



**QUALIS**  
**A2**



**PLASMA DE ARGÔNIO NA PREVENÇÃO E NO CONTROLE DE  
BIOFILME DE CANDIDA ALBICANS EM RESINA ACRÍLICA PARA BASE  
DE PRÓTESE: ESTUDO IN VITRO<sup>1</sup>**

**ARGON PLASMA FOR PREVENTION AND CONTROL OF CANDIDA  
ALBICANS BIOFILM ON DENTURE BASE ACRYLIC RESIN:  
IN VITRO STUDY**

**Marcelo Bruno Lemos de OLIVEIRA**  
Centro Universitário Ateneu (UNIATENEU)  
E-mail: marcelolemos@alu.ufc.br  
ORCID: <http://orcid.org/0009-0005-6608-2939>

**Bruna Albuquerque GARCIA**  
Universidade da Flórida (UF)  
E-mail: brunaalbuquerque@ufl.edu  
ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2217-0986>

**Matheus Loíky Sampaio de SOUZA**  
Universidade Federal do Ceará (UFC)  
E-mail: maatheusloiky@gmail.com  
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5461-2753>

**Davi Valentim OLIVEIRA**  
Universidade Federal do Ceará (UFC)  
E-mail: dr.davivalentim@gmail.com  
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5044-8968>

**Thalisson Miranda PIRES**  
Universidade Federal do Ceará (UFC)  
E-mail: thalisson.mirandapires@gmail.com  
ORCID: <http://orcid.org/0009-0003-3684-9612>

**Juliano Sartori MENDONÇA**  
Universidade Federal do Ceará (UFC)  
E-mail: mendoncajs@hotmail.com  
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4010-0474>

**Rômulo Rocha REGIS**  
Universidade Federal do Ceará (UFC)  
E-mail: romuloregis@hotmail.com  
ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2900-7815>

**Karina Matthes de Freitas PONTES**  
Universidade Federal do Ceará (UFC)  
E-mail: karinapontes@ufc.br  
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7071-5886>

<sup>1</sup> COMO CITAR: (ABNT): OLIVEIRA, M. B. L.; GARCIA, B. A.; SOUZA, M. L. S.; OLIVEIRA, D. V.; PIRES, M. T.; MENDONÇA, J. S.; REGIS, R. R.; PONTES, K. M. F. Plasma de Argônio na Prevenção e no Controle de Biofilme de Candida Albicans em Resina Acrílica para Base de Prótese – Estudo In Vitro. **JNT Facit Business and Technology Journal**. Qualis A2. ISSN: 2526-4281, Mês de Março de 2026 - Ed. 72. VOL. 01. Págs.214-230. Disponível: <http://revistas.faculdefacit.edu.br>. Acesso em: \_\_/\_\_/\_\_.

## RESUMO

O controle do biofilme de *Candida albicans* em próteses dentárias removíveis é dificultado pela ausência de técnicas que impeçam recorrência de infecção, resistência microbiana e danos à resina acrílica que a compõem. Assim, o objetivo do presente trabalho foi analisar os efeitos do plasma de argônio, direta e indiretamente, no biofilme de *Candida albicans* em superfícies de resina acrílica. Para tanto, foi realizada a esterilização dos espécimes em óxido de etileno e exposição ao crescimento *in vitro* do biofilme, antes ou após aplicação do tratamento experimental com plasma de argônio (99,998% de pureza, 5 L/min, P 10W). Os espécimes foram divididos em grupos (n=5): controle (C); pré-tratamento; clorexidina (CX); gás (G); plasma 1 min (Pl 1 min) e 2 min (Pl 2 min). Na sequência, foi realizada a lavagem dos espécimes e a diluição seriada da suspensão obtida. Por fim, foi realizada a semeadura de 25 µl da suspensão, em triplicata, em placas com Ágar Sabouraud Dextrose com incubação por 48h a 37°C. Os dados obtidos do pré-tratamento foram comparados pelo teste Mann-Whitney e da ação antimicrobiana pelo teste Kruskal-Wallis, com pós-teste de Dunn ( $\alpha=0,05$ ). Não foi identificada diferença estatisticamente significativa entre os grupos C e pré-tratamento ( $p=0,91$ ). Por outro lado, houve diferença significativa entre os grupos C, Pl 1 min, Pl 2 min, G e CX ( $p<0,0001$ ). Os grupos Pl 1 min e 2 min, embora não diferirem estatisticamente entre si, reduziram significativamente a quantidade de UFC/ml em comparação ao grupo C ( $p<0,05$ ) e alcançaram resultados semelhantes ao grupo CX. Com isso, pode-se concluir que o uso indireto do plasma de argônio não foi eficaz, porém seu uso direto sobre o biofilme formado de *Candida albicans* foi eficaz, com resultados semelhantes à clorexidina.

**Palavras-chave:** Non-Thermal Atmospheric Pressure Plasma. *Candida albicans*. Acrylic Resins. Stomatitis. Denture.

## ABSTRACT

The control of *Candida albicans* biofilm on removable dental prostheses is hindered by the lack of techniques that prevent infection recurrence, microbial resistance, and damage to the acrylic resin of which they are composed. Thus, the aim of this study was to analyze the effects of argon plasma, directly and indirectly, on *Candida albicans* biofilm on acrylic resin surfaces. To this end, specimens were sterilized in ethylene oxide and exposed to *in vitro* biofilm growth, either before or after application of the experimental treatment with argon plasma (99.998% purity, 5 L/min, P 10W). The

specimens were divided into groups (n=5): control (C); pre-treatment; chlorhexidine (CX); gas (G); plasma 1 min (Pl 1 min) and 2 min (Pl 2 min). Subsequently, the specimens were washed and the resulting suspension was serially diluted. Finally, 25 µl of the suspension was plated in triplicate on Sabouraud Dextrose Agar plates and incubated for 48h at 37°C. The pre-treatment data were compared using the Mann-Whitney test, and the antimicrobial activity data using the Kruskal-Wallis test with Dunn's post-test ( $\alpha=0.05$ ). No statistically significant difference was identified between the C and pre-treatment groups ( $p=0.91$ ). On the other hand, there was a significant difference among the C, Pl 1 min, Pl 2 min, G, and CX groups ( $p<0.0001$ ). The Pl 1 min and 2 min groups, although not statistically different from each other, significantly reduced the number of CFU/ml compared to the C group ( $p<0.05$ ) and achieved results similar to the CX group. It can therefore be concluded that the indirect use of argon plasma was not effective; however, its direct application onto the formed *Candida albicans* biofilm was effective, with results comparable to chlorhexidine.

