



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Mariana Montenegro Silva

Desinfecção de próteses totais por micro-ondas:

Efeito da frequência de irradiação no

tratamento da estomatite protética

Araraquara
2009



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Mariana Montenegro Silva

Desinfecção de próteses totais por micro-ondas:

Efeito da frequência de irradiação no

tratamento da estomatite protética

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reabilitação Oral – Área de Prótese, da Faculdade Odontologia de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, para a obtenção do título de Doutor em Reabilitação Oral .

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Vergani

Araraquara
2009

Silva, Mariana Montenegro

Desinfecção de próteses totais por micro-ondas. Efeito da frequência de irradiação no tratamento da estomatite protética / Mariana Montenegro Silva . – Araraquara: [s.n.], 2009.

186 f. ; 30 cm.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Odontologia

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Vergani

1. Estomatite sob prótese 2. *Candida* 3. Desinfecção 4. Micro-ondas 5. Prótese total I. Título

Mariana Montenegro Silva

Desinfecção de próteses totais por micro-ondas:

Efeito da frequência de irradiação no

tratamento da estomatite protética

COMISSÃO JULGADORA

TESE PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR

Presidente e Orientador.....Prof. Dr. Carlos Eduardo Vergani

2º Examinador.....Profª. Dra. Ana Cláudia Pavarina

3º Examinador.....Profª. Dra. Elaine Maria S. Massucato

4º Examinador.....Profª. Dra. Helena de Freitas O. Paranhos

5º Examinador.....Profª. Dra. Karin Hermana Neppelenbroek

Araraquara, 02 de Julho de 2009.

DADOS CURRICULARES

MARIANA MONTENEGRO SILVA

NASCIMENTO 20/11/1979 – Maceió - AL

FILIAÇÃO Alcides Gusmão da Silva

Maria Euthália Montenegro Silva

1997/2000 Curso de graduação na Universidade do Sagrado Coração

2001/2003 Curso de Especialização em Prótese Dentária, na Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

2003/2005 Curso de pós-graduação em Reabilitação Oral (Prótese), nível de Mestrado, na Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP

2005/2009 Curso de pós-graduação em Reabilitação Oral (Prótese), nível de Doutorado, na Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP

Dedicatória

À minha mãe e amiga *Tatália*, pelo amor, incentivo e
por estar sempre presente, em todos os
momentos de minha vida.

Ao meu pai *Alcides*, pela dedicação, pelo amor
incondicional e pelo apoio constante para que eu consiga
atingir meus objetivos.

Aos meus avós, *Lita* e *Eupídio*, pelo amor, pelo
incentivo e por estarem sempre presentes, em todos os
momentos de minha vida.

À minha amada irmã *Marcela*, pela amizade, por sua
alegria contagiante e pelo exemplo de determinação.

Agradecimentos

Ao meu orientador *Prof. Dr. Carlos Eduardo Vergani*, pela orientação competente e segura. Agradeço pelo apoio, oportunidades concedidas e pela paciência durante os 6 anos da minha pós-graduação.

Ao meu namorado *Leandro*. Seu amor, companhia e incentivo foram indispensáveis para que eu concluísse este trabalho.

Ao querido amigo *Ewerton*, pela amizade, ensinamentos, apoio, ótima convivência e companhia.

À querida amiga *Sílvia Pupim* e toda sua família, pela acolhida e pelo carinho.

Às professoras da Disciplina de Prótese Parcial Removível, *Ana Cláudia Pavarina, Ana Lúcia Machado e Eunice Teresinha Giampaolo*, pelos ensinamentos que tanto contribuíram para o meu crescimento profissional.

Agradecimentos

Aos *Professores* do Curso de Pós-Graduação em Reabilitação Oral. Meus sinceros agradecimentos pela amizade e valiosa contribuição à minha formação profissional.

Às minhas amigas *Daniela, Livia e Paula*, pelo auxílio prestado na elaboração deste trabalho e acima de tudo pela amizade sincera.

À minha querida afilhada *Amarílis*, pelo amor e pela alegria que me proporciona.

Aos meus *Colegas e Amigos* da turma de Doutorado, em especial ao José Maurício, João Gustavo e Luciano.

Aos meus *Colegas e Amigos* de Pós-Graduação. Obrigada pelo companheirismo, ajuda e apoio em todos os momentos.

Aos meus *Amigos* pela amizade incondicional, conselhos e pela presença constante em minha vida.

À minha querida amiga *Marina Scabelló* e toda sua família, pela amizade, apoio e companheirismo.

Aos meus *primos*, em especial ao *Nelson Montenegro*, pela amizade e presença constante em todos os momentos importantes da minha vida.

Ao *Marco Roza, Cecília Dourado e Roseli Maria Rosa*, pelo carinho e incentivo.

Aos meus novos *Colegas e Amigos* da Unicastelo-São Paulo, em especial a *Vanessa, Emy, Paola, Lucas, Ricardo, Gabriela* e o Dr. José Cássio Magalhães, pela acolhida e apoio nos momentos finais deste trabalho.

À *Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)* pelo auxílio financeiro concedido para a realização deste projeto.

Sumário

Resumo.....	8
Abstract.....	10
1 Introdução.....	12
2 Revisão da Literatura.....	17
3 Proposição.....	77
4 Material e Método.....	79
4.1 Materiais.....	80
4.2 Instrumentos.....	81
4.3 Equipamentos.....	82
4.4 Métodos.....	83
4.5 Metodologia estatística.....	96
5 Resultado.....	99
6 Discussão.....	123
7 Conclusão.....	141
8 Referências.....	144
9 Apêndices.....	157

Silva MM. Desinfecção de próteses totais por micro-ondas: efeito da frequência de irradiação no tratamento da estomatite protética [Tese de Doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2009.

Resumo

A estomatite protética é uma infecção fúngica que acomete entre 60% e 72% dos indivíduos portadores de próteses removíveis, sobretudo idosos do gênero feminino. Atualmente, a desinfecção de próteses totais por meio da irradiação por micro-ondas tem sido recomendada para tratamento e prevenção da estomatite protética. Considerando esses aspectos, esse estudo in vivo avaliou a efetividade da frequência da desinfecção de próteses totais por micro-ondas (3 min/650 W) em relação à terapia antifúngica tópica para o tratamento da estomatite protética, além de verificar a prevalência de *Candida* nos pacientes avaliados. Para isso, foram selecionados 60 indivíduos, portadores de próteses totais superiores e com diagnóstico clínico de estomatite protética. Esses pacientes foram aleatoriamente distribuídos em 3 grupos (n=20), de acordo com o tratamento instituído: Terapia Antifúngica Tópica (Grupo I) - utilização de nistatina (suspensão oral, 100.000 UI/mL), 4 vezes ao dia durante 15 dias; Irradiação por Micro-ondas – imersão das próteses totais em água e irradiação das próteses por micro-ondas durante 3 minutos a 650 W, 1 ou 3 vezes por semana (Grupos II e III, respectivamente) por um período de 15 dias. Para avaliação da efetividade dos tratamentos instituídos, foram realizadas culturas micológicas quantitativas e identificação das espécies de *Candida*, utilizando-se o meio CHROMagar *Candida*, análise de microcultivo, teste de triagem em caldo hipertônico e o sistema bioquímico de identificação ID 32C. Coletas de biofilme das superfícies internas das próteses totais superiores e das mucosas palatinas de todos os pacientes, foram realizadas previamente ao tratamento (dia 0) e após 15 dias do seu início. Com o objetivo de avaliar a efetividade dos tratamentos em longo prazo, a quantificação de colônias viáveis de *Candida* spp. foram repetidas após 30, 60 e 90 dias do início do tratamento. Em cada consulta (dias 0, 15, 30, 60

e 90) foi realizada ainda, uma avaliação clínica por meio de fotografias intrabuciais da mucosa palatina dos indivíduos. Os resultados obtidos por meio das culturas micológicas quantitativas foram analisados estatisticamente pelos testes de Wilcoxon e de Kruskal-Wallis ($\alpha=0,05$). Os resultados das identificações bioquímicas das espécies de *Candida* foram interpretados por meio de uma análise qualitativa. Para as avaliações clínicas foi utilizado o índice Kappa de concordância e em seguida, a análise qualitativa duplo-cega das fotografias intrabuciais. No décimo quinto dia de avaliação os tratamentos aplicados nos grupos Grupos I, II, III foram efetivos ($p<0,05$) para redução das células viáveis (valores de ufc/mL) de *Candida* spp. referentes à mucosa palatina e a superfície interna das próteses totais superiores. Enquanto, após 30, 60 e 90 dias do início dos tratamentos os resultados demonstraram em todos os grupos avaliados (Grupos I, II, III), um aumento gradativo nos valores de ufc/mL, porém sem diferenças estatisticamente significativa entre os períodos de avaliação. A comparação entre grupos de tratamento indicou aos 90 dias, uma diferença estatisticamente significativa ($p<0,05$) entre o Grupo III e os demais grupos (I e II). As identificações bioquímicas revelaram que as espécies predominantes em ambos os sítios de coleta foram a *C. albicans*, a *C. tropicalis* e a *C. glabrata*. No término do tratamento foi verificado um aumento na frequência de *C. albicans* no Grupo I. Enquanto, para os Grupos II e III a frequência de *C. glabrata* aumentou e a de *C. tropicalis* diminuiu. A avaliação das fotografias intrabuciais indicou melhora nos sinais clínicos da estomatite protética no 15º dia em todos os Grupos do estudo, porém nos períodos subsequentes de avaliação áreas eritematosas tornaram-se visíveis na mucosa palatina de muitos indivíduos. A redução na frequência da desinfecção de próteses totais por micro-ondas (3 min/650 W) foi tão efetiva quanto à terapia antifúngica tópica (nistatina) para o tratamento da estomatite protética.

Palavras-chave: Estomatite sob prótese; *Candida*; desinfecção; micro-ondas; prótese total.

Silva MM. Disinfection of complete dentures using microwaves. Effect of irradiation frequency in the treatment of denture stomatitis [Tese de Doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2009.

Abstract

Denture stomatitis is a fungal infection that affects 60% to 72% of individuals who use removable dentures, primarily elderly women. Currently, the disinfection of complete dentures using microwave irradiation has been recommended to treat and prevent denture stomatitis. Considering these aspects, this in vivo study evaluated the effectiveness of the frequency of complete denture disinfection using microwaves (3 min/650 W) compared to antifungal therapy for the treatment of denture stomatitis. It also verified the prevalence of *Candida* spp. in the evaluated patients. This study used a sample of 60 healthy individuals who use complete upper dentures and have received a clinical diagnosis of denture stomatitis. Patients were randomly distributed into three groups (n=20), based on the treatment used: Topical Antifungal Therapy (Group I) – use of nystatin (oral suspension, 100.000 UI/mL), four times a day for 15 days; Irradiation with Microwaves – irradiation of the dentures by microwaves for three minutes at 650 W, one time or three times per week (Groups II and III, respectively) for a period of 15 days. In order to evaluate the effectiveness of the treatments used, quantitative mycological cultures were collected and the *Candida* species were identified using the CHROMagar *Candida* method, microculture analysis, screening test in hypertonic broth and the ID 32C biochemical identification system. Biofilm samples were collected from the inner surfaces of the complete upper dentures and from the palatal mucosa of all patients before (day 0) and after 15 days of treatment. In order to evaluate the effectiveness of the treatments over the long term, the quantification of the viable *Candida* spp. colonies was repeated 30, 60 and 90 days after starting the treatment. For each consultation (days 0, 15, 30, 60 and 90), a clinical evaluation was also performed through intra-oral photography of the palatal mucosa of the individuals. The results from

Abstract

quantitative mycological cultures were statistically analyzed using Wilcoxon and Kruskal-Wallis tests ($\alpha=0.05$). Biochemical identification results for the *Candida* species were interpreted through qualitative analysis. The Kappa concordance coefficient was used for the clinical evaluations, and then a qualitative double-blind analysis was conducted on the intra-mouth photograph. On the 15th day of the evaluation, the treatments applied to Groups I, II and III were effective ($p<0.05$) in reducing the mycological cultures (ufc/mL values) of *Candida* spp. associated with the palatal mucosa and inner surface of the complete upper dentures. However, 30, 60 and 90 days after starting the treatment, all evaluated groups (GI, GII, GIII) demonstrated a gradual increase in the values of ufc/mL, although without statistically significant differences between the evaluation periods. The comparison among treatment groups indicated no statistically significant differences ($p<0.05$) among groups, except between Group III and the other groups (GI and GII) at 90 days. The biochemical identifications revealed that the predominant species in both collection sites were *C. albicans*, *C. tropicalis* and *C. glabrata*. Furthermore, an increase in the frequency of *C. albicans* was found at the end of the treatment in Group I. The frequency of *C. glabrata* increased for Groups II and III and that of *C. tropicalis* decreased. The evaluation of the intra-oral photography indicated an improvement in the clinical signs of denture stomatitis on the 15th day in all study groups, although erythematous areas became visible on the palatal mucosa of many individuals during the periods following the evaluation. Based on the results of this study, it can be concluded that, regardless the frequency of irradiation, microwave disinfection (3 min/650 W) was as effective as topic antifungal therapy for treating denture stomatitis.

Keywords: Denture stomatitis; *Candida*; disinfection; microwaves; complete dentures.

INTRODUÇÃO

1 Introdução

A estomatite protética é uma infecção fúngica que acomete entre 60% e 72% dos indivíduos portadores de próteses removíveis, sobretudo idosos do gênero feminino^{42,54}. Essa infecção é caracterizada por múltiplos pontos hiperêmicos na região palatina correspondente à áreas de suporte das próteses totais superiores e, em casos mais avançados, podem ser observadas áreas eritematosas difusas ou ainda, hiperplasia papilar. Essa patologia, usualmente, é assintomática. Entretanto, nos casos mais severos, pode estar associada com sintomas, como prurido, ardência, dor, sabor desagradável, desconforto, sangramento na mucosa bucal, alteração no paladar, halitose, xerostomia, além da associação com a queilite angular e com a glossite rombóide mediana¹⁰⁶. Além disso, nos casos de pacientes imunocomprometidos, pode ocorrer a disseminação das espécies de *Candida* da cavidade bucal para o trato gastrointestinal superior ou via corrente sanguínea, ocasionando fungemia⁶³, infecção sistêmica, que acarreta mortalidade em até 79% dos casos⁴⁴.

A colonização e a aderência das espécies de *Candida* à superfície da mucosa palatina e das próteses são consideradas fundamentais para a instalação e propagação da estomatite protética⁹⁰. Tem sido relatado que 93% dos indivíduos com sinais clínicos dessa patologia apresentam infecção fúngica por *Candida* spp., sendo a *Candida albicans* a espécie mais comumente encontrada^{9,29,42,68,83,98,99}. A *C. albicans* é um micro-organismo frequentemente encontrado na cavidade bucal em relação de comensalismo, mas apresenta a habilidade de alterar sua morfologia, provocando infecção dos tecidos bucais⁸. Além da *C. albicans*, outras espécies também têm sido isoladas de pacientes usuários de prótese, como *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. pseudotropicalis*, *C. krusei* e *C. guilliermondi*^{15,56}. A manifestação da estomatite protética pode estar associada a outros fatores, tais como: trauma local causado pela falta de adaptação da prótese^{20,63}, uso contínuo da prótese^{9,20}, alteração do pH da saliva^{20,63} e a xerostomia^{95,98}. Além disso, o tabagismo, endocrinopatias

(diabetes), alterações metabólicas e nutricionais, antibióticos de amplo espectro, medicamentos imunossupressores e deficiências nos mecanismos imunológicos também são considerados como fatores etiológicos da estomatite protética^{21,25,105}.

Os tratamentos direcionados à estomatite protética podem incluir terapia antifúngica tópica e/ou sistêmica, além dos cuidados com a higiene bucal e procedimentos de higienização e desinfecção das próteses^{1,21,25,33,81,84}. Com relação à terapia antifúngica tópica e sistêmica, tem sido relatada a utilização de drogas do tipo poliênico como anfotericina B e nistatina, ou pertencentes ao grupo dos azóis, como itraconazol e fluconazol³⁹. Estudos *in vitro* demonstraram que culturas planctônicas de *Candida* spp., quando expostas aos agentes antifúngicos, apresentaram menor adesão à resina acrílica⁴⁰ e redução na hidrofobicidade celular³⁷. Entretanto, resistência de espécies de *Candida* aos medicamentos antifúngicos também foi observada⁵⁹. Porém, clinicamente, tem sido observado que os efeitos diluentes da saliva, movimentos da língua e a presença do biofilme microbiano podem reduzir a ação da nistatina^{8,18,26}. A resistência aos antifúngicos e a capacidade das espécies de *Candida* de se aderirem às células epiteliais e à resina da base das próteses^{19,58,67,76} proporcionam a re-colonização pelos microrganismos após o término do tratamento, resultando em infecção recorrente^{66,73}.

A higienização adequada da cavidade bucal, assim como das próteses, exerce uma função essencial na manutenção da saúde bucal dos pacientes. A escovação das próteses com sabão ou pasta abrasiva é o método de higienização mais popular²⁵. No entanto, esse método é considerado um dos menos eficientes para a inativação do biofilme microbiano presentes nas próteses^{25,33}. Esse fato pode ser explicado devido às irregularidades presentes na superfície das próteses, que dificulta a remoção mecânica dos micro-organismos²⁸. Além disso, a maioria dos pacientes portadores de prótese é idosa e, freqüentemente, apresenta capacidade visual reduzida e destreza manual limitada⁸⁴. Dessa forma, métodos de desinfecção têm sido recomendados para a redução do número de micro-organismos presentes nas próteses. Nesse contexto, a irradiação por micro-ondas tem se mostrado um método de desinfecção seguro,

simples, efetivo e de custo reduzido, podendo ser utilizado não só para desinfecção das próteses totais^{8,13,88,104}, como também para o tratamento da estomatite protética^{8,73,105}. Banting, Hill⁸ verificaram que a irradiação de próteses totais a seco (1 minuto a 850 W) associada à utilização de nistatina foi efetiva para reduzir a forma invasiva de *C. albicans* (pseudohifas) da superfície das próteses dos pacientes avaliados. Outro estudo clínico¹⁰⁵ verificou que a irradiação de próteses totais em micro-ondas, (10 minutos a 350 W) reduziu significativamente a quantidade de micro-organismos nas próteses totais, bem como os sinais clínicos do palato de pacientes com estomatite protética. Da mesma forma, Neppelenbroek et al.⁷³ observaram que a irradiação de próteses totais imersas em água (650 W/6 minutos), associada ou não à terapia antifúngica tópica de miconazol, reduziu a inflamação da mucosa palatina de pacientes com estomatite protética, além de suprimir o crescimento de colônias e de formas miceliais (pseudohifas e hifas) de *Candida* spp., em amostras coletadas tanto nas próteses como na superfície do palato dos pacientes. É importante salientar que esse método apresenta importante vantagem em relação à terapia antifúngica, particularmente pelo fato de ser um método físico de desinfecção e, assim, eliminar a possibilidade de sobrevivência dos micro-organismos como ocorre com os antifúngicos sistêmicos^{19,26,58}.

Apesar dos métodos de desinfecção por micro-ondas utilizados nos estudos prévios^{8,70,73,74,88,96,1014,105} terem sido considerados efetivos para esterilização de próteses removíveis e para o tratamento da estomatite protética, tem sido demonstrado que o aquecimento gerado durante a irradiação por micro-ondas pode aumentar a contração de resinas acrílicas^{48,94} e acelerar os processos de sorção de água e solubilidade desses materiais⁹³. Tem sido relatada, ainda, a redução da resistência à flexão de duas resinas para reembasamento imediato, após desinfecção por micro-ondas durante 6 minutos⁸⁰. Dessa forma, outros estudos microbiológicos foram realizados^{36,70,91} com o objetivo de avaliar a efetividade da irradiação por micro-ondas utilizando tempos reduzidos, limitando, assim, os efeitos indesejáveis sobre a estabilidade dimensional¹¹ e propriedades mecânicas das bases de prótese⁸⁶. Nos estudos in vitro, um menor tempo de exposição (3 minutos) a 650 W foi efetivo para esterilizar corpos-de-prova

contaminados por *C albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus*⁷⁰ e bases de próteses contaminadas com diferentes espécies de *Candida*⁹¹. Esse mesmo protocolo de desinfecção demonstrou ser efetivo na eliminação da viabilidade de biofilmes orais em superfícies de bases de próteses de indivíduos edêntulos⁸⁵. Entretanto, apesar desse menor tempo de irradiação promover a esterilização de próteses contaminadas, a sua eficiência no tratamento da estomatite protética ainda não foi avaliada. Além do tempo de irradiação, o período de tratamento e a frequência de irradiação das próteses seriam outros fatores a serem considerados, quando da utilização da desinfecção de próteses por micro-ondas no tratamento de estomatite protética. Nos poucos estudos clínicos que avaliaram a eficiência da irradiação de próteses por micro-ondas no tratamento da estomatite protética, a frequência em que os ciclos de desinfecção foram realizados variou de 1 a 7 vezes por semana, por períodos entre 1 e 4 semanas^{8,73,105}. Considerando que o protocolo de irradiação de próteses por micro-ondas por 3 min a 650 W pode promover esterilização das próteses^{36,85,91} uma redução da frequência de irradiação seria possível, tornando o método de tratamento mais conveniente em função da redução do número de visitas dos pacientes ao cirurgião dentista.

Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi analisar a efetividade da terapia antifúngica tópica (nistatina) e da desinfecção de próteses totais por micro-ondas (3 min/650 W), utilizando diferentes frequências de irradiação, no tratamento da estomatite protética assim como, identificar e avaliar a prevalência de espécies de *Candida* na cavidade bucal dos indivíduos tratados.

*REVISÃO DA
LITERATURA*

2 Revisão da literatura

Newton⁷⁵, em 1962, classificou a estomatite protética em três estágios, de acordo com os sinais clínicos: (I) Hiperemia puntiforme: caracteriza-se pela presença de múltiplos pontos hiperêmicos nos ductos das glândulas salivares palatinas menores; (II) Hiperemia difusa: refere-se à inflamação generalizada sobre a mucosa recoberta pela prótese, que se apresenta lisa e atrófica e (III) Hiperemia granular: a mucosa encontra-se hiperêmica, com aparência nodular, que pode estar presente em toda a região recoberta pela prótese ou, mais frequentemente, restrita à região central do palato, sobretudo nas áreas sob câmara de sucção das próteses totais. Segundo o autor, quando a estomatite protética não é tratada, ocorre progressão do estágio I para o II e deste para o III. Foi sugerido que o nível da inflamação clínica está relacionado ao acometimento das regiões de ductos salivares, uma vez que os tecidos periductais são consideravelmente menos resistentes aos processos inflamatórios.

Em 1965, Olsen⁷⁹ investigou o mecanismo de ação da irradiação por micro-ondas sobre os micro-organismos *Aspergillus niger*, *Penicillium sp.* e *Rhizopus nigricans*, principais responsáveis pela proliferação fúngica em pães. Os esporos dessas leveduras foram inoculados em fatias de pães que, posteriormente, foram irradiadas por 2 minutos em um aparelho de micro-ondas não convencional a uma potência de 5000 W. Após a irradiação, os esporos foram retirados do centro das fatias de pães e agitados em água destilada. Em seguida, alíquotas da solução resultante foram semeadas em placas de Petri e o número de colônias foi contado. Foi observado que a contaminação fúngica nos pães reduziu significativamente após a irradiação em micro-ondas. Segundo o autor, pesquisas têm demonstrado que as espécies de *Aspergillus* e *Penicillium* são inativadas em temperaturas entre 336,6°C a 345,6°C, quando mantidas por 20 minutos. No entanto, a maior temperatura

registrada no aparelho de micro-ondas utilizado nesse estudo foi de 327,6°C. Considerando o tempo de exposição utilizado (2 minutos) e a incapacidade de uma levedura para reter uma temperatura por até 10 minutos, os excelentes resultados obtidos após a irradiação por micro-ondas, provavelmente, não originou de um efeito puramente térmico. Além disso, foi sugerido que as soluções salinas presentes no citoplasma das leveduras testadas podem representar um alvo preferencial para a energia de micro-ondas, o que leva a temperatura interna desses micro-organismos a exceder o suficiente para promover lise ou inativação.

Carroll, Lopez²⁴, em 1969, realizaram um estudo para avaliar a possibilidade de um efeito não-térmico das micro-ondas na inativação dos micro-organismos *B. subtilis*, *E. coli* e *S. cerevisiae*. Para isso, esses micro-organismos foram inoculados em alguns alimentos (leite, suco de tomate e suco de laranja) e irradiados a 500 W por períodos entre 16 e 64 minutos antes das sementeiras nas placas de Petri. Os autores observaram que não houve redução dos micro-organismos *S. cerevisiae* e *E. coli* inoculados no leite e no suco de tomate, após o tratamento com as micro-ondas. No entanto, para o suco de laranja, ocorreu uma redução progressiva do número de micro-organismos com o aumento do tempo de exposição às micro-ondas. Com base nos resultados obtidos, os autores sugeriram que a composição química da suspensão irradiada e a das células microbianas podem explicar os efeitos não térmicos provenientes das micro-ondas. Além disso, os autores relataram que existe a possibilidade da lise celular de um micro-organismo ocorrer devido à rápida oscilação das cargas celulares elétricas negativas em decorrência de interação com o campo eletromagnético das micro-ondas. Essa oscilação, segundo os autores, pode exceder os limites elásticos da estrutura celular, promovendo seu rompimento.

Culkin, Fung³¹, em 1975, avaliaram o padrão de destruição de duas bactérias, *Escherichia coli* e *Salmonella typhimurium*, em sopas cozidas em micro-ondas, com relação ao tempo de irradiação e à temperatura alcançada durante exposição às micro-ondas. As bactérias selecionadas foram inoculadas em uma concentração de 10⁷ ufc/mL nas porções individuais (200 mL) ou triplas (600 mL)

das sopas de tomate, sopa de vegetais e no caldo de carne. A irradiação das sopas inoculadas foi realizada em períodos superiores a 150 segundos para porções individuais e a 10 minutos para as porções triplas. Tiras de papel térmicas foram utilizadas nas mensurações das temperaturas. O número de células viáveis foi determinado por meio da semeadura das alíquotas de sopa em placas de Petri. Os resultados evidenciaram uma redução progressiva na viabilidade das bactérias avaliadas com o aumento do tempo de exposição às micro-ondas. Segundo os autores, se a ação letal da energia de micro-ondas fosse atribuída ao efeito do calor produzido pelas ondas, seria esperado que os micro-organismos da região de maior temperatura apresentassem os menores valores de viabilidade microbiana. Entretanto, foi evidenciado que os micro-organismos nas regiões superficiais, de temperatura inferior, apresentaram menor nível de viabilidade quando comparado às regiões intermediárias, que apresentaram maior temperatura. Considerando esses aspectos, os autores sugeriram que o mecanismo de ação das micro-ondas sobre os micro-organismos pode ser explicado não somente por um efeito térmico, mas também, por efeitos mecânicos de origem não térmica.

Fitzpatrick et al.⁴³, em 1978, avaliaram a efetividade da irradiação por micro-ondas na esterilização de micro-organismos patogênicos. Para os experimentos foram utilizados tubos de ensaio com suspensão salina de *S.aureus*; esporos a seco de *B.subtilis* ou tiras umedecidas com esporos de *B.subtilis*. Inicialmente, cada condição avaliada foi submetida a cinco irradiações sucessivas por 12 segundos a 1000 W. Esses experimentos demonstraram que o tratamento, apesar de ter sido efetivo para eliminar formas metabólicas (*S.aureus*), foi insuficiente para inativar às formas esporuladas. A partir desses resultados, os autores realizaram experimentos com tiras contaminadas com esporos (*B. stearothermophilus* e *B. subtilis*) e umedecidas em água destilada. Em seguida, essas tiras foram irradiadas por períodos superiores a 15 e 30 minutos. No entanto, ainda foi observada cultura positiva para os esporos testados. Com base nessas observações, culturas desses esporos foram incubadas em outros tubos de ensaio abertos. Entretanto, experimentos demonstraram

crescimento em todas as culturas avaliadas. Devido a essas observações, os autores realizaram experimentos com tubos de ensaio vedados com roscas e verificaram que não houve crescimento nas culturas avaliadas pelo período de 7 dias. Foi concluído que a esterilização satisfatória por meio da irradiação em micro-ondas apresentou-se viável quando o conteúdo a ser irradiado foi adequadamente selado. Além disso, com base nos resultados obtidos, os autores sugeriram que a esterilização ocorrida foi devido a um efeito puramente térmico.

Os mecanismos de ação da irradiação com micro-ondas na inativação de micro-organismos foram estudados por Vela, Wu¹⁰⁰, em 1979. Esses autores irradiaram amostras de solo, leveduras, bactérias e vírus, em amostras umedecidas, secas ou liofilizadas. De acordo com os resultados, as amostras liofilizadas dos micro-organismos sobreviveram a altas doses de irradiação a seco, enquanto esses mesmos micro-organismos foram inativados quando em presença de água. Segundo os autores, a inativação celular ocorreu em função do conteúdo de água das amostras sendo, portanto, resultado de um efeito térmico. Foi sugerido, ainda, que os micro-organismos estudados não absorvem energia suficiente, no estado seco, para provocar redução significativa nas populações celulares, embora tenham sido expostos à irradiação por períodos prolongados de tempo.

Rohrer, Bulard⁸⁸, em 1985, realizaram um estudo para avaliar a efetividade das micro-ondas na redução da infecção cruzada entre consultório odontológico e laboratório de prótese. Os autores realizaram as experiências com os micro-organismos inoculados em tubos de ensaio contendo meio de Brain-Heart Infusion, próteses com metal ou totalmente em resina acrílica, brocas metálicas e peças de mão. Os corpos-de-prova foram contaminados com 10^5 ufc/mL de cada um dos seguintes micro-organismos: três tipos de bactérias não esporuladas (*S. aureus*, *S. epidermidis* e *K. pneumoniae*), uma bactéria aeróbica esporulada (*B. subtilis*), uma bactéria esporulada anaeróbica (*C. histolyticum*), um fungo (*C. albicans*) e dois vírus (polio tipo 1 e herpes simplex tipo 1). Para as irradiações no forno de micro-ondas, os corpos-de-prova foram ou não fixados a um dispositivo rotacional tridimensional

desenvolvido pelos autores. Os corpos-de-prova contaminados foram submetidos às micro-ondas a uma potência de 720 W, nos tempos experimentais de 0, 1, 3, 5, 8 e 10 minutos, e incubados a 37°C. A bactéria *B.subtilis* foi também inoculada em tiras de papel irradiadas por 20 minutos. O crescimento dos micro-organismos foi avaliado para todos os materiais após 24 e 48 horas pela análise da turvação do meio e crescimento de colônias em placas de Petri. Para a irradiação das próteses, duas condições foram avaliadas para os testes de estabilidade dimensional: as próteses foram mantidas por 15 minutos em água ou foram mantidas a seco, antes de serem irradiadas. Segundo os autores, os resultados obtidos quando o dispositivo rotacional tridimensional foi utilizado evidenciaram maior efetividade no tratamento com micro-ondas. Os tubos de ensaio contaminados com a mistura de quatro bactérias aeróbicas e *C. albicans* não demonstraram crescimento após 10 minutos de irradiação. A esterilização da bactéria esporulada anaeróbica *C. histolyticum* ocorreu após 3 minutos de irradiação. As tiras de papel com a bactéria esporulada aeróbica *B. subtilis* demonstraram esterilização apenas após 15 minutos de irradiação. As brocas dentárias, quando imersas em suspensão de quatro bactérias aeróbicas e expostas às micro-ondas por 10 minutos, apresentaram esterilização. As peças de mão contaminadas com a mesma suspensão bacteriana foram esterilizadas após 10 minutos de irradiação. As próteses contaminadas com as suspensões individuais de quatro bactérias aeróbicas e do fungo apresentaram esterilização para todos os micro-organismos testados após 8 minutos de exposição às micro-ondas. Quando uma mistura de suspensões desses micro-organismos foi utilizada, a esterilização das próteses foi observada após 10 minutos de irradiação. Não foram observadas alterações dimensionais tanto para as próteses imersas previamente em água quanto para as mantidas a seco e expostas às micro-ondas por até 16 minutos. Para uma esterilização efetiva de materiais odontológicos, os autores sugeriram a irradiação por micro-ondas associada à utilização do dispositivo tridimensional desenvolvido nesse estudo.

O estudo de Minagi et al.⁷¹, em 1986, teve como objetivo investigar a aderência de 6 diferentes espécies de *Candida* (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* e *C. stellatoidea*) a 3 hidrocarbonos. A aderência foi avaliada através da mensuração da hidrofobicidade superficial dos micro-organismos por dois diferentes métodos: aderência a hidrocarbonos e Equação de Young para medição dos ângulos de contato superficiais, em que, quanto maior a hidrofobicidade, maior a capacidade de aderência do micro-organismo. Os resultados obtidos por cada método avaliado foram comparados. As cepas utilizadas foram incubadas por 24 horas a 37°C em Sabouraud Glucose Broth. Uma alíquota de 10 mL desta solução foi transferida para 40 mL de Sabouraud Glucose Broth e incubada a 37°C sob agitação. As cepas foram recolhidas após centrifugação por 5 minutos a 20°C, lavadas 3 vezes com solução salina fosfatada tamponada e re-suspensas nesta mesma solução. Os ângulos de contato entre a superfície das cepas e a água destilada foram medidos através de uma técnica de projeção horizontal com o auxílio de um medidor de ângulo de contato. A aderência aos hidrocarbonos foi determinada através da medição da densidade óptica das soluções das cepas avaliadas antes e após sua mistura a diferentes volumes (50 e 500 µL) dos hidrocarbonos. Os resultados do estudo demonstraram que *C. tropicalis*, *C. glabrata* e *C. krusei* apresentaram a maior aderência a hidrocarbonos e maiores ângulos de contato superficiais em comparação às demais espécies avaliadas. Os dois métodos comparados para mensuração da hidrofobicidade superficial dos micro-organismos apresentaram resultados similares, indicando que *C. tropicalis*, *C. glabrata* e *C. krusei* apresentaram maior hidrofobicidade quando comparadas à *C. albicans*, *C. parapsilosis* e *C. stellatoidea*.

Jeng et al.⁵⁵, em 1987, realizaram um estudo para investigar a possível presença de efeitos não-térmicos das micro-ondas sobre os micro-organismos. Os autores utilizaram suspensões de esporos de *Bacillus subtilis* na concentração de 10⁷ ufc/mL em água destilada. Alíquotas de 10 µL dessas suspensões foram inoculadas na região central do fundo de frascos de borosilicato. Após a secagem dessa alíquota, os recipientes foram colocados durante uma semana no

interior de uma câmara contendo um béquer com cloreto de cálcio saturado, o que forneceu umidade relativa de 33% a 22°C. Outras amostras dos micro-organismos foram, simultaneamente, expostas ao calor seco em forno elétrico de propagação de calor ou em forno de micro-ondas até as temperaturas de 107°C, 117°C, 130°C e 137°C. Uma sonda térmica registrou a temperatura dentro dos fornos e um dispositivo automático ajustou a temperatura do forno de propagação de acordo com a do forno de micro-ondas. As amostras foram resfriadas e ressuspensas em 5 mL de água destilada para posterior plaqueamento e contagem das unidades formadoras de colônia. De acordo com curvas de sobrevivência em função do tempo, os autores puderam verificar que não houve diferença significativa entre a exposição às micro-ondas ou ao calor seco. Além disso, foi verificado que o tempo mínimo de 45 minutos de exposição a ambas as formas de aquecimento foi necessário para a inativação dos esporos. Os autores concluíram que não há efeitos não-térmicos significativos em processos de esterilização em micro-ondas a seco e que a atividade esporicida da energia de micro-ondas é meramente térmica.

Friedrich, Phillips⁴⁶, em 1988, investigaram a eficácia das micro-ondas na esterilização de roupas íntimas femininas contaminadas por *C. albicans*. Para os experimentos, as amostras foram imersas em suspensão de *C. albicans*, depositadas em placas de Petri, deixadas para secar por três dias a temperatura ambiente e irradiadas em potência máxima por 5, 10, 15, 20, 25 e 30 minutos. Após a irradiação, as amostras em duplicatas foram colocadas em 5 mL de TSB. As alíquotas obtidas foram semeadas e incubadas a 35°C por 48 horas. Num segundo experimento, os mesmos procedimentos foram realizados, porém com as amostras umedecidas em solução salina estéril. De acordo com os resultados, a esterilização foi efetiva apenas para as amostras umedecidas, quando estas foram expostas às micro-ondas por no mínimo 5 minutos.

