

COMPÓSITOS EXPERIMENTAIS ANTIMICROBIANOS PARA IMPRESSÃO 3D DE PRÓTESES DENTÁRIAS

LARISSA MOREIRA PINTO¹; MONIKA LAMAS FERREIRA²; KÁTIA CRISTIANE HALL³; ANDRESSA DA SILVA BARBOZA⁴; JULIANA DA SILVA RIBEIRO⁵; RAFAEL GUERRA LUND⁶

¹Larissa Moreira Pinto – larimoreirapinto@gmail.com

²Monika Lamas Ferreira – monikalamasf@gmail.com

³Kátia Cristiane Hall – katiachall@gmail.com

⁴Andressa da Silva Barboza – andressahb@gmail.com

⁵Juliana da Silva Ribeiro – sribeirooj@gmail.com

⁶Rafael Guerra Lund – rafael.lund@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A estomatite protética (EP) é caracterizada por uma inflamação da mucosa oral causada principalmente por uma infecção por *Candida spp.*, um gênero de levedura oportunista comumente encontrada na microbiota bucal, que contribui amplamente para colonizar e formar biofilme nas superfícies protéticas. Devido ao contato íntimo da prótese com a mucosa oral, a formação de biofilme nas superfícies protéticas muitas vezes resulta em EP (75%) (EMAMI et al., 2013). Embora os agentes antimicrobianos de amplo espectro tenham sido desenvolvidos para tratar isso, eles apresentam limitações, como curto período de retenção do medicamento e efeitos colaterais. Além disso, a eficácia de terapias locais, como soluções de limpeza combinadas com protocolos de higiene rigorosos, que dependem muito da adesão do paciente, é limitada, principalmente para usuários idosos de dentaduras (NEWTON; MORIMOTO, 2017). Assim, terapias alternativas mais eficazes são necessárias.

O uso de tecnologias digitais em Odontologia já faz parte da rotina de muitos consultórios e laboratórios, com o desenvolvimento e aprimoramento da tecnologia CAD/CAM (*Computer-aided Design/Computer-aided Manufacturing*) e da impressão 3D. Além disso, com o sucesso e crescimento do uso da tecnologia tridimensional (3D), tópicos relacionados à tecnologia digital, também cresceram e mostram um grande impacto na Odontologia (ANADIOTI et al., 2018). Desde o advento dos sistemas de imagem e fresagem do CAD/CAM, que literalmente criaram uma nova modalidade de Odontologia clínica (MAINJOT et al., 2016), até o desenvolvimento das impressoras 3D, grandes avanços têm sido feitos para melhorar os diferentes componentes dessa tecnologia, com o objetivo de facilitar seu acesso, uso e disponibilidade para fins clínicos, pré-clínicos e de pesquisa.

A inovação pretendida com este estudo foi a adição da funcionalidade antimicrobiana na tecnologia de manufatura aditiva para o desenvolvimento de materiais para impressão 3D que careciam deste incremento tecnológico nos produtos odontológicos já disponíveis no mercado. Por isso, o desenvolvimento desses compósitos para impressão 3D biocompatíveis para uso humano, associado à inclusão de agentes antimicrobianos nas suas composições, tornaram esta tecnologia inovadora e com um grande diferencial.

Portanto, este estudo objetivou a formulação e a avaliação de compósitos experimentais para impressão 3D com propriedades antimicrobianas e físicas para a confecção de próteses dentárias.

2. METODOLOGIA

2.1 Desenho experimental

Nesse estudo, uma resina de impressão 3D foi incorporada com agentes antifúngicos, para o controle da formação de biofilme e por consequência da estomatite protética. Essa resina experimental foi submetida a análises de caracterização física da superfície e propriedade antimicrobiana.

2.2 Fabricação dos espécimes

Amostras de cada grupo em forma de disco (12mm de diâmetro e 1mm de espessura) foram impressas com resina de impressão 3D para próteses (Cosmos Denture, Yller Biomateriais®, Pelotas, Brasil) contendo antifúngicos tradicionais em duas concentrações (2mg/ml e 10mg/ml): Nistatina (NYS2 e NYS10) e Fluconazol (FLU2 e FLU10). A resina sem agente antifúngico foi utilizada como grupo Controle (C).