**Keywords:** Non-Thermal Atmospheric Pressure Plasma. *Candida albicans*. Acrylic Resins. Stomatitis. Denture.

## INTRODUÇÃO

O polimetilmetacrilato (PMMA), conhecido como resina acrílica, é um polímero comumente empregado na Odontologia, em razão de suas propriedades únicas, tais como a baixa densidade, a estética, o custo-benefício, a facilidade de manipulação, além de seus atributos físicos e mecânicos, que favorece sua utilização como base protética (Lourinho *et al*, 2022).

Entretanto, características de superfície das próteses dentárias podem desempenhar papéis importantes na adesão do biofilme microbiano, bem como no desenvolvimento de lesões, como a estomatite protética (Bajunaid, 2022). Propriedades como a rugosidade de superfície, em níveis acima de 0,2 µm, favorecem a adesão microbiana pois as irregularidades prendem os microrganismos e dificultam sua remoção; além disso, a energia livre de superfície pode alterar a interação hidrofóbica entre a superfície protética e os microrganismos, facilitando ou desfavorecendo a formação de biofilme de espécies de *Candida* (Bajunaid, 2022).

A estomatite protética é uma infecção multifatorial, geralmente envolvendo a colonização por fungos do gênero *Candida*, especialmente a *Candida albicans* (*C. albicans*), caracterizando-se pela presença de eritema na mucosa subjacente à

superfície da prótese dentária removível, principalmente em usuários de próteses totais, sendo considerada a lesão mais comum entre usuários de próteses dentárias removíveis, afetando cerca de 72% dos usuários, com uma maior prevalência entre mulheres (Bajunaid *et al*, 2022; Sakima *et al*, 2022).

A *C. albicans* é um microrganismo hidrofóbico oportunista da cavidade oral, que pode se transformar em patógeno sob certas condições, como imunossupressão, desnutrição, má higienização da cavidade oral, próteses mal adaptadas, entre outras (Bajunaid, 2022; Gad; Abualsaud; Khan, 2022; Rakasevic *et al*, 2024). Em ambientes ácidos, a *C. albicans* pode modificar sua estrutura morfológica, passando de blastômeros para hifas, criando filamentos e formando estruturas multicelulares complexas, conhecidas como biofilme, que apresenta maior resistência ao sistema imune e aos agentes antifúngicos (Avukat *et al*, 2023; Rakasevic *et al*, 2024).

Ainda que seja uma condição assintomática, pode haver, em alguns casos, o aparecimento de sinais e sintomas, tais como queimação, disgeusia, disfagia e halitose, que afetam a qualidade de vida dos pacientes e exigem o tratamento dessa patologia com antifúngicos, remoção de fatores de risco e manutenção da higiene oral, porém a administração tópica de antifúngicos implica, geralmente, no uso prolongado, podendo contribuir para o desenvolvimento de cepas resistentes e a necessidade de administração sistêmica do medicamento (Rakasevic *et al*, 2024).

Manejos não invasivos para desinfecção das próteses estão sendo pesquisados, como o plasma atmosférico não térmico (NTAP), que já vem sendo empregado na área médica para esterilização, coagulação sanguínea, inativação bacteriana e terapia oncológica, em razão de suas vantagens, que incluem seletividade, precisão e mínimos danos aos tecidos que circundam a área tratada (Singh *et al*, 2020).

Conceitualmente, o plasma é o quarto estado da matéria, caracterizado como uma mistura gasosa de partículas neutras, elétrons e íons em diferentes densidades e temperaturas, que é alcançado a partir do aquecimento de gases ou da sua sujeição a fortes campos eletromagnéticos, para que essas partículas gasosas se tornem ionizadas (Borges *et al*, 2021). Em condições laboratoriais, o plasma geralmente é produzido a partir de descargas elétricas em gases nobres ou moléculas, como, por exemplo, o argônio, o hélio, o nitrogênio e o oxigênio, utilizando micro-ondas ou radiofrequência para excitação (Borges *et al*, 2021).

Os efeitos antimicrobianos do NTAP se baseiam no fato de que, durante a descarga de barreira dielétrica, há formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) e espécies reativas de nitrogênio (RNS), que causam danos à membrana citoplasmática, às proteínas bacterianas e ao DNA das células-alvo. Além disso, o plasma promove o

aumento do molhamento superficial de materiais, mesmo na presença da película salivar, bem como a redução do ângulo de contato, favorecendo a hidrofiliabilidade do PMMA, podendo reduzir a adesão de *C. albicans* (Gad; Abualsaud; Khan, 2022).

Neste sentido, este estudo tem como objetivo analisar os efeitos da aplicação do plasma de argônio em superfícies de resina acrílica como pré-tratamento para inibir a formação de biofilme de *C. albicans* e, também, sua ação antimicrobiana direta sobre o biofilme de *C. albicans* formado. A primeira hipótese de trabalho desse estudo é que o pré-tratamento com plasma de argônio poderia inibir a formação de *C. albicans* em superfícies de resina acrílica. A segunda hipótese é que o tratamento com plasma de argônio poderia reduzir a contagem de unidades formadoras de colônia de *C. albicans* em biofilmes formados em superfícies de resina acrílica.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Delineamento Experimental

Este estudo experimental *in vitro* analisou os efeitos da aplicação do plasma de argônio em superfície de resina acrílica com biofilme de *C. albicans* por meio de análise microbiológica e análise com microscopia eletrônica de varredura (MEV). Foram confeccionados espécimes de resina acrílica, distribuídos em seis grupos (n=5):