Os fatores relacionados à etiologia e patogenia da candidose bucal bem como os métodos para tratamento e profilaxia dessa infecção foram discutidos por Budtz-Jørgensen²⁰ em 1990. Segundo o autor, as espécies de *Candida* causam

infecção por indução de hipersensibilidade ou produção de toxinas durante a invasão tecidual. A adesão das células microbianas às camadas epiteliais é condição determinante nos processos de colonização e infecção das superfícies mucosas por *Candida*. A adesão de *Candida* às células do epitélio, in vitro, pode ser influenciada por diversos fatores relacionados ao micro-organismo (concentração, fase de crescimento, meio de crescimento, espécies e cepas), às células epiteliais e às condições ambientais (temperatura, concentração de íons de hidrogênio, bactérias e anticorpos). A *C. albicans*, a mais patogênica das espécies de *Candida*, apresenta alta capacidade de se aderir firmemente às células epiteliais in vitro. Essa adesão parece envolver interações entre a porção protéica das nanoproteínas localizadas nas fibrilas superficiais da levedura e os receptores de glicosídeo das células epiteliais. A adesão de *C. albicans* in vitro pode ser favorecida pela incubação prévia de células epiteliais com certas espécies de bactérias e pela adição de carboidratos ao substrato. Além das interações específicas com as células epiteliais do hospedeiro, outro aspecto que deve ser considerado na patogenia da *C. albicans* são as interações não-específicas de afinidade e ligação desse micro-organismo às resinas acrílicas das bases das próteses, o que freqüentemente proporciona o desenvolvimento de estomatite protética. A adesão às resinas acrílicas é também favorecida por carboidratos, que pode ser considerado um importante fator na maioria dos casos de colonização de *Candida* imediatamente após a suspensão da terapia com antifúngicos. Após a adesão e colonização, as células de *Candida* invadem os tecidos pela ação de enzimas hidrolíticas. Com a invasão tecidual, inicia-se um processo de resposta inflamatória aguda caracterizada pela predominância de neutrófilos. As condições sistêmicas predisponentes para a candidose bucal envolvem fatores fisiológicos (idade avançada, infância, gravidez, menopausa), desordens endócrinas (diabetes, hipotireoidismo), deficiências nutricionais (deficiências de ferro, vitamina B e ácido fólico) e doenças e medicamentos que causem deficiências imunológicas ou imunossupressão (AIDS, corticoterapia, leucemia aguda). Entre as condições locais predisponentes para a candidose bucal estão xerostomia, antibióticos de amplo espectro, fumo, dieta rica em

carboidratos, leucoplasia, câncer bucal, uso de próteses, higiene bucal inadequada e traumas locais. De acordo com o autor²⁰, o tratamento para a estomatite protética deveria envolver cuidados com a higiene das próteses, remoção das mesmas da cavidade bucal durante a noite, imersão em clorexidina e terapia antifúngica tópica com nistatina, anfotericina B ou miconazol. A terapia com antifúngico sistêmico (fluconazol) deveria ser indicada apenas para os pacientes com imunossupressão.

O autor²⁰ também discutiu os principais mecanismos envolvidos na histopatologia, imunologia e sorologia das infecções bucais causadas por leveduras. Segundo o autor, para o diagnóstico de candidose bucal, não é necessário realizar biópsias para análise histológica. O diagnóstico clínico de candidose bucal crônica, incluindo a estomatite protética, pode ser confirmado por exames citológicos por esfregaço ou por culturas semiquantitativas das unidades formadoras de colônias. Mesmo a mais virulenta das espécies de *Candida*, a *C. albicans*, encontra-se comumente no organismo humano, em relação de comensalismo. No entanto, quando há deficiência nos mecanismos de defesa sistêmica e local do hospedeiro, esse micro-organismo é capaz de invadir os tecidos. A irritação mecânica causada por prótese é considerada um fator local que pode alterar a integridade da membrana mucosa e favorecer a infecção por *Candida*. De acordo com o autor, a presença de prótese removível, total ou parcial, na cavidade bucal dificulta o contato das substâncias antimicrobianas e dos anticorpos presentes na saliva com a mucosa bucal de suporte e a superfície interna da prótese. Além disso, com a colocação da prótese, ocorre uma alteração da flora bucal comensal, facilitando a proliferação de *Candida*. A candidose bucal é frequentemente associada à supressão da resposta das células T à *Candida* e a outros antígenos. A deficiência na função das células T pode ser a condição predisponente para que a infecção se desenvolva. Os testes sorológicos para *Candida* não são indicados como métodos de diagnóstico, uma vez que a aglutinação, a hemaglutinação, a precipitação e a imunofluorescência de anticorpos são também encontradas em indivíduos saudáveis, que não apresentam infecção por *Candida*. A alteração ou a depressão do sistema imunológico, causadas pela AIDS e pela

Revisão da literatura

quimioterapia, representam um fator predisponente para o desenvolvimento de infecções mais severas de *Candida* spp.

Em 1992, Iacopino, Wathen⁵² discutiram, por meio de uma revisão de literatura, os principais fatores etiológicos, as técnicas de diagnóstico e os métodos de tratamento para estomatite protética e outras infecções bucais causadas por *Candida*. Segundo os autores, a colonização da cavidade bucal por *Candida* geralmente ocorre em associação a um fator predisponente que promova algum tipo de deficiência nos mecanismos imunológicos do indivíduo. Esses fatores predisponentes podem ser locais (trauma causado pela prótese, xerostomia), medicamentos (antibióticos, imunossupressores), regimes de tratamentos (quimioterapia de cabeça e pescoço) e desordens sistêmicas (debilidade física, deficiências nutricionais, alterações endócrinas e imunológicas). A infecção por *Candida* pode ser controlada por terapias antifúngicas em indivíduos com boas condições de saúde bucal e geral. Entretanto, para os pacientes debilitados, imunologicamente comprometidos ou portadores de doenças sistêmicas, a candidose bucal pode se tornar crônica e causar risco à vida. Há várias doenças associadas à candidose bucal, tais como neutropenia, diabetes mellitus e desordens endócrinas. Quanto à morfologia, a *C. albicans* pode adotar forma de blastósporo (levedura) ou formas miceliais. Ambas as formas podem colonizar superfícies, mas apenas as miceliais são capazes de invadir tecidos. As hifas mais alongadas não são passíveis de fagocitose, sendo eliminadas por mecanismos relacionados às células gigantes. Os mecanismos de defesa do hospedeiro à colonização e invasão por *Candida* envolvem processos de confinamento e proliferação epitelial com posterior descamação. Esses mecanismos são conduzidos por células imunológicas mediadoras, que respondem à injúria tecidual com produção de citocinas. Assim, quando as células imunológicas mediadoras são comprometidas, ocorre o desenvolvimento do processo infeccioso. A forma mais comum de candidose bucal é a estomatite protética. Essa patologia acomete mais frequentemente a região palatina da mucosa bucal, mas outras superfícies que mantêm contato com as próteses também podem ser infectadas. A *C. albicans* pode ser responsável pelo início, pela

manutenção e pela exacerbação da estomatite protética. O diagnóstico clínico de estomatite protética é facilmente confirmado por cultura quantitativa e exame citológico por esfregaços. A higienização das próteses deve ser eficiente, podendo-se realizar a imersão em agentes de limpeza como clorexidina, ácido benzóico e enzimas. A nistatina tópica (Micostatin) pode também ser utilizada para o tratamento de estomatite protética. No entanto, esse medicamento apresenta gosto amargo e pode causar náuseas e vômitos nos pacientes. Além disso, tem sido relatado que as espécies de *Candida* podem desenvolver resistência à nistatina. Outras drogas podem ser também recomendadas para o tratamento de infecção por *Candida*, como o cetoconazol e outros derivados dos azóis. Considerando que a *C. albicans* pode proliferar, infectar e reinfetar os tecidos via prótese, os autores concluíram que o tratamento deveria ser primariamente direcionado à eliminação desses micro-organismos da superfície interna das próteses.

O objetivo do estudo de Lal et al.⁶⁰, em 1992, foi avaliar a efetividade da solução de clorexidina a 0,12% no tratamento da estomatite protética. Para a seleção dos pacientes, o material presente na superfície interna das próteses totais superiores dos pacientes foi coletado com *swab* oral. As suspensões obtidas com as coletas foram cultivadas em placas de Petri para o crescimento das colônias viáveis de *C. albicans*. Réplicas seletivas da superfície interna das próteses foram obtidas em Agar. Foram selecionados cinco pacientes com presença de *C. albicans* nas próteses totais superiores e com diagnóstico clínico de estomatite protética na região palatina. Os pacientes foram instruídos a realizar bochechos com a solução de clorexidina por 30 a 60 segundos, duas vezes ao dia, durante 24 dias. Nesse mesmo período, os pacientes também imergiram diariamente suas próteses totais superiores na solução de clorexidina durante a noite. Após 14 dias do início do tratamento, as réplicas da superfície interna das próteses foram novamente obtidas, e a mucosa palatina dos pacientes foi fotografada. Após 24 dias de tratamento, os pacientes foram aconselhados a higienizar suas próteses apenas com creme dental e agente de limpeza (Efferdent ou Polident). As réplicas em Agar foram repetidas após cinco semanas da

suspensão do tratamento com clorexidina. Após 14 dias de tratamento com clorexidina, houve redução significativa da inflamação presente nas mucosas palatinas dos pacientes. Nesse mesmo período, não houve crescimento de colônias viáveis de *C. albicans* nas placas de Petri referentes às próteses totais superiores. As culturas obtidas após cinco semanas da suspensão do tratamento com clorexidina demonstraram recorrência de *C. albicans* nas próteses. Para todos os pacientes, as áreas de infecção por *C. albicans* observadas nas réplicas das próteses durante a fase de recorrência corresponderam às áreas observadas antes do início do tratamento com clorexidina. Além disso, clinicamente, a inflamação da mucosa palatina dos pacientes aumentou após a suspensão do tratamento. Como não foram realizadas culturas das mucosas palatinas dos pacientes, os autores não puderam concluir se a inflamação observada após a suspensão do tratamento foi decorrente da sobrevivência de *Candida* nessa região. Os autores sugeriram que, aparentemente, existem áreas nas superfícies internas das próteses que favorecem a aderência e a colonização por *Candida*. Essas áreas são determinadas pelas propriedades físicas e químicas das resinas acrílicas das bases das próteses. Dessa forma, as áreas de recorrência da mucosa palatina via prótese podem ser, ao menos em parte, associadas às áreas das bases de resina acrílica com maior densidade de aderência e colonização por *Candida*. A higienização das próteses com os agentes comerciais Efferdent e Polident não foi considerada adequada após a suspensão do tratamento com clorexidina, uma vez que não preveniu o aumento da inflamação da mucosa palatina e a recorrência por *C. albicans*. Como houve recorrência da infecção após a suspensão do tratamento com clorexidina, os autores sugeriram que a utilização diária e contínua da solução de clorexidina como enxagüatório bucal e agente de limpeza de prótese poderia ser mais efetiva para o tratamento da estomatite protética. No entanto, como a clorexidina requer prescrição, a sua utilização deveria ser recomendada apenas nos casos mais severos de estomatite protética.

O objetivo da revisão da literatura realizada por Lombardi, Budtz-Jørgensen⁶³, em 1993, foi discutir os principais procedimentos adotados para o

tratamento da estomatite protética. Segundo os autores, o controle de placa microbiana na superfície interna das próteses removíveis, parciais ou totais, deve ser sempre indicado, independentemente da terapia adotada. A higienização inadequada das próteses é considerada um dos fatores etiológicos locais da estomatite protética. O uso contínuo das próteses também favorece o desenvolvimento da patologia, uma vez que prolonga o trauma local sobre a mucosa de contato. As próteses antigas também podem traumatizar a mucosa bucal em decorrência da falta de suporte promovida pela reabsorção do rebordo alveolar. As próteses com condições inadequadas de suporte e estabilidade devem ser periodicamente reembasadas até que possam ser substituídas. As próteses novas devem ser somente confeccionadas quando a mucosa de suporte estiver saudável e o paciente apresentar boas condições de higiene bucal. Os pacientes devem ser instruídos a remover suas próteses durante a noite e higienizá-las após cada refeição. Vários agentes antifúngicos podem ser utilizados para o tratamento da estomatite protética. A escolha de um agente específico é determinada por diversos fatores, como interação medicamentosa, função dos órgãos vitais (toxicidade) e aceitação (tolerância) pelo paciente. A utilização de agentes sistêmicos deve ser limitada aos pacientes que não responderem à terapia tópica ou quando fatores sistêmicos predisponentes estiverem presentes (diabetes não controlada, neutropenia, disfunções imunológicas e endócrinas). Entre os agentes antifúngicos, a nistatina (Micostatin) é utilizada apenas como tratamento tópico, pois é tóxica quando administrada parenteralmente. Devido ao gosto amargo, a nistatina pode produzir efeitos colaterais como náuseas e intolerância, mas relatos sobre esses efeitos não são frequentes. A anfotericina B pode ser administrada via intravenosa (candidose sistêmica) ou como agente tópico (candidose superficial). No entanto, esse medicamento pode produzir efeitos hepatotóxicos e náuseas. O cetoconazol (Nizoral) é administrado sistemicamente, sendo indicado para os casos de candidose mucocutânea crônica em pacientes com imunodeficiências. Esse antifúngico é pouco absorvido na ausência de acidez gástrica e pode reduzir a ação de alguns antibióticos. O miconazol (Daktarin) é amplamente utilizado para o tratamento de candidose por

apresentar ação fungicida e bacteriostática para micro-organismos gram-positivos, uma vez que bloqueia simultaneamente a síntese de esteróides e as proteínas das membranas das células microbianas. Esse fármaco também pode ser utilizado para o tratamento de lesões associadas à estomatite protética, como a queilite angular. O fluconazol (Diflucan) é indicado para o tratamento de candidose bucal em pacientes HIV-positivos. No entanto, esse medicamento pode produzir efeitos colaterais como desconforto gástrico e dor de cabeça. Além disso, o fluconazol pode não apresentar o efeito terapêutico desejado por causa da resistência desenvolvida por algumas espécies de *Candida*. Como tratamento adjunto, pode-se realizar a imersão das próteses em agentes de limpeza como hipoclorito de sódio, enzimas, peróxidos alcalinos e ácidos. A utilização de substâncias antimicrobianas como a clorexidina também pode ser uma alternativa para a redução da inflamação da mucosa acometida pela estomatite protética. De acordo com os autores, independentemente da terapia antifúngica e do tratamento adjunto selecionados, os pacientes devem ser instruídos quanto à importância da adoção dos procedimentos de higienização das próteses e remoção das mesmas no período noturno, uma vez que esses cuidados atuam não apenas no controle da infecção causada pela estomatite protética, mas também na sua prevenção.

Em 1994, Kulak et al.⁵⁸ publicaram um estudo in vivo que investigou a efetividade da utilização da terapia antifúngica sistêmica com fluconazol, da terapia antifúngica sistêmica com fluconazol em associação com o uso da clorexidina tópica e da confecção de novas próteses totais para o tratamento da estomatite protética. Além, de avaliar o efeito desses métodos de tratamento na eliminação de hifas de *Candida* spp. Para isso, foram selecionados 45 indivíduos saudáveis, portadores de próteses totais superiores e com diagnóstico clínico de estomatite protética. Esses pacientes foram aleatoriamente distribuídos em 3 grupos (n=15), de acordo com o tratamento instituído: Grupo I - utilização de 50mg de fluconazol, 1 vez ao dia durante 2 semanas; Grupo II – aplicação de solução de clorexidina a 2% na superfície interna da prótese total duas vezes ao dia em conjunção com a terapia antifúngica

sistêmica durante 2 semanas; Grupo III – confecção de novas próteses totais. Avaliações clínicas e microbiológicas foram realizadas nos pacientes dos Grupos I e II, previamente ao início do tratamento, imediatamente após o término do tratamento e 2 semanas após a suspensão dos tratamentos. Enquanto os pacientes do Grupo III foram submetidos a avaliações clínicas e microbiológicas anteriormente e 1 mês após a confecção da nova prótese total. Os resultados mostraram que a terapia sistêmica associada ou não a utilização da clorexidina foi efetiva para reduzir a estomatite protética e as hifas de *Candida*. Porém, após a suspensão dos tratamentos a recorrência da patologia foi observada em muitos dos pacientes avaliados, principalmente os do Grupo I. A confecção de novas próteses totais não foi efetiva para o tratamento da estomatite protética.

Rosaspina et al.⁸⁹, em 1994, avaliaram o efeito da irradiação por micro-ondas em instrumentos cirúrgicos contaminados com *C. albicans*. Lâminas de bisturis e lamínulas de microscopia foram contaminados com *C. albicans* a uma concentração de 10^7 ufc/mL. Após serem secas, as amostras foram completamente imersas num recipiente de vidro com esferas de vidro de 0,4 cm e água destilada em temperatura ambiente. Esse recipiente foi, então, exposto à irradiação por micro-ondas a 600 W numa frequência de 2.400 MHz. O tempo de exposição variou de acordo com a temperatura alcançada pelo banho; assim, os seguintes tempos foram utilizados: 1,5 minutos (45°C), 3 minutos (55°C) e 6 minutos (100°C). Preparações similares foram realizadas para o grupo controle, utilizando-se estufa (2 horas, 140°C) ou autoclave (20 minutos, 121°C), enquanto que outras preparações foram submersas em água fervente pelos mesmos tempos de exposição das micro-ondas. Além disso, algumas amostras foram preparadas para análise em microscopia eletrônica de varredura. Para verificar a esterilização as amostras foram colocadas em contato com placas de Agar Tryptic e incubadas a 37°C por 48 horas. Os resultados demonstraram que todas as amostras (50 lâminas de bisturi e 25 lamínulas de microscopia) foram completamente esterilizadas após exposição por 2 minutos às micro-ondas. As análises em microscopia eletrônica de varredura revelaram que as

alterações nas leveduras irradiadas foram proporcionais ao tempo de exposição. As amostras imersas em água fervente por 9 minutos apresentaram mortalidade de 100%, porém nenhuma modificação na morfologia celular foi evidenciada. As alterações morfológicas observadas após a irradiação por micro-ondas foram completamente diferentes das observadas após o tratamento em água fervente. Assim, os autores concluíram que além do incontestável efeito térmico, as micro-ondas podem exercer também um efeito mais complexo no corpo celular dos micro-organismos.

Chau et al.²⁷, em 1995, realizaram um estudo para avaliar a possibilidade de penetração de bactérias na resina acrílica após curto período de exposição. Os corpos-de-prova de três resinas acrílicas foram polidos em uma de suas superfícies para simular as superfícies externas e internas da prótese. Em seguida, os corpos-de-prova foram imersos por 24 horas em meio de cultura contendo bactérias gram-negativas e gram-positivas. Os corpos-de-prova contaminados foram, então, imersos em uma das soluções desinfetantes (iodóforos, dióxido de cloro e hipoclorito de sódio a 5,25%) ou em uma solução salina estéril por 10 minutos. Após a desinfecção, os dois lados dos corpos de prova foram submetidos à coleta de material para semeaduras em placa de Petri. Essas placas foram encubadas a 37°C por 48 horas e número de colônias quantificado. Os autores observaram, pela análise das culturas, que os corpos-de-prova tratados com iodóforos ou dióxido de cloro apresentaram um número de colônias significativamente inferior ao número apresentado pelo os corpos-de-prova do grupo controle. Por outro lado, os corpos-de-prova imersos em hipoclorito de sódio não apresentaram colônias viáveis nas placas de Petri. Os autores concluíram que a resina acrílica pode ser contaminada com bactérias tanto na parte externa quanto interna e que o tratamento com hipoclorito de sódio foi eficiente para inativar esses micro-organismos.

Atmaca et al.⁶, em 1996, avaliaram o efeito da irradiação por micro-ondas e da aplicação de calor convencional sobre a reprodução de bactérias. Cepas de *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* e *P. acidovorans* foram cultivadas em suspensão, e o número de unidades formadoras de colônias por mililitro (ufc/mL) de

cada espécie foi determinado e utilizado como controle. Uma alíquota de 1 mL de cada suspensão bacteriana foi irradiada por micro-ondas a 550 W durante 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 25 e 30 segundos. Em seguida, cada suspensão foi diluída e cultivada em placas a 37°C por 24 horas. O valor de ufc/mL foi, então, determinado. Antes e após a irradiação, a temperatura da suspensão bacteriana foi determinada por meio de um termômetro digital. O experimento foi realizado cinco vezes para cada espécie bacteriana e para cada tempo de exposição. Também foram realizados ensaios com aplicação de calor convencional durante 16, 20, 25 e 30 segundos, tempos em que a contagem de bactéria foi reduzida significativamente. Suspensões de 5 mL de cada espécie bacteriana também foram irradiadas durante 14, 16, 18, 20, 25 e 30 segundos. Os resultados demonstraram que a redução na contagem de bactérias após a irradiação por micro-ondas foi estatisticamente significativa em relação ao controle. A diminuição na contagem de bactérias expostas ao calor convencional foi significativa em relação às amostras irradiadas por micro-ondas. Porém, inversamente ao observado com as amostras irradiadas, a aplicação de calor convencional por 30 segundos resultou em sobrevivência bacteriana. O aumento do volume das suspensões potencializou o efeito destrutivo das micro-ondas, uma vez que, após a irradiação, a contagem das suspensões de 5 mL foi significativamente menor que a das suspensões de 1 mL. Os autores concluíram que o efeito da irradiação por micro-ondas na inativação de bactérias é diferente do efeito térmico, e que o conteúdo de líquido no meio desempenha uma função importante na absorção da energia decorrente da irradiação por micro-ondas.

Em 1997, Verran, Maryan¹⁰¹ avaliaram a retenção de *C. albicans* em superfícies lisas e rugosas de resina acrílica (Perspex) e silicone de adição. Antes dos experimentos de adesão, os materiais foram lavados em ultra-som com álcool 90% por 1 hora, lavados em água corrente e imersos em água estéril por 24 horas a 24°C. Uma alíquota de 50 mL de suspensão de *C. albicans* a uma concentração de 10⁷ ufc/mL foi adicionada a placas de Petri que continham os materiais testados. As placas foram incubadas a 24°C por 1 hora e, em seguida, os materiais com as células

aderentes foram removidos e lavados em solução salina fosfatada tamponada para remover as células pouco aderentes. Em seguida, as amostras foram secas em temperatura ambiente, fixadas com metanol, coradas e examinadas em microscopia fluorescente (x1000). O número de células aderentes foi contado em cada amostra. Os resultados evidenciaram uma quantidade significativamente maior de células de *C. albicans* em superfícies rugosas em relação às lisas, sendo que a superfície rugosa de silicone apresentou mais células do que a superfície rugosa de resina acrílica. Os autores concluíram que um aumento na rugosidade superficial facilita a retenção de leveduras nas superfícies de silicone e de resina acrílica.

Na cavidade bucal, devido à ação diluente da saliva e a movimentação da musculatura bucal, os micro-organismos são expostos a concentrações subterapêuticas dos agentes antifúngicos por períodos breves de tempo. Assim, Ellepola, Samaranayake⁴⁰, em 1998, avaliaram a adesão de sete isolados clínicos de *C. albicans* à resina acrílica após exposição dos micro-organismos à concentrações subterapêuticas de nistatina, anfotericina B, 5-fluorocitosina, cetoconazol e fluconazol. Os valores de concentração inibitória mínima (MIC) foram determinados para todos agentes antifúngicos e para todas as cepas avaliadas. Corpos-de-prova acrílicos (5 x 5 mm) foram confeccionados, imersos em água, desinfetados com álcool 70%, lavados em água destilada estéril. Previamente ao ensaio de adesão, os corpos-de-prova foram sonicados por 20 min, lavados novamente e secados. Suspensões fúngicas foram preparadas em PBS a 520 nm numa densidade óptica de 1,5. Um volume de 0,5 mL dessa suspensão foi adicionada em 2 mL de meio RPMI (controle) ou 2mL de RPMI/agente antifúngico (experimental), resultando numa suspensão final de 10^6 a 10^7 células/mL em cada tubo. A concentração de cada agente antifúngico variou de 4 a 8 vezes o MIC (x6, x8, x8, x4 e x4 MIC para nistatina, anfotericina B, 5-fluorocitosina, cetoconazol e fluconazol, respectivamente). Os tubos foram incubados a 37°C por 1 h em um incubador rotatório. Em seguida, as drogas antifúngicas foram removidas por centrifugação e as células foram resuspendidas em PBS e plaqueadas. Para o ensaio

de adesão, os corpos-de-prova acrílicos foram colocados verticalmente em orifícios de uma placa de microtitulação e imersos com 400 µL da suspensão fúngica. A placa de microtitulação foi então incubada por 1 h a 37°C sob agitação. As amostras acrílicas foram então removidas da placa assepticamente e lavadas 3 vezes para remoção de células não aderentes, secadas e coradas utilizando a coloração de Gram modificada. Os corpos-de-prova foram em seguida montados em lâminas de vidro com glicerol as células aderidas foram quantificadas. Para isso, 40 campos foram aleatoriamente contados para cada amostra acrílica em um sistema de análise de imagem num aumento de 200x. O número médio de células por mm² foi determinado. Todos os experimentos foram realizados em duplicatas e repetidos 3 vezes. Os dados obtidos do ensaio de adesão foram submetidos ao testes de ANOVA e Dunnet's, enquanto que a diferença entre os agente antifúngicos foi avaliada pelo teste de Turkey-Kramer ($p < 0,05$). Foi observada, para todas as cepas avaliadas, redução significativa da adesão de células ao acrílico após exposição à nistatina e anfotericina B (redução média de 86,48 e 90,85%, respectivamente). Também foi verificada redução significativa, porém menor, após exposição à 5-fluorocitosina e ao cetoconazol (66,72 e 65,88%, respectivamente) em 6 cepas avaliadas. A menor redução média, porém significativa, foi verificada com o fluconazol (47,42%) em 5 cepas isoladas. Não foi verificada diferença significativa entre os agentes polienos na supressão da adesão de *Candida* ao acrílico, porém, quando comparados com as demais drogas avaliadas, esses agentes reduziram significativamente a adesão de todas as cepas testadas. O 5-fluorocitosina foi mais efetivo que o fluconazol, mas não apresentou diferença em relação ao cetoconazol. Além disso, também foi verificada diferença significativa entre o fluconazol e o cetoconazol. Segundo os autores, doses subterapêuticas de antifúngicos podem modular a colonização bucal por *Candida*.

Webb et al.¹⁰⁴, em 1998, avaliaram, por meio de estudo in vitro, a eficácia de dois métodos de esterilização: (1) irradiação por micro-ondas e (2) imersão em hipoclorito de sódio. Para o experimento, vinte próteses foram confeccionadas e inoculadas com cepas de *C. albicans* isoladas de saliva de pacientes

saudáveis (n=10) e de *S. gordonii* isoladas de placa dentária (n=10). Dez próteses foram colocadas em 5 béqueres (2 próteses em cada béquer) contendo 110 mL de caldo Sabourand, que foram contaminados com 11 mL de inoculo de *C. albicans* cultivado. Os béqueres foram, então, incubados em banho de agitação (80 agitações/min) a 37°C por 48 horas. As próteses selecionadas para desinfecção por micro-ondas (n=5) foram individualmente irradiadas com diferentes tempos de exposição (1, 2, 4, 6, 8 e 10 minutos) em potência alta (604 W) e média (350 W). Após a irradiação, foi realizada a diluição seriada em solução salina e a semeadura das alíquotas em placas de Petri. As placas foram incubadas por 48 horas a 37°C e em seguida, calculou-se os valores de ufc/mL. As próteses do grupo controle não foram irradiadas, tendo sido somente imersas em solução salina. Para desinfecção por imersão, as próteses contaminadas foram imersas em solução de hipoclorito de sódio a 1%, 0,02% ou 0,0125% por 8 horas, enquanto que as próteses do grupo controle foram imersas em água destilada pelo mesmo período. Em seguida, o mesmo protocolo experimental para análise microbiológica descrita para as próteses irradiadas foi utilizado. Algumas amostras em resina acrílica de cada condição foram preparadas para microscopia eletrônica de varredura. Os resultados evidenciaram que a irradiação em micro-ondas por 6 minutos a 350 W foi efetiva para inativar o crescimento de *C. albicans* e *S. gordonii*, apesar desse procedimento não ter removido os micro-organismos não-viáveis das superfícies das próteses. Além disso, a imersão das próteses por 8 horas em hipoclorito de sódio nas concentrações de 0,02 e 0,0125% eliminou o crescimento de *C. albicans* e reduziu o crescimento de *S. gordonii*. A remoção desses micro-organismos da superfície das amostras foi observada nas análises em microscopia eletrônica de varredura. Dessa forma, os autores indicaram que a irradiação em micro-ondas por 6 minutos a 350 W poderia ser mais efetiva para a esterilização de próteses que a imersão em hipoclorito de sódio, apesar de nenhum procedimento efetivamente eliminar todos os micro-organismos das superfícies das próteses.

Em 1999, Dixon et al³⁴. avaliaram a efetividade da irradiação por micro-ondas na desinfecção de resinas acrílicas contaminadas com *C. albicans* e seu efeito sobre a dureza desses materiais. Na fase 1 do experimento, foram confeccionados 45 corpos-de-prova (10 mm x 10 mm x 3 mm) de cada material, sendo três rembasadores resilientes (Molloplast-B, Permaflex e/ou Permasoft) e uma resina termopolimerizável (Lucitone 199). Os corpos-de-prova foram submetidos aos ensaios de dureza (durômetro Shore A) e então inoculados com *C. albicans*. Após 48 horas, 30 corpos-de-prova foram irradiados a seco por 5 minutos em potência máxima, e o crescimento microbiológico foi avaliado por semeadura em placas de Petri. A esterilização em longo prazo (duas semanas) foi observada pela análise de crescimento visível no meio de tioglicolato contendo os corpos-de-prova desinfetados imersos nesse meio. Após 2 semanas, as leituras de dureza foram realizadas novamente para todos os corpos-de-prova. Para a fase 2, 15 corpos-de-prova de cada material foram irradiados a seco pelos tempos de exposição de 10 ou 15 minutos e submetidos aos ensaios de dureza. Na fase 3, 15 corpos-de-prova de cada material foram imersos em água e irradiados por 5 minutos em potência máxima. Para avaliar o efeito desse procedimento sobre a dureza, os corpos-de-prova foram irradiados por 5 vezes. De acordo com os resultados, a irradiação a seco por 5 minutos não esterilizou nenhum dos materiais avaliados. Além disso, os corpos-de-prova não imersos e irradiados por 10 e 15 minutos não foram eficientemente esterilizados para todos os materiais avaliados. Entretanto, uma esterilização efetiva foi observada somente após a irradiação em micro-ondas por 5 minutos quando os corpos-de-prova foram imersos em água. Os corpos-de-prova de todos os materiais não imersos e irradiados por 15 minutos e os corpos-de-prova imersos em água e irradiados por 5 minutos não resultaram em alteração de dureza clinicamente significativa. As 5 irradiações consecutivas de um mesmo corpo-de-prova resultou em uma alteração significativa na dureza do material PermaSoft. Com base nos resultados, os autores concluíram que 5 minutos de irradiação, foram suficientes para eliminar *C. albicans*

desde que os materiais testados estivessem imersos em água durante o procedimento de irradiação.

De acordo com Ellepola et al.³⁸, em 1999, infecções orais oportunistas causadas por *Candida* spp. são frequentemente encontradas em pacientes imunocomprometidos e o antifúngico tópico nistatina tem sido utilizado no tratamento destas infecções. Considerando que a adesão de *Candida* spp. nas superfícies mucosas é o fator principal para o sucesso da colonização e o aparecimento da infecção, o objetivo deste estudo foi comparar quantitativamente a adesão, in vitro, de 30 isolados de *Candida* de seis diferentes espécies (*albicans*, *tropicalis*, *glabrata*, *guilliermondii*, *krusei* e *parapsilosis*) a células buco-epiteliais humanas, após exposição por 1 h a nistatina em sua concentração mínima inibitória. Foram utilizados cinco isolados clínicos de cada espécie de *Candida* citada. As células buco-epiteliais utilizadas foram coletadas da cavidade oral de três adultos saudáveis. Para verificar a adesão, foi utilizada uma suspensão teste de cada cepa de *Candida* ($10^6 - 10^7$ células/mL) após exposição à concentração mínima inibitória de Nistatina por 1 h. Como controle, foi utilizada a mesma suspensão de cepas, sem exposição prévia ao medicamento. Alíquotas de 0,5 mL das suspensões teste e controle foram separadamente misturadas a 0,5 mL da suspensão de células buco-epiteliais ($1,5 \times 10^5$ células/mL). As misturas obtidas foram agitadas, incubadas a 37°C por 1 h e diluídas em 4 mL de solução salina estéril. A seguir, as células buco-epiteliais foram filtradas em filtros de policarbonato com poros de 12 µm e lavadas 2 vezes em solução salina para a remoção de cepas não aderidas. Cada filtro foi posicionado sobre uma lamínula de vidro por 10 s e removidos em seguida, deixando as células buco-epiteliais aderidas na lamínula. Esses preparados foram secos, fixados com metanol e corados com coloração de Gram. O número de células com cepas aderidas foi quantificado em microscópio. Os resultados obtidos demonstraram que houve uma redução significativa (54% - 68%) na adesão das cepas às células buco-epiteliais de todas as espécies de *Candida* após exposição à nistatina. No entanto, os isolados de *C. albicans* foram os que apresentaram menor redução na adesão

(53,85%), demonstrando diferença estatisticamente significativa das demais espécies (64,09% - 67,74%). Dessa forma, os autores concluíram que o antifúngico tópico nistatina, mesmo a solução persistente na cavidade oral em níveis sub-terapêuticos durante os intervalos de aplicação, pode apresentar efeito benéfico, uma vez que inibem a colonização de *Candida* spp. A diferença significativa verificada na menor redução da adesão entre *C. albicans* e as espécies não-*albicans* investigadas pode ser considerada um achado adicional relacionado à elevada virulência desta espécie.

Em 1999, McMullan-Vogel et al.⁶⁸ avaliaram a distribuição de *C. albicans* (sorotipos A e B) e a sua secreção de proteinase ácida em isolados de pacientes com estomatite protética. Esses resultados foram comparados aos obtidos com isolados de pacientes não usuários de próteses e com candidose bucal (HIV-negativos). Os autores também compararam os resultados dos isolados de pacientes com estomatite protética com os obtidos com isolados de *C. albicans* de pacientes HIV-positivos. Foram selecionados 99 pacientes usuários de próteses removíveis, totais ou parciais, com diagnóstico clínico de estomatite protética. Após a obtenção das culturas em Agar Sabouraud, as espécies de *Candida* foram identificadas por métodos fenotípicos confirmados pelo teste API 32-C. A sorotipagem das espécies identificadas como *C. albicans* foi avaliada por teste de aglutinação. Para a indução de secreção de proteinase ácida, uma alíquota de suspensão de *C. albicans* foi adicionada em meio de Remold incubado por seis dias. Os resultados demonstraram que a *C. albicans* foi isolada em 75% dos pacientes com estomatite protética. As outras espécies de *Candida* isoladas desses pacientes foram *C. glabrata* e *C. tropicalis*. A sorotipagem de *C. albicans* revelou que 75% dos isolados eram sorotipo A e 25% sorotipo B. As porcentagens de *C. albicans* sorotipo B dos pacientes com estomatite protética e dos pacientes HIV-positivos foram semelhantes entre si e significativamente maiores do que a porcentagem observada para os pacientes HIV-negativos. Todos os isolados de *C. albicans* dos pacientes com estomatite protética secretaram proteinase ácida. A atividade de secreção da proteinase foi dependente da idade (maior em idosos) e do gênero (maior em mulheres). Os isolados de *C. albicans*

dos pacientes com estomatite protética e dos HIV-negativos apresentaram secreção de proteinase ácida semelhante e inferior à observada para os isolados dos pacientes HIV-positivos. Não foi observada correlação entre o sorotipo de *C. albicans* e a quantidade de proteinase ácida secretada, sugerindo que esses fatores patogênicos são independentes na candidose bucal. Os autores concluíram que o sorotipo B de *C. albicans* pode ser um fator patogênico na estomatite protética em decorrência da alta prevalência de pacientes com essa sorotipagem. Segundo os autores, apesar de a proteinase ácida secretada por *C. albicans* provavelmente estar envolvida na patogenia da estomatite protética, a atividade aumentada dessa enzima não parece ser o mecanismo patogênico.

Em 1999, Waltimo et al.¹⁰² compararam a aderência de *C. albicans* à superfície de polimetilmetacrilato e à superfície de materiais compósitos de fibras de vidro utilizados em próteses totais. Utilizou-se uma resina autopolimerizável (Palapress) que foi reforçada com fibras de vidro unidirecionais. As amostras (3 X 4 X 2mm) foram confeccionadas, e uma superfície foi desgastada de modo a expor regiões ricas ou não em fibras. Após o período de 48 horas de imersão em água, as amostras foram inoculadas com *C. albicans*. Os resultados demonstraram que a densidade média de leveduras na superfície da matriz polimérica foi significativamente maior que sobre a superfície das fibras.

