão microbiana, principalmente energias de superfície maiores do que 50 mJ/m² (71).

Alguns estudos mostram evidências de que a rugosidade de superfície influencia de forma significativa a quantidade de adesão microbiana na superfície das estruturas protéticas (58, 61). No entanto, em alguns estudos verificou-se que nem sempre a resina com maior rugosidade de superfície é a resina que demonstra maior adesão microbiana, demonstrando que a formação de biofilme é um processo complexo e multifatorial (72).

Nas resinas de impressão 3D há alguns parâmetros do processo de impressão que devem ser tidos em consideração uma vez que há estudos que têm demonstrado a sua influência nas propriedades mecânicas, físicas e biológicas dessas resinas. A espessura das camadas, a intensidade do laser e a orientação de impressão são alguns desses fatores. Zhan *et al* (73) estudaram a influência da orientação de impressão (0°, 45° e 90°) nas propriedades de resinas de impressão 3D para bases protéticas e verificaram que a angulação afeta características mecânicas e de superfície das resinas. As resinas impressas a 0° apresentaram a superfície mais lisa ao contrário das impressas a 45° que apresentaram a mais elevada rugosidade de superfície.

Li *et al* (74) estudaram a influência do método de fabricação aditivo e da orientação de impressão nas características de superfície e na adesão de *C. albicans* a resinas de base de prótese impressas em 3D. Estes autores verificaram que a rugosidade de superfície é afetada pela angulação de impressão, mas a adesão de *C. albicans* não foi influenciada por esse parâmetro.

Lee *et al* (75) e Yacob *et al* (76) observaram que as resinas quando impressas com uma orientação de 0° apresentavam menor rugosidade de superfície menor tendência para a adesão de *C. albicans*, quando comparadas com orientações de 45°, 60° ou 90°. Estes resultados vão de encontro aos observado na presente investigação, uma vez que se verificou mais adesão de *C. albicans* na resina impressa a 90° em relação à de 0°.

O principal objetivo deste estudo laboratorial *in vitro* consistiu em estudar a adesão do fungo *C. albicans* a uma resina de impressão 3D utilizada na confecção de bases protéticas. Os resultados obtidos indicam que existem diferenças na adesão da *C. albicans* à superfície da resina de impressão 3D quando comparada com uma resina acrílica convencional, sendo a resina de impressão 3D impressa a 90° aquela que mostrou maior adesão da *C. albicans*.

Silva *et al.* (56) avaliaram as propriedades da superfície e a adesão/formação de biofilme por *C. albicans* em resinas de base de próteses impressas em 3D. Amostras em forma de disco (15 mm x 3 mm) de duas resinas de impressão 3D e uma resina termopolimerizável foram analisadas quanto à rugosidade da superfície e energia livre da superfície. A adesão da *C. albicans* e formação de biofilme foram avaliados através da contagem de unidades formadoras de colónias (CFU/mL), ensaio de viabilidade celular usando o método XTT e avaliando a espessura das camadas de biofilme por microscopia confocal a laser. A resina convencional foi a que apresentou maior rugosidade de superfície e menor energia livre de superfície, no entanto, a adesão à superfície foi maior nas resinas de impressão 3D. Os resultados do estudo microbiológico estão de acordo com os obtidos na presente investigação, uma vez que se registou uma maior adesão da *C. albicans* na resina de impressão 3D impressa a 90°, seguida pela resina termopolimerizável. Os provetes avaliados por Silva *et al* (56) foram, tal como no nosso estudo, impressos com uma orientação de 90° em relação ao plano horizontal.

O estudo da quantificação da biomassa de *C. albicans* aderida aos provetes das diferentes resinas, no presente estudo, foi realizado pelo método do violeta de cristal. Apesar de não haver diferenças estatisticamente significativas entre a biomassa aderida à superfície das diferentes resinas ($p > 0.05$), a resina de impressão 3D impressa a 90° foi aquela que mostrou um valor de biomassa aderida maior. Este resultado está de acordo com os

resultados observados nos estudos de adesão à superfície por MEV.

Freitas *et al* (77) avaliaram três tipos de resinas utilizadas na confecção de bases protéticas: uma resina convencional, uma resina de fresagem e uma resina de impressão 3D impressa a 90°. Os autores observaram que a resina de impressão 3D foi a que apresentou maior rugosidade de superfície e menor ângulo de contacto. No que diz respeito à adesão de *C. albicans* à superfície, apesar da resina de impressão 3D ter sido a que potenciou maior adesão deste microrganismo, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas em relação à resina convencional. Estes resultados corroboram os obtidos na presente investigação.