- Grupo controle negativo (C): formação de biofilme sobre espécimes de resina acrílica sem nenhum tratamento;
- Grupo pré-tratamento: aplicação de plasma de argônio, durante 1 minuto, sobre o espécime de resina acrílica previamente à formação do biofilme;
- Grupo controle positivo – clorexidina (CX): formação do biofilme sobre espécimes de resina acrílica sucedido pela imersão em digluconato de clorexidina a 2% durante 10 minutos;
- Grupo gás (G): formação do biofilme sobre os espécimes de resina acrílica sucedido pela aplicação de gás de argônio durante 1 minuto;
- Grupo plasma 1 minuto (Pl 1 min): formação do biofilme sobre o espécimes de resina acrílica sucedido pela aplicação de plasma de argônio durante 1 minuto;
- Grupo plasma 2 minuto (Pl 2 min): formação do biofilme sobre o espécimes de resina acrílica sucedido pela aplicação de plasma de argônio durante 2 minutos.

## Preparação dos Espécimes

Foram confeccionados 36 espécimes de resina acrílica termopolimerizável para base de dentaduras (Art. Odontol. Clássico Ltda.; Campo Limpo Paulista, Brasil) em formato de disco com 10 mm de diâmetro e 2 mm de espessura. Matrizes metálicas em formato de disco foram incluídas em muflas número 6 (Jon Ind. e Com. de Prod. Odontol Ltda.; São Paulo, Brasil), com gesso pedra tipo IV (Herostone; Vigodent Ind. Com. Ltda.; Rio de Janeiro, Brasil).

Após a desinclusão das matrizes, a resina acrílica foi manipulada com 21 g de pó e 7 ml de líquido, prensada na fase plástica, com espera de 30 minutos, para ser polimerizada em micro-ondas, seguindo as instruções do fabricante. O resfriamento natural das muflas foi aguardado após a finalização da polimerização, para se proceder a desinclusão dos espécimes e imersão em água destilada, por 24 horas, para eliminação do monômero residual. O acabamento dos espécimes foi realizado em polidora elétrica rotativa (Aropol 2V; Arotec Ind Com; Cotia, Brasil), em baixa rotação (150 rpm), sob resfriamento a água, com lixa d'água de granulação 600 (T223; Saint-Gobain do Brasil Prod. Ind. e para Constr. Ltda.; Guarulhos, Brasil), durante 1 minuto, a fim de padronizar a rugosidade de todos os espécimes em aproximadamente 0,2  $\mu\text{m}$ . A rugosidade de superfície dos espécimes foi avaliada a partir de um rugosímetro (Hommel-Etamic T1000; Jenoptik Industrial Metrology Germany GmbH; Tönisvorst, Alemanha). Realizou-se três mensurações em cada face de cada espécime para obter a média da rugosidade de superfície com o *cutoff* de 0,8 mm e velocidade 0,5 m/s. Os espécimes foram lavados em cuba ultrassônica (Cristófoli Equipamentos de Biossegurança; Campo Mourão, Brasil) com água destilada por 10 minutos para remoção de qualquer detrito. Em seguida, foram esterilizados por óxido de etileno, à baixa temperatura.

## Formação do Biofilme

Para a formação do biofilme, os espécimes de resina acrílica foram inoculados com *C. albicans* (ATCC 14053) em Sabouraud Dextrose caldo (Oxoid Ltda; Basingstoke; United Kingdom) em placas de 24 poços. A concentração de  $1 \times 10^7$  células/ml do inóculo foi conferida em espectrofotômetro (Ultrospec 1100 Pro; Amersham Biosciences Ltda.; Freiburg, Germany), com absorvância de 0,38 com comprimento de onda de 530 nm. As placas contendo os espécimes imersos foram incubados a 37°C, por 48 horas em estufa bacteriológica.

Após o período de incubação, os espécimes foram removidos do inóculo, lavados com solução estéril de cloreto de sódio 0,9%, para desprendimento de células não aderidas.

A formação do biofilme no grupo pré-tratamento foi realizada após a aplicação do plasma sobre a superfície dos espécimes e nos demais grupos foi realizada logo após serem esterilizados, antes de qualquer tratamento.

### **Aplicação do Gás de Argônio e Plasma de Argônio**

Foi utilizado um aparelho de plasma atmosférico não térmico (kINPen® 09; neoplas GmbH; Greifswald, Germany) com fluxo de liberação de gás de 5 L/min, que contém uma unidade portátil conectada a uma fonte de energia de alta frequência (1,1Mhz, 2-6kV pico a pico, 10W de potência). O gás argônio usado apresenta 99,998% de pureza (White Martins; Rio de Janeiro, Brasil). A chama que sai do bocal da caneta aplicadora tem 1,5 mm de diâmetro e um alcance de 5 mm de distância. A caneta aplicadora foi fixada em uma haste, de modo a padronizar a distância de aplicação do bocal ao espécime, em 4 mm. No grupo pré-tratamento foi realizada a aplicação durante 1 minuto, a 10W/1bar, sobre toda a superfície dos dois lados do espécime previamente à formação do biofilme. Nos grupos pós-tratamento com plasma (Pl 1 min e Pl 2min), foi realizada a aplicação durante 1 minuto e 2 minutos, a 10W/1bar, respectivamente, sobre toda a superfície dos dois lados do espécime após a formação do biofilme. No grupo gás, foi realizada uma aplicação por 1 minuto apenas do gás de argônio sobre toda a superfície dos dois lados do espécime.

### **Imersão em Digluconato de Clorexidina**

Os espécimes do grupo clorexidina (CX) foram imersos em 1 ml de digluconato de clorexidina a 2% (Ethicall Farmácia com Manipulação Ltda.; Fortaleza, Brasil) durante 10 minutos, após a formação do biofilme.