O mecanismo de transferência de calor de uma suspensão de *S. aureus* após a irradiação em micro-ondas foi avaliado por Yeo et al.¹⁰⁷, em 1999. Culturas bacterianas de *S. aureus* foram inoculadas em meio nutriente, incubadas a 37°C por 8 horas e centrifugadas por 10 minutos. Para a exposição às micro-ondas, foram utilizadas suspensões bacterianas em meio de cultura e em água destilada estéril. Adesivos indicadores de temperatura foram aplicados em discos estéreis de aço inoxidável (15 x 5 mm). As suspensões bacterianas em meio de cultura ou em água destilada foram pipetadas sobre as superfícies dos discos. Em seguida, os discos foram irradiados a 800 W em vários tempos de exposição. As potências absorvidas pelos discos de aço inoxidável e pelas suspensões bacterianas foram calculadas por

uma equação de condução térmica. A análise de transferência de calor entre o micro-organismo e a água destilada foi avaliada por um método específico capaz de calcular o nível tempo – dependente de absorção de energia do micro-organismo e do líquido circundante ao mesmo. Os resultados evidenciaram que a viabilidade celular foi reduzida com o aumento do tempo de exposição, havendo uma inativação completa da suspensão bacteriana após 110 segundos, quando a temperatura atingiu o valor de 61,4°C. O baixo índice de aumento de temperatura da suspensão bacteriana quando comparada com água destilada estéril ou meio de cultura testados sem inóculo foi atribuído pelos autores a uma significativa influência da eficácia de esterilização pelas micro-ondas nas propriedades térmicas dos micro-organismos. Os autores concluíram que, quando o inóculo bacteriano sobre o disco de aço inoxidável foi submetido às micro-ondas, a condução de calor do disco de aço para o inóculo foi à causa do efeito bacteriostático, com absorção de 23,8 W de potência pelo aço e de 0,16 W pela suspensão bacteriana. Dessa forma, os autores sugeriram que a ação de eliminação de *S. aureus* em discos de aço inoxidável foi principalmente atribuída à transferência de calor do substrato de aço, com pouca energia absorvida diretamente da irradiação por micro-ondas.

A habilidade em produzir as enzimas hidrolíticas proteinase e fosfolipase é considerado importante fator patogênico para as espécies de *Candida*. Assim, Candido et al.²³, em 2000 realizaram um estudo cujo objetivo foi detectar essas enzimas (fosfolipase e proteinase) em espécies de leveduras isoladas da cavidade bucal de pacientes com e sem candidose bucal. Para isso, 50 indivíduos foram selecionados e divididos em dois grupos. Grupo Controle (n=19): pacientes com a boca clinicamente saudável e Grupo Experimental (n=31) pacientes com algum tipo de candidose bucal (estomatite protética, glossite rômbica mediana, queilite angular, língua fissurada). Coletas foram obtidas do dorso da língua, lesão e saliva, semeadas em Sabouraud Dextrose Agar com cloranfenicol e em seguida incubadas. Decorrido o período de incubação (37°C, durante 3 a 5 dias) colônias de leveduras foram isoladas e identificadas seguindo a metodologia clássica de identificação.

Setenta e nove isolados de *Candida* spp. foram submetidos à prova de detecção de enzimas fosfolipase e proteinase. Os resultados mostraram que a *C. albicans* foi a espécie de *Candida* mais prevalente em todos os tipos de amostras examinadas. Entre os pacientes com lesões características de candidose bucal, outras espécies de *Candida* também foram isoladas, com uma frequência maior para *C. tropicalis* e *C. glabrata*. A maioria (58,8%) dos isolados de lesão apresentaram atividade da enzima fosfolipase e proteinase. Quanto aos isolados de nichos sem lesão, foi verificado 51,1% deles produziram fosfolipase e 57,8%, proteinase. A *C. albicans* foi a única espécie que apresentou atividade de fosfolipase e proteinase nos isolados referentes a indivíduos com e sem candidose bucal. Proteinase foi detectada nas amostras de *C. tropicalis* isoladas de ambos os grupos e de *C. parapsilosis* isolada do grupo com candidose bucal.

Watanabe et al.¹⁰³, em 2000, avaliaram o efeito de compostos iônicos na inativação de micro-organismos por meio da irradiação por micro-ondas. Suspensões de *E. coli* B, *S. aureus* e *C. albicans* foram cultivadas a 2×10^7 ufc/mL. Para alguns experimentos, concentrações crescentes de NaCl, KCl e sacarose foram adicionados à suspensão. Um tubo contendo 3 mL da suspensão de cada micro-organismo foi colocado em um recipiente erlenmeyer com 90 mL de água. Esse conjunto foi posicionado no centro do prato giratório do forno de micro-ondas e foi irradiado a 500 W durante vários tempos de exposição. Amostras (0,1 mL) foram removidas para contagem, e a temperatura da suspensão celular foi determinada. Os resultados demonstraram que as células foram inativadas na mesma proporção em que houve um aumento na temperatura da suspensão celular. Assim, foi considerado que o efeito das micro-ondas nos micro-organismos foi principalmente devido ao calor gerado na suspensão celular. A adição de NaCl e KCl à suspensão modulou os efeitos da irradiação por micro-ondas na inativação de *E. coli*. A adição de sacarose apresentou pouco efeito no aumento de temperatura e na inativação celular. Dessa forma, os autores observaram que soluções iônicas de alta eletrocondutividade refletem as micro-ondas da superfície da solução. Para esclarecer as contradições

relacionadas à utilização de soluções iônicas, o efeito das condições circundantes no erlenmeyer foi estudado. Quando este foi esvaziado, a temperatura do líquido dos tubos aumentou mais rapidamente do que quando o recipiente foi preenchido com líquido. O aumento da temperatura da solução dos tubos foi suprimido com o aumento do volume do líquido. Os autores concluíram que, quando o volume da solução irradiada é menor ou quando a área superficial exposta às micro-ondas é ampla, há maior possibilidade da irradiação por micro-ondas aquecer todo o líquido contendo substâncias com alta perda dielétrica.

A hidrofobicidade celular do gênero *Candida* tem sido considerada um fator fundamental para adesão desses micro-organismos as superfícies. Dessa forma, Anil et al.⁵, 2001 compararam a hidrofobicidade celular de isolados clínicos de *C. albicans* e de *C. tropicalis* obtidos de pacientes HIV positivos após exposição por 1 h a cinco diferentes antifúngicos (nistatina, anfotericina B, cetoconazol, fluconazol e 5-flucitidina) em concentração mínima inibitória. Foram utilizados 10 isolados clínicos de cada espécie citada. Os resultados demonstraram que após a exposição aos antifúngicos do tipo polieno houve uma redução estatisticamente significativa na hidrofobicidade celular dos isolados de *C. albicans* ($p < 0,05$) e *C. tropicalis* ($p < 0,01$). Enquanto para os demais antifúngicos avaliados não foi verificado uma redução estatisticamente significativa na hidrofobicidade celular dos isolados clínicos de *Candida* avaliados.

Banting, Hill⁸, em 2001, realizaram um estudo para comparar a efetividade da energia de micro-ondas como tratamento coadjuvante de candidose bucal. Trinta e quatro pacientes portadores de próteses totais superiores com teste positivo para pseudohifas de *C. albicans* foram selecionados para um dos seguintes tratamentos: irradiação da prótese em micro-ondas ou imersão da prótese em solução clorexidina a 0,2% (controle). Todos os pacientes receberam medicação antifúngica tópica (Nistatina 300000 IU 3 vezes ao dia) por 14 dias. As próteses selecionadas para o tratamento com as micro-ondas foram escovadas com sabão anti-séptico e água e então irradiadas por um minuto a 850 W em três dias diferentes (1, 5 e 10°

dia). Para o grupo controle, as próteses foram imersas na solução de clorexidina durante a noite por 14 dias, com renovação da solução a cada dois dias. Essas próteses também foram escovadas em 3 dias diferentes (1, 5 e 10^o dias) estabelecendo parâmetro para comparação entre os grupos. Os resultados demonstraram que, após 14 dias, 53% das próteses submetidas ao tratamento com micro-ondas apresentaram pseudohifas de *C. albicans* e que essa porcentagem aumentou para 84% para as próteses submetidas à imersão em clorexidina. Por outro lado, após esse mesmo período, as camadas citológicas referentes à mucosa palatina dos pacientes cujas próteses foram irradiadas apresentaram um quarto do risco de infecção dos tecidos palatinos em relação aos pacientes que tiveram suas próteses imersas em clorexidina. Três meses após o tratamento, o grupo controle foi considerado cinco vezes mais susceptível a apresentar pseudohifas de *C. albicans* quando em comparação com o grupo que recebeu tratamento com as micro-ondas. Os autores observaram que a exposição das próteses às micro-ondas foi efetiva para uma adequada desinfecção nas próteses sem ocasionar efeitos deletérios aparentes no material das mesmas.

Hiti et al.⁵¹, em 2001, avaliaram a efetividade da irradiação por micro-ondas na esterilização de estojos de lentes de contato contaminados com trofozoitos e cistos de *Acanthamoeba*. Três cepas de *Acanthamoeba* sp (*A. comandoni*, *A. castellani* e *A. hatchetti*) foram cultivadas, e dois tipos de estojos de armazenamento, Essilor e Titmus Washer, foram utilizados. Uma alíquota de 100 µL da suspensão trofozoito (10⁶ ufc/mL) de cada cepa foi inoculada nos estojos Essilor. Cistos de cada cepa foram inoculados nos estojos Titmus Washer, os quais foram preenchidos com 8 mL de cloreto de sódio. Experimentos controles foram realizados com cistos desidratados, uma vez que a eficácia das micro-ondas é dependente do conteúdo de água das células. Em seguida, cada estojo foi colocado em diferentes partes do prato rotatório do forno de micro-ondas e individualmente irradiado a 600 W durante 3, 5 e 8 minutos. Após a irradiação, os estojos foram semeados em placas de *E. coli* por meio de *swabs* estéreis, e as placas foram incubadas a 30°C por 14 dias. O crescimento de amebas foi observado diariamente em microscópio de contraste de

fase. Os resultados demonstraram que tanto os trofozoítos como os cistos foram efetivamente inativados pelo tratamento em micro-ondas, independente do tempo de irradiação e do tipo de estojo utilizado. Análise microscópica revelou ruptura celular. Os experimentos controles realizados com cistos desidratados resultaram em crescimento das espécies *A. castellani* e *A. hatchetti*, independente do período de irradiação. Os autores concluíram que a irradiação por micro-ondas é um método efetivo, simples e de baixo custo para inativação de *Acanthamoeba* em estojos de lentes de contato. Porém, foi enfatizado que a higiene das lentes é o método mais eficiente de se evitar infecções oculares em usuários de lentes de contato.

A hidrofobicidade e aderência ao acrílico de 33 isolados de *Candida glabrata* e 14 de *Candida albicans* foram avaliadas por Luo, Samaranayke⁶⁴, em 2002. Além disso, os autores tentaram confirmar a correlação entre hidrofobicidade e aderência para a *C. glabrata*. Corpos-de-prova de resina acrílica auto-polimerizável, com dimensões de 5 mm x 5 mm, foram confeccionados, submersos em 0,4 mL de uma suspensão de 10^7 org/mL das cepas avaliadas e incubados por 1 hora a 37°C, com leve agitação de 75 rpm. Após o período de incubação, os corpos-de-prova foram lavados em água destilada, secos, corados e avaliados automaticamente em um sistema de análise de imagens e em microscópio óptico. Para avaliar a hidrofobicidade dos micro-organismos, uma alíquota de 5 mL da suspensão previamente obtida, para cada cepa avaliada, foi transferida para 2 tubos, representando os grupos controle e experimental. A hidrofobicidade foi avaliada através da diminuição da densidade óptica dos tubos experimentais, quando comparados aos tubos controle. Testes para avaliar a influência de diferentes temperaturas de incubação (37°C e 25°C) na hidrofobicidade e aderência de 6 isolados de *C. glabrata* também foram realizados. Os resultados do estudo demonstraram que a *C. glabrata* tem 247% maior afinidade ao acrílico quando comparada à *C. albicans*. Os autores justificaram esses resultados por meio de duas observações realizadas durante a avaliação das fotomicrografias: as cepas de *C. glabrata* são de proporções bem reduzidas e o fenômeno de co-adesão (adesão de

cepas a outras cepas já aderidas) ocorreu em maior intensidade nesta espécie. Foi observado também que os micro-organismos da espécie *C. glabrata* apresentam hidrofobicidade significativamente superior aos da *C. albicans* e os autores encontraram uma correlação positiva entre hidrofobicidade e aderência, para ambas as espécies. Com relação às diferentes temperaturas avaliadas, 4 dos 6 isolados avaliados tiveram sua capacidade de aderência e hidrofobicidade afetadas pela diminuição da temperatura de incubação. Os autores concluíram que os resultados deste estudo oferecem informações que justificam a maior prevalência das duas espécies avaliadas em infecções oportunistas.

O objetivo de Pires et al.⁸³, em 2002, foi avaliar a associação entre estomatite protética e o fluxo salivar, bem como a quantificação e a identificação das espécies de *Candida*, antes e 6 meses após a substituição de próteses totais superiores. Setenta e sete voluntários foram incluídos no estudo, com idade entre 36 e 84 anos, sendo a maioria mulheres (63,6%). A estomatite protética foi classificada de acordo com os critérios de Newton e a higiene da prótese foi qualificada como boa, regular, deficiente ou inadequada. Para a determinação do fluxo salivar, amostras de saliva não estimulada foram coletadas dos pacientes durante 5 minutos. Alíquotas das amostras coletadas foram semeadas em Sabouraud Dextrose Agar e, após 48 horas de incubação, foi realizada a contagem de colônias viáveis (ufc/mL). As espécies de *Candida* foram identificadas pelos testes de tubo germinativo, produção de clamidósporos e assimilação e fermentação de carboidratos. Todos os pacientes receberam instruções de higiene bucal após a substituição das próteses totais e não foram medicados. Após 6 meses da substituição, os pacientes retornaram para uma segunda avaliação, onde todos os procedimentos clínicos e laboratoriais realizados previamente foram repetidos. Os resultados demonstraram que, na primeira avaliação, 50,6% dos pacientes apresentavam estomatite protética e 63% demonstravam higienização inadequada das próteses. Na segunda avaliação, a porcentagem de pacientes com estomatite protética foi reduzida a 18,2% e a higienização das próteses foi considerada regular em 100% dos casos. Em ambas as avaliações, a prevalência

de estomatite protética foi maior em pacientes do sexo feminino. O fluxo salivar dos pacientes variou de 0,02 mL/min a 1,66 mL/min e foi semelhante nas duas avaliações. Espécies de *Candida* foram identificadas em 84,4% dos pacientes na primeira avaliação e em 79,2% na segunda. Todos os portadores de estomatite protética apresentaram *Candida* spp. na saliva e o número de ufc/mL da maioria desses pacientes foi superior a 400. A *C. albicans* foi a espécie mais comum em ambas as avaliações (50%) e a associação mais encontrada foi entre esse micro-organismo e a *C. tropicalis* (15,4%). Os autores concluíram que a substituição das próteses e a melhora da higiene bucal promoveram a resolução dos sinais clínicos de estomatite protética. Entretanto, a persistência de elevada contagem de *Candida* spp. na saliva dos pacientes deveria ser considerada como um fator importante na recorrência da patologia. Os autores sugeriram que a substituição periódica das próteses e as instruções adequadas de higiene bucal são fundamentais para prevenir o desenvolvimento da estomatite protética.

Em 2002, Ship et al.⁹⁵ discutiram sobre os principais aspectos relacionados à epidemiologia, etiologia e tratamento da xerostomia. Segundo os autores, a prevalência da xerostomia é de aproximadamente 30% em indivíduos com idade superior a 65 anos e de até 72% em pacientes hospitalizados. A xerostomia e as disfunções salivares podem resultar problemas locais ou sistêmicos de ordem transitória ou permanente. Essas condições podem prejudicar as funções de mastigação, deglutição e fonação, o que pode levar a deficiências nos mecanismos imunológicos do indivíduo, interferindo com sua qualidade de vida. Apesar de a função das glândulas salivares ser menor com a idade, essa redução não é considerada clinicamente significativa em indivíduos saudáveis. No entanto, a xerostomia em idosos é freqüentemente observada em consequência de doenças auto-imunes (Síndrome de Sjögren), alterações endócrinas, uso de medicamentos indutores de hipossalivação e terapias antineoplásicas de cabeça e pescoço. Para prevenir cáries decorrentes do baixo fluxo salivar, os pacientes com xerostomia devem ser orientados a adotar dieta com pouca quantidade de carboidratos bem como a fazer uso diário de

aplicação tópica de flúor e de enxagüatórios bucais com ação antimicrobiana. Gomas de mascar e balas sem açúcar podem ser utilizadas para estimular a salivação. Os sintomas da xerostomia podem ser aliviados também pelo uso de saliva artificial e de substâncias lubrificantes, principalmente no período noturno. Os pacientes com xerostomia devem ser orientados a ingerir líquidos durante a mastigação dos alimentos com o objetivo de facilitar a deglutição. Estimulantes salivares como a pilocarpina e cevimelina são indicados para alívio dos sintomas mais acentuados. Os pacientes que utilizam próteses removíveis parciais e totais devem ser orientados adequadamente em relação à higienização das mesmas, uma vez que a estomatite protética é freqüentemente associada à falta de saliva. Os autores concluíram que a xerostomia é uma condição relativamente comum em idosos e pode causar vários problemas orais e faringianos. O alívio dos sintomas associados à essa condição pode ser promovido por diversas medidas terapêuticas e resulta em melhora da qualidade de vida do paciente.

A relação entre a presença de *C. albicans* e a estomatite protética foi avaliada por Barbeau et al.⁹, em 2003. Foram selecionados 68 usuários de próteses totais superiores. O tipo de estomatite protética foi determinado de acordo com a classificação de Newton bem como por uma classificação modificada, desenvolvida pelos autores. Essa última classificação foi utilizada para determinar tanto o tipo de estomatite protética quanto a extensão da inflamação nos tecidos acometidos por essa patologia. Para a avaliação clínica, foram realizadas três fotografias da região palatina de cada paciente. As leveduras foram coletadas da mucosa palatina e da superfície interna das próteses com swab oral. As culturas das suspensões obtidas dos *swabs* foram realizadas em Agar Sabouraud. Para isolar as leveduras, foi adicionado cloranfenicol ao meio de cultura Sabouraud. As colônias isoladas foram congeladas a -80°C. Para a identificação das espécies de *Candida*, alíquotas das suspensões das colônias isoladas foram cultivadas em meio cromogênico (Chromagar). Para a diferenciação final das espécies, as suspensões também foram submetidas à avaliação por um sistema comercial de identificação (ID Candida). Os resultados demonstraram

que a presença de leveduras nas próteses não foi associada à estomatite protética de acordo com a classificação de Newton. Os maiores números de colônias e índices de placa nas próteses foram associados à maior extensão de inflamação, independentemente do tipo de estomatite protética segundo a classificação de Newton. A presença de *C. albicans* e da associação de mais de uma espécie de *Candida* foi observada mais comumente nos usuários de próteses totais com estomatite protética. As espécies mais associadas com a *C. albicans* foram *C. tropicalis* e *C. glabrata*. A utilização contínua das próteses e o fumo foram considerados fatores de risco associados à extensão da inflamação observada nos pacientes com estomatite protética. Os autores concluíram que a presença de leveduras nas próteses foi significativamente relacionada à extensão da inflamação e não ao tipo de estomatite protética segundo a classificação de Newton. Foi sugerido que a colonização por *Candida* spp. foi favorecida pelo processo de inflamação causado pela estomatite protética e que, portanto, deveria ser considerada no diagnóstico e tratamento dessa doença.

Tendo em vista a importância e necessidade de esterilização dos instrumentos rotatórios utilizados em odontologia, Farias⁴¹ em 2003 avaliou a efetividade da irradiação por micro-ondas na esterilização de pontas diamantadas. Para o experimento, as pontas foram contaminadas em uma suspensão bacteriana formada por bactérias pertencentes ao meio bucal (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. mutans*, *L. acidophilus*, *A. viscosus*, *E. faecalis* e *B. subtilis*), divididas em três diferentes grupos e submetidas à irradiação por micro-ondas em potência máxima (800 W). Os grupos foram diferenciados entre si conforme o método de acondicionamento dos corpos-de-prova (2) e o procedimento para esterilização (3). No procedimento de esterilização P1, os corpos de prova foram limpos com esponja, acondicionados em placas de Petri contendo 40 mL de água e submetidos à irradiação por micro-ondas durante 0, 1, 2 e 3 minutos. No procedimento de esterilização P2, os corpos-de-prova foram envolvidos em folha de poliéster, acondicionadas em envelopes para esterilização e expostas a energia por micro-ondas nos períodos de 0,

2, 4, 5 e 6 minutos. No procedimento de esterilização P3 os corpos de prova foram limpos com esponja, acondicionados e submetidos à irradiação conforme o método anterior. A esterilização foi obtida tanto no procedimento P1, após 1 minuto, quanto no procedimento P3, após 6 minutos. A autora concluiu que a irradiação em micro-ondas é um método eficiente para esterilização de pontas diamantadas.

Neppelenbroek et al.⁷⁴, em 2003, avaliaram a efetividade da irradiação por micro-ondas na esterilização de resinas rígidas para reembasamento imediato. Corpos-de-prova (10 x 10 x 1 mm) de três resinas reembasadoras rígidas (Kooliner, Tokuso Rebase e Ufi Gel Hard) foram confeccionados e esterilizados por meio de óxido de etileno. Os corpos-de-prova foram, então, individualmente inoculados (10^7 cfu/mL) com meio de cultura de Tryptic Soy Broth, contendo um dos seguintes micro-organismos: *C. albicans*, *S. aureus*, *B. subtilis* e *P. aeruginosa*. Após 48 horas de incubação a 37°C, os corpos-de-prova foram agitados por 1 minuto e deixados em repouso por 9 minutos, seguido de nova agitação para suspender qualquer micro-organismo aderente. Após a inoculação, 40 corpos-de-prova de cada material foram imersos em 200 mL de água e irradiados a 650 W por 6 minutos. Quarenta corpos-de-prova não irradiados foram utilizados como controle positivo. A seguir, 25 uL da suspensão resultante das diluições seriadas de 10^{-3} a 10^{-6} , foram semeados em placas de Petri contendo os meios de cultura seletivo para cada micro-organismo. Todas as placas foram incubadas a 37°C por 48 horas. Após a incubação, as colônias foram quantificadas em ufc/mL. Os corpos-de-prova irradiados foram imersos em meio de cultura e incubados a 37°C por 7 dias. Vinte corpos-de-prova foram preparados para microscopia eletrônica de varredura. Todos os corpos-de-prova demonstraram efetiva esterilização após a irradiação em micro-ondas. A análise em microscópio eletrônico de varredura indicou alteração na morfologia celular dos micro-organismos após irradiação em micro-ondas. Os corpos-de-prova irradiados e incubados por 7 dias não demonstram crescimento microbiológico visível no meio de cultura. Segundo os autores, a esterilização por micro-ondas por 6 minutos a 650 W provou ser um método efetivo para a esterilização de resinas reembasadoras rígidas.

Coelho et al.³⁰, em 2004, determinaram a frequência de lesões bucais associadas ao uso de próteses em 305 pacientes atendidos em uma faculdade de odontologia. Os autores também verificaram a relação entre a frequência das lesões e a idade e o gênero dos pacientes bem como o tipo, o tempo de uso e o método de limpeza das próteses. Essas informações foram registradas num questionário respondido pelos pacientes, que foram divididos em sete grupos de acordo com o tempo de uso da prótese. O exame clínico da cavidade bucal foi realizado por três patologistas previamente treinados e calibrados. Os autores observaram maior prevalência de lesões no gênero feminino (72%) que no masculino (56%) e que a maioria das mulheres (60 a 70 anos) era mais idosa que os homens (50 a 60 anos). Do total de 444 próteses, 302 eram próteses totais e 142 eram próteses parciais removíveis. A maior parte dos pacientes utilizava prótese total superior (43,24%) há pelo menos 20 anos. Os usuários de próteses totais estavam na 6ª década de vida, enquanto os usuários de próteses parciais removíveis estavam entre a 3ª e a 5ª década. As lesões bucais predominantemente encontradas em usuários de próteses totais foram as seguintes: estomatite protética (atrófica e hiperplásica), hiperplasia inflamatória fibrosa, úlcera traumática, queilite angular e flacidez de rebordo. A candidose atrófica crônica (estomatite protética) foi a lesão mais frequente, sobretudo nos pacientes com tempo de uso das próteses entre 16 a 20 anos. O método mais comum de higienização foi a escovação com dentifrício e escova dental (80,1%). Segundo os autores, a maior frequência de lesão em mulheres poderia ser atribuída à utilização das próteses por períodos maiores em relação aos homens devido a preocupações estéticas. Além disso, durante ou após a menopausa, ocorre atrofia da mucosa bucal concomitante à diminuição da secreção ovariana. Um epitélio bucal atrófico é mais susceptível a traumas e mais propenso a reações inflamatórias. Outro fator a ser considerado é que o tempo de uso das próteses é maior em idosos, que são mais relutantes em substituí-las. Essas próteses antigas podem promover maior acúmulo de placa microbiana, além de traumatizar a mucosa de suporte pela falta de adaptação. Os resultados obtidos sugeriram que as próteses removíveis, parciais ou

totais, podem causar comumente vários tipos de lesões na mucosa bucal dos pacientes. De acordo com os autores, essas lesões poderiam ser prevenidas por meio de um programa de preservação que avalie as condições das próteses e forneça as informações de higiene e manutenção da saúde bucal.

Na investigação clínica de Koray et al.⁵⁷, em 2005, foi avaliada a utilização sistêmica de fluconazol e/ou bochechos com hexetidina para o tratamento de pacientes com estomatite protética. Para isso, sessenta e um pacientes (com idades entre 43 e 76 anos), que freqüentaram o Departamento de Medicina Oral e Cirurgia da Universidade de Istambul e que foram diagnosticados como portadores de candidose oral associada ao uso de próteses, foram selecionados. Os indivíduos foram divididos em 3 grupos e medicados durante 14 dias, de acordo com o tratamento instituído: Grupo 1 (n = 21) - 1 comprimido de fluconazol uma vez ao dia; Grupo 2 (n = 18) – bochechos com hexetidina duas vezes por dia; Grupo 3 (n = 22) – tratamento simultâneo com comprimido de fluconazol uma vez ao dia e bochechos com hexetidina duas vezes por dia. Para avaliação da resposta aos tratamentos, foram quantificadas as colônias viáveis de *Candida* encontradas na saliva e em coletas com swab oral do local da infecção e da superfície das próteses. A presença de isolados da espécie *Candida albicans* foi identificada por meio da análise de tubo germinativo. Foi observada redução estatisticamente significativa na quantidade de *C. albicans* presente na saliva, lesões e próteses após os tratamentos, em comparação com contagens prévias a medicação. No entanto, as contagens de *C. albicans* após o tratamento foram similares entre os 3 grupos de estudo. Como os tratamentos possuíram eficácia semelhante para diminuir as contagens de *Candida*, os autores concluíram que a utilização de tratamentos locais, como o enxaguatório, deve ser considerada tendo em vista que diminui a possibilidade de efeitos adversos e complicações em decorrência do uso de drogas sistêmicas.

Em 2005, Kuriyama et al.⁵⁹ publicaram um estudo in vitro que avaliou a susceptibilidade de 618 isolados clínicos do gênero *Candida* a sete diferentes antifúngicos. As cepas de *Candida* foram obtidas a partir de pacientes

saudáveis que frequentaram atendimento odontológico em três universidades na cidade de Londres no período de 2000 a 2003. Adicionalmente, cepas de referência das espécies *Candida albicans* (ATCC 90028), *Candida krusei* (ATCC 6258) e *Candida parapsilosis* (ATCC 22019) foram utilizadas como controle. Para avaliação da susceptibilidade antifúngica, foi realizado o método de microdiluição em caldo (de acordo com o documento M27-A da National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS) que possibilitou a determinação das concentrações inibitórias mínimas (MIC) de todos os medicamentos. Os resultados mostraram que a espécie *C. albicans* foi a mais frequentemente identificada (521), seguida pela *C. glabrata* (59). Independentemente da espécie, a maioria dos isolados de *Candida* foram classificados como susceptíveis ao fluconazol (MICs $\leq 8 \mu\text{g/ml}$). A baixa ocorrência de resistência também foi observada para os medicamentos voriconazol, cetoconazol, miconazol, anfotericina B e nistatina. A maior frequência de cepas resistentes foi observada para o itraconazol, tendo sido identificada em 23,7% dos isolados de *C. glabrata*. Houve pouca diferença na susceptibilidade dos isolados de *Candida* provenientes de pacientes com história anterior de terapia antifúngica comparado com aqueles pacientes que não haviam recebido antifúngicos previamente. Os autores concluíram que a resistência de *Candida* aos medicamentos triazóis ainda pode ser considerada baixa em se tratando de pacientes sem nenhum comprometimento do sistema imunológico.

Lamfon et al.⁶¹, em 2005, investigaram a composição do biofilme das próteses e a susceptibilidade de *Candida* spp. a agentes antifúngicos. Foram selecionados dez indivíduos, cinco sem alteração da cavidade bucal (grupo controle) e cinco com estomatite protética (grupo experimental). O material presente na mucosa palatina e na superfície interna das próteses dos pacientes selecionados foi coletado com *swab* oral. Em seguida, os *swabs* foram colocados em solução de Ringer e agitados por 1 minuto. As amostras foram individualmente congeladas a -70°C em 1 mL de caldo LB contendo 50% de glicerol para, posteriormente, serem utilizadas no estudo *in vitro*. Nesse estudo, a formação de biofilme em discos (5 mm

x 1mm) de resina acrílica foi realizada por um dispositivo específico (Constant Depth Film Fermentar -CDFF). Esse dispositivo permite a produção de biofilme sob condições de baixas forças de cisalhamento decorrentes da presença de um fio contínuo de líquido sobre os micro-organismos aderidos. Para os experimentos com o CDFF, realizados em condições aeróbicas a 37°C, foi utilizada como inóculo uma alíquota de 2 mL contendo 200 µL do material coletado das próteses adicionado a outros 200 µL do material proveniente da mucosa palatina dos 5 pacientes com estomatite protética. Saliva artificial foi adicionada sobre o biofilme a uma velocidade de 0,5 mL/min. Para analisar a presença de micro-organismos aeróbicos e anaeróbicos no biofilme, foram realizadas culturas em meios de Agar Sangue Columbia e Agar Anaeróbico Fastidious, cada um contendo 5% de sangue de cavalo sem fibrina. Meios seletivos foram utilizados para avaliar a presença de colônias viáveis de *Actinomyces*, *Candida*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* e *Veillonella*. A identificação das espécies de *Candida* foi realizada pelo sistema API. Para os testes de susceptibilidade de *Candida* spp. aos agentes antifúngicos, os discos acrílicos com biofilme foram removidos do CDFF após 72 horas de incubação e colocados em contato com fluconazol e miconazol nas concentrações de 0,25 µg/mL, 2 µg/mL, 16 µg/mL, 24 µg/mL ou 256 µg/mL e de digluconato de clorexidina a 0,02%, 0,15%, 0,3%, 1,25% ou 2,5%. Os discos permaneceram em contato com os agentes azólicos (fluconazol e miconazol) por 24 horas e com a clorexidina por 15 minutos. Posteriormente, os discos acrílicos foram agitados por 1 minuto para a remoção das células aderidas e alíquotas das suspensões obtidas foram semeadas em Agar Sabouraud. Os resultados demonstraram que a quantidade de micro-organismos presentes nos biofilmes referentes aos pacientes com estomatite protética não foi estatisticamente diferente daquela observada para os pacientes sem essa patologia. Houve presença de *Candida* spp. nos biofilmes de todos os pacientes com estomatite protética, e as espécies isoladas incluíram *C. albicans*, *C. kefyr*, *C. tropicalis* e *C. famata*. Micro-organismos dos grupos *Streptococcus* (76%) e *Actinomyces* (55%)

também foram isolados dos biofilmes dos pacientes com estomatite protética. O biofilme misto de espécies de *Candida* foi resistente ao fluconazol e ao miconazol quando as concentrações utilizadas foram menores ou iguais a 256 µg/mL. A clorexidina não foi eficaz quando utilizada na concentração de até 0,3%. No entanto, o crescimento de *Candida* ssp. foi reduzido pela clorexidina na concentração de 1,25% e nenhuma colônia foi observada na concentração de 2,5%. Os autores ressaltaram que a associação de agente antibacteriano e agente fúngico poderia ser eficiente na redução de micro-organismos presentes em biofilmes mistos. No entanto, essa associação, mesmo que por curtos períodos de tempo, poderia resultar no desenvolvimento de resistência microbiana. Segundo os autores, as espécies de *Candida* podem modular a ação de antibióticos, enquanto as bactérias podem afetar a atividade antifúngica dos agentes em um biofilme misto desses micro-organismos, o que resulta em aumento da resistência do mesmo.

No mesmo ano, Pavarina et al.⁸⁰ investigaram o efeito da desinfecção por micro-ondas (650 W/ 6 minutos) sobre a resistência à flexão de cinco resinas reembasadoras rígidas (Kooliner, Tokuso Rebase, Ufi Gel hard, New Truliner e Duraliner II) e uma resina para base de prótese (Lucitone 550). Para cada material, foram confeccionados 32 corpos-de-prova (3,3 mm x 10 mm x 64 mm), divididos igualmente em quatro grupos. O ensaio de flexão foi realizado após a polimerização (G1); após dois ciclos de desinfecção por micro-ondas (G2); após sete dias de armazenagem em água (G3) e após sete ciclos de desinfecção (G4). Os corpos-de-prova do G4 foram submetidos a um ciclo de desinfecção diário, sendo imersos em água entre as irradiações. Os resultados demonstraram que a resistência à flexão das resinas acrílicas Kooliner e Lucitone 550 aumentou significativamente após dois ciclos de desinfecção por micro-ondas. Após sete ciclos, as resinas Kooliner e New Truliner apresentaram aumento significativo nos valores de flexão. A resistência à flexão do material Tokuso Rebase não foi significativamente alterada por dois ou sete ciclos de desinfecção. Os valores de flexão do material Ufi Gel hard foram significativamente reduzidos pela desinfecção por micro-ondas. Com base nos

resultados obtidos, os autores concluíram que a desinfecção em micro-ondas não promoveu efeitos deletérios à resistência à flexão dos materiais avaliados, com exceção do material Ufi Gel hard.

Um estudo clínico foi realizado por Webb et al.¹⁰⁵, em 2005, com o objetivo de avaliar a eficácia de 2 métodos de tratamento de estomatite protética associada à *Candida* em pacientes idosos institucionalizados. Para isso, os autores visitaram instituições e avaliaram a presença de estomatite protética em pacientes idosos portadores de próteses totais. Sessenta pacientes com estomatite protética foram selecionados e divididos em 3 grupos de tratamento. No primeiro grupo, as próteses foram imersas em hipoclorito de sódio 0,02% durante todas as noites, por 1 semana; no segundo grupo, as próteses totais foram irradiadas a seco por micro-ondas a 350W durante 10 minutos, todas as noites, por 1 semana; no terceiro grupo, os pacientes não receberam tratamento para a estomatite protética, tendo sido, apenas, fornecidas instruções sobre cuidados de higiene oral (grupo controle). Antes do início do tratamento, amostras de biofilme da superfície interna das próteses totais e da mucosa palatina de suporte de todos os pacientes foram submetidas a exames citológicos por esfregaço e análises bacteriológicas e micológicas quantitativas. Os esfregaços e as culturas foram repetidos 1 semana após o término dos tratamentos aplicados. As espécies de *Candida* isoladas foram identificadas pelo sistema ID 32C. Para a avaliação clínica, foram realizadas fotografias da mucosa palatina dos pacientes na primeira e na segunda consulta. Os resultados demonstraram que a estomatite protética esteve presente em 33,7% dos pacientes avaliados no estudo. Tanto o tratamento com imersão em hipoclorito de sódio como aquele por meio de irradiação por micro-ondas reduziram significativamente o número de cepas de *Candida* e de bactérias aeróbias nas próteses totais. Porém, apenas as cepas de *Candida* foram significativamente eliminadas do palato dos pacientes. Os indivíduos do grupo controle não tiveram redução significativa dos micro-organismos. Três diferentes espécies de *Candida* foram identificadas: *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. tropicalis*. Os observadores que analisaram as fotografias clínicas do palato dos

pacientes conseguiram identificar os grupos antes e após os tratamentos aplicados, porém, tiveram dificuldade em diferenciar as fotografias dos pacientes do grupo controle. Os autores concluíram que ambos os tratamentos de desinfecção de próteses avaliados são eficientes para a eliminação de micro-organismos patogênicos da mucosa palatina e das superfícies das próteses totais.