Meirowitz *et al.* (78), no seu estudo, avaliaram algumas propriedades de quatro tipos de resinas de bases de próteses: fresagem, impressão 3D, termopolimerizável e autopolimerizável. As amostras foram testadas quanto à rugosidade da superfície (Ra), hidrofobicidade (ângulo de contacto), adsorção de mucina (ensaio de Bradford) e adesão de *C. albicans*. Estes autores verificaram que não existiram diferenças estatisticamente significativas entre as diferentes resinas no que diz respeito à rugosidade de superfície. A resina de impressão 3D apresentou uma maior hidrofobicidade de superfície e uma maior adesão do fungo *C. albicans*. Estes resultados foram associados aos níveis de adsorção de mucina e não à rugosidade da superfície. Estudos prévios demonstraram que as mucinas desempenham um importante papel como mediadores na adesão da *C. albicans* às superfícies. (79, 80) As mucinas afetam o processo de formação do biofilme deste fungo e a quantidade e complexidade desse biofilme (81) Elas aderem a superfícies hidrofóbicas através da porção proteica hidrofóbica da macromolécula, deixando livres as cadeias de carbono que servem de locais de ligação para os microrganismos (82).

Os resultados do estudo de Meirowitz *et al* (78) sugerem que as resinas de impressão 3D podem aumentar o risco de desenvolvimento de estomatite protética em comparação com o fabrico tradicional de bases de prótese por polimerização térmica. Apesar de não ter sido indicada a orientação de impressão utilizada pelos autores, estes resultados vão ao encontro dos que foram observados na presente investigação se considerarmos a impressão a 90°.

Shim *et al* (72) verificaram que a adesão de *C. albicans* à superfície de

uma resina de impressão 3D impressa com diferentes orientações ao fim de 24h foi maior na angulação de 0°, apesar dessa resina ter apresentado a superfície mais lisa. Este resultado não está de acordo com os obtidos na presente investigação. Esta diferença pode ser explicada pelo facto de o protocolo de investigação utilizado para avaliar a adesão da *C. albicans* à superfície ter sido diferente e também porque as resinas de impressão 3D utilizadas nos dois trabalhos eram de marca comerciais diferentes. Al-Dwairi *et al* (83) verificaram no seu estudo que resinas de impressão 3D de diferentes marcas comerciais apresentaram diferenças nas mesmas propriedades mecânicas e de superfície.

Fouda *et al* (84) avaliou três tipos de resina de base protética (fresagem, convencional e impressão 3D) e verificou que não se observaram diferenças estatisticamente significativas entre a adesão de *C. albicans* à superfície das diferentes resinas convencional e de impressão 3D. Estes resultados estão de acordo com os observados na presente investigação.

Poker *et al* (85) estudaram a adesão de *C. albicans* à superfície de uma resina termopolimerizável e de uma resina de impressão 3D a 0° e verificaram que o potencial de adesão microbiano das duas resinas não apresentou diferenças estatisticamente significativas, o que está de acordo com os resultados observados no nosso estudo. Para além disso estes autores também verificaram que a resina de impressão 3D apresentou uma maior rugosidade de superfície em comparação com a resina convencional, o que vem corroborar a ideia de que a adesão da *C. albicans* não é influenciada pela rugosidade de superfície.

Num outro estudo, Di Fiore *et al* (86) avaliaram a adesão de *C. albicans* a amostras de dois tipos de resina (convencional e impressão 3D) quando incubadas durante 16h e verificaram que não houve diferenças estatisticamente significativas entre os dois tipos de resinas, sendo estes resultados semelhantes aos da presente investigação

Entre as imitações deste estudo, é importante referir o facto de se tratar de um estudo *in vitro*, o que não permite fazer extrapolação dos resultados encontrados para o que acontece na realidade na boca do paciente. Sendo um estudo realizado no âmbito do Mestrado Integrado, o espaço temporal também foi um fator limitante para as atividades idealizadas inicialmente. Apenas foi

utilizada uma marca comercial de resinas de impressão 3D, por isso seria interessante replicar o estudo envolvendo outras resinas da mesma tecnologia.