### **Avaliação Microbiológica**

Para realizar a contagem das unidades formadoras de colônia (UFC) os espécimes, após a lavagem, foram imersos em tubos contendo solução de cloreto de sódio 0,9% estéril, agitados em agitador tipo vortex (Vortex QL- 901; Biomixer; São Paulo, SP) e, depois, a suspensão obtida foi submetida à diluição seriada 1:10, 1:100, 1:1000, 1:10000, 1:100000 para que fosse realizada a semeadura de alíquotas de 25µL de cada diluição, em triplicata. Utilizou-se placas com meio de cultura Ágar Sabouraud Dextrose (Oxoid Ltda; Basingstoke; United Kingdom).

As placas foram incubadas a 37°C, por 48 horas, em estufa bacteriológica. Após este período, ocorreu a contagem das unidades formadoras de colônias (UFC/ml) nas placas.

### **Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

Foram confeccionados 2 espécimes adicionais dos grupos controle negativo, gás e plasma 1 min, para análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV), que passaram pelo processo de metalização. O aparelho utilizado foi o Inspect® 50 (FEI; Hillsboro, USA) com uma voltagem de aceleração de 30 kV. Para a obtenção das imagens microscópicas, um feixe de elétrons foi aplicado às amostras. Imagens com ampliação 1000x e 5000x foram obtidas de áreas representativas nos espécimes.

221

### **Cálculo Amostral**

Em estudo anterior com metodologia similar, Pan *et al.* (2015) avaliaram os efeitos do tratamento com plasma frio nas propriedades físicas da resina acrílica polimerizada pelo calor e na adesão precoce de *C. albicans* (CFU). Observou-se que as médias e os desvios-padrão das contagens de UFC eram de  $2,46 \pm 0,16$  e  $2,12 \pm 0,08$  para os grupos de controle e de plasma Ar/O<sub>2</sub>, respectivamente, com significância estatística ( $P < 0,001$ ). Diante desses dados e considerando  $\beta = 0,10$  (poder estatístico de 90%) e um nível de significância de  $\alpha = 0,05$ , o cálculo do tamanho da amostra indicou a necessidade de 3,2 repetições por grupo experimental. Foi utilizado o software BioEstat 5.3 (Instituto Marimauá; Manaus, Brasil).

### **Análise dos Dados**

Os dados quantitativos foram analisados pelo programa Graphpad Prism 5.02 (Graphpad Software Inc.; La Jolla, EUA) sendo submetidos primeiramente ao teste Shapiro-Wilk de normalidade ( $\alpha = 0,05$ ). Os dados, comparando o pré-tratamento com plasma, foram submetidos ao teste de Mann-Whitney, enquanto os dados comparando a ação antimicrobiana foram submetidos ao teste Kruskal-Wallis, com pós-teste de Dunn ( $\alpha = 0,05$ ).

## **RESULTADOS**

### **Pré-Tratamento na Adesão do Biofilme**

Quando comparadas as contagens de UFC/ml, o grupo controle negativo ( $37764,44 \pm 54444,09$ ) e o grupo pré-tratamento ( $10284,44 \pm 10596,46$ ) não apresentaram diferença estatística significativa entre eles ( $p = 0,91$ ) (Figura 1 e Tabela

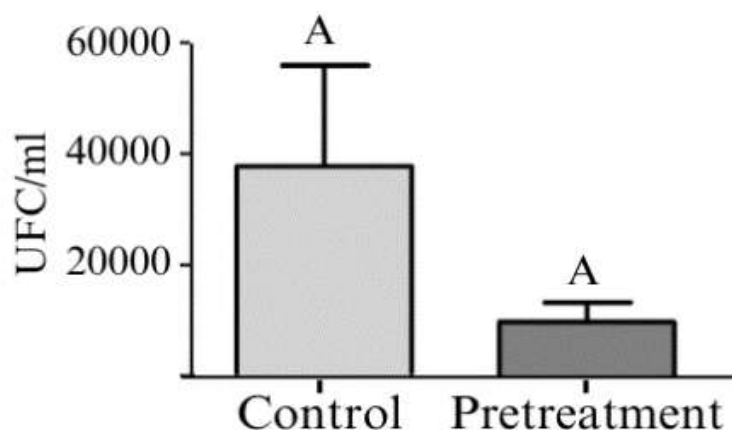
1), embora o grupo tratado com plasma pareceu desfavorecer a formação do biofilme, pela menor contagem apresentada.

**Tabela 1:** Análise do pré-tratamento com plasma de argônio na adesão do biofilme.

Grupos de estudo			
UFC/ml	C (n=9)	Pré-tratamento (n=9)	p-Valor <sup>a</sup>
	37764,44 ± 54444,09	10284,44 ± 10596,46	>0,05*

**Fonte:** Elaborada pelos autores. UFC/ml, unidades formadoras de colônia por mililitro; vs, versus. <sup>a</sup>Teste estatístico de Mann-Whitney; \*Sem diferença estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ).

**Figura 1:** Comparação da quantidade de UFC/ml entre os grupos controle e pré-tratamento ( $p = 0,91$ ).



**Fonte:** Elaborada pelos autores. A Letras iguais não diferem entre si significativamente.

### Ação Antimicrobiana

Quando comparados os grupos C (21328,89 ± 34218,06), Pl 1 min (164,44 ± 223,11), Pl 2 min (35,56 ± 67,66), G (1440,00 ± 831,38) e CX (0,0 ± 0,0), foi observada diferença significativa entre eles ( $p < 0,0001$ ) (Figura 2 e Tabela 2). Os grupos com tratamento com plasma (Pl 1 min e Pl 2 min) apresentaram uma redução significativa na quantidade de UFC/ml quando comparado ao grupo controle negativo ( $p < 0,05$ ), conseguindo resultados semelhantes ao grupo CX, controle positivo. No entanto, não foi observado diferença estatística significativa entre a variação de tempo de aplicação de plasma entre 1 min e 2 min ( $p > 0,05$ ).