O objetivo do estudo de Amanlou et al.⁴, de 2006, foi avaliar a eficácia do gel da planta medicinal *Zataria multiflora* no tratamento da estomatite protética e compará-la à do gel do antifúngico tópico miconazol. Para isso, 24 pacientes portadores de próteses totais e de estomatite protética foram incluídos no estudo. Na primeira avaliação, foi realizada uma coleta da mucosa palatina e da face interna de suas próteses totais para cultivo e quantificação de *Candida*. Os critérios de inclusão considerados foram: presença de estomatite protética moderada ou severa (graus II ou III da classificação de Newton); diagnóstico microbiológico positivo e confirmativo da infecção; presença mínima de 1 colônia ou mais de *Candida* coletada do palato e de mais de 100 colônias da prótese total. Para o tratamento da infecção foram utilizados gel de miconazol a 2% (grupo A; n=12) e gel de *Z. multiflora* a 0,1% (grupo B; n=12), aplicados pelos pacientes quatro vezes ao dia durante 2 semanas. Os pacientes foram instruídos a aplicarem 2,5 mL (aproximadamente 1 colher de chá) do gel na superfície interna da prótese total e posicionarem-na na cavidade oral até a total dissolução do medicamento. Os pacientes foram avaliados previamente ao início do tratamento (dia 0), no meio do tratamento (dia 7), ao seu final (dia 14), e nos controles de 21 e 28 dias. Em cada consulta, foram feitas avaliações do grau de inflamação da mucosa palatina, fotografias intra-orais e coletas da mucosa palatina e da superfície interna das próteses. Essas coletas foram realizadas com swab oral estéril e as placas com esfregaços do swab foram incubadas a 37°C por 48 h. Os resultados obtidos demonstraram que a inflamação das mucosas palatinas foi significativamente reduzida em ambos os grupos de tratamento, tendo sido observada uma maior redução nos pacientes do grupo A. Houve uma redução significativa na contagem de colônias da mucosa palatina em ambos os grupos, com exceção das

contagens feitas nas coletas dos dias 21 e 28 do grupo B. Ainda, os pacientes do grupo A, tratados com miconazol, apresentaram maior redução do número de colônias obtido da superfície interna das próteses, exceto no controle do dia 21, quando a redução dos dois grupos foi semelhante. Dessa forma, os autores concluíram que o gel de *Z. multiflora* pode ser considerado seguro e efetivo para o tratamento da estomatite protética e apresenta dois mecanismos de ação: atividade antifúngica, responsável pela redução do número de colônias de *Candida* da mucosa palatina e da prótese; e atividades anti-inflamatórias, relacionadas à redução da inflamação tecidual. No entanto, os autores ressaltaram que o gel de miconazol demonstrou maior redução do número de colônias de *Candida* da superfície das próteses quando em comparação ao gel de *Z. multiflora*.

A estabilidade dimensional e a resistência ao cisalhamento de resinas odontológicas, após desinfecção química por imersão em perborato de sódio e desinfecção por irradiação com micro-ondas, foram avaliadas por Gonçalves et al.⁴⁸, em 2006. Os autores utilizaram no estudo uma resina termopolimerizável para base de prótese (Lucitone 550) e quatro resinas autopolimerizáveis para reembasamento (Kooliner, New Truliner, Tokuso Rebase, Ufi Gel Hard). Foi avaliada também a resistência ao cisalhamento de corpos-de-prova reembasados com a resina Lucitone 550. Os resultados deste estudo demonstraram que a desinfecção pela irradiação por micro-ondas aumentou significativamente os valores médios da estabilidade dimensional da resina termopolimerizável Lucitone 550 e das resinas autopolimerizáveis Kooliner e New Truliner. A resina New Truliner também demonstrou aumento na estabilidade dimensional após os 2 ciclos de desinfecção química. Para os materiais Ufi Gel Hard e Tokuso Rebase Fast não foram encontradas alterações significativas na estabilidade dimensional. Os autores concluíram que a irradiação por micro-ondas altera significativamente a estabilidade dimensional de alguns materiais para base de próteses.

Gumru et al.⁴⁹, em 2006, por meio de um estudo in vivo investigaram a produção de fosfolipase e a prevalência de *Candida* spp. em relação aos 3 tipos

clínicos de estomatite protética, segundo a classificação de Newton. Setenta e cinco usuários de próteses totais duplas foram divididos em quatro grupos de estudo. No grupo controle foram incluídos os indivíduos sem estomatite protética (n=25) enquanto nos três grupos experimentais os indivíduos com diagnóstico clínico de estomatite protética (n=50) foram divididos de acordo com o grau de inflamação da mucosa palatina. Coletas da mucosa palatina e da superfície interna da prótese total superior de cada um dos participantes do estudo foram realizadas individualmente por meio de swab oral e em seguida, semeadas em placas de Petri contendo os meios Sabouraud Dextrose Agar e CHROMagar *Candida*. Decorrido o período de incubação (37°C por 2 dias) as colônias viáveis de *Candida* spp. foram identificadas por meio dos seguintes teste: teste do tubo germinativo, teste de formação de clamidoconídeo, e teste de identificação bioquímica API 20C AUX. Para cada isolado de *Candida* spp., uma solução padrão de inóculo foi preparada a partir de um cultivo de 24 horas do isolado a ser testado, consistindo uma suspensão do micro-organismo em PBS estéril, visando à obtenção de uma suspensão com turvação equivalente a 0,5 da escala de McFarland.

He et al.⁵⁰, em 2006, realizaram estudo in vitro com o objetivo de comparar a adesão de espécies de *Candida* (*C. albicans*, *C. krusei*, *C. glabrata* e *C. dubliniensis*) a 4 diferentes materiais para bases de próteses, auto-polimerizáveis e termo-polimerizáveis. Para o experimento, corpos-de-prova de 5 mm x 5 mm foram confeccionados, esterilizados, imersos em 300 mL de suspensão das cepas avaliadas ($3-4 \times 10^6$ ufc/ml) e agitados (75 rpm) a 35°C por 2 horas. Após esse período, cada corpo-de-prova foi lavado com solução salina fosfatada tamponada estéril para a remoção das células não viáveis e colocado para secar a 60°C durante o período da noite. Os corpos-de-prova foram, então, corados e montados sobre lâminas e sob lamínulas de vidro. As cepas aderentes foram contadas com o auxílio de microscópio óptico com aumento de 400 vezes. Os autores encontraram diferença estatisticamente significativa na adesão de *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. krusei* entre a resina auto-polimerizável e a termo-polimerizável e apenas a espécie *C. glabrata* se aderiu a

todos os materiais avaliados. Os autores concluíram que a aderência de *Candida* aos materiais para base de prótese depende da qualidade da resina utilizada e da espécie de *Candida* avaliada. Além disso, foi observado que, em geral, um menor número de células aderiu às resinas termo-polimerizáveis em comparação às resinas auto-polimerizáveis.

A habilidade de aderência de isolados clínicos de *Candida albicans*, obtidos da cavidade oral de pacientes com e sem sinais clínicos de estomatite protética, foi analisada por Lyon, Resende⁶⁵, em 2006. Para a realização do estudo, 99 indivíduos saudáveis, portadores de próteses totais, foram diagnosticados em função da presença de estomatite protética. Quarenta e quatro pacientes foram portadores da infecção e 55 apresentaram a mucosa palatina saudável. Os resultados do experimento demonstraram que as cepas de *C. albicans* obtidas de pacientes com estomatite protética foram significativamente mais aderentes às células buco-epiteliais e produziram maior quantidade de enzimas quando comparadas aos isolados de pacientes com a mucosa saudável. Além disso, foi observado que o fluconazol diminui a capacidade de aderência dos isolados clínicos, independentemente de sua origem ser de pacientes com ou sem estomatite protética. Uma correlação positiva também foi encontrada entre maior capacidade de aderência e maior nível de produção enzimática. O estudo concluiu que a adesão dos isolados e a produção de enzimas específicas são fatores de virulência da *Candida* que, associados à susceptibilidade do indivíduo, podem favorecer o aparecimento da estomatite protética.

Na investigação clínica de Resende et al.³², em 2006, foi avaliada a prevalência de fungos na cavidade bucal em indivíduos idosos institucionalizados, a relação entre a presença desses fungos e a presença de sinais clínicos da estomatite protética, assim como, a susceptibilidade de espécies de *Candida* spp. isoladas na cavidade bucal dos idosos à drogas antifúngicas. Para isso, foram selecionados cento e trinta e seis pacientes institucionalizados com idade superior a sessenta anos e que não faziam uso de terapia antibiótica e antifúngica há no mínimo seis meses. Coletas

foram obtidas da mucosa palatina infectada dos pacientes com estomatite protética ou da língua, para os casos onde os sinais clínicos dessa patologia não foram diagnosticados. As coletas foram semeadas em Sabouraud Dextrose Agar e incubadas por 48 horas a 28°C. Em seguida, os isolados de *Candida* spp. obtidos da cultura em Agar Sabouraud foram identificados por meio da análise de tubo germinativo, do crescimento fúngico em 45°C e por meio de avaliações morfológicas e bioquímicas. Para avaliação da susceptibilidade antifúngica ao fluconazol, itraconazol, amfotericina B e ao 5-flucitosina, foi realizado o método de microdiluição em caldo (de acordo com o documento M27-A da National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Os resultados mostraram que a presença de *Candida* spp. foi observada em mais da metade dos pacientes avaliados, especialmente nos portadores de próteses removíveis. Além de uma significativa correlação entre a presença de *Candida* spp. na cavidade oral e os sinais clínicos da estomatite protética. A *C. albicans* foi a espécie de *Candida* mais prevalente. E o fluconazol e o 5-flucitosina demonstraram a maior eficácia in vitro, entre as drogas avaliadas.

O estudo de Silva et al.⁹⁶, em 2006, teve por objetivo avaliar a efetividade da irradiação por micro-ondas na esterilização de próteses totais. Oitenta próteses totais padronizadas foram confeccionadas e submetidas à esterilização por meio de óxido de etileno. As próteses foram, individualmente, inoculadas (10^7 ufc/mL) com meio de cultura Tryptic Soy Broth contendo um dos seguintes micro-organismos: *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas aeruginosa*. Após 48 horas de incubação a 37°C, 40 próteses foram imersas em 200 mL de água e irradiadas a 650 W por 6 minutos. Quarenta amostras não irradiadas foram utilizadas como controle. As diluições seriadas de 10^{-1} a 10^{-6} foram obtidas e 25 µL da suspensão resultante de cada diluição foram semeados em placas de Petri contendo os meios de cultura seletivos para cada micro-organismo. Todas as placas foram incubadas a 37°C por 48 horas. Após a incubação, as colônias foram quantificadas em ufc/mL. Para verificar a efetividade da exposição às micro-ondas em longo prazo, as amostras irradiadas foram imersas em meio de cultura e

incubadas a 37°C por 7 dias. Não houve crescimento microbiano após 48 horas para as próteses contaminadas com *C. albicans*, *S. aureus* e *B. subtilis*. Um pequeno número de colônias foi observado em 2 placas de Petri para o micro-organismo *P. aeruginosa*. Após 7 dias de incubação a 37°C, houve crescimento microbiológico em 3 culturas de Tryptic Soy Broth, sendo 2 para *P. aeruginosa* e 1 para *B. subtilis*. Todas as próteses totais do grupo controle apresentaram crescimento microbiano nas placas de Petri após 48 horas de incubação a 37°C. A irradiação por micro-ondas por 6 minutos a 650W provou ser um método rápido e efetivo para desinfecção das próteses totais contaminadas com *P. aeruginosa* e *B. subtilis*, além de promover a esterilização das próteses inoculadas com *C. albicans* e *S. aureus*.

Campanha et al.²², em 2007, investigaram os efeitos da irradiação por micro-ondas sobre células de *Candida albicans* por meio de parâmetros de contagem celular e de liberação de substâncias intracelulares. Para isso, foram obtidas culturas de *C. albicans* de 24 horas em meio de cultura Tryptic Soy Broth a partir de cepas padrão. As células foram centrifugadas, lavadas e re-suspensas em 400 mL de água destilada gelada na concentração de 10^8 ufc/mL. Essa suspensão foi dividida em experimental e controle. A suspensão experimental (200 mL) foi colocada em um béquer de 500 mL contendo uma prótese total acrílica estéril e irradiada por micro-ondas durante 6 minutos a 650 W. A suspensão controle não foi submetida à irradiação. Para ambas as suspensões, diluições seriadas foram realizadas para contagem celular em câmara de Neubauer, utilizando a entrada do corante azul de metileno como indicativo de alteração de permeabilidade de membrana. Alíquotas diluídas também foram semeadas em Sabouraud Dextrose Agar. Alíquotas não diluídas foram analisadas quanto à densidade óptica. Para a quantificação de substâncias liberadas, as células foram eliminadas das suspensões por centrifugação e filtração e a solução resultante foi liofilizada. O conteúdo liofilizado foi re-suspensão em 5 mL de água destilada e analisado pelos métodos Microprote e Sensiprote, para quantificação de proteínas; potenciometria, para quantificação de Na⁺ e K⁺; Liquiform, para quantificação de Ca⁺⁺; e densidade óptica a 260 nm, para

quantificação de ácidos nucléicos. Todos os testes foram realizados em duplicata e repetidos em 8 dias diferentes. Não foram encontradas diferenças entre as suspensões experimental e controle quando foram comparadas as suas médias de densidade óptica. As células da suspensão controle apresentaram-se íntegras, enquanto que as da suspensão experimental não apresentaram integridade de membrana, de acordo com a entrada de azul de metileno. Não foram observadas colônias viáveis de *C. albicans* nas placas de Petri da suspensão experimental, enquanto a suspensão controle apresentou contagem da ordem de 10^8 ufc/mL. A liberação de proteínas da suspensão experimental foi significativamente maior do que a da suspensão controle, tanto pelo sistema Microprote quanto para o sistema Sensiprote. A liberação de K^+ , Ca^{++} e ácidos nucléicos da suspensão experimental foi significativamente maior do que a da suspensão controle. Pela técnica de potenciometria, não foi detectada a presença de Na^+ em nenhuma das suspensões. Os autores concluíram que, para a maioria dos parâmetros utilizados, a suspensão experimental apresentou valores significativamente menores de contagem de células e maiores de substâncias liberadas. Entretanto, a irradiação por micro-ondas não causou redução na densidade óptica das células em suspensão.

Em 2007, Figueiral et al.⁴² realizaram um estudo transversal com o objetivo de identificar e caracterizar os fatores etiológicos e predisponente da estomatite protética. Para isso, 140 usuários de próteses removíveis superiores foram selecionados e em seguida divididos em 2 grupos: grupo dos indivíduos com sinais clínicos de estomatite protética (n=70) e o grupo dos indivíduos com mucosa palatina saudável (n=70). Os autores verificaram que houve prevalência do grau I (41,4% da amostra avaliada) da estomatite protética, em relação aos graus II e III (34,3% e 24,3%, respectivamente), do gênero feminino (59,8%) em relação ao masculino (34%) e que a infecção acomete mais os indivíduos jovens (85,7% dos indivíduos avaliados tinham menos de trinta e cinco anos). Além disso, os autores consideraram que o aumento na prevalência da estomatite protética é influenciado pelos seguintes fatores: tempo de uso e idade das próteses removíveis, uso contínuo dessas próteses,

falta de estabilidade oclusal e dimensão vertical diminuída. A *C. albicans* individualmente, foi identificada em 81,4% dos indivíduos com estomatite protética e em 27,2% dos indivíduos sem sinais clínicos da inflamação.

Com o objetivo de avaliar a efetividade de diferentes tempos de irradiação por micro-ondas na desinfecção da resina rígida para reembasamento imediato Tokuso Rebase Fast, Mima et al.⁷⁰, em 2007, inocularam 240 corpos-de-prova (10 mm x 10 mm x 1 mm) com um dos seguintes micro-organismos: *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas aeruginosa*. Após 48 horas de incubação a 37°C, os corpos-de-prova foram divididos em 6 grupos (n=10), imersos em 200 mL de água e submetidos à irradiação em micro-ondas (650W) em um dos seguintes tempos experimentais: G I - 1 min; G II - 2 min; G III - 3 min; G IV - 4 min e G V - 5 min. A seguir, 25 µL da suspensão resultante das diluições seriadas de 10⁻³ a 10⁻⁶ foram semeados em placas de Petri, que foram incubadas a 37°C por 48 horas. Após a incubação, as colônias foram quantificadas em ufc/mL. Os corpos-de-prova irradiados ainda foram imersos em meio de cultura e incubados a 37°C por 7 dias e 44 corpos-de-prova foram preparados para microscopia eletrônica de varredura. De acordo com os resultados, todos os corpos-de-prova dos grupos III, IV e V demonstraram efetiva esterilização após a irradiação em micro-ondas. Para o grupo II, as amostras contaminadas com *C. albicans* também foram esterilizadas após a irradiação. Todos os corpos-de-prova do grupo I apresentaram crescimento microbiológico após incubação por 48 horas e 7 dias. A análise em microscopia eletrônica de varredura indicou alteração na morfologia celular dos micro-organismos presentes nas amostras esterilizadas. Os autores concluíram que a irradiação por micro-ondas durante 3, 4 e 5 minutos a 650 W demonstrou ser um método efetivo de esterilização para resina reembasadora rígida.

Em 2007, Seó et al.⁹⁴ analisaram o efeito da desinfecção por micro-ondas sobre a estabilidade dimensional de bases de prótese. Para isso, 40 corpos-de-prova intactos, com 4 mm de espessura, foram confeccionados com uma resina acrílica termopolimerizável (Lucitone 550 – L) utilizando-se o ciclo curto de

polimerização recomendado pelo fabricante (90 minutos a 73°C e 100°C por 30 minutos). Adicionalmente, cento e sessenta bases de prótese com 2 mm de espessura foram confeccionadas com a mesma resina acrílica (L) e reembasadas com 2 mm de resina autopolimerizável (Kooliner – K, New Truliner – NTL, Tokuso Rebase Fast – TR ou Ufi Gel Hard – UGH). Para o cálculo de alteração dimensional, as distâncias entre os 5 pinos removíveis (pontos de referências) posicionados sobre o modelo padrão metálico foram mensurados com um projetor de perfil e a área formada pela conexão entre os 5 pontos de referências foi calculada. Durante a confecção das bases de prótese, os pontos de referências foram transferidos para a superfície interna das bases de prótese intactas ou reembasadas e a diferença entre a área do modelo metálico e a área obtida nas bases de prótese foi utilizada para calcular a porcentagem de alteração dimensional. As mensurações de alteração dimensional foram realizadas após polimerização ou reembasamento (controle); após 1 e 7 ciclos de desinfecção em micro-ondas por 6 minutos a 650 W; e após armazenamento em água a 37°C durante 7 dias. A desinfecção por micro-ondas produziu uma contração significativa das bases de prótese intactas e aquelas reembasadas com os materiais NTL e K.

Em 2008, Vanden Abeele et al.⁹⁹ realizaram um estudo clínico com a finalidade de verificar a presença de fungos na cavidade bucal de usuários de próteses removíveis assim como, os efeitos de hábitos de higienização adotados por esses indivíduos. Para isso, amostras de biofilme da superfície interna das próteses removíveis e da mucosa palatina de suporte foram coletadas por meio de *swabs* estéreis em 87 pacientes sem sinais clínicos de estomatite protética, nem de nenhuma outra patologia. Para os indivíduos que apresentaram cultura positiva de *Candida* nas amostras de biofilme novas coletas foram realizadas semanalmente durante um mês. Um gel sem nenhuma atividade antifúngica foi aplicado na superfície interna das próteses removíveis durante 2 semanas com a finalidade de observar a interferência da utilização desse gel na quantidade de células viáveis de *Candida*. Todos os *swabs* foram individualmente semeados em placas de Petri contendo o meio de cultura cromogênico CHROMagar *Candida*. As placas de Petri foram incubadas a 37°C

durante 2 dias. Decorrido esse período, as colônias de *Candida* de cada amostra, com características morfológicas e cromogênicas distintas, foram submetidas ao teste de identificação bioquímica por meio da assimilação de carboidratos. As colônias de coloração verde foram também, submetidas ao teste do tubo germinativo. De acordo com os resultados obtidos a colonização de *Candida* nas próteses removíveis superiores ocorreu em 75,9% dos casos. As espécies de *Candida* identificadas com maior frequência foram respectivamente, *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. tropicalis*. Mais de uma espécie de *Candida* foi identificada em 48,5% das próteses removíveis que apresentaram crescimento microbiológico positivo. Os autores observaram também uma relação estatisticamente significativa ($p < 0,01$) entre o crescimento microbiológico das amostras de biofilme da superfície interna das próteses removíveis com o da mucosa palatina de suporte.

O objetivo do estudo in vivo de Bilhan et al.¹⁷, em 2008 foi avaliar a relação entre a presença de hifas de *C. albicans* e de *Lactobacillus* em usuários de próteses removíveis com diagnóstico clínico de estomatite protética. Um total de 91 indivíduos portadores de próteses totais duplas participou do estudo, sendo que para o grupo controle foram selecionados 20 indivíduos sem nenhum sinal de inflamação na região da mucosa palatina. Amostras de saliva, do biofilme da superfície interna das próteses totais e da mucosa palatina de suporte de todos os pacientes foram submetidas a exames citológicos por esfregaço e análises bacteriológicas e micológicas quantitativas. Os exames citológicos por esfregaço foram realizados com a finalidade de observar a presença de hifas de *C. albicans*. As amostras de saliva também foram utilizadas para realizar o isolamento de espécies de *Candida* spp. e de *Lactobacillus*. Para isso, as amostras de saliva foram homogeneizadas e em seguida, 1 mL de saliva foi semeado em Agar Sabouraud com a finalidade de isolar espécies de *Candida* spp. Para o isolamento de espécies de *Lactobacillus*, uma alíquota de 0,01 microlitros da mesma amostra foi semeada em Agar Rogosa. Os swabs utilizados nas coletas da mucosa palatina e da superfície interna das próteses totais foram ainda, semeados diretamente em placas de Agar Sabouraud e Agar Rogosa. As placas de

Agar Sabouraud foram incubadas aerobicamente a 37°C por 1 dia e as placas de Agar Rogosa foram incubadas anaerobicamente a 37°C por 1 dia. Os resultados demonstraram que a quantidade de *C. albicans* (ufc/mL) encontrada nos indivíduos que apresentaram hifas nas amostras coletadas da saliva e do palato foi muito maior ($p < 0,01$) do que naqueles com ausência de hifas para os mesmos tipos de amostras. Enquanto o crescimento de *Lactobacillus* foi estatisticamente significativo apenas para as amostras de saliva que apresentaram hifas de *C. albicans* e para as amostras do palato de indivíduos com estomatite protética grau III de Newton. Além disso, os autores constataram uma diferença estatisticamente significativa entre a presença da estomatite protética e a idade das próteses totais assim como, utilização contínua dessas próteses.

Coco et al.²⁹ em 2008, avaliaram a microbiota fúngica de pacientes com estomatite protética utilizando diferentes métodos de coleta de amostras e verificaram se a quantidade e a diversidade de espécies encontradas apresentavam relação com a patologia bucal. Um total de 37 pacientes usuários de próteses totais foi selecionado para o estudo. Foram registrados os dados clínicos médico e odontológico, incluindo a idade e a adaptação da prótese total, assim como os hábitos de higiene. Os pacientes que apresentaram estomatite protética foram classificados de acordo com os critérios de Newton (tipos I, II e III), enquanto os que não apresentaram evidências clínicas de estomatite protética compuseram o grupo controle. Três métodos de coletas microbiológicas foram utilizados: esfregaços de *swabs* no palato e na superfície interna da prótese, sonicação da prótese (35 kHz por 5 min) em solução salina tampão-fosfato (PBS) e bochecho bucal com 9 mL de solução PBS por 1 min. As amostras coletadas foram diluídas e plaqueadas em CHROMAgar e Sabouraud Agar. Após 48 h a 37°C, as colônias foram quantificadas e presuntivamente identificadas. As identificações foram confirmadas utilizando-se o teste bioquímico API 32 C. A quantificação de colônias obtida das próteses foi submetida à análise de variância e ao teste de múltiplas comparações de Bonferroni, com valor de $P < 0,05$ considerado como significativo. A proporção de pacientes sem

Revisão da literatura

inflamação (tipo 0) ou com estomatite protética tipo I, II e III foi de 31, 33, 25 e 14%, respectivamente. Das amostras coletadas, 39% dos *swabs*, 81% dos bochechos bucais e 75% das próteses sonicadas apresentaram crescimento fúngico no CHROMAgar. O cultivo das mesmas espécies foi observado no swab e no bochecho bucal em 83% dos pacientes, no swab e nas próteses sonicadas em 81% dos pacientes e no bochecho bucal e nas próteses sonicadas em 72% dos pacientes. As mesmas espécies foram cultivadas nos três métodos de coleta em 69% dos pacientes. Com relação ao grau de inflamação, as mesmas espécies foram cultivadas nos três métodos de coleta em 80, 78, 50 e 63% dos pacientes tipo III, II, I e 0, respectivamente. Espécies fúngicas individuais foram mais isoladas com a técnica do bochecho bucal do que com a sonicação das próteses. A espécie mais predominante foi a *C. albicans*, isolada em 75% dos pacientes. *C. glabrata* foi a segunda espécie mais comum (29,73% dos pacientes), seguida por *Saccharomyces cerevisiae*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* e *C. famata* (10,81; 5,40; 2,70; 2,70 e 2,70% dos pacientes). A proporção de pacientes nos quais a *C. albicans* foi isolada foi de 54,45; 66,67, 100 e 100% para os tipos 0, I, II e III. Para *C. glabrata*, a proporção foi de 27,27; 25; 11,11 e 80% para os tipos 0, I, II e III. Para as outras espécies fúngicas, a proporção foi de 36,36; 16,66; 11,11 e 20% para os tipos 0, I, II e III. Muitos pacientes (35,10%) apresentaram mais de uma espécie na cavidade oral. Espécies mistas foram observadas em 27,27; 33,33; 22,22 e 80% dos pacientes tipo 0, I, II e III. A combinação de *C. albicans* e *C. glabrata* foi a mais prevalente, encontrada em 25% dos pacientes, sendo mais comum no tipo III (80%, enquanto que nos tipos 0, I e II a proporção foi de 9,09; 25 e 11,11% dos pacientes). Uma maior quantidade de colônias foi constatada para as próteses sonicadas comparada com o bochecho bucal. Nenhuma diferença significativa foi observada na quantidade de colônias cultivadas com o método bochecho para todos os grupos de pacientes. Para as amostras obtidas das próteses sonicadas, os pacientes tipo II e III apresentaram quantidades significativamente maiores do que os pacientes controle. Não foi verificada diferença significativa entre os pacientes do tipo I e dos demais grupos. O grupo controle apresentou boa higiene oral, com apenas 15% de

fumantes, enquanto que nos grupos tipo I, II, III apresentaram pobre higiene bucal com 17, 33 e 60% de fumantes, respectivamente. Foi demonstrado que biofilmes mistos de *C. albicans* e *C. glabrata* podem desenvolver uma importante função na patogenicidade da estomatite protética, resultando na inflamação severa da mucosa palatina de pacientes usuários de próteses.

Um estudo clínico foi realizado por Geerts et al.⁴⁷, em 2008, avaliaram a eficácia da incorporação de um antifúngico numa resina para reembasamento na redução do número de *Candida* encontrada na saliva de indivíduos com estomatite protética. Para isso, foram selecionados 40 pacientes portadores de próteses totais com diagnóstico clínico e microbiológico de estomatite protética. Esses pacientes foram divididos em 2 grupos. No grupo experimental as próteses totais superiores foram reembasadas com Visco-gel, sendo que, ao material reembasador foi adicionado Nistatina (500 000 UI/mL). Os pacientes do grupo controle tiveram suas próteses totais superiores reembasadas apenas com o Visco-gel. Previamente ao início do tratamento, amostras do meio bucal foram coletadas para a realização de análises micológicas quantitativas. Dessa forma, cada indivíduo bochechou 10 mL de solução salina tamponada estéril por um período de 1 minuto. Em seguida, o material coletado foi centrifugado por 15 minutos. O sobrenadante foi descartado e o material microbiológico decantado após a centrifugação, foi resuspenso em 1 mL de solução salina tamponada estéril. Aliquotas de 100 µL da suspensão resultante foram plaqueadas em duplicata em Sabouraud Dextrose Agar. As placas de Petri foram incubadas aerobicamente a 37°C por até 2 dias. Após a incubação, as colônias de *Candida* spp. foram quantificadas em ufc/mL. Esses procedimentos foram repetidos para todos os participantes do estudo após 2, 4, 7, 9, 11 do início dos tratamentos e ao final dos tratamentos (dia 14). De acordo com os resultados obtidos no grupo experimental o número de colônias viáveis (valores de ufc/mL) de *Candida* spp. diminuiu até o sétimo dia de tratamento enquanto, no grupo controle apenas até o quarto dia. A partir desses períodos houve um aumento gradativo na quantificação de colônias viáveis de *Cândida* spp. Ao final do

tratamento (dia 14) o número de colônias viáveis de *Candida* spp. (valores de ufc/mL) no grupo experimental foi significativamente inferior ($p = 0,01$) aquele encontrado previamente ao início do tratamento e ao do grupo controle. Enquanto no grupo controle o número de colônias viáveis de *Candida* (ufc/mL) ao final do tratamento foi superior ao encontrado anteriormente ao início do mesmo. Os autores concluíram que a utilização da Nistatina incorporada ao material reembasador Visco-gel é efetiva por até 7 dias. Sendo assim, essa forma de tratamento deve ser suplementada por tratamentos complementares, uma vez que a etiologia da estomatite protética é considerada multifatorial.

A efetividade da desinfecção de próteses totais no tratamento da estomatite protética associada à *Candida* spp. foi avaliada por Neppelenbroek et al.⁷³, em 2008. Sessenta pacientes com estomatite protética foram divididos em quatro grupos, de acordo com o tratamento instituído. O primeiro tratamento foi a escovação das próteses totais com sabão de coco e dentifrício, deixando-as imersas em água durante a noite (grupo 0); no segundo tratamento instituído, as próteses totais foram irradiadas por micro-ondas a 650 W por 6 minutos, três vezes por semana, por 30 dias (grupo 1); no terceiro tratamento, os pacientes também tiveram suas próteses totais irradiadas no micro-ondas (650 W/3 minutos) e ainda realizaram aplicação tópica de miconazol, três vezes ao dia, por 30 dias (grupo 2); o último tratamento instituído foi somente a prescrição de terapia antifúngica tópica com miconazol, também três vezes ao dia, por 30 dias (grupo 3). Antes do início do tratamento, exames citológicos por esfregaço e culturas micológicas quantitativas foram obtidos da superfície interna das próteses totais superiores e da mucosa palatina de suporte de todos os pacientes. Os esfregaços e as culturas foram repetidos durante 15 dias, ao final do tratamento (30 dias) e após sua suspensão (30 e 60 dias). Para a avaliação clínica, foram realizadas fotografias da mucosa palatina dos pacientes em cada consulta. Os autores observaram que nos períodos durante (15 dias) e imediatamente após os tratamentos dos grupos 1 e 2 (30 dias), os esfregaços citológicos e culturas quantitativas referentes à mucosa palatina e a superfície interna das próteses dos pacientes não

demonstraram formas miceliais e colônias viáveis de *Candida* spp. Em até 60 dias após a suspensão do tratamento, os autores também não observaram formas miceliais na mucosa palatina dos pacientes dos grupos 1 e 2. Entretanto, 33% dos pacientes do grupo 1 e 40% dos pacientes do grupo 2 demonstraram recorrência de formas miceliais e colônias de *Candida* spp, e essa diferença não foi estatisticamente significativa. As fotografias da mucosa palatina dos pacientes dos grupos 1 e 2 demonstraram progressiva redução na inflamação ao longo das avaliações clínicas. O tratamento instituído no grupo 3 promoveu uma melhora considerável na inflamação palatina, mas não eliminou as formas miceliais e as colônias de *Candida* spp., exceto para dois pacientes. Os exames clínicos e micológicos do grupo controle não evidenciaram redução da infecção fúngica em até 60 dias de avaliação. Os autores deste estudo concluíram que a desinfecção das próteses totais superiores por micro-ondas foi efetiva para o tratamento da estomatite protética associada à *Candida* spp. Independentemente da associação à terapia antifúngica tópica, a recorrência de formas miceliais de *Candida* spp. à superfície interna das próteses após a suspensão do tratamento foi significativamente reduzida nos pacientes cujas próteses foram submetidas à desinfecção por micro-ondas.

Um dos objetivos do estudo de Pinto et al.⁸², 2008 foi comparar a habilidade de isolados de *Candida* spp. obtidos da cavidade oral de indivíduos com ausência e com presença de sinais clínicos de estomatite protética em secretar fosfolipase e proteinase. Além de avaliar nesses isolados a correlação entre aderência, produção enzimática e susceptibilidade ao fluconazol com a finalidade de estabelecer uma relação entre esses fatores com a situação clínica de severidade da infecção fúngica. Para esse estudo foram utilizados 232 isolados clínicos de *Candida* spp., sendo 151 isolados referentes a pacientes que apresentavam sinais clínicos da estomatite protética e os demais isolados (n=81), de indivíduos que não apresentavam sinais da patologia. Em seguida, 174 isolados foram identificados como *C. albicans* (76,7%), sendo que 48 (27,6%) desses isolados eram referentes à pacientes sem estomatite protética e os demais, 126 isolados (72,4%), eram referentes à pacientes

com estomatite protética com os três diferentes graus de infecção. (I= 40 isolados, II= 51 isolados, III= 35 isolados). Enquanto os demais isolados de *Candida* (n=53) foram identificados como *C. glabrata* (8,4%), *C. tropicalis* (5,3%), *C. parapsilosis* (4%), *C. guilliermondi* (3,5%), *C. pulcherrima* (1,3%), *C. famata* e *C. rugosa* (com 0,44% cada uma delas). A produção de fosfolipase dos isolados foi avaliada por meio do método de Price et al. modificado enquanto para proteinase pelo foi utilizada a técnica preconizada por Borst e Fluit com pequenas modificações. No teste do tubo germinativo a porcentagem de formação do tubo germinativo foi avaliada por meio do microscópio óptico. A susceptibilidade ao fluconazol foi realizada com o Etest, de acordo com as recomendações do fabricante. Os resultados indicaram que apenas a *C. albicans* foi capaz de produzir fosfolipase e proteinase, sendo essas atividades observadas em 99,4% e 90,8% dos isolados dessa espécie, respectivamente. Várias espécies de *Candida* (*C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*) foram capazes de produzir proteinase. Além disso, os isolados obtidos dos indivíduos com estomatite protética apresentam uma maior habilidade na formação do tubo germinativo, assim como na produção da fosfolipase e da proteinase quando comparados aos isolados obtidos dos indivíduos com mucosa palatina não infectada. Apenas a *C. glabrata* apresentou menor sensibilidade ao fluconazol.

Ribeiro et al.⁸⁶, em 2008, avaliou o efeito da desinfecção por micro-ondas sobre as propriedades mecânicas de resistência à flexão e dureza de quatro resinas indicadas para reembasamento imediato (Kooliner, Tokuso Rebase Fast, Ufi Gel Hard C e New Truliner) e de uma resina termopolimerizável indicada para base de prótese (Lucitone 550). Para cada material foram confeccionados 48 corpos-de-prova que foram divididos igualmente em seis grupos. Para o procedimento de desinfecção, cada corpo-de-prova foi individualmente imerso em 200 mL de água destilada e submetido a dois ciclos de irradiação por micro-ondas a 650 W com diferentes tempos de exposição: 1 minuto (T₁), 2 minutos (T₂), 3 minutos (T₃), 4 minutos (T₄) ou 5 minutos (T₅). O grupo controle (T₀) foi submetido aos testes mecânicos sem ser irradiado pelas micro-ondas. Os resultados demonstraram que para

a resina Kooliner a elevação no tempo de exposição às micro-ondas promoveu aumento na resistência à flexão em todos os tempos avaliados, porém esse aumento foi significativo apenas em T₅, em comparação ao T₀. Este estudo demonstrou também que em relação ao grupo controle (não irradiado) os valores de dureza Vickers aumentaram para resina Kooliner em T₃, T₄ e T₅; para Ufi Gel Hard em T₄ e T₅ e para New Truliner apenas, em T₅. Os valores de resistência à flexão e dureza da resina para base de prótese Lucitone 550 não foram significativamente alterados pelos tempos de desinfecção avaliados, quando comparado aos valores grupo controle. Com base nesses resultados, a autora concluiu que a desinfecção em micro-ondas não ocasionou efeitos deletérios na resistência à flexão e dureza dos materiais avaliados, independentes do tempo de irradiação utilizado.

Em 2009, Sanitá et al.⁹¹, em um estudo in vitro, avaliaram a efetividade da irradiação por micro-ondas na desinfecção de próteses totais simuladas contaminadas com 5 diferentes espécies do micro-organismo *Candida* (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. dubliniensis*, *C. tropicalis* e *C. krusei*) isoladas de culturas padrão e de pacientes HIV positivo. Para isso, próteses totais simuladas foram individualmente inoculadas com os micro-organismos avaliados. Após o período de incubação (48 horas a 37°C), as próteses foram submetidas à irradiação por micro-ondas a 650 W durante 3 minutos. A seguir, uma alíquota de 25 µL da solução resultante das diluições seriadas de 10⁻¹ a 10⁻⁴ foi semeada em placas de Petri em duplicata e todas as placas foram incubadas por 48 horas a 37°C. As colônias foram quantificadas em ufc/mL. Para verificar a efetividade da desinfecção por micro-ondas a longo prazo, as próteses totais irradiadas foram incubadas a 37°C por 7 dias. De acordo com os resultados obtidos, as próteses totais contaminadas com todas as espécies de *Candida* avaliadas demonstraram esterilização após irradiação por micro-ondas durante 3 minutos a 650 W. As próteses contaminadas com *C. glabrata* apresentaram valores de ufc/mL significativamente maiores quando comparadas às demais espécies avaliadas, enquanto que as próteses contaminadas com *C. krusei* apresentaram valores de ufc/mL significativamente menores. A irradiação por micro-ondas durante

3 minutos a 650 W provou ser um método efetivo para a esterilização de próteses totais contaminadas por diferentes espécies de *Candida* isoladas de pacientes HIV positivo.