Como investigações futuras e tendo em consideração o facto de na cavidade oral os microrganismos viverem em comunidade havendo interações entre eles, pretende-se realizar o mesmo protocolo experimental, mas com incubando as amostras de resina num meio contendo ao mesmo tempo *C. albicans* e *S. mutans*. Para além disso, na continuação desta linha de investigação está pensada a execução de um estudo clínico para de uma forma mais realista de compreender o comportamento biológico destas novas resinas e o impacto que eles podem vir a ter no desenvolvimento de estomatite protética.

5. CONCLUSÕES

Tendo em conta as limitações inerentes a este estudo experimental e de acordo com os materiais e métodos utilizados, é possível tirar as seguintes conclusões:

1. Quando sujeitas ao mesmo protocolo de polimento, o estudo de adesão da *C. albicans* à superfície demonstrou que a resina de impressão 3D impressa a 0° foi a menos suscetível à adesão deste microrganismo. Pelo contrário a mesma resina impressa a 90° foi a que apresentou maior tendência à adesão deste fungo.
2. De acordo com a quantificação da biomassa parece também existir uma maior tendência para a adesão microbiana na resina de impressão 3D a 90°.
3. A resina de impressão 3D impressa com uma orientação de 0° em relação ao plano oclusal demonstrou ser uma resina com comportamento biológico favorável no que respeita à adesão de *C. albicans*, e desta forma poder ser uma opção viável à resina convencional para a confecção de bases protéticas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Driscoll CF, Freilich MA, Guckes AD, et al. The Glossary of Prosthodontic Terms: Ninth Edition. *J Prosthet Dent.* 2017;117(5):e1–105.
2. Emami E, De Souza RF, Kabawat M, Feine JS. The impact of edentulism on oral and general health. *Int J Dent.* 2013(8)498305
3. Al-Rafee M. The epidemiology of edentulism and the associated factors: A literature review. *J Fam Med Prim Care.* 2020 Apr;9(4):1841
4. Polzer I, Schimmel M, Müller F, Biffar R. Edentulism as part of the general health problems of elderly adults. *Int Dent J.* 2010 Jun;60(3):143-55.
5. Jorge JH, Giampaolo ET, Vergani CE, Machado AL, Pavarina AC, Carlos IZ. Biocompatibility of denture base acrylic resins evaluated in culture of L929 cells. Effect of polymerisation cycle and post-polymerisation treatments. *Gerodontology.* 2007 Mar;24(1):52-7.
6. Le Bars P, Bandiaky ON, Le Guéhennec L, Clouet R, Kouadio AA. Different Polymers for the Base of Removable Dentures? Part I: A Narrative Review of Mechanical and Physical Properties. *Polymers (Basel).* 2023 Aug 22;15(17):3495.
7. Driscoll CF, Freilich MA, Guckes AD, et al. The Glossary of Prosthodontic Terms: Ninth Edition. *J Prosthet Dent.* 2017;117(5):e1–105;
8. Emami E, De Souza RF, Kabawat M, Feine JS. The impact of edentulism on oral and general health. *Int J Dent.* 2013(8)498305.
9. Alhaji MN, Halboub E, Yacob N, Al-Maweri SA, Ahmad SF, Celebić A, Al-Mekhlafi HM, Salleh NM. Adhesion of *Candida Albicans* to digital versus conventional acrylic resins: a systematic review and meta-analysis. *BMC Oral Health.* 2024 Mar 4;24(1):303.
10. De Kok IJ, Cooper LF, Guckes AD, et al. Factors Influencing Removable Partial Denture Patient-Reported Outcomes of Quality of Life and Satisfaction: A Systematic Review. Vol. 26, *J Prosthodont.* 2017;26:5-18
11. Krausch-Hofmann S, Cuypers L, Ivanova A, Duyck J. Predictors of Patient Satisfaction with Removable Denture Renewal: A Pilot Study. *J Prosthodont.* 2018;27(6):509-16.