2.3 Avaliação das propriedades físicas de superfície

Dez amostras de cada grupo foram submetidas aos testes de propriedades físicas de superfície. A medição da rugosidade da superfície, através da análise de topografia no microscópio confocal (Zeiss LSM800, Jena, Alemanha), as imagens obtidas foram analisadas pelo *software* ConfoMap (Zeiss) e os resultados foram obtidos em S_a (μm). A análise de hidrofobicidade da superfície foi avaliada através do ângulo de contato com a água (técnica da gota séssil), depositando uma gota de água Milli-Q de 3 μl e capturando a imagem após 90 segundos, os ângulos de contato com o substrato foram obtidos e calculados pelo goniômetro (Ossila Ltda, Sheffield, Reino Unido).

2.4 Ensaio de inibição da formação de biofilme

E ao final, dois espécimes de cada grupo foram submetidos ao teste de inibição da formação de biofilme usando um modelo de espécies mistas (*Candida albicans* e *Streptococcus mutans*). Amostras dos três grupos foram incubadas em suspensões em meio de cultura BHI (*Brain Heart Infusion*) com 1% sacarose em placas de 24 poços, em condições aeróbicas, a 37°C, por 42h. O meio foi inicialmente inoculado com 10^4 e 10^6 células/ml de *C. albicans* e *S. mutans*, respectivamente, ajustadas por espectrofotômetro. No decorrer do experimento, o meio de cultura foi trocado duas vezes por meio fresco (sem microrganismos) e ao final das 42h, foram realizadas análises de contagem de unidades formadoras de colônia (UFC/ml) e de peso seco. Os testes foram feitos em triplicata.

2.5 Análise estatística

A análise estatística dos dados foi realizada no programa GraphPad Prism 9, através do teste de análise de variância (ANOVA), seguido pelo teste de Tukey e do teste Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de Dunn's para análise *post hoc*. O nível de significância foi de 5%.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Rugosidade superficial e hidrofobicidade:

Não foram encontradas diferenças estatísticas nas medidas de rugosidade entre os grupos, porém FLU2 e NYS2 foram significativamente mais hidrofóbicos que C (Figuras 1 e 2).

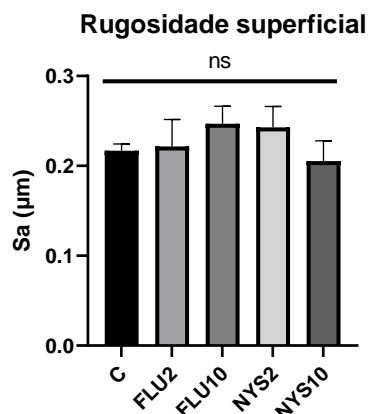


Figura 1. Rugosidade Superficial.

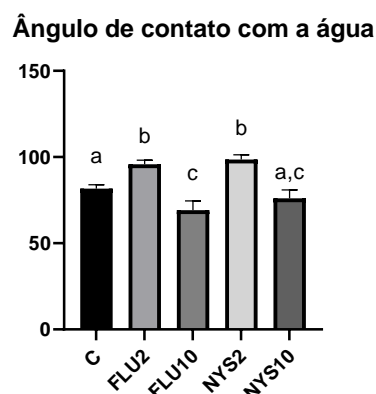


Figura 2. Ângulo de contato com a água.

3.2 Biofilme duas espécies:

O grupo FLU10 apresentou significativa atividade antibiofilme, observada pela redução da biomassa e um log de UFC/ml de *C. albicans* ($p < 0,05$). Para UFC/ml de *S. mutans*, nenhuma diferença foi encontrada entre os grupos (Figura 3 e 4).

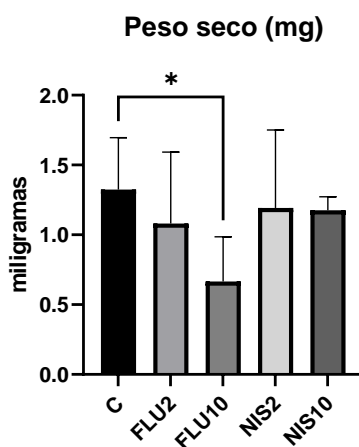


Figura 3. Média dos valores de peso seco para cada grupo.