No mesmo ano, Dovigo et al.³⁶ realizaram um estudo in vitro para avaliar a efetividade da irradiação por micro-ondas na desinfecção de próteses totais. As próteses foram contaminadas com 10^7 ufc/mL de cada uma das seguintes bactérias: *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *B. subtilis* e incubadas por 24h a 37°C. Após o período de incubação, as próteses foram submetidas à irradiação no forno de micro-ondas durante 3 minutos a 650 W, para os três micro-organismos. Para próteses contaminadas com *B. subtilis*, ainda foi realizada a irradiação por 5 minutos, utilizando a mesma potência. O crescimento dos micro-organismos foi avaliado para todas as próteses após 48h e 7 dias pela observação de colônias em placas de Petri e turvação em meio caldo, respectivamente. Os resultados evidenciaram ausência de crescimento (esterilização das próteses) das bactérias *S. aureus* e *P. aeruginosa*, tanto após 48h como nos 7 dias. Já para próteses inoculadas com *B. subtilis* foi observado crescimento microbiano, tanto para 3 como para 5 minutos de exposição às micro-ondas, porém, este foi significativamente reduzido (desinfecção das próteses). Devido aos resultados encontrados, os autores sugeriram que a irradiação por micro-ondas pode ser um método efetivo na prevenção da infecção cruzada entre o consultório e o laboratório de prótese.

Em 2009, Ribeiro et al.⁸⁵ realizaram um estudo para investigar a efetividade de dois tempos de irradiação por micro-ondas sobre a desinfecção de próteses totais. Os autores coletaram amostras de biofilme presente em todas as superfícies (na metade esquerda) das próteses em uso por pacientes. Após essa coleta inicial, as próteses imersas em água foram submetidas às micro-ondas por 2 ou 3 minutos e potência constante de 650 W. Posteriormente à irradiação, uma segunda coleta da prótese foi realizada (na metade direita). Todo material microbiológico oriundo das próteses antes e após a exposição às micro-ondas foi plaqueado em meios seletivos para *Candida* spp., *Staphylococcus* spp. e mutans streptococci e em um

meio não-seletivo. Além disso, os micro-organismos que cresceram nos meios seletivos foram identificados por meio de métodos bioquímicos. De acordo com os resultados, foi possível observar a esterilização de todas as próteses irradiadas por 3 minutos. Também foi observada a desinfecção das próteses expostas a 2 minutos de irradiação, uma vez que houve redução significativa nos valores de ufc/mL em todos os meios de cultura avaliados. Os resultados da identificação dos micro-organismos mostraram a sobrevivência das seguintes espécies: *Candida albicans*, *Staphylococci* não-aureus e *Streptococcus mutans*. Os autores concluíram que a irradiação por micro-ondas por 3 minutos pode ser um método efetivo na prevenção de contaminação cruzada nos ambientes odontológicos, uma vez que possibilitou a esterilização de todas as próteses avaliadas.

PROPOSIÇÃO

3 Proposição

Com base nas informações obtidas da literatura, o objetivo desse estudo in vivo foi comparar a efetividade da frequência da desinfecção de próteses totais por micro-ondas durante 3 minutos a 650 Watts em relação à terapia antifúngica tópica (nistatina em suspensão oral) no tratamento da estomatite protética assim como, identificar e avaliar a prevalência de espécies de *Candida* na cavidade bucal dos indivíduos tratados.

*MATERIAL E
MÉTODO*

4 *Material e método*

Para a realização da fase experimental da presente pesquisa foram utilizados os seguintes materiais, instrumentos e aparelhos:

4.1 *Materiais*

- 1- Meio de cultura Sabourand Dextrose Agar, Cod. 7150A, produzido pela Acumedia Manufactures Inc., Baltimore, EUA
- 2- Meio de cultura CHROMagar *Candida*, Cod. CA220, produzido pela Probac do Brasil Produtos Bacteriológicos Ltda., São Paulo, São Paulo
- 3- Meio de cultura Agar Bacteriológico, Cod. 7178A, produzido pela Acumedia Manufactures Inc., Baltimore, EUA
- 4- Tween 80 U.S.P. 1000mL, produzido pela Oxiteno, Diadema, São Paulo
- 5- Fubá de milho, produzido pela Yoki Alimentos S. A. Cambará, Paraná
- 6- Quemicetina 500 mg (cloranfenicol levógiro), comprimidos revestidos, produzida pelos Laboratórios Pfizer Ltda., Jandira, São Paulo
- 7- Cloreto de sódio (P.A.A.C.S.), produzido pela CAQ- Casa da química Indústria e Comércio Ltda., Diadema, São Paulo
- 8- Ponta descartável para micropipeta, fabricada pela Gilson Inc., Middleton, EUA
- 9- Alça descartável
- 10- *Swab* oral estéril, fabricado por Diagnósticos Microbiológicos Especializados, Araçatuba, São Paulo
- 11- Lamínula para microscopia 22 mm x 22 mm, fabricada pela Knittel Gläser, Braunschweig, Alemanha
- 12- Papel filtro 60 cm x 60 cm, fabricado pela Comercial Química Americana Ltda., Paulínia, São Paulo
- 13- Escova dental Tek, tamanho médio, cerdas macias, produzida pela Johnson & Johnson Com. e Distribuição Ltda., São Paulo, São Paulo

- 14- Nistatina Suspensão Oral (100.000 UI/mL), frasco de 50mL, produzido pela Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda, Itapira, São Paulo
- 15- Kit do sistema comercial ID 32C contendo ampolas de Meio C e Software Analítico, produzido pela BioMérieux, Paris, França.

4.2 Instrumentos

- 1- Espátula de aço inoxidável nº 31, Duflex Ind. Brasil. Ltda., Juiz de Fora, Minas Gerais
- 2- Placa de Petri Pyrex® 100 x 15 mm, fabricada pela Corning Life Sciences, New York, EUA
- 3- Tubo de ensaio Pyrex® nº9820, fabricado pela Corning Life Sciences, New York, EUA
- 4- Béquer graduado de 600 mL, fabricado pela Labor Quimi Vidrolabor, Poá, São Paulo
- 5- Erlenmeyer graduado, fabricado pela Labor Quimi Vidrolabor, Poá, São Paulo
- 6- Proveta graduada de 1.000 mL, fabricada pela Labor Quimi Vidrolabor, Poá, São Paulo
- 7- Proveta graduada de 100 mL, fabricada pela Labor Quimi Vidrolabor, Poá, São Paulo
- 8- Micropipeta de 20-200 µL, fabricada pela Boeco, Hamburg, Alemanha
- 9- Micropipeta de 100-1.000 µL, fabricada pela Boeco, Hamburg, Alemanha
- 10- Bico de Bunsen, fabricado pela OGP Produtos Odontológicos, São Paulo, São Paulo
- 11- Alça de Drigalsky, fabricada pela Labor Quimi Vidrolabor, Poá, São Paulo

4.3 Equipamentos

- 1- Notebook Pavilion DV 2000, fabricado pela HP.
- 2- Contador de colônias CP 600 Plus, fabricado pela Phoenix - Indústria e Comércio de Equipamentos Científicos Ltda., Araraquara, São Paulo
Modelo: CP-600
Série: 919
- 3- Balança de precisão, fabricada por Gehaka – Indústria e Comércio Eletro Eletrônica Gehaka Ltda., São Paulo, São Paulo
Modelo: BG 400
Nº 016450
- 4- Autoclave vertical, fabricada pela Phoenix - Indústria e Comércio de Equipamentos Científicos Ltda., Araraquara, São Paulo
Modelo : AV 60
Nº 6614
- 5- Estufa para secagem e esterilização, fabricada por Marconi Equipamentos Laboratoriais Ltda., Piracicaba, São Paulo
Modelo: MA 033
Série: 9819
- 6- Agitador de tubos, fabricado por Marconi Equipamentos Laboratoriais Ltda., Piracicaba, São Paulo
Modelo: A 162
Série: 8187148
- 7- Estufa bacteriológica, produzida por Marconi Equipamentos Laboratoriais Ltda., Piracicaba, São Paulo
Modelo: MA 0324
Série: 9819011
- 8- Câmara de fluxo laminar vertical, fabricada pela Pachane Indústria e Comércio Ltda., Piracicaba, São Paulo
Modelo: PA 115
Nº 12898

- 9- Micro-ondas de dupla emissão de ondas, fabricado pela Brastemp, Manaus, Amazonas
Modelo: Sensor Crisp 27 – DES (Double Emission System)
- 10- Máquina fotográfica digital Sony, fabricada pela Sony Corporation, Tokyo, Japão
Modelo: Cyber-shot DSC-F717
- 11- Banho Maria Digital fabricado pela Nova Ética Produtos e Equipamentos Científicos Ltda., Vargem Grande Paulista, São Paulo
Modelo: 316-6DN
Série: 1083/07/07
- 12- Microscópio ótico Olympus, fabricado pela Olympus Latin America Inc., Miami, EUA
Modelo: BX 51

4.4 Métodos

4.4.1 Critérios para a seleção dos pacientes

Para a realização da presente pesquisa, foram selecionados 60 indivíduos, entre homens e mulheres, com idade entre 30 e 75 anos e portadores de estomatite protética nas áreas subjacentes às próteses totais superiores. Como critérios de exclusão, foram considerados: os pacientes com alterações hormonais, que faziam uso de antibióticos, submetidos a radio ou quimioterapia de cabeça e pescoço e pacientes imunocomprometidos. Também foram excluídos pacientes com candidose pseudomembranosa, infecção geralmente associada à comprometimento imunológico e que requer tratamento imediato pois, ao se estender para o trato gastrointestinal superior ou para a corrente sanguínea, pode desencadear fungemia⁶³.

Este estudo somente foi iniciado após a aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP,

certificado número 52/05. Para participar da pesquisa, cada paciente preencheu e assinou um termo de consentimento específico para o seu grupo de estudo. As cópias do certificado de aprovação da pesquisa e dos termos de consentimento livre e esclarecido, aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade, estão contidos no Apêndice 1.

4.4.2 Critérios de diagnóstico

Os pacientes foram triados por meio de um diagnóstico clínico de estomatite protética, realizado por um especialista em Diagnóstico Bucal. Após a avaliação, a estomatite protética foi clinicamente diagnosticada em 72 pacientes. O diagnóstico clínico foi determinado pela presença de eritema em áreas subjacentes à base das próteses totais superiores. O crescimento de colônias leveduriformes em meio de cultura CHROMagar *Candida* referentes a coleta obtida da superfície interna da prótese total superior confirmou o diagnóstico clínico de estomatite protética em 60 pacientes do total de 72 avaliados. Os doze (12) remanescentes que apresentaram resultado negativo para a patologia em questão foram excluídos da pesquisa e encaminhados para a clínica de prótese total da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP para avaliar a necessidade de ajustes na prótese ou ainda, de substituição das mesmas.

Os 60 pacientes com diagnóstico positivo para estomatite protética incluídos neste estudo foram inicialmente submetidos à anamnese completa e exame clínico detalhado. Durante a anamnese, os pacientes foram questionados quanto ao uso de medicamentos, estado geral de saúde (anterior e atual) e histórico de saúde familiar. Pela anamnese, também foi possível obter informações sobre idade e gênero do paciente, tempo e frequência de uso das próteses atuais e uso de tabaco. As condições das próteses também foram observadas clinicamente em relação à retenção, suporte, estabilidade, adaptação e desgaste dos dentes artificiais.

Além disso, foi realizado um exame clínico detalhado das seguintes regiões: palato, mucosa jugal, língua, lábios, orofaringe e dentes

(quando presentes na arcada inferior) de cada paciente. Todas as alterações observadas nessas regiões foram devidamente anotadas no esquema representativo da cavidade bucal anexado à ficha clínica. O exame criterioso da região palatina permitiu a classificação da estomatite protética de cada paciente em três tipos clínicos, de acordo com Newton⁷⁵:

Grau I: Hiperemia puntiforme – caracteriza-se pela presença de áreas puntiformes de inflamação dispersas pela mucosa normal, geralmente próximas aos orifícios dos ductos das glândulas salivares palatinas menores (Figura 1A);

Grau II: Hiperemia difusa - caracteriza-se pela inflamação generalizada sobre a mucosa recoberta pela prótese, a qual se apresenta lisa e atrófica (Figura 1B);

Grau III: Hiperemia granular - caracteriza-se pela mucosa hiperêmica, com aparência nodular, que pode estar presente em toda a região recoberta pela prótese ou, mais frequentemente, restrita à região central do palato (Figura 1C).

Foram selecionados indivíduos com os três graus clínicos de estomatite protética.

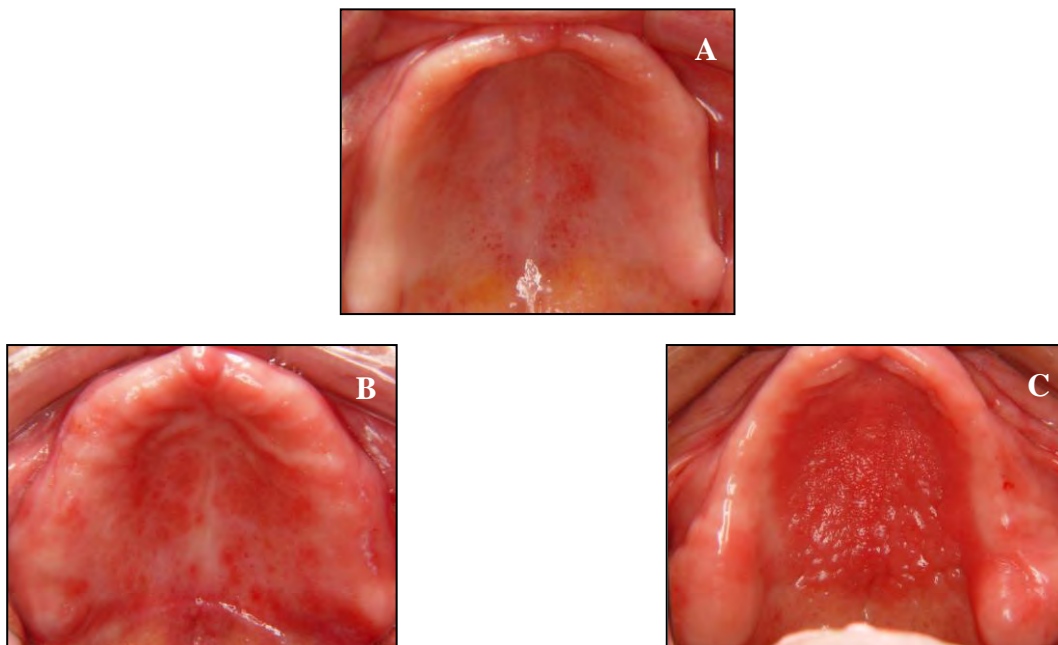


FIGURA 1 - Estomatite protética tipos I (A), II (B) e III (C), de acordo com a classificação de Newton

Uma cópia da ficha contendo a anamnese e o exame clínico adotados neste estudo está anexa ao Apêndice 1.

4.4.3 Grupos de estudo

Os 60 pacientes selecionados foram igualmente distribuídos em 3 grupos de 20 indivíduos, de acordo com o tratamento instituído a saber:

- GI (controle) – utilização de medicação antifúngica tópica;
- GII – desinfecção das próteses por micro-ondas 1 vez por semana;
- GIII – desinfecção das próteses por micro-ondas 3 vezes por semana.

Os tratamentos foram instituídos por um período de 15 dias, e os pacientes avaliados antes (0 dia) e ao final do tratamento (15 dias). Para avaliar a

efetividade dos tratamentos propostos em longo prazo, os pacientes também foram analisados após 30, 60 e 90 dias do início dos tratamentos.

➤ ***Grupo Controle (Grupo GI)***

Os pacientes do Grupo Controle (GI) foram orientados para que a higienização de suas próteses fosse realizada, inicialmente, com escova dental macia (Tek; Johnson & Johnson Industrial Ltda., São José dos Campos, São Paulo, Brasil) e sabão de coco¹⁰. Em seguida, a prótese deveria ser enxaguada e, então, escovada com dentifrício. Foi ressaltado que a escova de higienização da prótese total superior não poderia ser utilizada para outra finalidade, sendo necessária outra (s) escova (s) para a limpeza da língua, da prótese inferior e/ou dos dentes remanescentes. Os pacientes portadores de prótese removível inferior, parcial ou total, também foram instruídos a higienizá-las com outra escova dental. Aqueles com dentes remanescentes inferiores foram orientados em relação à sua higienização com escova dental, dentifrício e fio dental. Todos os pacientes foram instruídos quanto à importância e à necessidade de higienização da língua por meio de escova dental ou raspador de língua. Os procedimentos de higienização da (s) prótese (s), língua e dos dentes remanescentes (quando presentes) foram recomendados para realização quatro vezes ao dia, após as principais refeições e antes de dormir. Além disso, os pacientes desse grupo receberam medicação antifúngica tópica a base de nistatina (suspensão oral). Após a remoção da (as) prótese (s) da cavidade oral e os procedimentos de higienização, um conta-gotas do medicamento era bochechado por um minuto antes de ser expelido. A aplicação do medicamento foi realizada quatro vezes ao dia por um período de quinze dias, conforme a posologia indicada na bula do medicamento. Cada paciente recebeu um frasco (50 mL) de antifúngico, tendo essa quantidade sido suficiente para todo o período do tratamento. Além disso, todos os pacientes foram instruídos a não utilizar sua (s) prótese (s) durante o sono, tendo sido mantida (s), nesse período, imersa (s) individualmente em recipiente limpo contendo água filtrada. Os pacientes foram orientados verbalmente e por escrito, e

as instruções foram reforçadas a cada retorno. Esses pacientes foram acompanhados semanalmente por um especialista em Diagnóstico Bucal. Após o período de tratamento (15 dias), os pacientes que apresentaram melhora significativa da estomatite protética foram acompanhados por um período de 90 dias. Quando um desses pacientes não apresentava melhora no quadro clínico de estomatite protética ao final do tratamento, o especialista em Estomatologia instituía outro tratamento, considerado mais adequado para a eliminação da patologia. A definição desse tratamento era determinada pelo especialista, tendo esses pacientes recebido acompanhamento até que não se observasse a presença de sinais e sintomas da doença.

➤ *Grupos Experimentais (Grupos GII e GIII)*

Os pacientes desses grupos receberam as mesmas instruções de higiene apresentadas aos pacientes do Grupo I, além de terem suas próteses irradiadas por micro-ondas a 650 Watts durante o tempo de exposição de 3 minutos 1 vez, ou 3 vezes por semana (Grupos II e III, respectivamente), durante 15 dias. Previamente aos procedimentos de irradiação, foi realizada a calibração da potência do forno de micro-ondas em 650 W, seguindo a metodologia descrita por Webb et al.¹⁰⁴. Para isso, 1 litro de água em temperatura ambiente (entre 17°C e 27°C) foi aquecido por 60 segundos, num dos níveis de potência disponíveis no equipamento (de 1 a 10). Esse procedimento foi realizado três vezes sendo que, ao final de cada repetição, o valor da temperatura final da água era subtraído da temperatura inicial. A média do valor das três repetições foi, então, multiplicada por 70, obtendo-se a potência real do aparelho no nível selecionado. Esses procedimentos permitiram determinar que, para o equipamento selecionado para o estudo, a potência de 650 W era obtida no nível de potência 7, indicado pelo fabricante. Para o procedimento de desinfecção, um único operador realizou todas as irradiações, sempre no mesmo forno. Para isso, cada prótese total foi assepticamente retirada da cavidade bucal dos pacientes, individualmente imersa em béquer contendo 200 mL de água destilada estéril e, em seguida, irradiada por

3 min a 650 W (Figura 2). Após, a irradiação, a prótese total era resfriada em temperatura ambiente e em seguida, devolvida ao paciente. Anteriormente e imediatamente após cada ciclo de irradiação, a desinfecção no interior do forno de microondas era realizada com álcool a 70%. Além disso, um novo ciclo de irradiação só era realizado quando o interior do forno de microondas voltava à temperatura ambiente.

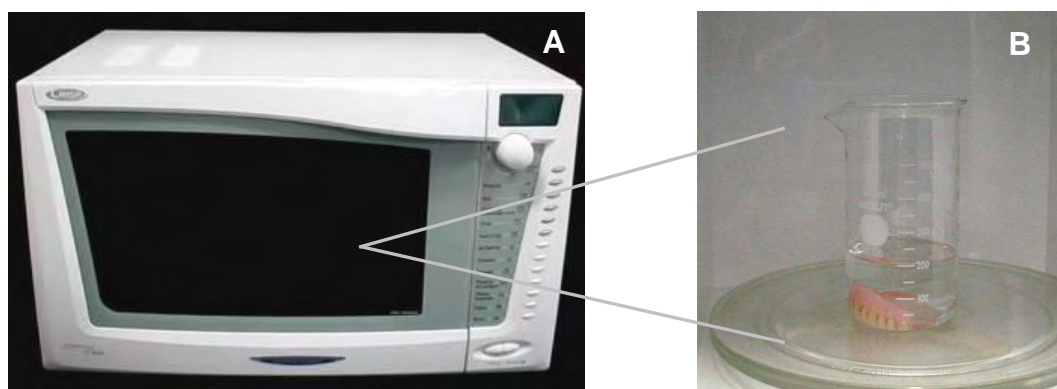


FIGURA 2 - Irradiação de uma prótese total superior em micro-ondas. Forno de micro-ondas utilizado neste estudo (A) e prótese total superior imersa em 200 mL de água destilada estéril (B)

4.4.4 Métodos para avaliação dos tratamentos

Para determinar a efetividade dos tratamentos propostos, culturas micológicas quantitativas, identificações bioquímicas das espécies de *Candida* spp. e fotografias intrabucais foram realizadas, para todos os pacientes, previamente ao início dos tratamentos e no décimo quinto dia. Além disso, com o objetivo de avaliar a efetividade dos tratamentos em longo prazo, esses procedimentos foram repetidos após 30, 60 e 90 dias do início do tratamento.

4.4.4.1 Cultura micológica quantitativa e identificação bioquímica

Coleta e semeadura do material microbiológico

As coletas de material da mucosa palatina de cada paciente e da superfície palatina de suporte de cada prótese foram realizadas individualmente, por meio de *swab* oral (Figura 3). Após cada coleta, os *swabs* foram, individualmente, imersos em tubo de ensaio contendo 5 mL de solução salina estéril. Os tubos de ensaio foram agitados vigorosamente por 1 minuto para promover a suspensão dos microrganismos dos *swabs*. Alíquotas de 50 µL da suspensão foram então, semeadas em duplicatas nas placas de Petri contendo o meio de cultura cromogênico CHROMagar *Candida*. As placas de Petri foram incubadas aerobicamente a 30°C por 5 dias.

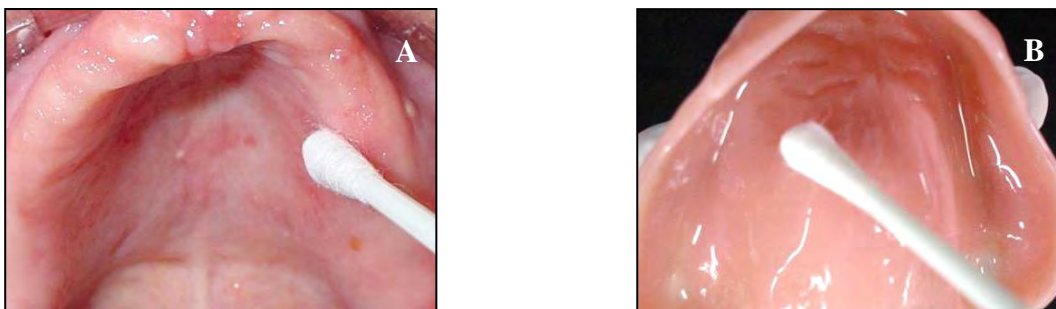


FIGURA 3 - Coleta com *swab* oral de material da mucosa palatina (A) e da superfície interna de uma prótese total superior(B) de um dos pacientes avaliados

Contagem e identificação das espécies de Candida

Decorrido o período de incubação, as colônias leveduriformes foram contadas em um contador de colônia digital seguida das identificações

Material e método

presuntivas das espécies de *Candida* (Figuras 4 e 5). Para identificação mais precisa, as colônias de cada amostra, com características morfológicas e cromogênicas distintas, foram reinoculadas em placas de Petri contendo o meio de cultura Sabouraud Dextrose Agar (SDA), acrescido de 5µg/mL de clorafenicol. Colônias isoladas foram identificadas através da análise de microcultivo (pesquisa de blastoconídios, clamidoconídios, pseudo-hifas) e testes bioquímicos. Na análise de microcultivo, observou-se estruturas fúngicas presentes em culturas isoladas semeadas em meio agar-fubá-Tween 80, sob lamínula de vidro, incubadas a 30°C por 48 horas, com o auxílio de microscópio óptico com aumento de 10 e 40 vezes.

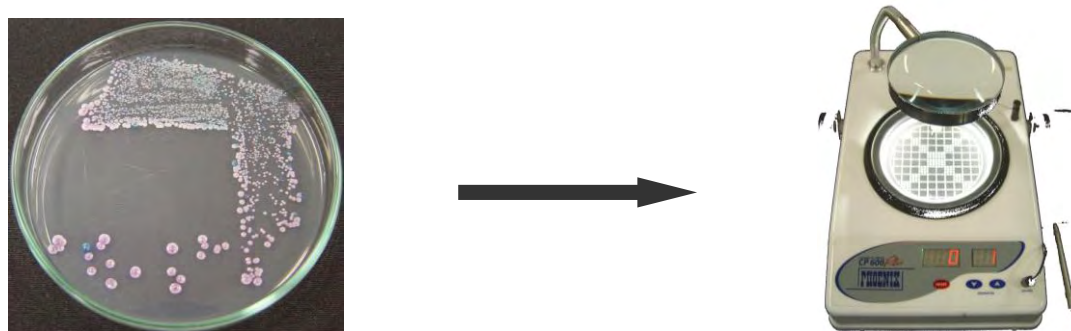


FIGURA 4 - Contagem de colônias de *Candida* spp. no contador de colônias digital

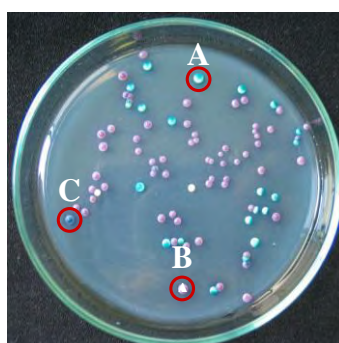


FIGURA 5 - Identificação presuntiva das espécies de *Candida* spp. fundamentada na cor desenvolvida pelas colônias. A – Colônia verde = *C. albicans*. B – Colônia lilás = *C. glabrata*. C – Colônia azul = *C. tropicalis*

Material e método

Amostras de leveduras com presença de clamidoconídios, estrutura fúngica característica de *C. albicans* e *C. dubliniensis*, foram submetidas a teste de triagem fenotípica para *C. dubliniensis* realizado em caldo hipertônico. Para esse procedimento, as amostras dos micro-organismos foram inoculadas em água destilada estéril, visando à obtenção de uma suspensão com turvação equivalente a 0,5 da escala de McFarland. Aliquotas de 20 μ L dessa suspensão foram adicionadas em tubos contendo 1 mL de caldo Sabouraud suplementado com cloreto de sódio a 6,5% estéril³. Amostras de leveduras que apresentaram crescimento após incubação a 30°C, por 72 horas, foram consideradas como *C. albicans* (Figura 6).

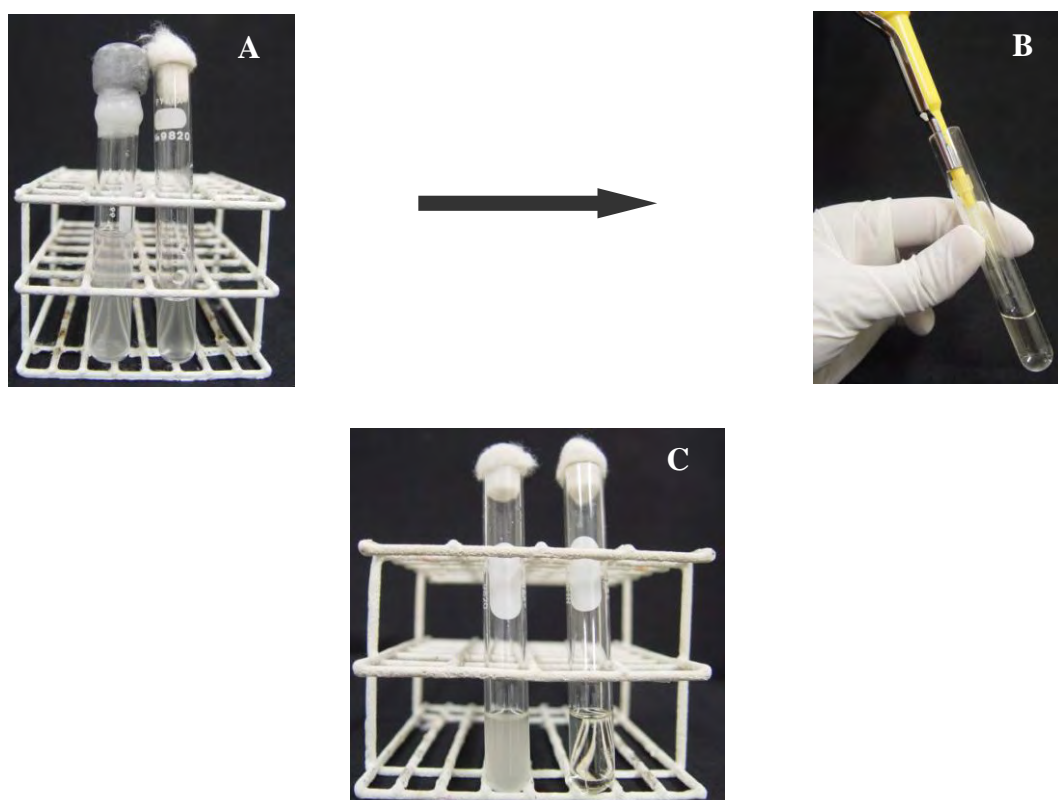


FIGURA 6 - A - Suspensão com turvação equivalente a escala 0,5 de McFarland. B - 20 μ L da suspensão adicionados em tubos contendo 1 mL de caldo Sabouraud, suplementado com cloreto de sódio a 6,5% estéril. C - Triagem fenotípica em caldo hipertônico. Turvação do meio indicativo de *C. albicans*

Material e método

As demais espécies de *Candida* spp. foram identificadas por meio de testes bioquímicos, utilizando-se o sistema comercial ID-32C (BioMérieux, Paris, França). Para tanto, na identificação de cada cultura, uma solução padrão de inóculo foi preparada a partir de um cultivo de 24-48 horas da levedura a ser testada, consistindo de uma suspensão do micro-organismo em água destilada esterilizada, com turbidez ajustada ao padrão n°2 da escala McFarland (Figura 7). Foram aspirados 250µL desta suspensão, inoculando-os na ampola com o meio C (fornecida pelo fabricante), sendo esta delicadamente homogeneizada. Finalmente, alíquotas de 135µL do conteúdo da ampola foram distribuídas em cada cúpula da galeria do sistema ID-32C. Uma vez preparada, as galerias foram posicionadas na câmara úmida e incubadas em estufa durante 72 horas, a 30°C. A avaliação das provas bioquímicas foi realizada diariamente, com leitura final após incubação de 72 horas, sendo a positividade do teste indicada pela presença de turvação superior àquela exibida pelo controle negativo nas cúpulas da galeria contendo diferentes substratos⁴⁵(Figura 8).

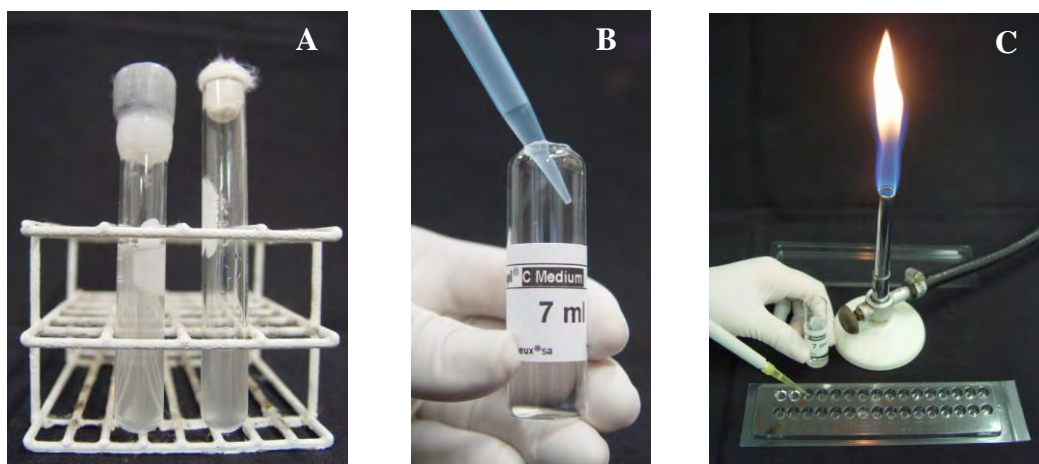


FIGURA 7 - A - Suspensão com turvação equivalente a escala 2,0 de McFarland. B - 250µL da suspensão adicionada à ampola com o meio C (fornecida pelo fabricante). C - Alíquotas de 135µL do conteúdo da ampola distribuídas em cada cúpula da galeria do sistema ID-32C

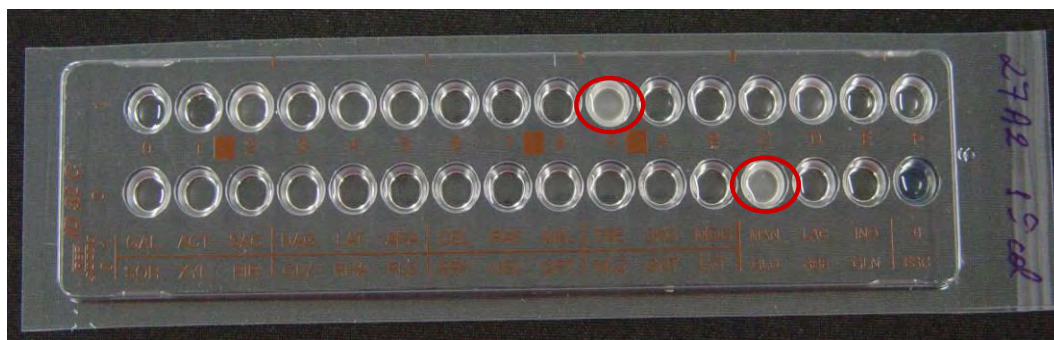
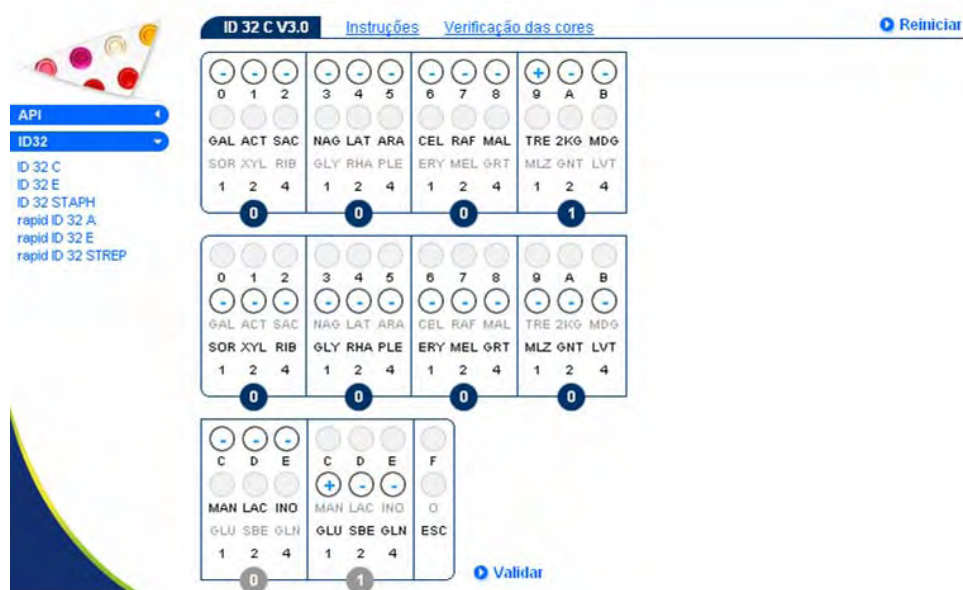


FIGURA 8 - Positividade do teste avaliada por meio da presença de turvação nas cúpulas da galeria contendo diferentes substratos

A identificação final das amostras foi obtida por meio da definição de código numérico gerado pela presença ou ausência de crescimento em cada substrato, sendo a interpretação final realizada com a ajuda de Software Analítico fornecido pelo fabricante (BioMérieux) (Figura 9).



MUITO BOA IDENTIFICAÇÃO	
Galeria	ID 32 C V3.0
Perfil	0001000001
Nota(s)	

Taxons significativos	% ID	T	Teste(s) por aproximação		
Candida glabrata	99.1	1.0			

Taxon seguinte	% ID	T	Teste(s) por aproximação		
Kloeckera japonica	0.3	0.59	ACT 100%	CEL 75%	

FIGURA 9 - Identificação final da amostra realizada com o auxílio de Software Analítico fornecido pelo fabricante (BioMérieux)

4.4.4.2 Avaliação fotográfica

A avaliação da evolução dos sinais clínicos de todos os pacientes foi realizada por meio de um estudo duplo-cego, envolvendo análise de fotografias intrabucais do tipo oclusal superior, obtidas antes e ao final do tratamento (15 dias) de cada paciente. Para avaliar a efetividade de cada tratamento em longo prazo, fotografias obtidas após 30, 60 e 90 dias do início dos

tratamentos propostos também foram avaliadas. As fotografias foram realizadas de maneira padronizada, sempre pelo mesmo operador, utilizando a máquina fotográfica digital com flash circular externo na abertura F8 no tempo de exposição de luz 1/1000 segundos e um espelho intrabucal do tipo oclusal.