12. Alshamrani A, Alhotan A, Kelly E, Ellakwa A. Mechanical and Biocompatibility Properties of 3D-Printed Dental Resin Reinforced with Glass Silica and Zirconia Nanoparticles: In Vitro Study. *Polymers*. 2023; 15(11):2523.
13. Singh K, Aeran H, Kumar N, Gupta N. Flexible thermoplastic denture base materials for aesthetical removable partial denture framework. *J Clin Diagn Res*. 2013; 7(10):2372-3.
14. Lefebvre CA, Knoemchild K, Schuster GS. Cytotoxicity of eluates from lightpolymerized denture base resins. *J Prosthet Dent* 1994; 72:644-650.
15. Swaney AC, Paffenbarger GC, Caul HJ, Sweeney WT. American Dental Association specification No. 12 for denture base resin: second revision. *J Am Dent Assoc*. 1953;46(1):54-66.
16. Qureshi J, Soo S. Effect of different initial finishes and parylene coating thickness on the surface properties of coated PMMA. *J Prosthet Dent*. 2016; 115:363-370.
17. Phillips RW, Anusavice KJ. *Ciencia de los materiales dentales*. 11a ed; Elsevier Españã, Madrid, Spain, 2004:721-57.
18. Alqutaibi AY, Baik A, Almuzaini SA, Farghal AE, Alnazzawi AA, Borzangy S, Aboalrejal AN, AbdElaziz MH, Mahmoud II, Zafar MS. Polymeric Denture Base Materials: A Review. *Polymers (Basel)*. 2023 Jul 31;15(15):3258.
19. Zafar M.S. Prosthodontic Applications of Polymethyl Methacrylate (PMMA): An Update. *Polymers*. 2020;12:2299.
20. Zafar MS. Prosthodontic Applications of Polymethyl Methacrylate (PMMA): An Update. *Polymers (Basel)*. 2020 Oct 8;12(10):2299.
21. Dimitrova M, Vlahova A, Kalachev Y, Zlatev S, Kazakova R, Capodiferro S. Recent Advances in 3D Printing of Polymers for Application in Prosthodontics. *Polymers*. 2023; 15(23):4525.
22. Alqutaibi AY, Baik A, Almuzaini SA, Farghal AE, Alnazzawi AA, Borzangy S, Aboalrejal AN, AbdElaziz MH, Mahmoud II, Zafar MS. Polymeric Denture Base Materials: A Review. *Polymers*. 2023; 15(15):3258.
23. Dimitrova M, Vlahova A, Kazakova R. Assessment of CAD/CAM Fabrication

Technologies for Post and Core Restorations-A Narrative Review. *Medicina (Kaunas)*. 2024 Apr 30;60(5):748.

24. Janeva NM, Kovacevska G, Elencevski S, Panchevska S, Mijoska A, Lazarevska B. Advantages of CAD/CAM versus Conventional Complete Dentures - A Review. *Open Access Maced J Med Sci*. 2018 Aug 4;6(8):1498-1502.

25. Ishida Y, Kuwajima Y, Kobayashi T, Yonezawa Y, Asack D, Nagai M, Kondo H, Ishikawa-Nagai S, Da Silva J, Lee SJ. Current Implementation of Digital Dentistry for Removable Prosthodontics in US Dental Schools. *Int J Dent*. 2022 Apr 15;2022:7331185.

26. Bettencourt AF, Neves CB, de Almeida MS, Pinheiro LM, Oliveira SA, Lopes LP, Castro MF. Biodegradation of acrylic based resins: A review. *Dent Mater*. 2010 May;26(5):e171-80.

27. Bums DR, Beck DA, Nelson SK; Committee on Research in Fixed Prosthodontics of the Academy of Fixed Prosthodontics. A review of selected dental literature on contemporary provisional fixed prosthodontic treatment: report of the Committee on Research in Fixed Prosthodontics of the Academy of Fixed Prosthodontics. *J Prosthet Dent*. 2003 Nov;90(5):474-97.

28. Tuna EB, Aktoren O, Yoshiki O, Gencay K. Elution of residual monomers from dental composite materials. *Eur J Paediatr Dent* 2010;113:110-14.

29. Al-Omiri M.K., Mahmoud A.A., Rayyan M.R., Abu-Hammad O. Fracture resistance of teeth restored with post-retained restorations: An overview. *J. Endod*. 2010;36:1439–1449.

30. Tsintsadze N., Juloski J., Carrabba M., Goracci C., Vichi A., Grandini S., Ferrari M. Effects of scanning technique on in vitro performance of CAD/CAM-fabricated fiber posts. *J. Oral Sci*. 2018;60:262–268.