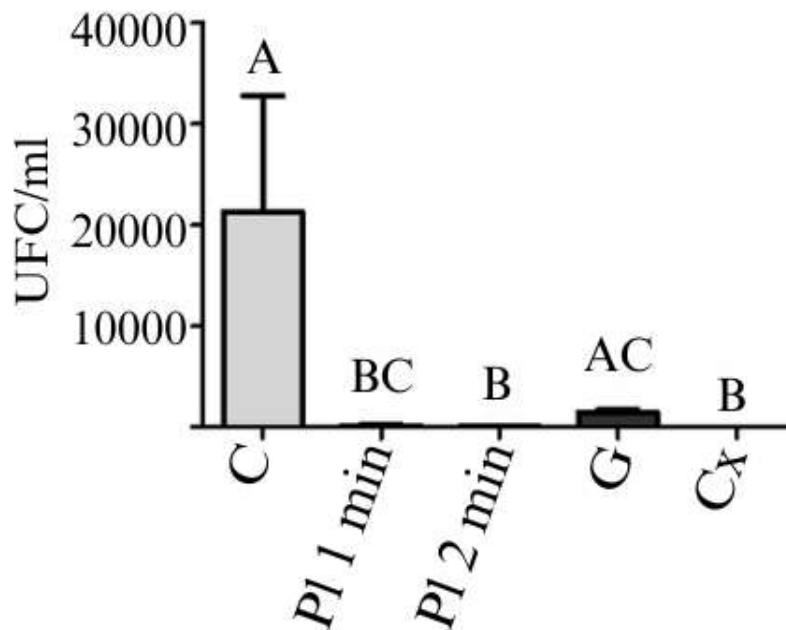
**Tabela 2:** Análise da ação antimicrobiana no biofilme de *C. albicans* segundo o tipo de tratamento aplicado.

Grupos de estudo	Médias e desvios-padrão (UFC/ml)	p-Valor < 0,05*	p-Valor > 0,05**
C (n=9)	21328,89 ± 34218,06	C vs Pl 1min C vs Pl 2min C vs G C vs CX	-

<b>Pl 1min</b> (n=9)	164,44 ± 223,11	Pl 1 min vs G	Pl 1min vs Pl 2min
<b>Pl 2min</b> (n=9)	35,56 ± 67,66	Pl 2min vs G	Pl 1min vs CX
<b>G</b> (n=9)	1440,00 ± 831,38	G vs CX	Pl 2min vs CX
<b>CX</b> (n=9)	0,00 ± 0,00	-	-

**Fonte:** elaborada pelos autores. Legendas: UFC/ml, unidades formadoras de colônia por mililitro; vs, versus. \*Diferenças estatisticamente significantes ( $p < 0,05$ ) foram encontradas através de Teste de Kruskal-Wallis, com pós-teste de Mann-Whitney e ajuste de Bonferroni; \*\*Sem diferenças estatisticamente significantes ( $p > 0,05$ ).

**Figura 2:** Comparação da quantidade de UFC/ml entre os grupos controle, plasma 1 min, plasma 2min, gás e clorexidina ( $p < 0,0001$ ).



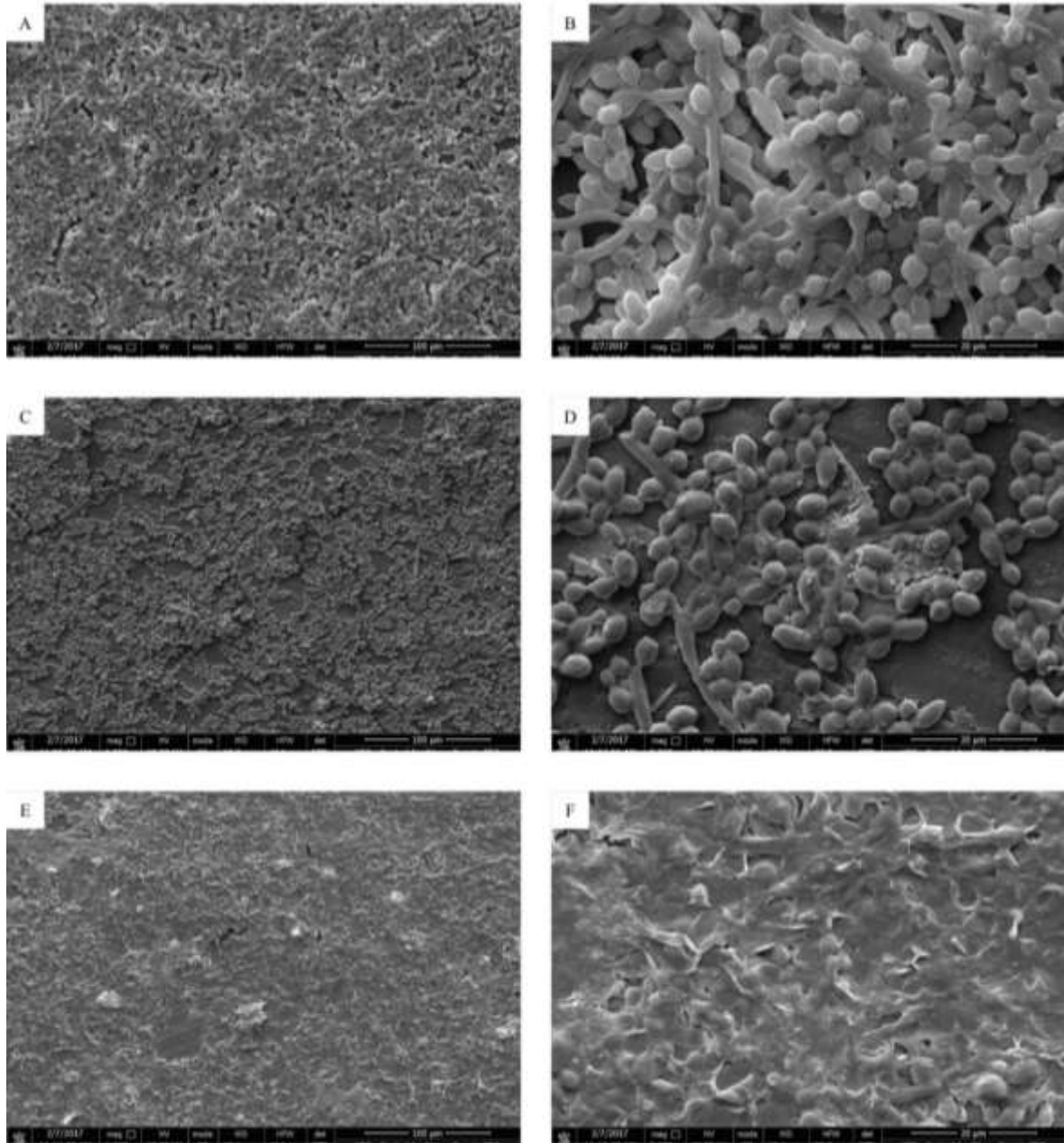
**Fonte:** elaborada pelos autores. A, B, C Letras diferentes significam diferença estatística ( $p < 0,0001$ ). Letras iguais não diferem entre si significativamente.