As fotografias foram analisadas por dois especialistas em Estomatologia, instruídos a observar as cinco imagens obtidas de cada um dos pacientes e, em seguida, realizar uma avaliação clínica da patologia. Foram utilizados critérios estritamente qualitativos na avaliação das imagens, codificando do grau de inflamação da mucosa palatina em 0, I, II ou III, de acordo com a classificação de Newton⁷⁵. Durante a avaliação, os examinadores não tinham conhecimento do grupo de tratamento em que o paciente estava inserido, nem do período de avaliação em que o paciente se encontrava quando da tomada fotográfica (0, 15, 30, 60 ou 90 dias).

4.5 Metodologia estatística

Nesse estudo o número de pacientes selecionados foi baseado em pesquisa prévia⁷³ e foram verificadas duas condições experimentais para o tratamento da estomatite protética: desinfecção de próteses totais por micro-ondas (grupos experimentais, II e III) e terapia antifúngica tópica (grupo controle, I). Os tratamentos propostos foram avaliados por dois métodos: cultura micológica quantitativa e avaliação clínica por fotografias intrabucais. Esses procedimentos foram realizados, para todos os pacientes, previamente ao início dos tratamentos, ao término dos tratamentos (décimo quinto dia) e após 30, 60 e 90 dias do início dos tratamentos.

Para determinar a efetividade dos tratamentos propostos pela cultura micológica de *Candida* spp., foi necessário calcular o número de micro-organismos viáveis, em valores de ufc/mL, de coletas obtidas da mucosa palatina e da superfície interna da prótese total superior dos pacientes que participaram do estudo. Para isso, as colônias viáveis de *Candida* spp., presentes nas placas de Petri, foram contadas com o contador de colônias digital. Após a obtenção desse

Material e método

valor em cada placa, o número de ufc/mL foi calculado. Para esse cálculo, utilizou-se a fórmula a seguir:

$$\text{ufc/mL} = \frac{\text{número de colônias} \times 10^n}{q}$$

Nessa fórmula, n equivale ao valor absoluto da diluição e q equivale à quantidade, em mL, pipetada sobre o meio de cultura cromogênico das placas de Petri durante as sementeiras. No presente estudo, os *swabs* bucais foram agitados em solução salina, e uma alíquota da solução resultante foi pipetada nas placas de Petri. Como não foi realizada a diluição da solução resultante, o valor de n foi nulo para todas as condições. Considerando que foram pipetados 50 µL da solução resultante por placa, o valor de q foi padronizado em 0,05.

Os valores originais das culturas micológicas quantitativas (valores de ufc/mL) de *Candida* spp., referentes à mucosa palatina e à superfície interna da prótese total superior dos pacientes dos Grupos I, II e III, para os diferentes períodos avaliados, apresentaram uma distribuição assimétrica e variabilidade muito acentuada. A transformação para logaritmo na base de 10 diminuiu a assimetria, mas não conseguiu a homogeneização da variabilidade. Como não houve homogeneização da variabilidade, optou-se pela análise não-paramétrica dos dados. O método estatístico empregado foi o de Wilcoxon, que avaliou a efetividade de cada tratamento (Grupos I, II e III) no seu término (15 dias) e 30, 60 e 90 dias após sua suspensão, ao nível de significância de 5% ($p < 0,05$). Em seguida, a comparação entre os grupos de tratamento (Grupos I, II e III) foi realizada ao final do tratamento (15 dias) e 30, 60 e 90 dias após sua suspensão, por meio do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis ao nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

A efetividade de cada tratamento proposto também foi avaliada clinicamente por meio de fotografias intrabucais das mucosas palatinas dos pacientes dos Grupos I, II e III. A avaliação dessas fotografias foi realizada por especialistas em Diagnóstico Bucal. Em seguida, o teste Kappa foi aplicado para

avaliar a concordância entre os examinadores. O índice de concordância empregado para o teste Kappa está descrito na Tabela 1

Tabela 1 – Índice Kappa

Intervalo	Concordância
0,00 – 0,40	Pobre
0,41 – 0,80	Razoável
0,81 – 1,00	Excelente

Como a avaliação clínica foi realizada utilizando critérios estritamente qualitativos, de acordo com o grau de inflamação da mucosa palatina, segundo a classificação de Newton⁷⁵, esse método não foi incluído na análise estatística. Os resultados das identificações bioquímicas das espécies de *Candida* spp. também não foram submetidos a estatística, pois por ser um dado qualitativo foi realizado apenas uma análise descritiva das espécies isoladas no presente estudo.

RESULTADO

5 Resultado

5.1 Efetividade dos tratamentos nos grupos de estudo

5.1.1 Resultados das culturas micológicas quantitativas de *Candida spp.*

Os resultados originais das culturas micológicas quantitativas (\log_{10} ufc/mL) de *Candida spp.* referentes à mucosa palatina e à superfície interna da prótese total superior dos pacientes dos Grupos I, II e III, para os diferentes períodos avaliados, estão apresentados, respectivamente, nas Tabelas A1 e A2, A3 e A4, A5 e A6 do Apêndice 2. Nessas tabelas é possível verificar ainda, que antes do início dos tratamentos (dia 0) a viabilidade de colônias de *Candida spp.* nas próteses totais superior foi observada em todos os pacientes avaliados (Tabelas A1, A3 e A6 do Apêndice 2). Contudo, não houve crescimento fúngico visível nas placas de Petri referentes às mucosas palatinas de 23 pacientes (Tabelas A1, A3 e A6 do Apêndice 2). Dessa forma, esses pacientes foram excluídos da análise estatística das culturas micológicas quantitativas (valores de ufc/mL) de *Candida spp.* referentes à mucosa palatina. Nos demais pacientes (n=37), as culturas quantitativas da mucosa palatina comprovaram, em quase todas as condições avaliadas (exceto em um indivíduo do Grupo III), menores valores de ufc/mL que as culturas da superfície interna das próteses (Tabelas A1, A3 e A6 do Apêndice 2). É importante ressaltar que previamente ao início do tratamento (dia 0) comparações entre os Grupos I, II e III em relação aos valores de ufc/mL referentes à mucosa palatina e à superfície interna da prótese total superior foram realizadas por meio do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis ao nível de significância de 5% ($p < 0,05$). Nenhuma diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) foi verificada, caracterizando assim, homogeneidade dos valores de ufc/mL entre os três grupos avaliados.

Com base nos resultados do teste de Wilcoxon apresentados na Tabela 2 e nos valores das médias em ufc/mL, após a transformação logarítmica, descritos na Tabela 3 e 4, foi possível observar, uma redução significativa nos valores de ufc/mL tanto da mucosa palatina ($p=0,001$) quanto da superfície interna da prótese total superior ($p=0,001$), ao final do tratamento (15 dias) de todos os pacientes avaliados do Grupo I. Após 30, 60 e 90 do início do tratamento com antifúngico tópico, houve um aumento gradativo nos valores de ufc/mL em ambos os sítios de coleta, porém sem diferença estatisticamente significativa entre os períodos de avaliação (Tabela 2).

Tabela 2 – Valores de p referentes à mucosa palatina e a superfície interna das próteses totais superior do Grupo I nos diferentes períodos de avaliação

Período de avaliação	GI	
	p -valor	
	Palato (n=14)	Prótese (n=20)
0-15 dias	0,001*	0,000*
15-30 dias	0,989 ^{ns}	0,993 ^{ns}
30-60 dias	0,748 ^{ns}	0,923 ^{ns}
60-90 dias	0,212 ^{ns}	0,352 ^{ns}
15-60 dias	0,979 ^{ns}	0,999 ^{ns}
15-90 dias	0,995 ^{ns}	0,996 ^{ns}

* Significativo em nível de 5%

^{ns} Não significativo

Tabela 3 – Logaritmos decimais de contagens de *Candida* spp. na mucosa palatina do Grupo I, em ufc/mL

GI	
Período de avaliação	Log ₁₀ ufc/mL
Inicial	2,792
15 dias	0,263
30 dias	1,187
60 dias	1,339
90 dias	1,162

Tabela 4 – Logaritmos decimais de contagens de *Candida* spp. na superfície interna das próteses totais superiores do Grupo I, em ufc/mL

GI	
Período de avaliação	Log ₁₀ ufc/mL
Inicial	4,245
15 dias	1,577
30 dias	2,873
60 dias	3,460
90 dias	3,311

Para o Grupo II, os resultados do teste de Wilcoxon (Tabela 5) indicaram que, no ao final dos tratamentos (15 dias), ocorreu redução nos valores de ufc/mL (Tabelas 6 e 7) referentes à mucosa palatina dos pacientes e a superfície interna das suas próteses totais superiores, não tendo sido observado nenhuma diferença estatisticamente significativa entre os períodos de avaliação durante o controle posterior.

Tabela 5 – Valores de *p* referentes à mucosa palatina e a superfície interna das próteses totais superior do Grupo II nos diferentes períodos de avaliação

GII		
Período de avaliação	<i>p</i> -valor	
	Palato (n=9)	Prótese (n=20)
0-15 dias	0,006*	0,000*
15-30 dias	0,947 ^{ns}	0,995 ^{ns}
30-60 dias	0,853 ^{ns}	0,842 ^{ns}
60-90 dias	0,221 ^{ns}	0,483 ^{ns}
15-60 dias	0,962 ^{ns}	0,998 ^{ns}
15-90 dias	0,946 ^{ns}	0,998 ^{ns}

* Significativo em nível de 5%

^{ns} Não significativoTabela 6 – Logaritmos decimais de contagens de *Candida* spp. na mucosa palatina do Grupo II, em ufc/mL

GII	
Período de avaliação	Log ₁₀ ufc/mL
Inicial	2,124
15 dias	0,621
30 dias	1,187
60 dias	1,843
90 dias	1,646

Tabela 7 – Logaritmos decimais de contagens de *Candida* spp. na superfície interna das próteses totais superiores do Grupo II, em ufc/mL

GII	
Período de avaliação	Log ₁₀ ufc/mL
Inicial	4,344
15 dias	1,458
30 dias	2,631
60 dias	3,156
90 dias	3,243

Para o Grupo III, foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre os valores de ufc/mL do início e final do tratamento (15 dias), tanto na análise da mucosa palatina como para as coletas referentes à superfície interna das próteses totais superiores. Apesar do aumento gradativo dos valores de ufc/mL ao longo dos períodos de avaliação pós-tratamento, nenhuma diferença estatisticamente significativa poder ser detectada pelo teste de Wilcoxon (Tabelas 8, 9 e 10)

Tabela 8 – Valores de *p* referentes à mucosa palatina e a superfície interna das próteses totais superior do Grupo III nos diferentes períodos de avaliação

Período de avaliação	GIII	
	<i>p</i> -valor	
	Palato (n=9)	Prótese (n=20)
0-15 dias	0,001*	0,000*
15-30 dias	0,985 ^{ns}	0,998 ^{ns}
30-60 dias	0,723 ^{ns}	0,975 ^{ns}
60-90 dias	0,954 ^{ns}	0,833 ^{ns}
15-60 dias	0,983 ^{ns}	1,000 ^{ns}
15-90 dias	0,997 ^{ns}	1,000 ^{ns}

* Significativo em nível de 5%

^{ns} Não significativo

Tabela 9 – Logaritmos decimais de contagens de *Candida* spp. na mucosa palatina do Grupo III, em ufc/mL

GIII	
Período de avaliação	Log ₁₀ ufc/mL
Inicial	2,425
15 dias	0,767
30 dias	1,427
60 dias	1,565
90 dias	2,224

Tabela 10 – Logaritmos decimais de contagens de *Candida* spp. na superfície interna das próteses totais superiores do Grupo III, em ufc/mL

GIII	
Período de avaliação	Log ₁₀ ufc/mL
Inicial	4,583
15 dias	1,457
30 dias	2,929
60 dias	3,880
90 dias	4,240

Para os três grupos avaliados (GI, GII, GIII), os valores originais das culturas micológicas (log₁₀ ufc/mL) de *Candida* spp., referentes à mucosa palatina e a superfície interna das próteses totais superiores, antes e após os tratamentos, estão graficamente representados nas Figuras 10 e 11.

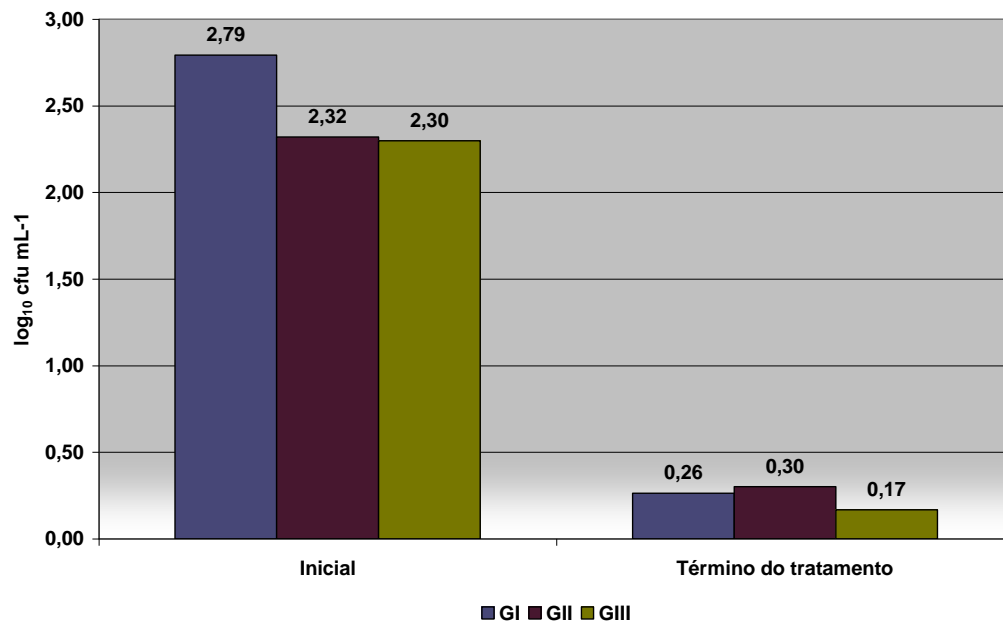


FIGURA 10 - Médias de logaritmos de ufc/mL relativos às culturas micológicas de *Candida* spp. da **mucosa palatina** dos pacientes dos Grupos I, II e III previamente ao início dos tratamentos (dia 0) e após o seu término (15 dias)

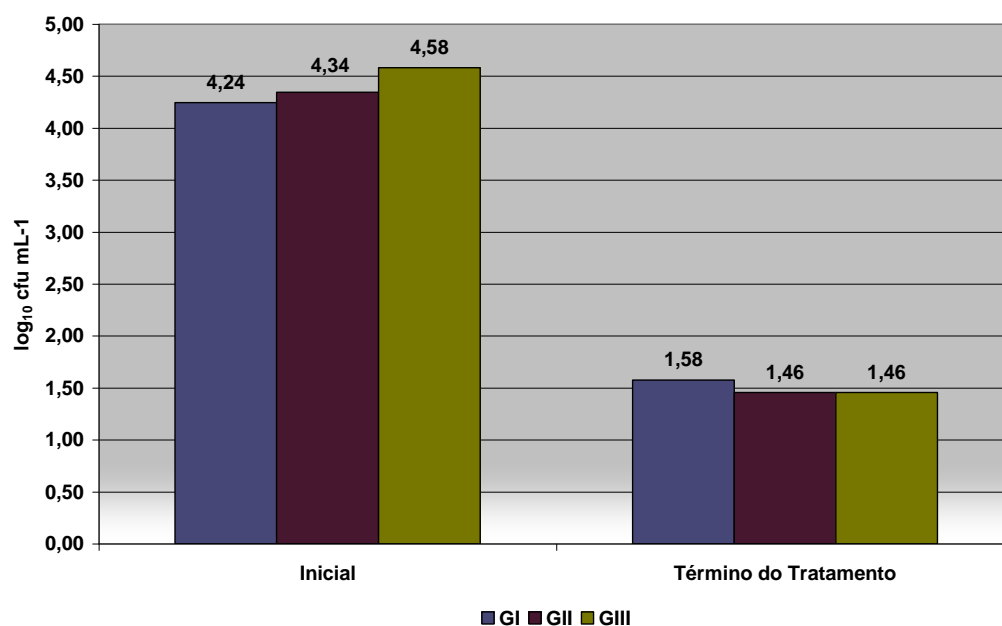


FIGURA 11 - Médias de logaritmos de ufc/mL relativos às culturas micológicas de *Candida* spp. das **próteses** dos pacientes dos Grupos I, II e III, previamente ao início dos tratamentos (dia 0) e após o seu término (15 dias)

A comparação entre os Grupos I, II e III ao final do tratamento (15 dias) e 30, 60 e 90 dias após sua suspensão, foi realizada, separadamente, por meio do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis ao nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

Os resultados obtidos pelo teste de Kruskal-Wallis para as culturas micológicas quantitativas (valores de log₁₀ ufc/mL) de *Candida* spp. referentes à mucosa palatina não indicaram diferença estatisticamente significativa entre os Grupos I, II e III ($p > 0,05$), independentemente do período de avaliação (15, 30, 60 e 90 dias). Esses resultados estão descritos na Tabela 11.

Tabela 11 – Valores de p referentes à comparação entre os Grupos I, II e III nos diferentes períodos de avaliação para as coletas obtidas da mucosa palatina

Período de avaliação	Palato
15 dias	0,762 ^{ns}
30 dias	0,853 ^{ns}
60 dias	0,690 ^{ns}
90 dias	0,147 ^{ns}

^{ns} Não significativo

Para as culturas micológicas quantitativas de *Candida* spp. referentes à superfície interna das próteses totais superiores, os resultados obtidos pelo teste de Kruskal-Wallis indicaram uma diferença estatisticamente significativa ($p = 0,016$) entre o Grupo III e os demais grupos (GI e GII) aos 90 dias. Nos outros períodos de avaliação (15, 30 e 60 dias), nenhuma diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) foi observada. Esses resultados estão descritos na Tabela 12.

Tabela 12 – Valores de p referentes à comparação entre os Grupos I, II e III nos diferentes períodos de avaliação para as coletas obtidas da superfície interna das próteses totais superiores

Período de avaliação	Prótese
15 dias	0,956 ^{ns}
30 dias	0,862 ^{ns}
60 dias	0,294 ^{ns}
90 dias	0,016*

* Significativo em nível de 5%

^{ns} Não significativo

5.1.2 Avaliação das fotografias intrabucais

Os resultados das análises qualitativas das fotografias intrabucais podem ser observadas no Apêndice 2, nas Tabelas A7, A8 e A9 para os pacientes dos Grupos I; II e III, respectivamente. Os valores utilizados na avaliação clínica referem-se ao grau de inflamação da mucosa palatina, de acordo com a classificação de Newton⁷³. O teste Kappa confirmou a concordância entre os dois observadores para os Grupos I, II e III. Esses resultados estão descritos na Tabela 13.

Tabela 13 – Índice Kappa de concordância entre os avaliadores das fotografias dos Grupos I, II e III, nos diferentes períodos de avaliação

Período de avaliação	Grupos		
	GI	GII	GIII
15 dias	1	1	1
30 dias	1	1	1
60 dias	0,90031	0,91304	0,84298
90 dias	0,88841	1	0,92258

A excelente concordância entre os examinadores possibilitou que apenas as avaliações fotográficas de um deles fossem utilizadas para análise descritiva de melhora (M), piora (P) ou ainda, sinais clínicos inalterados (I) da estomatite protética, em todos os grupos do estudo (GI, GII e GIII) e períodos. Para cada paciente, o grau de estomatite protética diagnosticado no término do tratamento foi comparado àquele registrado para o período inicial (dia 0), enquanto as avaliações clínicas após trinta, sessenta e noventa dias foram comparadas àquelas realizadas no término do tratamento. Para os Grupos I, II e III, as porcentagens de melhora (M), piora (P) ou sinais clínicos inalterados (I) da estomatite protética referentes ao término dos tratamentos e ao período de acompanhamento estão descritas nas Tabelas 14 e 15, respectivamente.

Tabela 14 – Porcentagens de melhora (M), piora (P) ou sinais clínicos inalterados (I) da estomatite protética, após o término dos tratamentos

Avaliação clínica	Grupos					
	GI		GII		GIII	
	n	%	n	%	n	%
M	9	52,94	13	65	13	65
I	7	41,18	7	35	7	35
P	1	5,88	0	-	0	-

Tabela 15 – Porcentagens de melhora (M), piora (P) ou sinais clínicos inalterados (I) da estomatite protética, referentes aos períodos de acompanhamento

Período	Avaliação clínica	Grupos					
		GI		GII		GIII	
		n	%	n	%	n	%
30 dias	M	4	25	3	15	6	30
	I	9	56,25	13	65	8	40
	P	3	18,75	4	20	6	30
60 dias	M	2	12,50	7	36,84	3	15,79
	I	10	62,50	8	42,11	9	47,37
	P	4	25	4	21,05	7	36,84
90 dias	M	6	46,15	5	29,41	7	38,89
	I	2	15,38	7	41,18	4	22,22
	P	5	38,46	5	29,41	7	38,89

As fotografias intrabucais da mucosa palatina dos pacientes do Grupo I, após o tratamento, evidenciaram alteração clínica visível dos sinais de estomatite protética, pois redução da inflamação na mucosa palatina dos pacientes foi constatada em 52,94% dos casos (Tabela 14). No decorrer do período de acompanhamento (30 e 60 dias), o eritema apresenta-se menos evidente, mas visualmente perceptíveis. No último período de avaliação (90 dias) os sinais clínicos de inflamação se acentuaram em torno de 40% da amostra (Tabela 15), tendo sido observadas áreas mais eritematosas. A Figura 12 ilustra fotografias intrabucais de um paciente do Grupo I obtidas nos períodos antes (dia 0), ao final do tratamento (15 dias) e 30, 60 e 90 dias após sua suspensão.

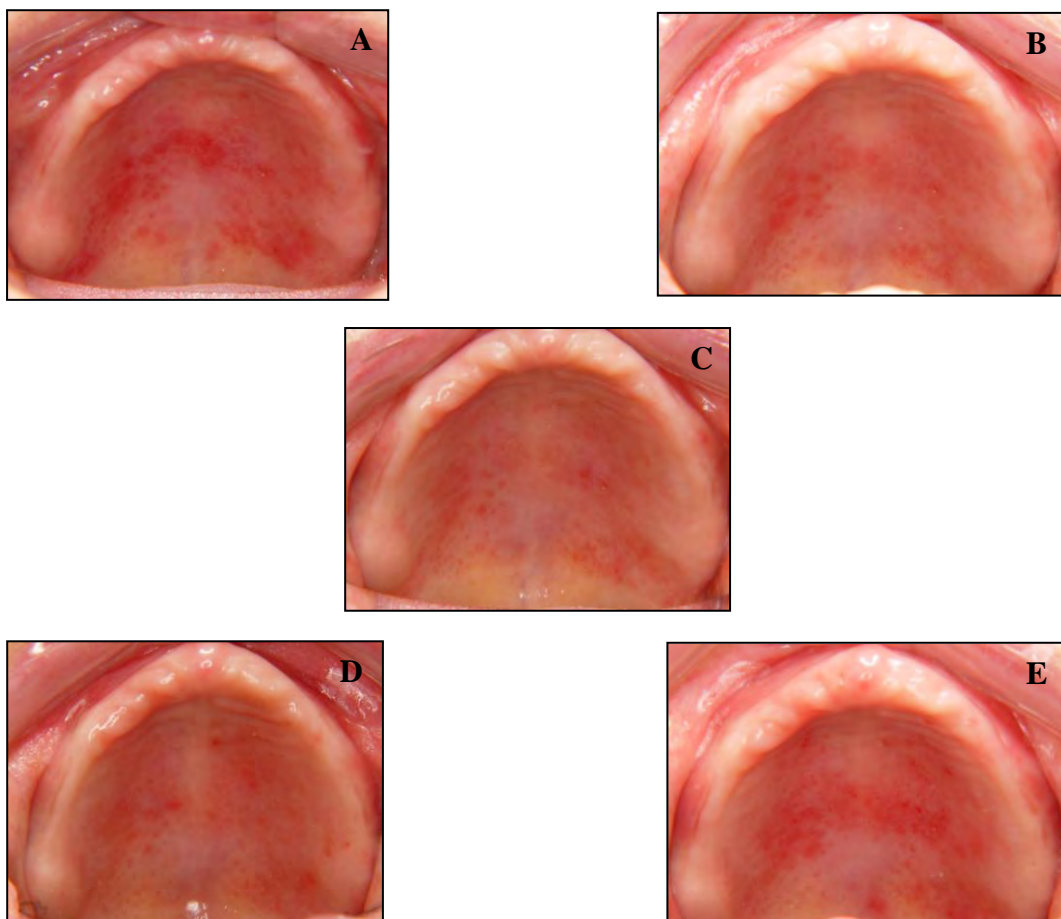


FIGURA 12 - Mucosa palatina de um paciente do Grupo I, antes do início do tratamento (A), no término do tratamento (B), após 30, 60 e 90 dias do início do tratamento (C, D e E, respectivamente)

Em comparação à avaliação inicial, as fotografias intrabucais dos Grupos II e III obtidas ao final do tratamento (15 dias) evidenciaram uma melhora de 65% dos sinais clínicos de inflamação na mucosa palatina dos pacientes (Tabela 14), de modo que, ao final do tratamento, as áreas eritematosas na mucosa palatina dos pacientes apresentaram-se mais claras. No segundo (30 dias) e terceiro (60 dias) período de análise, os sinais clínicos de melhora foram mantidos, enquanto aos noventa dias o quadro clínico piorou 29,41% da amostra para o Grupo II e 38,89% para o Grupo III (Tabela 15). As Figuras 13 e 14 ilustram fotografias intrabucais de um paciente do grupo Grupo II e Grupo III, respectivamente, obtidas nos períodos antes (0 dia), ao final do tratamento (15 dias) e após 30, 60 e 90 dias do início dos tratamentos.

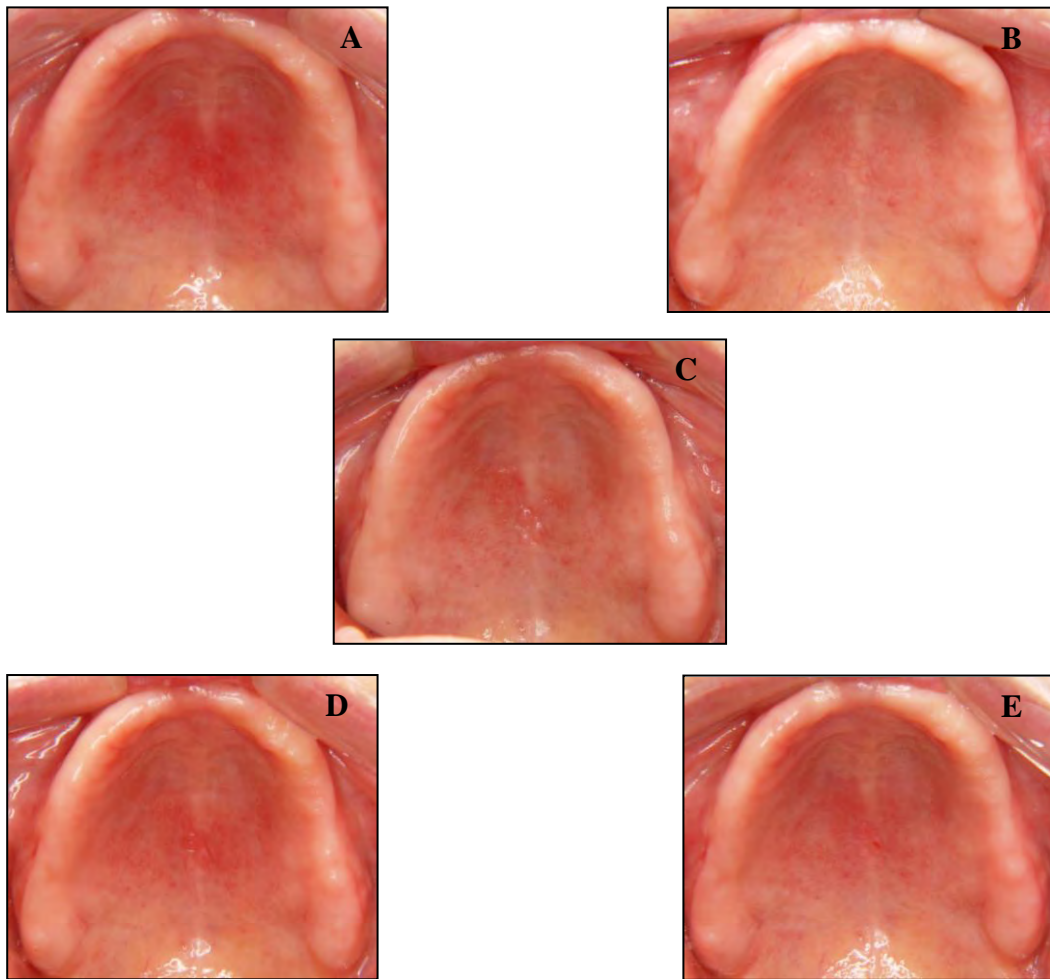


FIGURA 13 - Mucosa palatina de um paciente do Grupo II antes do início do tratamento (A), no término do tratamento (B), após 30, 60 e 90 dias do início do tratamento (C, D e E, respectivamente)

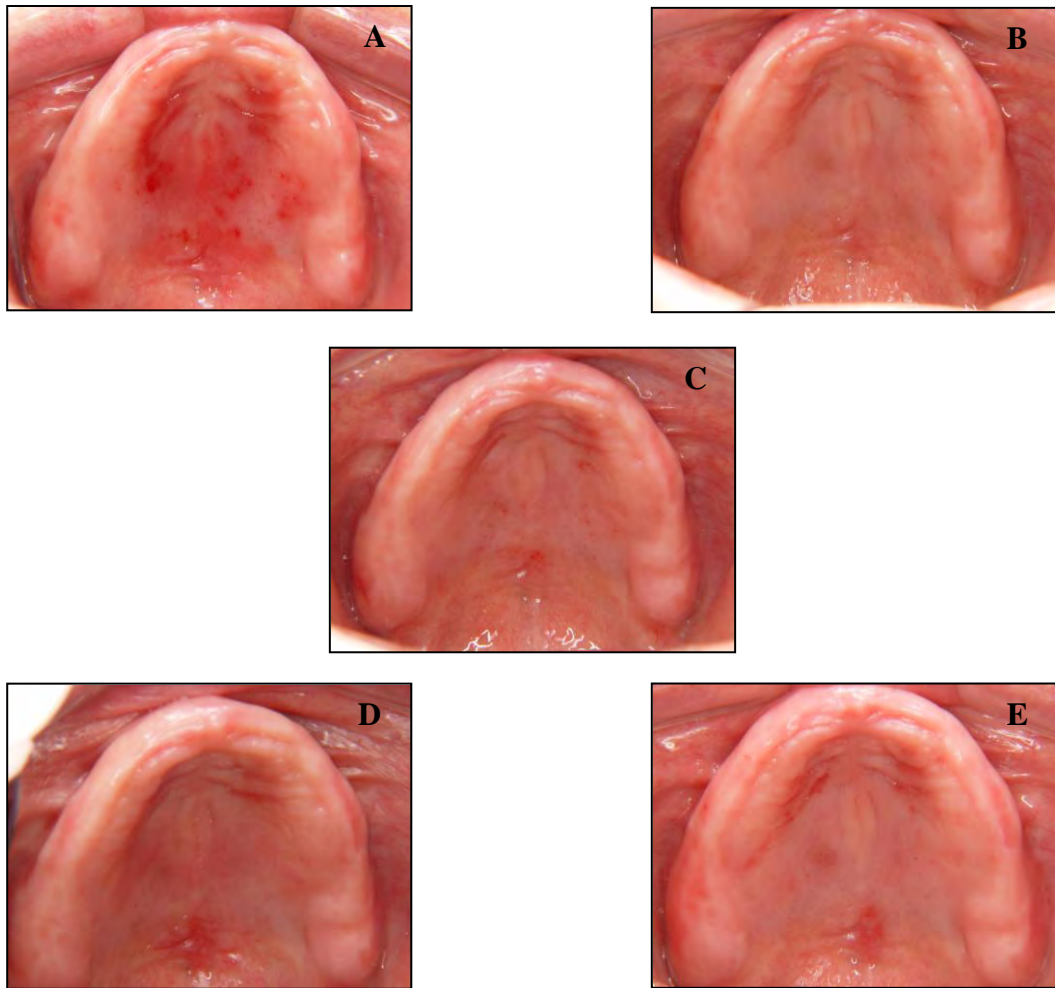


FIGURA 14 - Mucosa palatina de um paciente do Grupo III antes do início do tratamento (A), no término do tratamento (B), após 30, 60 e 90 dias do início do tratamento (C, D e E, respectivamente)

5.1.3 Identificações bioquímicas de *Candida* spp.

Os resultados das identificações bioquímicas das espécies de *Candida* spp. referentes à mucosa palatina e à superfície interna das próteses totais superiores dos pacientes, em todos os períodos avaliados, podem ser observados no Apêndice A, nas Tabelas A10 e A11 para os pacientes do Grupo I; nas Tabelas A12 e A13 para os pacientes do Grupo II e nas tabelas A14 e A15 para os pacientes do Grupo III.

Nas Tabelas A10, A12 e A14 do Apêndice A, é possível observar que previamente ao início dos tratamentos (dia 0) as espécies predominantes em ambos os sítios de coleta foram a *C. albicans*, a *C. tropicalis* e a *C. glabrata*, identificadas respectivamente, em 98,33% (n=59), 25% (n=15) e em 21,66% (n=13) dos indivíduos avaliados. Outras espécies de *Candida* spp. (*C. parapsilosis*, *C. colliculosa*, *C. lusitane*, *C.sphaerica*) também foram isoladas, porém em uma menor frequência (1,6-3,3% dos indivíduos avaliados). Nessas mesmas tabelas, também é possível observar que a presença de populações mista de *Candida* spp. nas coletas obtidas da mucosa palatina antes do início dos tratamentos em 23,33% dos indivíduos que participaram do presente estudo (n=14). Já para as coletas obtidas da superfície interna das próteses totais superiores a presença de populações mista de *Candida* spp. foi observada em 37,39% dos indivíduos (n=22). As porcentagens dos isolados de *Candida* spp. identificados nas coletas obtidas da mucosa palatina e da superfície interna das próteses totais superiores previamente ao início dos tratamentos (dia 0) estão representadas graficamente na Figura 15.

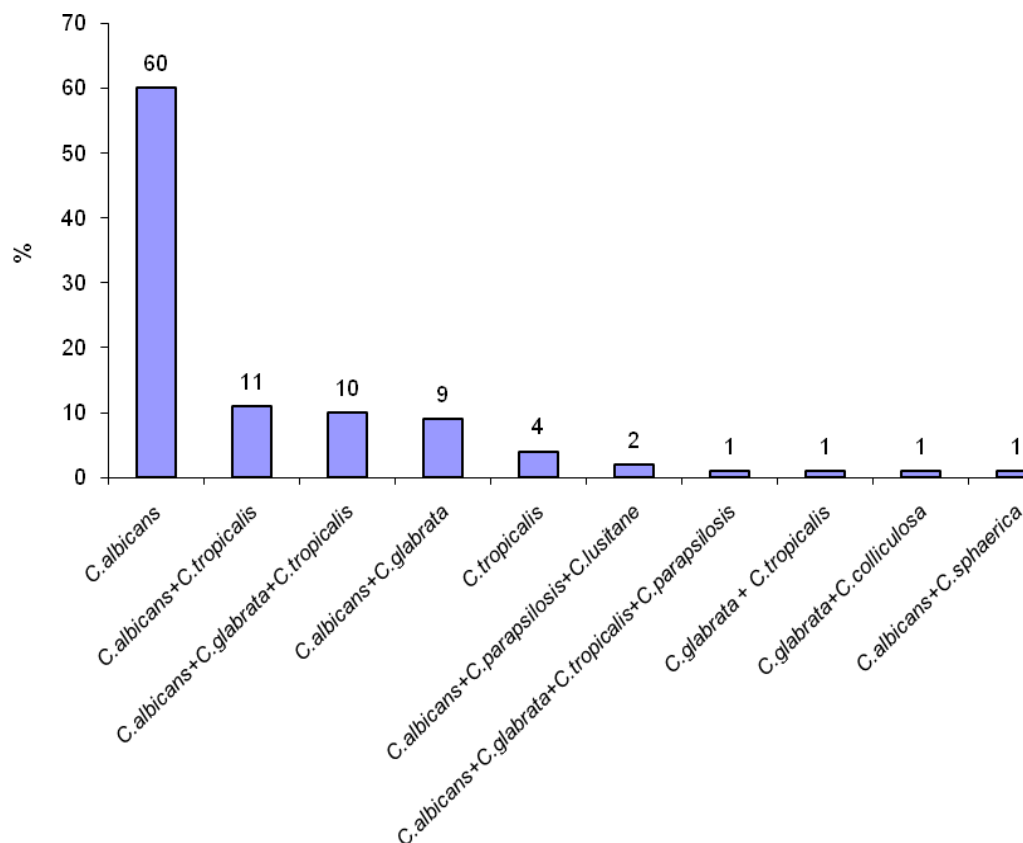


FIGURA 15 - Porcentagens dos isolados de *Candida* spp. identificados nas coletas obtidas da mucosa palatina e da superfície interna das próteses totais superiores, previamente ao início dos tratamentos (dia 0)

Nas Tabelas A10, A12 e A14 do Apêndice A é possível verificar também que para as coletas obtidas ao final dos tratamentos (15 dias), a *C. albicans* foi a espécie identificada com maior frequência (48,33%, n=29), enquanto a *C. tropicalis* e *C. glabrata* foram identificadas respectivamente, em 6,66% (n=4) e 13,33% (n=8) dos indivíduos que participaram do presente estudo. Outras espécies de *Candida* spp. (*C. guilliermondi*, *C. rugosa*, *C. sphaerica*) foram detectadas em uma menor frequência (1,66% dos indivíduos avaliados). Além disso, a presença de populações mistas de *Candida* spp. em coletas da

mucosa palatina foi verificada em 5,08% (n=3) dos indivíduos que participaram do presente estudo. Enquanto para as coletas obtidas da superfície interna das próteses totais superiores a presença de populações mista de *Candida* spp. foi observada em 13,55% dos indivíduos (n=8). A associação entre as espécies *C. albicans* com *C. glabrata* ocorreu com maior frequência, representando 11,76% dos isolados.