31. Rokaya D, Srimaneepong V, Sapkota J, Qin J, Siraleartmukul K, Siritwongrungron V. Polymeric materials and films in dentistry: An overview. *J. Adv. Res*. 2018, 14, 25–34.

32. Najeeb S, Zafar MS, Khurshid Z, Siddiqui F. Applications of polyetheretherketone (PEEK) in oral implantology and prosthodontics. *J*.

Prosthodont. Res. 2016, 60, 12–19.

33. Clark, LS, Liska R, Stampfl J, Gurr M, Mulhaupt R. Polymers for 3D Printing and Customized Additive Manufacturing. *Chem. Rev.* 2017, 117, 10212–10290.

34. Heo H, Jin Y, Yang D, Wier C, Minard A, Dahotre NB, Neogi A. Manufacturing and Characterization of Hybrid Bulk Voxeled Biomaterials Printed by Digital Anatomy 3D Printing. *Polymers* 2021, 13, 123.

35. Schweiger J, Edelhoff D, Güth J-F. 3D Printing in Digital Prosthetic Dentistry: An Overview of Recent Developments in Additive Manufacturing. *J. Clin. Med.* 2021, 10, 2010.

36. Revilla-León M, Özcan M. Additive manufacturing technologies used for processing polymers: Current status and potential application in prosthetic dentistry. *J. Prosthodont.* 2019;28:146–158.

37. Saeed F, Muhammad N, Khan AS, Sharif F, Rahim A, Ahmad P, Irfan M. Prosthodontics dental materials: From conventional to unconventional. *Materials Science and Engineering: C.* 2019, 110167.

38. Baba NZ, Goodacre, BJ, Goodacre CJ, Müller F, Wagner S. CAD/CAM complete denture systems and physical properties: A review of the literature. *J. Prosthodont.* 2021, 30, 113–124.

39. Lee HJ, Jeon J, Moon HS, Oh KC. Digital workflow to fabricate complete dentures for edentulous patients using a reversing and superimposing technique. *Appl. Sci.* 2021, 11, 5786.

40. Tavares CC, Freire JCP, Freire SCP, Dias-Ribeiro E, Batista AUD. Aplicabilidade dos sistemas CAD/CAM em Prótese Total: revisão de literatura. *Arch Heal Investig.* 2019;7(11):482-5.

41. Bilgin MS, Baytaroglu EN, Erdem A, Dilber E. A review of computer-aided design/computer-aided manufacture techniques for removable denture fabrication. *Eur J Dent.* 2016;10(2):286–91.

42. Baba NZ, AlRumaih HS, Goodacre BJ, Goodacre CJ. Current techniques in CAD/CAM Denture Fabrication. *Gen. Dent.* 2016, 64, 23–28.

43. Park C, Kee W, Lim HP, Park SW. *Combining 3D-printed metal and resin for*

digitally fabricated dentures: A dental technique. The Journal of Prosthetic Dentistry. 2019.

44. Nathanael, A.J.; Oh, T.H. Biopolymer Coatings for Biomedical Applications. *Polymers* 2020, *12*, 3061.

45. Pillai, S.; Upadhyay, A.; Khayambashi, P.; Farooq, I.; Sabri, H.; Tarar, M.; Lee, K.T.; Harb, I.; Zhou, S.; Wang, Y.; et al. Dental 3D-Printing: Transferring Art from the Laboratories to the Clinics. *Polymers* 2021, *13*, 157.

46. Abduo, J.; Lyons, K.; Bennamoun, M. Trends in Computer-Aided Manufacturing in Prosthodontics: A Review of the Available Streams. *Int. J. Dent.* 2014, *2014*, 783948.

47. Hazeveld A, Huddleston Slater JJR, Ren Y. Accuracy and reproducibility of dental replica models reconstructed by different rapid prototyping techniques. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 2014;*145*(1):108-15.

48. Reymus AKRHM. 3D Printing in Dentistry— State of the Art. *Oper Dent* 2020;*45*(1): 30-40.

49. Arnold C, Hey J, Schweyen R, Setz JM. Accuracy of CAD-CAM-fabricated removable partial dentures. *J Prosthet Dent.* 2018;*119*(4):586-92.

50. Camargo I, Manetti L, Zeczkowski M, Sundfeld D, Pini N, Mori A, et al. Sistemas CAD/CAM e suas aplicações na odontologia: revisão da literatura. *Revista Uningá.* 2018;*55*:221-8.