O grupo G apresentou uma redução na quantidade de UFC/ml quando comparado ao grupo controle negativo, todavia, essa diferença não foi estatisticamente significativa.

### Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As imagens obtidas por meio do MEV ilustram as alterações na estrutura morfológica do biofilme de *C. albicans* após o tratamento com plasma de argônio. Quando comparadas as imagens do grupo plasma ao grupo controle negativo, observa-se que o biofilme após a aplicação de plasma apresenta-se alterado, com danos em sua arquitetura e na estrutura das células. Em contraste, as amostras do grupo controle negativo aparecem intactas (Figura 3).

**Figura 3:** Imagens de MEV com aumento de 1000x e 5000x do biofilme formado sobre espécimes de resina acrílica.



**Fonte:** Elaborada pelos autores. A: Grupo C 1000x; B: Grupo C 5000x; C: Grupo G 1000x; D: Grupo G 5000x; E: Grupo PI 1 min 1000x; F: Grupo PI 1 min 5000x.

## DISCUSSÃO

A estomatite protética é considerada uma infecção multifatorial comum entre usuários de próteses dentárias removíveis, causada principalmente pela *C. albicans*, afetando mais da metade dos usuários (Bajunaid et al, 2022; Sakima et al, 2022). Um dos pressupostos para o tratamento dessa condição, visando manejos não-invasivos, é o uso de técnicas que impeçam a adesão dos microrganismos ao material polimérico (Bajunaid et al, 2022).

Estudos anteriores testaram essa hipótese, incorporando-se diferentes agentes antimicrobianos à resina acrílica com objetivo de inibir a adesão fúngica, tais

como biocidas poliméricos (fosfato de metila e ácido metacrílico), polímeros que liberam biocidas (óxido de prata, zeólitos de prata, óxido de zinco, óxido de zircônia etc.), antifúngicos naturais (quitosana, henna e neem em pó) e medicamentos antifúngicos (fluconazol e clorexidina), entretanto, todos eles, em algum grau, interferiram em uma ou mais propriedades do PMMA (Bajunaid, 2022).

Uma alternativa para essa interferência é a adoção de métodos que não prejudiquem as propriedades gerais dos materiais, como é o caso do plasma, que tem sua eficácia limitada a uma pequena área da superfície e favorece a hidrofiliabilidade do PMMA, por melhorar o molhamento superficial, mesmo na presença da película salivar, em razão da redução do ângulo de contato (Avukat et al, 2023; Gad; Abualsaud; Khan, 2022).

Assim, a primeira hipótese testada foi verificar o efeito do plasma de argônio como um pré-tratamento, com a finalidade de inibir a adesão e, conseqüentemente, formação do biofilme de *C. albicans* em superfícies de resina acrílica. Os resultados encontrados mostraram uma redução na contagem de UFC/ml no grupo pré-tratamento (Ar/10W) em relação ao grupo C, ainda que essa diferença não tenha sido estatisticamente significativa.

Em um estudo semelhante, Avukat et al. (2023) empregaram diferentes concentrações de plasma de hélio, durante 2 minutos, para inibir a formação de *C. albicans* em superfícies de resina acrílica, identificando uma redução na formação de biofilme conforme aumentava-se a concentração do plasma de hélio.

Zamperini et al. (2022), trabalhando com diferentes composições de plasma (Ar/50W, ArO270W, AAt/130W e ArSF6/70W), observaram pelo teste colorimétrico XTT que os grupos tratados com plasma de argônio tiveram uma significativa redução ( $p < 0,05$ ) de leveduras aderidas com 5 minutos de aplicação. Pan et al. (2015) e Qian et al. (2016), ambos utilizando plasma de ArO2 (98% Ar e 2% de O2 em volume), também encontraram uma contagem significativamente menor de UFC/ml após 1,5 minutos de aplicação em relação aos seus respectivos grupos controle.

Neste sentido, sugere-se que o tempo de 1 minuto, empregado no presente estudo, foi insuficiente para promover modificações químicas que alterassem significativamente o molhamento das superfícies resinosas. Apesar desta variável não ter sido verificada na metodologia proposta, trabalhos prévios, compilados em uma revisão sistemática com meta-análise, mostraram a interrelação entre a adesão fúngica e a hidrofiliabilidade de superfícies inertes (Gad; Abualsaud; Khan, 2022).

Por outro lado, com a adesão e conseqüente formação do biofilme, é necessário efetuar a sua remoção de superfícies de PMMA, que pode ser realizada através de

métodos químicos-mecânicos, combinando escovação com imersão da prótese em agentes químicos, como os detergentes, os tabletes efervescentes, o hipoclorito de sódio e a clorexidina, porém esses produtos podem descorar a prótese, aumentar a rugosidade e diminuir propriedades mecânicas (Carvalho-Silva et al, 2024).

Portanto, considerando os benefícios do plasma de argônio, a segunda hipótese avaliada foi investigar se o tratamento com plasma de argônio poderia reduzir a contagem de UFC de *C. albicans* em biofilmes formados em superfícies de resina acrílica. Os resultados encontrados demonstraram a redução de UFC de *C. albicans* nos grupos Pl 1min, Pl 2min e CX em comparação ao grupo C.