No décimo quinto dia de avaliação, quando o fator espécie de *Candida* foi comparado ao tratamento aplicado nos Grupos I, II e III, foram observadas alterações na frequência de identificação para algumas espécies em relação aquela verificada previamente ao início dos tratamentos (dia 0). No Grupo I ocorreu um aumento na frequência de *C. albicans* (Figura 16), enquanto que para os Grupos II e III foi verificado aumento na frequência de *C. glabrata* (Figura 17). Nos três grupos do estudo (GI, GII e GIII) foi observada, ao término dos tratamentos, uma diminuição na frequência de *C. tropicalis* (Figura 18).

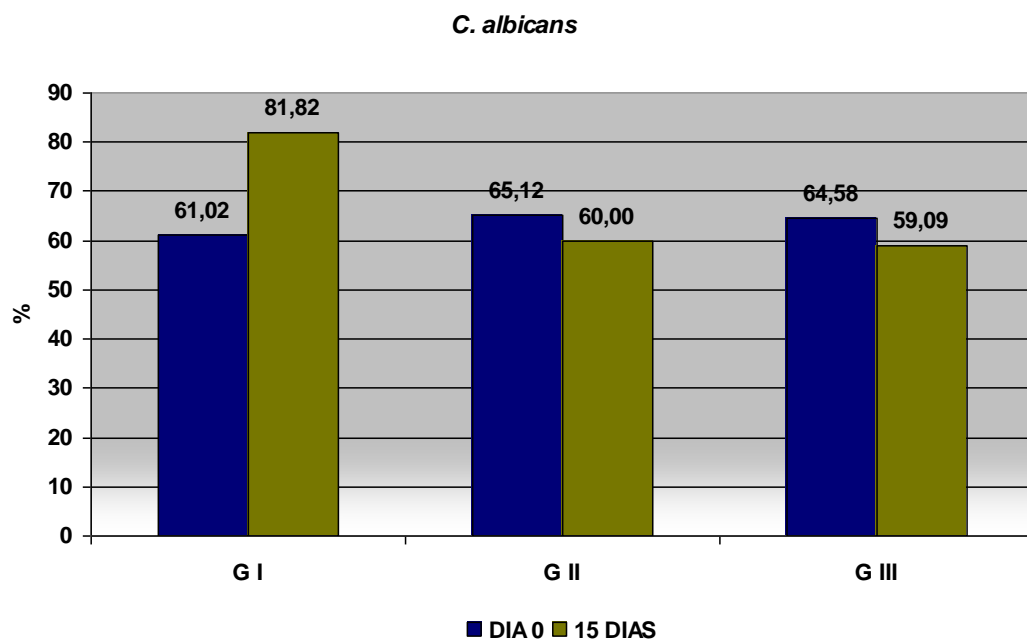


FIGURA 16 - Porcentagens dos isolados de *C. albicans* identificados nos Grupos I, II e III, previamente ao início dos tratamentos (dia 0) e no término dos tratamentos (15 dias)

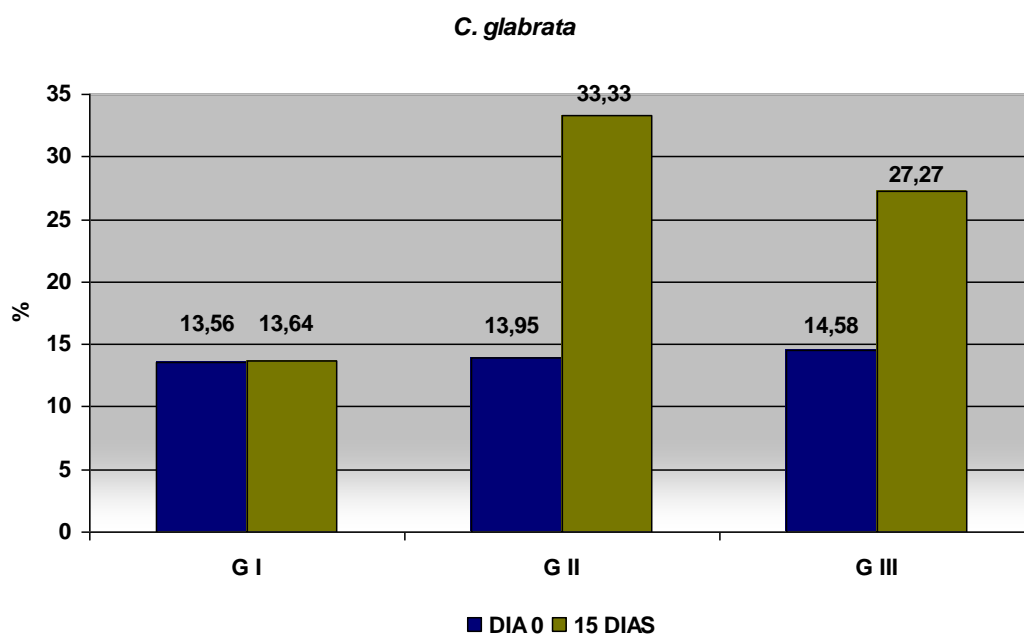


FIGURA 17 - Porcentagens dos isolados de *C. glabrata* identificados nos Grupos I, II e III, previamente ao início dos tratamentos (dia 0) e no término dos tratamentos (15 dias)

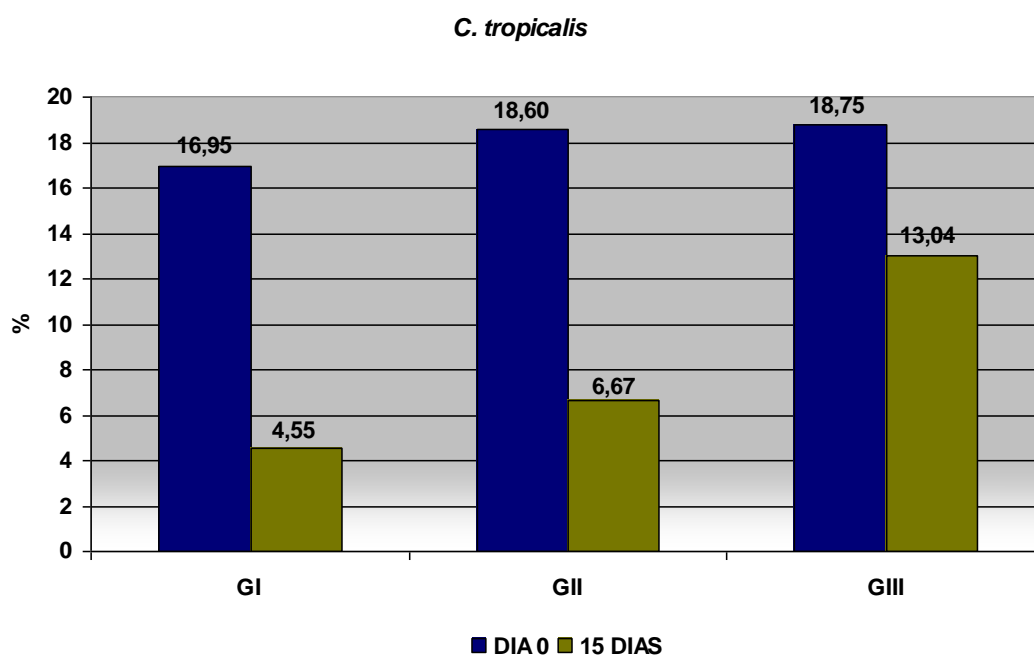
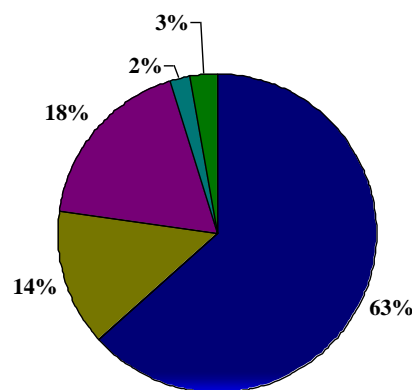


FIGURA 18 - Porcentagens dos isolados de *C. tropicalis* identificados nos Grupos I, II e III, previamente ao início dos tratamentos (dia 0) e no término dos tratamentos (15 dias)

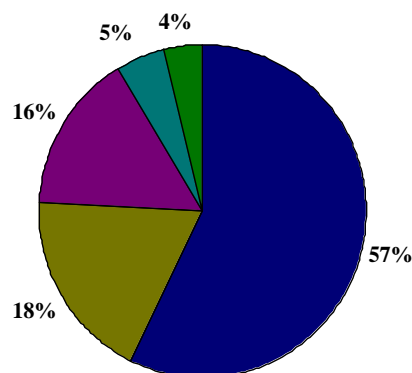
Após 30, 60 e 90 dias do início dos tratamentos foi verificada uma recolonização progressiva das espécies de *Candida* nas superfícies da mucosa palatina e próteses totais. Esses dados podem ser observados nas Tabelas A11, A13 e A15 do Apêndice A. Dessa forma, ao final do período de acompanhamento (90 dias), os resultados das identificações bioquímicas das espécies de *Candida* spp. foram semelhantes ao encontrado previamente ao início dos tratamentos (dia 0). As porcentagens dos isolados de *Candida* spp. identificados nas coletas obtidas da mucosa palatina e da superfície interna das próteses totais superiores previamente ao início dos tratamentos (dia 0) e 90 dias após o seu início estão representadas graficamente nas Figuras 19 e 20. Em ambas as figuras, é possível observar que as espécies predominantes em ambos os sítios de coleta foram a *C. albicans*, a *C. tropicalis* e a *C. glabrata*, enquanto a *C. parapsilosis* e *C. lusitane* foram isoladas em uma menor frequência. Outras espécies como *C. colliculosa* e *C. sphaerica* foram detectadas antes dos tratamentos, enquanto que *C. famata*, *C. guilliermondi* foram isoladas 90 dias após o início dos tratamentos.

Prevalência *Candida* spp. - Inicial



■ *C. albicans* ■ *C. glabrata* ■ *C. tropicalis* ■ *C. parapsilosis* ■ Outras: *C. lusitane*, *C. colliculosa*, *C. sphaerica*

FIGURA 19 - As porcentagens dos isolados de *Candida* spp. identificados nas coletas obtidas da mucosa palatina e da superfície interna das próteses totais superiores, previamente ao início dos tratamentos (dia 0)

Prevalência *Candida* spp. - 90 dias

■ *C. albicans* ■ *C. glabrata* ■ *C. tropicalis* ■ *C. parapsilosis* ■ Outras: *C. lusitane*, *C. famata*, *C. guilliermondi*

FIGURA 20 - As porcentagens dos isolados de *Candida* spp. identificados nas coletas obtidas da mucosa palatina e da superfície interna das próteses totais superiores, 90 dias após o início dos tratamentos

5.2 Avaliação dos fatores predisponentes

Nas Tabelas A16, A17 e A18 do Apêndice A, estão apresentados os dados obtidos por meio da anamnese e exame clínico dos pacientes dos Grupos I, II e III, respectivamente. Esses dados são referentes aos fatores predisponentes avaliados neste estudo: gênero do paciente, uso de medicamentos indutores de xerostomia, uso de tabaco, grau de inflamação antes do início do tratamento (tipo de estomatite protética segundo a classificação de Newton⁷³), idade do paciente e tempo de uso da prótese total superior.

Para facilitar a visualização desses resultados, foi construída a Tabela 16 onde estão apresentadas as medidas descritivas dos fatores predisponentes correspondentes às variáveis numéricas (idade do paciente e tempo de uso da prótese total superior), assim como o número de pacientes por grupo para o fator correspondente à variável ordinal (grau de inflamação) e para os fatores correspondentes às variáveis nominais (gênero do paciente, uso de medicamentos indutores de xerostomia e uso de tabaco).

Tabela 16 – Medidas descritivas (mínimo, máximo, média e desvio padrão) e número de pacientes dos grupos de estudo em relação aos fatores predisponentes avaliados

Variáveis	Medidas descritivas	GI	GII	GIII
Idade do paciente (anos)	Mínimo	41	45	37
	Máximo	75	72	74
	Média	61.63	59.22	56.74
	Desvio padrão	9.24	8.41	9.45
Tempo de uso da prótese (anos)	Mínimo	2	1	1
	Máximo	47	45	40
	Média	19.37	18.12	11.04
	Desvio padrão	12.24	13.37	9.94
Grau de inflamação	Tipo I	4	4	4
	Tipo II	13	15	11
	Tipo III	3	1	6
Gênero do paciente	Feminino	15	17	17
	Masculino	5	3	3
Medicamentos				
Anti-hipertensivos	Não	09	07	07
	Sim	11	13	13
Hipoglicemiantes ⁺	Não	16	17	18
	Sim	4	3	2
Ansiolíticos ⁺	Não	18	17	19
	Sim	2	3	1
Uso contínuo das próteses totais, inclusive durante o sono	Não	2	3	3
	Sim	18	17	17
Uso de tabaco ⁺	Não	17	18	16
	Sim	3	2	4

Pela Tabela 16, é possível observar que a idade dos pacientes selecionados para os três grupos de estudo variou de 37 a 75 anos. A média de idade do número total de pacientes (n=60) foi de 59,19 anos. O tempo de uso da prótese total superior para os três grupos avaliados variou de 1 a 47 anos, sendo a média equivalente a 16,17 anos.

Quanto ao grau de inflamação, a Tabela 16 indica que em todos os grupos de tratamento houve uma prevalência de pacientes com estomatite protética tipo II de Newton. Foi verificado que 65% dos pacientes (39 pacientes) apresentaram estomatite protética Tipo II; 18,33% (11 pacientes) Tipo I e 16,66% (10 pacientes) Tipo III.

A Tabela 16 também evidencia que, para os três grupos avaliados, houve predominância do gênero feminino em relação ao masculino. Considerando o número total de pacientes avaliados neste estudo (n=60), foi possível observar que 49 (81,66%) eram mulheres e 11 (18,33%) eram homens.

Em relação ao uso de medicamentos, é possível observar que a terapia com anti-hipertensivos foi a mais frequentemente utilizada pelos pacientes, independentemente do grupo de estudo. Considerando os 60 pacientes avaliados, foi observado que 37 pacientes (61,66%) utilizavam medicamentos anti-hipertensivos, enquanto nove faziam uso de hipoglicemiantes (15%) e seis de ansiolíticos (10%).

Os dados referentes à frequência de utilização da prótese total superior indicaram que antes do tratamento, 52 pacientes (86,67%) faziam uso contínuo de suas próteses, incluindo o período noturno. Em relação ao hábito de fumar, 9 pacientes (15%) relataram que possuíam esse hábito.

DISCUSSÃO

6 Discussão

Vários estudos têm indicado que a estomatite protética é a patologia mais frequente entre os usuários de próteses removíveis, com prevalência entre 60% e 72% e, também, a que apresenta maior recorrência^{4,30,47,52,54,82}. Essa patologia apresenta etiologia multifatorial, cujos fatores podem ser divididos em dois grupos principais: aqueles relacionados à utilização das próteses removíveis e os infecciosos. A adesão e a colonização das espécies de *Candida spp.* e a subsequente formação de biofilme sobre as superfícies das próteses removíveis⁵⁷ têm sido consideradas os principais fatores etiológicos dessa condição patológica^{4,8,29,60,99}. Dessa forma, o presente estudo comparou a efetividade de diferentes frequências para desinfecção de próteses totais por micro-ondas, durante 3 minutos a 650 W, em relação à terapia antifúngica tópica com nistatina, no tratamento da estomatite protética por meio de dois parâmetros de avaliação, microbiológico e clínico.

A nistatina em suspensão oral (100.000 UI/mL) é uma substância antifúngica que pertence ao grupo dos polienos, frequentemente utilizada na terapia antifúngica tópica para o tratamento da estomatite protética. O presente estudo constatou que, ao final do tratamento (15 dias), a utilização da nistatina (GI) foi considerada efetiva para a redução dos valores das culturas micológicas (ufc/mL) de *Candida spp.* referentes à mucosa palatina e à superfície interna das próteses totais superiores dos indivíduos avaliados. A ação antifúngica da nistatina ocorre pela inibição na produção do ergosterol, um esterol presente na membrana plasmática da célula fúngica importante para a manutenção da sua integridade e para diversas funções celulares^{38,40}. A nistatina, quando presente em concentração suficiente, provoca a formação de poros na membrana celular dos fungos, sobretudo do gênero *Candida* e, conseqüentemente, altera a permeabilidade da membrana celular. Essa alteração, em estudos in vitro, diminuiu a capacidade de adesão da *Candida* às células epiteliais da cavidade oral^{38,40} e às superfícies das resinas acrílicas⁴⁰ e reduziu o crescimento e a multiplicação das células fúngicas^{38,40}. Porém, clinicamente, tem sido observado

que os medicamentos tópicos, como a nistatina, podem ter sua ação reduzida por causa dos efeitos diluentes da saliva e dos movimentos da língua, os quais mantêm o medicamento em uma concentração subterapêutica⁸. Nesse tipo de tratamento há, ainda, a necessidade da aplicação diária de várias doses da medicação, dificultando, assim, a cooperação do paciente no tratamento instituído³². Além disso, é importante ressaltar que os antifúngicos tópicos são destinados principalmente ao tratamento da mucosa da cavidade oral. Porém, de acordo com os resultados obtidos no presente estudo, as culturas quantitativas da mucosa palatina comprovaram, em quase todas as condições avaliadas (exceto em um indivíduo do Grupo III), menores valores de ufc/mL que aquelas observadas na superfície interna das próteses, sendo possível, assim, sugerir que as próteses removíveis podem ser consideradas como os principais reservatórios de micro-organismos, principalmente de *Candida* spp., e que a remoção desses micro-organismos da superfície das próteses é fundamental para a prevenção e o sucesso no tratamento da estomatite protética.

Recentemente, estudos demonstraram que a irradiação por micro-ondas é capaz de inativar várias espécies microbianas e que, por isso, tem sido considerada um método efetivo de desinfecção de próteses removíveis, podendo, também, ser utilizada como forma de tratamento para estomatite protética^{8,13,34,36,70,73,74,91,96,104,105}. Os mecanismos pelos quais as micro-ondas promovem a inativação dos micro-organismos não são bem estabelecidos^{88,89}. Alguns autores^{6,13,24,31,51,79,87,88,89,103} consideraram a existência de efeitos não-térmicos sobre a atividade metabólica de diferentes micro-organismos, enquanto outros^{43,55,100,107} não aceitaram a existência de tais fatores. Os efeitos térmicos são aqueles induzidos por um movimento cinético associado ao aumento de temperatura, não sendo diretamente causados pelo campo eletromagnético das micro-ondas. Os efeitos não-térmicos resultariam da interação do campo eletromagnético com as moléculas das células, produzindo mecanismos moleculares^{31,51,79}, mecânicos^{24,51} ou de aquecimento seletivo^{79,103}, ainda não elucidados, os quais, portanto, não poderiam ser explicados somente por uma ação térmica. Hiti et al.⁵¹ relataram que as células biológicas com alto conteúdo de água

possuem maior interação com o campo eletromagnético, o que explicaria a ocorrência da lise celular em uma temperatura menor que a encontrada em um processo puramente térmico e, ainda, a sensibilidade dos micro-organismos à irradiação de micro-ondas^{31,51,79}. Segundo Carrol, Lopez²⁴, a energia gerada pelas micro-ondas poderia causar uma oscilação muito rápida na célula microbiana. Consequentemente, o limite elástico da estrutura celular poderia ser excedido, causando a sua ruptura. Entretanto, um estudo recente²² demonstrou que, em vez de provocar ruptura, a irradiação por micro-ondas alterou a permeabilidade da membrana de células de *C. albicans*, tendo sido verificado um aumento na liberação de proteínas, ácidos nucléicos e íons K^+ , Ca^{++} para o meio extracelular. Essas substâncias são consideradas fundamentais para a manutenção da viabilidade celular da espécie avaliada, tendo as alterações observadas promovido à inativação das células de *C. albicans*. Dependendo do meio circundante dos micro-organismos e da concentração de compostos iônicos presentes no citoplasma celular, algumas células poderiam ser aquecidas seletivamente pelas micro-ondas, os quais gerariam no seu interior uma temperatura maior que no meio circundante^{24,79,55,103,107}. Dessa forma, a combinação dos mecanismos descritos acima provavelmente resultaria no efeito bactericida da irradiação por micro-ondas.

Considerando as informações citadas, um dos objetivos do presente estudo foi avaliar a eficiência da irradiação de próteses totais por micro-ondas, durante 3 minutos, a 650 W, como um método alternativo de tratamento da estomatite protética. Para isso, dois protocolos com diferentes frequências de irradiação das próteses (uma ou três vezes por semana) durante o período de tratamento foram comparados com o tratamento convencional com nistatina. Para o estabelecimento dos protocolos de tratamento dos grupos de pacientes em que as próteses foram irradiadas por micro-ondas, os resultados de estudos *in vitro* e *in vivo* anteriores foram considerados. Durante a análise desses estudos, fatores como tempo, meio e potência durante a irradiação, bem como os seus efeitos sobre a eficiência microbiológica e as propriedades dos materiais utilizados na confecção de próteses removíveis, foram essenciais no estabelecimento dos

protocolos utilizados no presente estudo. Inicialmente, foi possível observar na literatura uma grande variação em relação ao tempo de irradiação sugerido pelos autores para a desinfecção com micro-ondas^{74,88,96,104}. Nos estudos consultados relacionados especificamente à desinfecção de bases de próteses ou corpos-de-prova de resina acrílica contaminados, os períodos de irradiação variaram entre 1 e 15 minutos^{8,13,34,36,70,73,74,91,96,104,105}. Da mesma forma, a potência variou entre 350 W e 850 W^{8,13,34,36,70,73,74,91,96,104,105}.

Rohrer, Bulard⁸⁸ demonstraram que próteses totais contaminadas com *C. albicans* foram esterilizadas após 15, 10 e 8 minutos de irradiação por micro-ondas a 720 W. Da mesma forma, os resultados de outro estudo¹⁰⁴ demonstraram que a irradiação por micro-ondas promoveu esterilização de próteses totais inoculadas com *C. albicans* e *S. gordonii* após 6 minutos de exposição a uma potência de 350 W. Neppelenbroek et al.⁷⁴ constataram que amostras de materiais reembasadores contaminados com suspensões individuais de *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* e *B. subtilis* foram esterilizadas após 6 minutos de irradiação por micro-ondas a 650 W. Silva et al.⁹⁶ também observaram que próteses dentárias simuladas contaminadas com suspensões individuais de *C. albicans* e *S. aureus* foram esterilizadas após 6 minutos de irradiação por micro-ondas a 650 W.

Apesar de os estudos anteriores terem sido efetivos para a esterilização ou desinfecção de superfícies contaminadas, Thomas, Webb observaram que a irradiação de próteses totais superiores por 10 minutos, a 650 W, poderia resultar em alterações dimensionais significantes clinicamente. Da mesma forma, resultados de estudos recentes demonstraram que 6 minutos de exposição às micro-ondas também podem causar alterações dimensionais em resinas acrílicas para base de prótese^{48,94}, além de acelerar os processos de sorção de água e solubilidade desses materiais⁹³ e diminuir a resistência à flexão de algumas resinas para reembasamento⁸⁰. Dessa forma, outros estudos foram realizados com o objetivo de avaliar a efetividade microbiológica de tempos de irradiação menores. Estudos in vitro demonstraram que 3 minutos de irradiação por micro-ondas a 650 W foram efetivos para esterilizar corpos-de-prova de resina

para reembasamento contaminados com suspensões individuais de micro-organismos patogênicos (*S. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* e *B. subtilis*)⁷⁰, bem como próteses dentárias simuladas contaminadas com cinco diferentes espécies de *Candida* (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *Candida krusei* and *Candida dubliniensis*)⁹¹ e com suspensões individuais de *S. aureus* e *P. aeruginosa*³⁶. Um recente estudo in vivo⁸⁵ também demonstrou que 3 minutos de irradiação por micro-ondas a 650 W foram efetivos para esterilizar próteses totais de indivíduos edêntulos contaminadas com *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococci aureus* e não-*aureus*.

Os resultados favoráveis observados nos estudos acima, que utilizaram tempo menor de irradiação (3 minutos), provavelmente estão relacionados à imersão dos materiais em água durante a irradiação por micro-ondas. Em vários estudos que utilizaram a exposição às micro-ondas como método de desinfecção, a irradiação foi realizada sem a imersão das próteses em água^{8,88,104,105}. Entretanto, tem sido relatado que o efeito de inativação ou lise celular durante a irradiação ocorre, principalmente, na presença de água^{6,34,41,100,103}. Organismos liofilizados ou secos são dificilmente comprometidos pela ação das micro-ondas, inclusive quando submetidos a exposições prolongadas^{6,34,41,100,103}. Dixon et al.³⁴ observaram que amostras de resinas para base de próteses contaminadas com *C. albicans* foram desinfetadas após 5 minutos de exposição às micro-ondas em potência máxima, enquanto a irradiação dessas amostras imersas em água, pelos mesmos tempo e potência descritos, resultou em sua esterilização. Farias⁴¹, em 2003, avaliou a efetividade das micro-ondas na esterilização de pontas diamantadas contaminadas por uma suspensão formada por bactérias pertencentes ao meio bucal. A autora constatou que a esterilização dos instrumentos acondicionados em placas de Petri contendo 40 mL de água ocorreu no período de 1 minuto de irradiação na potência de 800 W, enquanto, com aqueles irradiados a seco, a esterilização foi obtida somente após 6 minutos de exposição. Sendo assim, no presente estudo, visando à obtenção de resultados efetivos para o tratamento da estomatite protética por meio da irradiação de

próteses totais por micro-ondas, o procedimento foi realizado com as próteses totais superiores imersas em 200 mL de água durante o processo.

De acordo com os resultados obtidos das culturas micológicas quantitativas (valores de ufc/mL), foi possível observar que a irradiação de próteses totais por micro-ondas uma vez por semana e três vezes por semana, durante 15 dias, promoveu uma redução estatisticamente significativa dos valores de ufc/mL obtidos da superfície interna das próteses totais superiores e da mucosa palatina dos participantes dos Grupos II e III. Os resultados do presente estudo são compatíveis com os de outros estudos clínicos que também utilizaram a irradiação de próteses totais por micro-ondas no tratamento da estomatite protética associada à *Candida*. Banting, Hill⁸ associaram a irradiação de próteses totais por micro-ondas (1 minuto a 850 W) à utilização de nistatina tópica e observaram que o método foi efetivo na redução da quantidade de formas invasivas de *C. albicans* (pseudohifas) encontradas nas superfícies das próteses dos pacientes avaliados. Durante o tratamento (14 dias), as próteses totais foram submetidas a três ciclos de desinfecção, e os pacientes utilizaram nistatina três vezes ao dia. Apesar de os autores terem observado redução significativa da contaminação das próteses, um alto índice de reinfecção por pseudohifas foi relatado nos pacientes que tiveram suas próteses irradiadas por micro-ondas (53%). No presente estudo, entretanto, apenas dois ciclos de desinfecção (Grupo II), durante um período semelhante (15 dias) e sem a utilização do antifúngico tópico, foram suficientes para reduzir significativamente os valores de ufc/mL de ambos os sítios de coleta (palato e prótese), bem como o grau de inflamação dos tecidos adjacentes às próteses, parâmetro não avaliado no estudo de Banting, Hill⁸. Em outro estudo clínico, Webb et al.¹⁰⁵ demonstraram que a desinfecção diária de próteses totais por micro-ondas, irradiadas a seco (10 minutos a 350 W), durante uma semana, reduziu significativamente o número de *Candida* spp. nas próteses totais e no palato de pacientes com diagnóstico de estomatite protética. Apesar de os autores não terem realizado acompanhamento dos casos em longo prazo, foi evidenciada melhora significativa dos sinais clínicos de estomatite protética após uma semana de irradiação diária das próteses. Esses resultados são semelhantes aos observados no

presente estudo, em que um número consideravelmente menor de ciclos de desinfecção (Grupos II-2 e Grupo III-6, respectivamente) foi utilizado. Em 2008, Neppelenbroek et al.⁷³ também avaliaram a efetividade da desinfecção de próteses totais por micro-ondas a 650 W, por 6 minutos, três vezes por semana durante 30 dias, associada ou não à aplicação de antifúngico tópico (miconazol), no tratamento da estomatite protética. Para todos os pacientes, exames citológicos por esfregaço e culturas micológicas quantitativas foram obtidos da superfície interna das próteses totais superiores e da mucosa palatina de suporte antes do início do tratamento, durante o tratamento (15 dias), ao final do tratamento (30 dias) e após a sua suspensão (30 e 60 dias). Os autores observaram que, durante o tratamento (15 dias) e imediatamente após o seu término (30 dias), os esfregaços citológicos e as culturas quantitativas referentes à mucosa palatina e à superfície interna das próteses dos pacientes dos grupos que tiveram suas próteses irradiadas não apresentaram formas miceliais e colônias viáveis de *Candida* spp. Esses resultados foram fundamentais para que, no presente estudo, o tempo de tratamento fosse reduzido para 15 dias. Apesar de os autores terem obtidos resultados satisfatórios para o tratamento da estomatite protética, estudos anteriores indicam que o tempo utilizado de exposição às micro-ondas (6 minutos) provavelmente teria causado alterações dimensionais irreversíveis nas bases de próteses, conforme discutido anteriormente^{48,94}. Dessa forma, considerando os resultados igualmente favoráveis dos Grupos II e III do presente estudo, fatores como a redução da duração do tratamento de 30 para 15 dias, assim como do número total de ciclos de desinfecção de 12 para 2 ciclos (Grupo II), poderiam ser considerados como vantagens para os pacientes pois, além de eficiente, o método reduziria o custo do tratamento, que seria realizado em apenas duas sessões, sem a necessidade de aquisição de medicamentos.

Os resultados das culturas micológicas (valores de ufc/mL) do presente estudo demonstraram também que, após 30, 60 e 90 dias do início dos tratamentos, houve, em todos os grupos avaliados (GI, GII, GIII), um aumento gradativo nos valores de ufc/mL, porém sem diferenças estatisticamente significantes entre os períodos de avaliação. Bergendal, Isacson¹⁶ também

utilizaram a nistatina para o tratamento de estomatite protética e, no presente estudo, os resultados do Grupo I concordam com os desses autores, pois eles verificaram que, 28 dias após o início do tratamento, não houve diferença estatisticamente significativa no número de colônias viáveis de micro-organismos (valores de ufc/mL) em relação ao obtido ao término do tratamento (14 dias). Porém, a utilização da terapia antifúngica tópica, além de apresentar algumas desvantagens, conforme discutido anteriormente pode promover também, o insucesso do tratamento e, conseqüentemente, a infecção recorrente. Milillo et al.⁶⁹ observaram que o tratamento com nistatina durante 14 dias foi insatisfatório para seis pacientes, tendo sido necessária a implementação de tratamento alternativo (verniz de amorolfina 5%) para eliminação da patologia, o que ocorreu em cinco deles.

A notória resistência aos tratamentos com antifúngicos tem sido apontada como a característica mais significativa do biofilme microbiano^{26,35,61,62}. O biofilme das próteses é formado por leveduras, sobretudo as do gênero *Candida*, e bactérias, principalmente *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Neisseria*, *Lactobacillus* e *Actinomyces*, envoltas por uma matriz de polissacarídeos extracelulares^{61,92,99}.

Chandra et al.²⁶ compararam a susceptibilidade do biofilme de *C. albicans* formado sobre a superfície da resina acrílica a três agentes antifúngicos (nistatina, anfotericina, fluconazol) em relação às culturas planctônicas desse microrganismo e verificaram que as células de *C. albicans* do biofilme foram resistentes aos antifúngicos avaliados. Lamfon et al.⁶², em estudo in vitro, observaram que micro-organismos do biofilme de discos acrílicos foram 1.000 vezes mais resistentes ao fluconazol e ao miconazol do que os mesmos micro-organismos na forma planctônica. Esses mesmos autores verificaram, também, que o biofilme misto de espécies de *Candida* formado sobre a resina acrílica foi resistente às concentrações de fluconazol e miconazol que foram efetivas no biofilme composto apenas de *C. albicans* sobre o mesmo tipo de superfície⁶¹. Os mecanismos de resistência do biofilme microbiano às drogas antifúngicas ainda

necessitam ser elucidados; porém, tem sido relatado que a dificuldade de penetração do antifúngico no interior da matriz do biofilme, as alterações fenotípicas nas espécies fúngicas devidas à limitação de nutrientes durante o tratamento, assim como as características de superfície dos materiais que atuam como substrato são fatores relacionados ao mecanismo de resistência do biofilme³⁵. Além disso, recentemente, foi estimado que 65% das infecções microbianas que afetam a saúde humana envolvem a formação de biofilme³⁵. Assim, os resultados obtidos pelos Grupos II e III são de grande interesse para a clínica odontológica, pois indicam que a desinfecção de próteses totais por micro-ondas pode ser utilizada como um método efetivo para a inativação do biofilme das superfícies das próteses e, conseqüentemente, no tratamento da estomatite protética. Pelo fato de ser um método físico de desinfecção, não há o risco de indução de resistência dos micro-organismos que compõem o biofilme.

No presente estudo, a comparação entre os Grupos I, II e III quanto aos valores de ufc/mL obtidos da superfície interna da prótese total superior indicou, aos 90 dias, valores de ufc/mL significativamente maiores para o Grupo III em relação aos demais grupos (I e II). Esse resultado pode ser atribuído a fatores não controlados e relacionados à cooperação dos pacientes do Grupo III nesse período da avaliação, incluindo inadequada higienização e/ou a não remoção das próteses antes de dormir. Na Tabela 16, é possível observar que os fatores predisponentes da estomatite protética foram controlados em todos os grupos do estudo, não havendo, assim, a interferência desses fatores no resultado encontrado. Além disso, o tratamento aplicado não deve ter contribuído para esse resultado, visto que o tempo de irradiação utilizado não causa efeitos deletérios à resina acrílica utilizada na confecção das próteses totais, como indicado em estudo prévio⁸⁶. O número de ciclos de desinfecção utilizado também não tem relação com essa ocorrência, como indicado por Novais et al.⁷⁷ ao verificarem que os ciclos de desinfecção que eles avaliaram (2 e 7) não alteraram a porosidade superficial de uma resina termopolimerizável para base de prótese.

Outro parâmetro de avaliação utilizado no presente estudo para verificar a efetividade da desinfecção de próteses totais por micro-ondas em relação à terapia antifúngica tópica foi a análise das fotografias intrabucais dos pacientes com estomatite protética. Em comparação às fotografias intrabucais iniciais (dia 0), uma melhora dos sinais clínicos da estomatite protética foi observada em 52,94% dos indivíduos do Grupo I. Da mesma forma, Bergendal, Isacson¹⁶ observaram uma redução significativa nas áreas eritematosas da mucosa palatina após o término do tratamento da estomatite protética com nistatina. Porém, quando da utilização de outro antifúngico tópico (miconazol), o mesmo não foi observado por Neppelenbroek et al.⁷³. Estes autores, assim como Webb et al.¹⁰⁵, verificaram que a redução nos sinais clínicos da estomatite protética foram mais perceptíveis na mucosa palatina dos indivíduos que tiveram suas próteses submetidas ao procedimento de desinfecção por micro-ondas. Esse fato também pôde ser observado no presente estudo, considerando que, para os pacientes dos Grupos II e III, a melhora dos sinais clínicos ocorreu em 65% dos casos. No início do período de acompanhamento (30 e 60 dias), as áreas eritematosas da mucosa palatina dos pacientes do Grupo I apresentaram-se menos evidentes, porém tornaram-se mais visíveis ao final do período de avaliação (90 dias), sendo os sinais de piora constatados em 38,46% dos indivíduos desse grupo. Essas observações foram relatadas em outro estudo¹⁶, em que, 28 dias após o início do tratamento com nistatina, alguns pacientes já apresentavam sinais clínicos da estomatite protética. Nos pacientes dos Grupos II e III, os sinais clínicos de melhora foram mantidos até 60 dias após o início dos tratamentos, enquanto, aos 90 dias, o quadro clínico piorou em 29,41% da amostra avaliada para o Grupo II e em 38,89% para o Grupo III, resultados esses coerentes com as análises microbiológicas. Por outro lado, no estudo de Neppelenbroek et al.⁷³, a recorrência da estomatite protética não foi observada clinicamente, uma vez que, ao final dos tratamentos (30 dias), as fotografias intrabucais obtidas dos pacientes que tiveram suas próteses irradiadas não foram diferentes daquelas obtidas nos demais períodos de avaliação (60 e 90 dias). É importante enfatizar que, nesse trabalho, as próteses foram submetidas a 12 ciclos de desinfecção, enquanto, no

presente estudo, foram utilizados no máximo 6 ciclos. Sendo assim, parece razoável inferir que a manutenção dos sinais clínicos de melhora da estomatite protética por um período maior de tempo (90 dias) poderia ter sido obtida por meio de irradiações adicionais nas próteses durante o período de controle posterior. Considerando que a frequência de irradiação não teve efeito sobre os resultados após 15 dias, seria recomendável que, nos futuros estudos clínicos que vierem a utilizar o protocolo de irradiação descrito no presente estudo, o tempo de tratamento fosse estendido por mais 2 semanas, mantendo-se a frequência de irradiação semanal das próteses.