51. Prakash J, Shenoy M, Alhasmi A, Al Saleh AA, C SG, Shivakumar S. Biocompatibility of 3D-Printed Dental Resins: A Systematic Review. *Cureus.* 2024 Jan 5;*16*(1):e51721.

52. Fugolin APP, Pfeifer CS. New Resins for Dental Composites. *J Dent Res.* 2017 Sep;*96*(10):1085-1091.

53. 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 Nov;*114*:103785.

54. Iftekar SF, Aabid A, Amir A, Baig M. Advancements and Limitations in 3D

Printing Materials and Technologies: A Critical Review. *Polymers* (Basel). 2023 May 30;15(11):2519.

55. Simge TF, Meryem G. Oral Biofilm and Prosthetic Materials. *Cyprus J Med Sci.*2022 Dec;7(6):712-717. doi:10.4274/cjms.2020.3099.

56. Silva MDDd, Nunes TSBS, Viotto HEdC, Coelho SRG, Souza RFd, Pero AC (2023) Microbial adhesion and biofilm formation by *Candida albicans* on 3D-printed denture base resins. *PLoS ONE* 18(10): e0292430.

57. Coyte KZ, Schluter J, Roster KR. The ecology of the microbiome: networks, competition and stability. *Science*. 2015; 350(6261): 663-666.

58. Ramla S, Sharma V, Patel M. Influence of cancer treatment on the *Candida albicans* isolated from the oral cavities of cancer patients. *Support Care Cancer*. 2016; 24: 2429–2436.

59. Manikandan S, Vinesh E, Selvi DT, Kannan RK, Jayakumar A, Dinakaran J. Prevalence of *Candida* among Denture Wearers and Nondenture Wearers. *J Pharm Bioallied Sci*. 2022 Jul;14(Suppl 1):S702-S705.

60. Cross LJ, Williams DW, Sweeney CP, Jackson MS, Lewis MA, Bagg J. Evaluation of the recurrence of denture stomatitis and candida colonization in a small group of patients who received itraconazole. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2004;97:351–8.

61. Patil S, Licari FW, Bhandi S, Awan KH, Badnjević A, Belli V, Cervino G, Minervini G. The Cytotoxic Effect of Thermoplastic Denture Base Resins: A Systematic Review. *J Funct Biomater*. 2023 Aug 3;14(8):411.

62. Duzyol M, Bayram P, Duzyol E, Aksak Karamese S. Assessing the impact of dental restorative materials on fibroblast cells: an immunohistochemical and ELISA analysis. *Sci Rep*. 2024 Feb 27;14(1):4725.

63. Dimitrova, M.; Corsalini, M.; Kazakova, R.; Vlahova, A.; Chuchulska, B.; Barile, G.; Capodiferro, S.; Kazakov, S. Comparison between Conventional PMMA and 3D Printed Resins for Denture Bases: A Narrative Review. *J. Compos. Sci.* 2022, 6, 87.

64. 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*. 2022 Jun;31(5):412-418.
65. Serefko AD, Poleszak EJ, Malm A. *Candida albicans* Denture Biofilm and its Clinical Significance. *Pol J Microbiol*. 2012 Sep 28;61(3):161-167.
66. Pasmore M, Todd P, Pfiefer B, Rhodes M, Bowman CN. Effect of polymer surface properties on the reversibility of attachment of *Pseudomonas aeruginosa* in the early stages of biofilm development. *Biofouling* 2002;18: 65-71;
67. Terada A, Yuasa A, Kushimoto T, Tsuneda S, Katakai A, Tamada M. Bacterial adhesion to and viability on positively charged polymer surfaces. *Microbiology* 2006;152:3575-83.
68. An YH, Friedman RJ. Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterial surfaces. *J Biomed Mater Res* 1998;43:338-48..
69. Katsikogianni M, Missirlis YF. Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterials and of techniques used in estimating bacteriamaterial interactions. *Eur Cell Mater* 2004;8:37-57; 7.
70. McCord JF. Contemporary techniques for denture fabrication. *J Prosthodont* 2009;18:106-11.
71. Quirynen M, Bollen CM. The influence of surface roughness and surface-free energy on supra- and subgingival plaque formation in man. A review of the literature. *J Clin Periodontol* 1995;22:1-14.
72. Shim JS, Kim JE, Jeong SH, Choi YJ, Ryu JJ. Printing accuracy, mechanical properties, surface characteristics, and microbial adhesion of 3D-printed resins with various printing orientations. *J Prosthet Dent*. 2020 Oct;124(4):468-475.
73. Zhan X, Cao L, Xiang D, Tang H, Xia D, Lin H. [Effect of printing orientation on physical and mechanical properties of 3D printing prosthodontic base resin materials]. *Beijing Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2024 Apr 18;56(2):345-351.
74. Li P, Fernandez PK, Spintzyk S, Schmidt F, Beuer F, Unkovskiy A. Effect of additive manufacturing method and build angle on surface characteristics and *Candida albicans* adhesion to 3D printed denture base polymers. *J Dent*. 2022 Jan;116:103889.
75. Lee WJ, Jo YH, Yilmaz B, Yoon HI. Effect of build angle, resin layer thickness