O grupo FLU10 foi capaz de reduzir significativamente a formação de biofilme nas amostras, tanto em UFC de *C. albicans* quanto em dados de biomassa, enquanto a mesma concentração de nistatina não mostrou tal diferença. Nenhum dos grupos experimentais teve impacto sobre a UFC de *S. mutans*, mostrando que sua atividade é direcionada a fungos e subprodutos do biofilme. A diferença entre os dois antifúngicos na mesma concentração pode ter ocorrido devido à estabilidade da nistatina dentro do polímero e à lixiviação no meio.

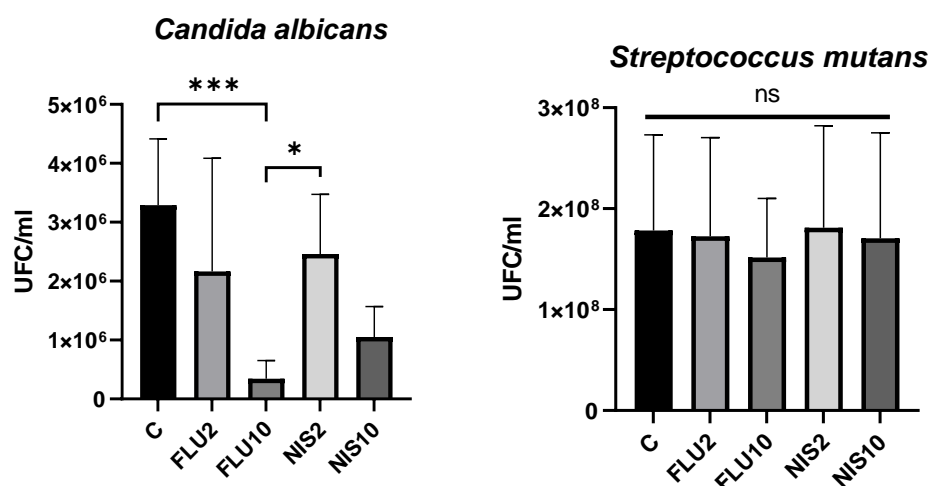


Figura 4. Médias de UFC/ml contra *C. albicans* e *S. mutans*.

4. CONCLUSÕES

A incorporação de fluconazol na resina revelou potencial antimicrobiano, em um modelo de biofilme misto, um forte modelo virulento para a investigação de doenças infecciosas bucais. Esses resultados sugerem que a associação de uma tecnologia como a manufatura aditiva pode ser de grande benefício para o controle da EP. Além disso, o fluxo de trabalho simplificado e recursos de baixo custo são essenciais para o manejo de doenças de alta prevalência. Maiores investigações são necessárias para reforçar esses resultados.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- EMAMI, E.; TARAF, H.; GRANDMONT, P.; GAUTHIER, G.; KONINCK, L.; LA-MARCHE C. et al. The association of denture stomatitis and partial removable dental prostheses: a systematic review. **Journal of Prosthetic Dentistry**, v. 109, n. 2, p. 128, 2013.
- NEWTON, S.; MORIMOTO, S. Estomatite protética: etiologia, tratamento e aspectos clínicos. **Journal of Bi dentistry and Biomaterials**, v. 2, 2017.
- ANADIOTI, E.; KANE, B.; SOULAS, E. Current and Emerging Applications of 3D Printing in Restorative Dentistry. **Current Oral Health Reports**, p. 1-7, 2018.
- BUKHARI, S.; GOODACRE, B.J.; ALHELAL, A.; KATTADIYIL, M.T.; RICHARDSON, P.M. Three-dimensional printing in contemporary fixed prosthodontics: A technique article. **Journal of Prosthetic Dentistry**, v.1, n. 119, p. 530-4, 2018.
- MAINJOT, A.K.; DUPONT, N.M.; OUDKERK, J.C.; DEWAEEL, T.Y.; SADOUN, M.J. From artisanal to CAD-CAM blocks: state of the art of indirect composites. **Journal of Dental Research**, v. 95, n. 5, p. 487-95, 2016.