Observou-se que os grupos Pl 1min e Pl 2min tiveram diferenças estatisticamente significantes ( $p < 0,0001$ ) em comparação ao grupo C, deixando quantidades insignificantes de UFC remanescentes, apresentando valores médios de 164,4 UFC/ml e 35,56 UFC/ml, respectivamente, não havendo diferença estatisticamente significativa entre os tempos de aplicação (1 ou 2 minutos). No grupo CX, a imersão na solução, durante 10 minutos, foi capaz de zerar a carga microbiana.

Hong et al. (2021) avaliaram os efeitos do tratamento direto, com plasma de argônio e oxigênio, em biofilme de *C. albicans*, aplicando 6mA ou 8mA durante 2, 5 e 10 minutos, em comparação à imersão em clorexidina 0,2% durante 10 minutos, identificando que houve uma maior inativação celular nos grupos plasma em relação ao grupo clorexidina. Resultados semelhantes também foram identificados no estudo de Koban et al. (2010), que comparou o plasma com a clorexidina a 0,1%.

Desse modo, o presente estudo simulou, dentro de suas limitações, as condições em que o biofilme de *C. albicans* está formado sobre o polímero que compõe as dentaduras, demonstrando que o plasma de argônio é tão efetivo quanto à concentração de 2% de clorexidina empregada. Pesquisas anteriores mostraram um menor fator de redução fúngica desta substância em comparação ao plasma, porém é preciso considerar que a ação antimicrobiana da clorexidina é tempo-dose-dependente e a concentração utilizada no presente estudo foi intencionalmente maior (2%), para definir-se um melhor padrão comparativo (Hong et al, 2021; Koban et al. 2010).

Maisch et al. (2012), trabalhando com um sistema de micro descarga de plasma, obtiveram uma eliminação de 99,9% de células viáveis do biofilme de *C. albicans*, formado sobre superfícies inertes, após 7 minutos de aplicação. Sun et al. (2018) também encontram resultados positivos, inativando 100% das UFCs após 1 minuto de tratamento dos espécimes com plasma de HeO<sub>2</sub>.

Neste trabalho, o plasma de argônio, nos tempos de 1 e 2 minutos, reduziu significativamente a contagem de UFC/ml, corroborando com estudos anteriores (Hong et al, 2021; Maisch et al, 2012; Sun et al, 2012). Sugere-se que, para a esterilização completa dos espécimes, utilizando o plasma de argônio nos parâmetros escolhidos (gás argônio com 99.998% de pureza/10W/1bar), pode ser necessário um maior tempo de aplicação, superior a 2 minutos e/ou a admissão de oxigênio (O<sub>2</sub>) à mistura, que, segundo Fricke et al. (2012), aumenta consideravelmente a remoção do biofilme quando esta molécula está presente.

Para ilustrar as alterações na estrutura morfológica do biofilme de *C. albicans*, após o tratamento com plasma de argônio, as imagens obtidas por MEV mostram alteração do biofilme tratado em contraste ao grupo controle intacto, como consequências das ROS e RNS que causam danos ao DNA, lipídios e proteínas constituintes das células.<sup>8,10</sup> As perfurações na membrana, evidenciadas pelas imagens deste estudo, que resultam em ruptura da arquitetura dos microorganismos, corroboram com estudos anteriores que também utilizaram plasma de argônio sobre biofilme de *C. albicans* (Delben et al, 2016; Pan et al. 2015).

Os resultados encontrados no grupo (G), que demonstram uma redução não significativa da contagem de UFC/ml em relação ao controle, estão de acordo com as imagens da MEV, em que o biofilme nesse grupo não apresenta modificações morfológicas, pois o jato de gás não tem ação fungicida e apenas afasta mecanicamente as células aderidas.

Observou-se, como limitações do estudo, que a rugosidade foi padronizada (em 0,2 µm) em todos os espécimes e o estudo foi conduzido in vitro, logo, as variáveis “fluido salivar” e “rugosidade superficial” poderiam produzir resultados diferentes dos encontrados. Em adição, apenas dois tempos (1 e 2 minutos) foram avaliados e a contagem do número de colônias sucedeu-se imediatamente após a incubação das placas em estufa bacteriológica, não avaliando se haveria efeitos mais a longo prazo.

Estudos adicionais são necessários, principalmente estudos clínicos, avaliando diferentes tempos de aplicação, maiores parâmetros de energia da fonte emissora de plasma e outras composições de gases para se estabelecer um protocolo de uso desse recurso, seja prevenindo a adesão de *C. albicans* ou desinfetando as superfícies de bases resinosas.

## CONCLUSÃO

Dentro das limitações deste trabalho in vitro, conclui-se que o uso do plasma de argônio, como pré-tratamento para inibir a adesão de biofilme de *C. albicans* em

superfície de resina acrílica, não foi significativamente eficaz. No entanto, a sua ação antimicrobiana direta sobre o biofilme formado de *C. albicans* apresentou resultados semelhantes à clorexidina, considerada o padrão-ouro para desinfecção.

## REFERÊNCIAS

AVUKAT, E. N. et al. Could helium plasma treatment be a novel approach to prevent the biofilm formation of *Candida albicans*? **Mycopathologia**, v. 188, n. 4, p. 361-69, 2023. DOI: 10.1007/s11046-023-00747-9. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11046-023-00747-9>. Acesso em: 23-mar-2026.

BAJUNAID, S. O. et al. Denture acrylic resin material with antibacterial and protein-repelling properties for the prevention of denture stomatitis. **Polymers (Basel)**, v. 14, n. 2, p. 230, 2022. DOI: 10.3390/polym14020230. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4360/14/2/230>. Acesso em: 23-mar-2026.

BAJUNAID, S. O. How effective are antimicrobial agents on preventing the adhesion of *Candida albicans* to denture base acrylic resin materials? A systematic review. **Polymers (Basel)**, v. 14, n. 5, p. 908, 2022. DOI: 10.3390/polym14050908. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4360/14/5/908>. Acesso em: 23-mar-2026.