and viscosity on the surface properties and microbial adhesion of denture bases manufactured using digital light processing. *J Dent.* 2023 Oct;137:104608.

76. Yacob N, Ahmad NA, Safii SH, Yunus N, Abdul Razak F. Is microbial adhesion affected by the build orientation of a 3-dimensionally printed denture base resin? *J Prosthet Dent.* 2023 Jul;130(1):131.e1-131.e7.

77. 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.* 2023 Apr;32(S1):38-44.

78. 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;14:221.

79. Gad, M.M.; Al-Thobity, A.M.; Shahin, S.Y.; AlSaqr, B.T.; A Ali, A. Inhibitory effect of zirconium oxide nanoparticles on *Candida albicans* adhesion to repaired polymethyl methacrylate denture bases and interim removable prostheses: A new approach for denture stomatitis prevention. *Int. J. Nanomed.* 2017, 12, 5409–5419.

80. Bürgers, R.; Hahnel, S.; Reichert, T.E.; Rosentritt, M.; Behr, M.; Gerlach, T.; Handel, G.; Gosau, M. Adhesion of *Candida albicans* to various dental implant surfaces and the influence of salivary pellicle proteins. *Acta Biomater.* 2010, 6, 2307–2313.

81. 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, 686–692.

82. Käs Dorf, B.T.; Weber, F.; Petrou, G.; Srivastava, V.; Crouzier, T.; Lieleg, O. Mucin-Inspired Lubrication on Hydrophobic Surfaces. *Biomacromolecules* 2017, 18, 2454–2462.

83. Al-Dwairi ZN, Al Haj Ebrahim AA, Baba NZ. A Comparison of the Surface and Mechanical Properties of 3D Printable Denture-Base Resin Material and Conventional Polymethylmethacrylate (PMMA). *J Prosthodont.* 2023 Jan;32(1):40-48.

84. Fouda SM, Gad MM, Abualsaud R, Ellakany P, AlRumaih HS, Farooqi FA, Matin A, Al-Eraky DM, Al-Qarni FD, Al-Harbi FA. In Vitro Evaluation of Candida albicans Adhesion and Related Surface Properties of CAD/CAM Denture Base Resins. *Eur J Dent.* 2024 May;18(2):579-586.
85. Poker BC, Oliveira VC, Macedo AP, Gonçalves M, Ramos AP, Silva-Lovato CH. Evaluation of surface roughness, wettability and adhesion of multispecies biofilm on 3D-printed resins for the base and teeth of complete dentures. *J Appl Oral Sci.* 2024 Apr 19;32:e20230326.
86. Fiore AD, Meneghello R, Brun P, Rosso S, Gattazzo A, Stellini E, Yilmaz B. Comparison of the flexural and surface properties of milled, 3D-printed, and heat polymerized PMMA resins for denture bases: An in vitro study. *J Prosthodont Res.* 2022 Jul 30;66(3):502-508.

Membros do Júri das Provas Públicas

Presidente: Prof. Doutora Cristina Figueiredo
(Categoria profissional e Filiação académica)

Arguente: Prof. Doutora Rita Bornes
(Categoria profissional e Filiação académica)

Orientador: Prof. Doutora Helena Salgado
(Categoria profissional e Filiação académica)

Data das provas públicas: 24 / 07 / 2024

Validação e confirmação pelos serviços escolares:

___ / ___ / ___