BORGES, A. C. et al. Applications of cold atmospheric pressure plasma in dentistry. **Appl Sci**, v. 11, n. 5, p. 1975, 2021. DOI: 10.3390/app11051975. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-3417/11/5/1975>. Acesso em: 23-mar-2026.

CARVALHO-SILVA, J. M. et al. Antimicrobial activity of essential oils against biofilms formed in dental acrylic resin: a systematic review of in vitro studies. **Biofouling**, v. 40, n. 2, p. 114-29, 2024. DOI: 10.1080/08927014.2024.2332709. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/08927014.2024.2332709>. Acesso em: 23-mar-2026.

DELBEN, J. A. et al. Effect of atmospheric-pressure cold plasma on pathogenic oral biofilms and in vitro reconstituted oral epithelium. **PLoS One**, v. 11, n. 5, p. e0155427, 2016. DOI: 10.1371/journal.pone.0155427. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0155427>. Acesso em: 23-mar-2026.

FRICKE, K. et al. Atmospheric pressure plasma: a high-performance tool for the efficient removal of biofilms. **PLoS One**, v. 7, n. 8, p. e42539, 2012. DOI: 10.1371/journal.pone.0042539. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0042539>.

GAD, M. M.; ABUALSAUD, R.; KHAN, S. Q. Hydrophobicity of denture base resins: a systematic review and meta-analysis. **J Int Soc Prev Community Dent**, v. 12, n. 2, p. 139-59, 2022. DOI: 10.4103/jispcd.JISPCD\_213\_21. Disponível em: [https://journals.lww.com/jpcd/fulltext/2022/12020/hydrophobicity\\_of\\_denture\\_base\\_resins\\_a.2.aspx](https://journals.lww.com/jpcd/fulltext/2022/12020/hydrophobicity_of_denture_base_resins_a.2.aspx).

HONG, Q. et al. Plasma treatment effects on oral *Candida albicans* biofilms. **Dent Oral Biol Craniofacial Res**, v. 4, n. 2, 2021. DOI: 10.31487/j.dobcr.2021.02.05.

Disponível em: [https://www.sciencerepository.org/plasma-treatment-effects-on-oral-candida-albicans-biofilms\\_DOBCR-2021-2-105](https://www.sciencerepository.org/plasma-treatment-effects-on-oral-candida-albicans-biofilms_DOBCR-2021-2-105).

KIM, C. K. et al. Antibacterial and anticandidal effects of atmospheric-pressure, non-thermal, nitrogen- and argon-plasma pulses. **Dermatol Ther**, v. 35, n. 2, p. e15222, 2022. DOI: 10.1111/dth.15222. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/dth.15222>.

KOBAN, I. et al. Treatment of *Candida albicans* biofilms with low-temperature plasma induced by dielectric barrier discharge and atmospheric pressure plasma jet. **New J Phys**, v. 12, p. 1-16, 2010. DOI: 10.1088/1367-2630/12/7/073039. Disponível em: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1367-2630/12/7/073039>.

LOURINHO, C. et al. Mechanical properties of polymethyl methacrylate as denture base material: heat-polymerized vs. 3D-printed – Systematic review and meta-analysis of in vitro studies. **Biomedicines**, v. 10, n. 10, p. 2565, 2022. DOI: 10.3390/biomedicines10102565. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2227-9059/10/10/2565>.

MAISCH, T. et al. Contact-free inactivation of *Candida albicans* biofilms by cold atmospheric air plasma. **Appl Environ Microbiol**, v. 78, n. 12, p. 4242-7, 2012. DOI: 10.1128/AEM.07235-11. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/aem.07235-11>.

PAN, H. et al. Cold plasma-induced surface modification of heat-polymerized acrylic resin and prevention of early adherence of *Candida albicans*. **Dent Mater J**, v. 34, n. 4, p. 529-36, 2015. DOI: 10.4012/dmj.2015-035. Disponível em: [https://www.jstage.jst.go.jp/article/dmj/34/4/34\\_2015-035/\\_article](https://www.jstage.jst.go.jp/article/dmj/34/4/34_2015-035/_article).

QIAN, K. et al. Time-related surface modification of denture base acrylic resin treated by atmospheric pressure cold plasma. **Dent Mater J**, v. 35, n. 1, p. 97-103, 2016. DOI: 10.4012/dmj.2015-162. Disponível em: [https://www.jstage.jst.go.jp/article/dmj/35/1/35\\_2015-162/\\_article](https://www.jstage.jst.go.jp/article/dmj/35/1/35_2015-162/_article).

RAKASEVIC, D. et al. Evaluation of photodynamic therapy efficacy vs. conventional antifungal therapy in patients with poor-fitting dentures suffering from denture stomatitis. A prospective clinical study. **Photodiagnosis Photodyn Ther**, v. 45, p. 103913, 2024. DOI: 10.1016/j.pdpdt.2023.103913. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1572100023006403>.

SAKIMA, V. T. et al. A denture use model associated with *Candida* spp. in immunocompetent male and female rats. **J Fungi (Basel)**, v. 8, n. 5, p. 466, 2022. DOI: 10.3390/jof8050466. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2309-608X/8/5/466>.

SINGH, S. et al. Nonthermal atmospheric plasma-induced cellular envelope damage of *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* biofilms: spectroscopic and biochemical investigations. **IEEE Trans Plasma Sci IEEE Nucl Plasma Sci Soc**, v. 48, n. 8, p. 2768-76, 2020. DOI: 10.1109/TPS.2020.3008282. Disponível em: <https://ieeexplore.ieee.org/document/9147056>.

SUN, Y. et al. Inactivation of *Candida* biofilms by non-thermal plasma and its enhancement for fungistatic effect of antifungal drugs. **PLoS One**, v. 7, n. 7, p. e40629, 2012. DOI: 10.1371/journal.pone.0040629. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0040629>.

ZAMPERINI, C. A. et al. Adherence in vitro of *Candida albicans* to plasma treated acrylic resin. Effect of plasma parameters, surface roughness and salivary pellicle. **Arch Oral Biol**, v. 55, n. 10, p. 763-70, 2010. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2010.06.015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003996910001810?via%3Dihub>.