De acordo com os resultados das identificações bioquímicas das espécies de *Candida* spp obtidos no presente estudo, foi possível demonstrar que a *C. albicans* é a espécie identificada com maior frequência na cavidade bucal dos indivíduos com diagnóstico clínico da estomatite protética, sendo, previamente ao início dos tratamentos propostos, encontrada em 98,33% dos pacientes avaliados, representando 60% dos isolados de *Candida* spp. identificados (Figura 15). Resultados semelhantes são encontrados na literatura, pois tem sido relatado que, em indivíduos com estomatite protética, a presença de *C. albicans* é muito superior em relação às não-*albicans*^{17,29,32,42,49,82,83,99,105}. A alta prevalência de *C.albicans* nos estudos in vivo pode ser explicada pela grande capacidade que essa espécie tem de se aderir à mucosa bucal^{5,38} e, principalmente, à superfície das resinas acrílicas^{4,5,8,29,40,50,99} utilizadas na confecção de próteses removíveis. O processo de adesão é considerado fundamental para a instalação e a propagação da estomatite protética nos usuários de próteses e tem sido relacionado à habilidade dessa espécie de produzir uma enzima hidrolítica denominada fosfolipase. Essa enzima degrada a superfície das células epiteliais dos hospedeiros por meio da hidrólise dos fosfolipídeos^{23,78,82}. Dessa forma, a produção de fosfolipase é considerada um indicativo de virulência das espécies de *Candida* spp., tendo alguns estudos constatado que apenas a espécie *C. albicans* é capaz de produzir essa enzima^{17,82}.

Nas últimas décadas, tem sido verificado um aumento da presença de espécies de *Candida* não-*albicans* em indivíduos com diagnóstico de estomatite protética, assim como a associação entre diferentes espécies^{17,29,42,47,49,83,99,105}. No presente estudo, além da *C. albicans*, foram identificadas as seguintes espécies: *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. lusitane*, *C. colliculosa* e *C. sphaerica*, sendo a *C. tropicalis* identificada em 25% dos indivíduos avaliados, a *C. glabrata* em 21,66% e as demais espécies entre 1,66%-3,3%. Essas taxas são semelhantes às reportadas em outros estudos^{32,99,105} em que foi verificado que, após a *C. albicans*, a *C. tropicalis* e a *C. glabrata* são as espécies mais frequentemente isoladas na cavidade bucal dos indivíduos com estomatite protética. No estudo de Resende et al.³², 20% dos isolados identificados foram de *C. tropicalis*, enquanto a *C. glabrata* representou 9,33% dos isolados. Abbeele et al.⁹⁹ demonstraram que a *C. glabrata* e a *C. tropicalis* foram isoladas, respectivamente, de 44,1% e 19,1% dos indivíduos que apresentavam colônias viáveis de *Candida* spp., durante as coletas obtidas da mucosa palatina e das próteses totais superiores.

A presença de populações mistas de *Candida* spp. foi observada em 38,33% dos indivíduos (n=23) que participaram do estudo. Igualmente ao que foi verificado por Gumru et al.⁴⁹ e Pires et al.⁸³, a associação entre espécies mais encontrada foi a da *C. albicans* com a *C. tropicalis*, representando 11% dos isolados identificados. Além disso, se forem consideradas apenas as coletas obtidas da superfície interna das próteses totais superiores, é possível observar a presença de mais de uma espécie de *Candida* spp. em 37,29% (n=22) dos indivíduos avaliados. Com base nas informações disponíveis na literatura, é possível sugerir que, no presente estudo, a alta prevalência de populações mistas de *Candida* spp. assim como os altos valores de ufc/mL encontrados nas coletas obtidas da superfície interna das próteses totais devam-se à rugosidade da resina acrílica e à hidrofobicidade das células fúngicas. Este último fator está relacionado com a capacidade que essas células têm de se aderir a diferentes superfícies, enquanto a rugosidade da resina acrílica facilita essa aderência.

Segundo Verran, Maryan¹⁰¹, o aumento da rugosidade superficial de resinas acrílicas facilita a retenção do microrganismo *C. albicans*. Conclusão semelhante foi obtida por Waltimo et al.¹⁰² ao compararem a aderência de *C. albicans* à superfície de polimetilmetacrilato e à superfície de compósito de fibra de vidro utilizada em próteses totais, pois os resultados demonstraram que a densidade média de leveduras na superfície de matriz polimérica foi significativamente maior que sobre a superfície da fibra. Dessa forma, a rugosidade da resina acrílica e a hidrofobicidade celular favorecem a proliferação e a penetração das células de *Candida* spp. nas superfícies e, conseqüentemente, a formação de um biofilme complexo, resultando no desenvolvimento da estomatite protética. Essas informações, somadas aos resultados clínicos e microbiológicos do presente estudo, reforçam a necessidade de o tratamento para a estomatite protética ser direcionado primeiramente à prótese.

Quando o fator espécie de *Candida* spp. foi avaliado em relação ao tipo de tratamento aplicado, ocorreram mudanças na frequência de algumas das espécies identificadas. No Grupo I, houve um aumento da frequência de *C. albicans* ao término do tratamento (15 dias) com o antifúngico tópico nistatina. Esse resultado pode ser explicado pelo fato de essa espécie, quando comparada a diferentes espécies de *Candida* spp., apresentar a menor porcentagem de redução no processo de adesão às células epiteliais após a exposição à nistatina³⁸. Dessa forma, a *C. albicans*, considerada a mais resistente do gênero *Candida*, é capaz de manter a integridade da sua parede celular, o que lhe confere potencial para continuar aderindo-se ao hospedeiro, independentemente da exposição ao medicamento antifúngico³⁸. Para os Grupos II e III, foi verificado um aumento da frequência de *C. glabrata* ao término dos tratamentos. Ainda não foi estabelecido na literatura o grau de contribuição dessa espécie no desenvolvimento da estomatite protética. No entanto, sabe-se que a *C. glabrata* possui um tamanho reduzido quando comparada às demais espécies de *Candida* spp.^{29,101}, e que a manutenção do biofilme sobre as próteses protege essas pequenas células, impedindo que sejam removidas das superfícies das resinas acrílicas pelo fluxo salivar e por meio de forças físicas²⁹. Considerando terem estudos prévios

demonstrado que a irradiação por micro-ondas durante 3 minutos, a 650 W, resultou na esterilização de próteses totais^{36,85,91} é possível sugerir que esse método inative totalmente o biofilme existente sobre as superfícies das próteses dos Grupos II e III, diferentemente do tratamento com antifúngico. Dessa forma, quando as próteses irradiadas são recolocadas na cavidade bucal, inicia-se a formação de um novo biofilme. Um estudo de Luo e Samaranayake⁶⁴ indicou que a espécie *C. glabrata* tem 247% mais afinidade com o acrílico quando comparada à *C. albicans*. He et al.⁵⁰ também demonstraram que a *C. glabrata* foi a única espécie de *Candida* capaz de se aderir a todos os materiais acrílicos avaliados. Além disso, tem sido sugerido que a hidrofobicidade celular da *C. glabrata* é maior quando comparada à da espécie *C. albicans*^{64,65,71}, o que poderia favorecer a sua adesão. Assim, é possível sugerir que o aumento da frequência de *C. glabrata* ao término dos tratamentos nos Grupos II e III esteja relacionado à sua maior aderência às bases das próteses durante o processo de formação do novo biofilme e à hidrofobicidade das suas células. Para todos os grupos, foi verificada uma diminuição na frequência de *C. tropicalis* ao 15º dia de avaliação. Provavelmente, no Grupo I, essa diminuição tenha ocorrido devido à susceptibilidade dessa espécie à nistatina. Em um estudo in vitro³⁸, foi verificado que a exposição à nistatina reduziu em 67,07% a capacidade de adesão da *C. tropicalis* às células epiteliais da cavidade oral. Com relação aos tratamentos aplicados nos Grupos II e III é possível indicar que a redução na frequência de *C. tropicalis* está relacionada à energia livre de superfície da resina acrílica. A eliminação do biofilme das próteses por meio dos ciclos de desinfecção por micro-ondas pode ter contribuído para aumentar a energia de superfície das resinas acrílicas utilizadas na confecção das próteses totais e segundo Minagi et al.⁷², quanto maior a energia de superfície da resina acrílica, menor a capacidade de adesão da *C. tropicalis* à resina. As identificações bioquímicas realizadas após 30, 60 e 90 dias do início dos tratamentos propostos demonstraram, para os três grupos de estudo, uma recolonização da cavidade oral e das próteses totais pelas espécies de *Candida*. Apesar disso, os resultados microbiológicos e clínicos demonstraram que a

recolonização não resultou na piora do quadro de estomatite protética de todos os casos, conforme discutido anteriormente.

Em relação aos fatores predisponentes avaliados no presente estudo, os resultados indicaram homogeneidade na distribuição dos pacientes entre os grupos de estudo, exceto para a estomatite protética grau III de Newton no grupo GIII. Para os pacientes avaliados, a média de idade foi de 59 anos, com 16 anos de tempo de uso da prótese total superior. Foi verificado que houve predominância do gênero feminino (81,66%) em relação ao masculino (18,33%), da estomatite protética Tipo II de Newton⁷⁵, da utilização contínua da prótese total superior, incluindo o período noturno, e da utilização de medicamentos anti-hipertensivos. A idade dos pacientes avaliados no presente estudo concorda com a de estudos prévios^{30,68,73}, que sugerem maior prevalência de estomatite protética entre as sextas e sétimas décadas de vida em razão do elevado número de usuários de próteses removíveis parciais e totais que pertencem a essa faixa etária. Com relação ao gênero, estudos prévios^{30,42,47,73} também observaram uma maior prevalência do gênero feminino, porém não há ainda um consenso para explicar porque várias lesões bucais, incluindo a estomatite protética, são mais frequentes em mulheres do que em homens. Essa diferença pode ser atribuída ao fato de as mulheres recorrerem mais assiduamente aos tratamentos odontológicos que os homens⁸³. No entanto, Amanlou et al.⁴ justificaram a predominância do gênero feminino com estudos epidemiológicos da candidose bucal. Além disso, alterações hormonais, principalmente no período após a menopausa^{20,42}, também podem contribuir para a alta prevalência de estomatite protética em mulheres. Com resultados semelhantes em seu estudo, Bastiaan, Reade¹² relacionaram a alta prevalência de estomatite protética no gênero feminino com a deficiência de ferro frequentemente encontrada nas mulheres, inclusive nas que apresentam boas condições de saúde. Essa deficiência nutricional favorece o desenvolvimento de infecção por micro-organismos oportunistas, tais como as espécies de *Candida*.

Quanto ao grau de inflamação da estomatite protética, o presente estudo verificou que 65% dos pacientes avaliados (39 pacientes) apresentavam estomatite protética grau II de Newton. Esse resultado está de acordo com os de

estudos prévios^{49,73,105}, apesar de existir aqueles que consideraram a estomatite protética tipo I de Newton como a mais frequente^{29,42,58,83}. Essas diferenças podem ser parcialmente explicadas pelos parâmetros subjetivos utilizados para classificar a estomatite protética⁴². Já os dados referentes à frequência de utilização da prótese total superior indicaram que, previamente ao início dos tratamentos propostos, 86,67% dos indivíduos que participaram do presente estudo faziam uso contínuo de suas próteses, incluindo o período noturno. Tem sido relatado que o uso contínuo de próteses removíveis, sobretudo próteses totais superiores, pode promover traumas aos tecidos de suporte^{9,20,42,63}. A presença do trauma resulta na inflamação dessas áreas, tornando-os, assim, mais susceptíveis às infecções bucais, principalmente à estomatite protética⁴². Por esse motivo, todos os participantes do estudo foram instruídos a não utilizarem suas próteses no período noturno.

A idade das próteses removíveis é outro fator que favorece o desenvolvimento da estomatite protética, pois, em outros estudos^{30,73}, a recorrência da estomatite protética ocorreu mais frequentemente nas próteses com maior tempo de uso, indicando a necessidade da sua substituição para o restabelecimento de condições adequadas para o tratamento da estomatite protética. No presente estudo, a idade média das próteses totais superiores dos pacientes avaliados foi de 16 anos. Dessa forma, a maioria dessas próteses apresentou-se insatisfatória em relação à adaptação aos tecidos de suporte e à preservação dos dentes artificiais. Assim, a falta de adaptação das próteses aos tecidos de suporte resulta em traumatismo desses tecidos e, conseqüentemente, ao desenvolvimento da estomatite protética⁴².

Os resultados deste estudo clínico demonstraram que, quando comparada a utilização do antifúngico tópico nistatina, com a desinfecção de próteses totais por micro-ondas (3 minutos a 650 W), 1 vez ou 3 vezes por semana, durante 15 dias, pode ser uma alternativa consistente para o tratamento da estomatite protética. Sendo um método físico de desinfecção, esse procedimento previne os efeitos indesejáveis da utilização de antifúngicos, como náuseas, vômitos e efeitos hepatotóxicos e nefrototóxicos,^{52,63} além de ser um método

simples, seguro e de baixo custo. Além disso, tendo em vista que a irradiação das próteses por micro-ondas inativa todos os micro-organismos presentes no biofilme^{73,85}, o método pode ser amplamente empregado no sentido de prevenir não somente a estomatite protética como também doenças pulmonares provocadas por micro-organismos patogênicos presentes no biofilme protético⁹⁷.

CONCLUSÃO

7 Conclusão

Com base nas condições experimentais do presente estudo e de acordo com a metodologia empregada, foi possível concluir que:

1. Após 15 dias, a irradiação de próteses totais por micro-ondas por 3 minutos a 650 W, foi efetiva na redução ufc/mL de *Candida* spp. das próteses e do palato dos pacientes avaliados, independentemente da frequência de irradiação (1 ou 3 vezes por semana);

2. A terapia antifúngica tópica com nistatina, realizada diariamente por 15 dias, promoveu redução dos valores de ufc/mL de *Candida* spp. das próteses e do palato dos pacientes avaliados;

3. A comparação entre os tratamentos não indicou diferença significativa entre os valores de ufc/mL de *Candida* spp. das próteses e do palato dos pacientes avaliados, após 15 dias de tratamento;

4. O grau de inflamação do palato foi reduzido em 65% de todos os pacientes que tiveram suas próteses irradiadas por micro-ondas, enquanto que o tratamento com nistatina promoveu redução de 52,94%;

5. Para cada tratamento, não houve diferenças estatisticamente significantes entre os valores de ufc/mL de *Candida* spp. após 15 dias de tratamento e os demais períodos de avaliação (30, 60 e 90 dias), em ambos os sítios de coleta (mucosa palatina e prótese);

6. No último período de avaliação (90 dias), os valores de ufc/mL obtidos da superfície interna das próteses irradiadas 3 vezes por semana foram significativamente maiores que os demais grupos, não tendo sido observadas diferenças nos demais;

7. A recorrência da estomatite protética foi observada após 60 dias nos pacientes que tiveram suas próteses irradiadas e após 30 dias naqueles tratados com nistatina;

8. A *C. albicans* foi a espécie identificada com maior frequência nos indivíduos com estomatite protética, seguida pela *C. tropicalis* e *C. glabrata*, tendo outras espécies sido eventualmente identificadas;

9. A presença de populações mistas de *Candida* spp. foi observada em todos os grupos avaliados;

10. Alterações na frequência das espécies foram observadas após a realização dos tratamentos.

REFERÊNCIAS

8 Referências*

1. Abelson DC. Denture plaque and denture cleansers: review of the literature. *Gerodontology*. 1985; 1: 202-6.
2. Al-Fattani MA, Douglas LJ. Biofilm matrix of *Candida albicans* and *Candida tropicalis*: chemical composition and role in drug resistance. *J Med Microbiol*. 2006; 55: 999-1008.
3. Alves SH, Milan EP, De Laet Sant'ana P, Oliveira LO, Santurio JM, Colombo AL. Hypertonic sabouraud broth as a simple and powerful test for *Candida dubliniensis* screening. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2002; 43: 85-6.
4. Amanlou M, Beitollahi JM, Abdollahzadeh S, Tohidast-Ekhrad Z. Miconazole gel compared with *Zataria multiflora* Boiss. Gel in the treatment of denture stomatitis. *Phytother Res*. 2006; 20: 966-9.
5. Anil S, Ellepola AN, Samaranayake LP. The impact of polyene, azole, and DNA analogue antimycotics on the cell surface hydrophobicity of *Candida albicans* and *Candida tropicalis* in HIV infection. *Mycopathologia*. 2002; 153: 179-85.
6. Atmaca S, Akdag Z, Dasdag S, Celik S. Effect of microwaves on survival of some bacterial strains. *Acta Microbiol Immunol Hung*. 1996; 43: 371-8.
7. Baena-Monroy T, Moreno-Maldonado V, Franco-Martínez F, Aldape-Barrios B, Quindós G, Sánchez-Vargas LO. *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus mutans* colonization in patients wearing dental prosthesis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2005; 10: 27-39.
8. Banting DW, Hill SA. Microwave disinfection of dentures for the treatment of oral candidiasis. *Spec Care Dentist*. 2001; 21: 4-8.

* De acordo com estilo Vancouver. Disponível em: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html.

-
9. Barbeau J, Séguin J, Goulet JP, de Koninck L, Avon SL, Lalonde B, et al. Reassessing the presence of *Candida albicans* in denture-related stomatitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2003; 95: 51-9.
 10. Barnabé W, de Mendonça Neto T, Pimenta FC, Pegoraro LF, Scolaro JM. Efficacy of sodium hypochlorite and coconut soap used as disinfecting agents in the reduction of denture stomatitis, *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. *J Oral Rehabil*. 2004; 31: 453-9.
 11. Basso MFM, Giampaolo ET, Vergani CE, Machado AL, Pavarina AC, Ribeiro RC. Influence of microwave disinfection on the linear dimensional stability of complete dentures: clinical study. *Int J Prosthodont*. 2010; 23: 318-20.
 12. Bastiaan RJ, Reade PC. The prevalence of *Candida albicans* in the mouths of tobacco smokers with and without oral mucous membrane keratoses. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1982; 53: 148-51.
 13. Baysan A, Whiley R, Wright PS. Use of microwave energy to disinfect a long-term soft lining material contaminated with *Candida albicans* or *Staphylococcus aureus*. *J Prosthet Dent*. 1998; 79: 454-8.
 14. Beighton D, Ludford R, Clark DT, Brailsford SR, Pankhurst CL, Tinsley GF, et al. Use of CHROMagar *Candida* medium for isolation of yeasts from dental samples. *J Clin Microbiol*. 1995; 33: 3025-7.
 15. Berdicevsky I, Ben-Aryeh H, Szargel R, Gutman D. Oral candida of asymptomatic denture wearers. *Int J Oral Surg*. 1980; 9: 113-5.
 16. Bergendal T, Isacsson G. Effect of nystatin in the treatment of denture stomatitis. *Scand J Dent Res*. 1980; 88: 446-54.
 17. Bilhan H, Sulun T, Erkose G, Kurt H, Erturan Z, Kutay O, et al. The role of *Candida albicans* hyphae and *Lactobacillus* in denture-related stomatitis. *Clin Oral Investig*. 2009; 13: 363-8.

-
18. Blanco MT, Morales JJ, Lucio L, Pérez-Giraldo C, Hurtado C, Gómez-García AC. Modification of adherence to plastic and to human buccal cells of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* by a subinhibitory concentration of itraconazole. *Oral Microbiol Immunol*. 2006; 21: 69-72.
 19. Budtz-Jorgensen E., Holmstrup P, Krogh P. Fluconazole in the treatment of *Candida*-associated denture stomatitis. *Antimicrob Agents Chemother*. 1988; 32: 1859-63.
 20. Budtz-Jorgensen, E. Etiology, pathogenesis, therapy, and prophylaxis of oral yeast infections. *Acta Odontol Scand*. 1990; 48: 61-9.
 21. Budtz-Jorgensen, E. Materials and methods for cleaning dentures. *J Prosthet Dent*. 1979; 42: 619-23.
 22. Campanha NH, Pavarina AC, Brunetti IL, Vergani CE, Machado AL, Spolidorio DM. *Candida albicans* inactivation and cell membrane integrity damage by microwave irradiation. *Mycoses*. 2007; 50: 140-7
 23. Candido RC, Azevedo RVP, Komesu MC. Enzymotyping of species of the genus *Candida* isolated from the oral cavity. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2000; 33: 437-42.
 24. Carrol DE, Lopez A. Lethality of radio-frequency energy upon microorganisms in liquid, buffered, and alcoholic food systems. *J Food Sci*. 1969; 34: 320-4.
 25. Chan EC, Iugovaz I, Siboo R, Bilyk M, Barolet R, Amsel R, et al. Comparison of two popular methods for removal and killing of bacteria from dentures. *J Calif Dent Assoc*. 1991; 57: 937-9.
 26. Chandra J, Mukherjee PK, Leidich SD, Faddoul FF, Hoyer LL, Douglas LJ, et al. Antifungal resistance of candidal biofilms formed on denture acrylic in vitro. *J Dent Res*. 2001; 80: 903-8.
 27. Chau VB, Saunders TR, Pimsler M, Elfring DR. In-depth disinfection of acrylic resins. *J Prosthet Dent*. 1995; 74: 309-13.

-
28. Chow CK. Efficacy of antifungal agents in tissue conditioners in treating candidiasis. *Gerodontology*. 1999; 16: 110-8.
 29. Coco BJ, Bagg J, Cross LJ, Jose A, Cross J, Ramage G. Mixed *Candida albicans* and *Candida glabrata* populations associated with the pathogenesis of denture stomatitis. *Oral Microbiol Immunol*. 2008; 23: 377-83.
 30. Coelho CM, Sousa YT, Dare AM. Denture-related oral mucosal lesions in a Brazilian school of dentistry. *J Oral Rehabil*. 2004; 31: 135-9.
 31. Culkin KA, Fung DY. Destruction of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* in microwave-cooked soups. *J Milk Food Technol*. 1975; 38: 8-15.
 32. de Resende MA, de Sousa LV, de Oliveira RC, Koga-Ito CY, Lyon JP. Prevalence and antifungal susceptibility of yeasts obtained from the oral cavity of elderly individuals. *Mycopathologia*. 2006; 162: 39-44.
 33. Dills SS, Olshan AM, Goldner S, Brogdon C. Comparison of the antimicrobial capability of an abrasive paste and chemical-soak denture cleaners. *J Prosthet Dent*. 1988; 60: 467-70.
 34. Dixon DL, Breeding LC, Faler TA. Microwave disinfection of denture base materials colonized with *Candida albicans*. *J Prosthet Dent*. 1999; 81: 207-14.
 35. Douglas LJ. Medical importance of biofilms in *Candida* infections. *Rev Iberoam Micol*. 2002; 19: 139-43.
 36. Dovigo LN, Pavarina AC, Ribeiro DG, Oliveira JA, Vergani CE, Machado AL. Microwave disinfection of complete dentures contaminated in vitro with selected bacteria. *J Prosthodont*. 2009; 18: 611-7.
 37. Egusa H, Ellepola AN, Nikawa H, Hamada T, Samaranayake LP. Sub-therapeutic exposure to polyene antimycotics elicits a post-antifungal effect (PAFE) and depresses the cell surface hydrophobicity of oral *Candida albicans* isolates. *J Oral Pathol Med*. 2000; 29: 206-13.

-
38. Ellepola AN, Panagoda GJ, Samaranayake LP. Adhesion of oral *Candida* species to human buccal epithelial cells following brief exposure to nystatin. *Oral Microbiol Immunol.* 1999; 14: 358-63.
 39. Ellepola AN, Samaranayake LP. Antimycotic agents in oral candidosis: an overview: 2. Treatment of oral candidosis. *Dent Update.* 2000; 27: 165-70, 172-4.
 40. Ellepola AN, Samaranayake LP. Adhesion of oral *Candida albicans* isolates to denture acrylic following limited exposure to antifungal agents. *Arch Oral Biol.* 1998; 12: 999-1007.
 41. Farias RJM. Esterilização de pontas diamantadas através da energia por microondas [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2003.
 42. Figueiral MH, Azul A, Pinto E, Fonseca PA, Branco FM, Scully C. Denture-related stomatitis: identification of aetiological and predisposing factors - a large cohort. *J Oral Rehabil.* 2007; 34: 448-55.
 43. Fitzpatrick JA, Kwao-Paul J, Massey J. Sterilization of bacteria by means of microwave heating. *J Clin Eng.* 1978; 3: 44-7.
 44. Fraser VJ, Jones M, Dunkel J, Storfer S, Medoff G, Dunagan WC. Candidemia in a tertiary care hospital: epidemiology, risk factors, and predictors of mortality. *Clin Infect Dis.* 1992; 15: 414-21.
 45. Fricker-hidalgo H, Vandapel O, Duchesne MA, Mazoyer MA, Monget D, Lardy B, et al. Comparison of the new API *Candida* system to the ID 32C system for identification of clinically important yeast species. *J Clin Microbiol.* 1996; 34: 1846-8.
 46. Friedrich Jr EG, Phillips LE. Microwave sterilization of *Candida* on underwear fabric. A preliminary report. *J Reprod Med.* 1988; 33: 421-2.
 47. Geerts GA, Stuhlinger ME, Basson NJ. Effect of an antifungal denture liner on the saliva yeast count in patients with denture stomatitis: a pilot study. *J Oral Rehabil.* 2008; 35: 664-9.

-
48. Gonçalves AR, Machado AL, Giampaolo ET, Pavarina AC, Vergani CE. Linear dimensional changes of denture base and hard chair-side reline resins after disinfection. *J Appl Polymer Sci.* 2006; 102: 1821-6.
 49. Gümrü B, Kadir T, Uygun-Can B, Ozbayrak S. Distribution and phospholipase activity of *Candida* species in different denture stomatitis types. *Mycopathologia.* 2006; 162: 389-94.
 50. He XY, Meurman JH, Kari K, Rautemaa R, Samaranayake LP. In vitro adhesion of *Candida* species to denture base materials. *Mycoses.* 2006; 49: 80-4.
 51. Hiti K, Walochnik J, Faschinger C, Haller-Schober EM, Aspöck H. Microwave treatment of contact lens cases contaminated with *Acanthamoeba*. *Cornea.* 2001; 20: 467-70.
 52. Iacopino AM, Wathen WF. Oral candidal infection and denture stomatitis: a comprehensive review. *J Am Dent Assoc.* 1992; 123: 46-51.
 53. Ikawa JY, Rossen JS. Reducing bacteria in household sponges. *J Environ Health.* 1999; 62: 1-5.
 54. Jaganathan S, Lin CC. Denture stomatitis: a review of aetiology, diagnosis and management. *Aust Dent J.* 1992; 37: 107-14.
 55. Jeng DK, Kaczmarek KA, Woodworth AG, Balasky G. Mechanism of microwave sterilization in the dry state. *Appl Environ Microbiol.* 1987; 53: 2133-7.
 56. Jorge Júnior J, de Almeida OP, Bozzo L, Scully C, Graner E. Oral mucosal health and disease in institutionalized elderly in Brazil. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1991; 19: 173-5.
 57. Koray M, Ak G, Kurklu E, Issever H, Tanyeri H, Kulekci G et al. Fluconazole and/or hexitidine for management of oral candidiasis associated with denture-induced stomatitis. *Oral Dis.* 2005; 11: 309-13.
 58. Kulak Y, Arikan A, Delibalta N. Comparison of three different treatment methods for generalized denture stomatitis. *J Prosthet Dent.* 1994; 72: 283-8.

-
59. Kuriyama T, Williams DW, Bagg J, Coulter WA, Ready D, Lewis MAO. In vitro susceptibility of oral *Candida* to seven antifungal agents. *Oral Microbiol Immunol.* 2005; 20: 349–53.
 60. Lal K, Santarpia RP 3rd, Pollock JJ, Renner RP. Assessment of antimicrobial treatment of denture stomatitis using an in vivo replica model system: therapeutic efficacy of an oral rinse. *J Prosthet Dent.* 1992; 67: 72-7.
 61. Lamfon H, Al-Karaawi Z, McCullough M, Porter SR, Pratten J. Composition of in vitro denture plaque biofilms and susceptibility to antifungals. *FEMS Microbiol Lett.* 2005; 242: 345-51.
 62. Lamfon H, Porter SR, McCullough M, Pratten J. Susceptibility of *Candida albicans* biofilms grown in a constant depth film fermentor to chlorhexidine, fluconazole and miconazole: a longitudinal study. *J Antimicrob Chemother.* 2004; 53: 383-5.
 63. Lombardi T, Budtz-Jorgensen E. Treatment of denture-induced stomatitis: a review. *Eur J Prosthodont Restor Dent.* 1993; 2: 17-22.
 64. Luo G, Samaranayake LP. *Candida glabrata*, an emerging fungal pathogen, exhibits superior relative cell surface hydrophobicity and adhesion to denture acrylic surfaces compared with *Candida albicans*. *APMIS.* 2002; 110: 601-10.
 65. Lyon JP, Resende MA. Correlation between adhesion, enzyme production, and susceptibility to fluconazole in *Candida albicans* obtained from denture wearers. *Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006; 102: 632-8.
 66. Mathaba LT, Davies G, Warmington JR. The genotypic relationship of *Candida albicans* strains isolated from the oral cavity of patients with denture stomatitis. *J Med Microbiol.* 1995; 42: 372-9.
 67. Mccourtie J, Douglas LJ. Relationship between cell surface composition of *Candida albicans* and adherence to acrylic after growth on different carbon sources. *Infect Immunol.* 1981; 32: 1234-41.

-
68. McMullan-Vogel CG, Jüde HD, Ollert MW, Vogel CW. Serotype distribution and secretory acid proteinase activity of *Candida albicans* isolated from the oral mucosa of patients with denture stomatitis. *Oral Microbiol Immunol.* 1999; 14: 183-9.
 69. Milillo L, Lo Muzio L, Carlino P, Serpico R, Coccia E, Scully C. *Candida*-related denture stomatitis: a pilot study of the efficacy of an amorolfine antifungal varnish. *Int J Prosthodont.* 2005; 18: 55-9.
 70. Mima EG, Pavarina AC, Neppelenbroek KH, Vergani CE, Spolidorio DM, Machado AL. Effect of different exposure times on microwave irradiation on the disinfection of a hard chairside reline resin. *J Prosthodont.* 2008; 17: 312-7.
 71. Minagi S, Miyake Y, Fujioka Y, Tsuru H, Suginaka H. Cell-surface hydrophobicity of *Candida* species as determined by the contact-angle and hydrocarbon-adherence methods. *J Gen Microbiol.* 1986; 132: 1111-5.
 72. Minagi S, Miyake Y, Inagaki K, Tsuru H, Suginaka H. Hydrophobic interaction in *Candida albicans* and *Candida tropicalis* adherence to various denture base resin materials. *Infect Immunol.* 1985; 47: 11-4.
 73. Neppelenbroek KH, Pavarina AC, Palomari Spolidorio DM, Sgavioli Massucato EM, Spolidorio LC, Vergani CE. Effectiveness of microwave disinfection of complete dentures on the treatment of *Candida*-related denture stomatitis. *J Oral Rehabil.* 2008; 35: 836-46.
 74. Neppelenbroek KH, Pavarina AC, Spolidorio DMP, Vergani CE, Mima EGO, Machado AL. Effectiveness of microwave sterilization on three hard chairside reline resins. *Int J Prosthodont.* 2003; 16: 616-20.
 75. Newton AV. Denture sore mouth as possible etiology. *Br Dent J.* 1962; 112: 357-60.
 76. Nikawa H, Iwanaga H, Kameda M, Hamada T. In vitro evaluation of *Candida albicans* adherence to soft denture-lining materials. *J Prosthet Dent.* 1992; 804-8.

-
77. Novais PM, Giampaolo ET, Vergani CE, Machado AL, Pavarina AC, Jorge JH. The occurrence of porosity in reline acrylic resins. Effect of microwave disinfection. *Gerodontology*. 2009; 26: 65-71.
 78. Oliveira EE, Silva SC, Soares AJ, Attux C, Cruvinel B, Silva MRR. Killer toxin sensitivity and production of enzymes by *Candida albicans* isolated from the oral mucosa of patients with cancer. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1998; 31: 523-7.
 79. Olsen CM. Microwaves inhibit bread mold. *Food Eng*. 1965; 37: 51-3.
 80. Pavarina AC, Neppelenbroek KH, Guinesi AS, Vergani CE, Machado AL, Giampaolo ET. Effect of microwave disinfection on the flexural strength of hard chairside reline resins. *J Dent*. 2005; 33: 741-8.
 81. Pavarina AC, Pizzolitto AC, Machado AL, Vergani CE, Giampaolo ET. An infection control protocol: effectiveness of immersion solutions to reduce the microbial growth on dental prostheses. *J Oral Rehabil*. 2003; 30: 532-6.
 82. Pinto E, Ribeiro IC, Ferreira NJ, Fortes CE, Fonseca PA, Figueiral MH. Correlation between enzyme production, germ tube formation and susceptibility to fluconazole in *Candida* species isolated from patients with denture-related stomatitis and control individuals. *J Oral Pathol Med*. 2008; 37: 587-92.
 83. Pires FR, Santos EBD, Bonan PRF, de Almeida OP, Lopes MA. Denture stomatitis and salivary *Candida* in Brazilian edentulous patients. *J Oral Rehabil*. 2002; 29: 1115-9.
 84. Polyzois GL. Denture cleansing habits. A survey. *Aust Dent J*. 1983; 8: 171-3.
 85. Ribeiro DG, Pavarina AC, Dovigo LN, Spolidorio DM, Giampaolo ET, Vergani CE. Denture disinfection by microwave irradiation: A randomized clinical study. *J Dent*. 2009; 37: 666-72.

-
86. Ribeiro DG, Pavarina AC, Machado AL, Giampaolo ET, Vergani CE. Flexural strength and hardness of reline and denture base acrylic resins after different exposure times of microwave disinfection. *Quintessence Int.* 2008; 39: 833-40.
 87. Rohrer MD, Terry MA, Bulard RA, Graves DC, Taylor EM. Microwave sterilization of hydrophilic contact lenses. *Am J Ophthalmol.* 1986; 101: 49-57.
 88. Rohrer MD, Bulard RA. Microwave sterilization. *J Am Dent Assoc.* 1985; 110: 194-8.
 89. Rosaspina, S. Salvatorelli G, Anzanel D, Bovolenta R. Effect of microwave radiation on *Candida albicans*. *Microbios.* 1994; 78: 55-9.
 90. Samaranayake LP. Host factors and oral candidosis. In: Samaranayake LP, MacFarlane TW. *Oral candidosis*. London: Wright; 1990. p. 66-132.
 91. Sanitá PV, Vergani CE, Giampaolo ET, Pavarina AC, Machado AL. Growth of *Candida* species on complete dentures: effect of microwave disinfection *Mycoses.* 2009; 52: 154-60.
 92. Sato M, Tsuchiya H, Akagiri M, Takagi N, Iinuma M. Growth inhibition of oral bacteria related to denture stomatitis by anti-candidal chalcones. *Aust Dent J.* 1997; 42: 343-6.
 93. Seo RS, Vergani CE, Giampaolo ET, Pavarina AC, Reis JMN, Machado AL. Effect of disinfection by microwave irradiation on the strength of intact and relined denture bases and the water sorption and solubility of denture base and reline materials. *J Appl Polym Sci.* 2008; 107: 300-8.
 94. Seo RS, Vergani CE, Pavarina AC, Compagnoni MA, Machado AL. Influence of microwave disinfection on the dimensional stability of intact and relined acrylic resin denture bases. *J Prosthet Dent.* 2007; 98: 216-23.
 95. Ship JA, Pillemer SR, Baum BJ. Xerostomia and the geriatric patient. *J Am Geriatr Soc.* 2002; 50: 535-43.

-
96. Silva MM, Vergani CE, Giampaolo ET, Neppelenbroek KH, Spolidorio DMP, Machado AL. Effectiveness of microwave irradiation on the disinfection of complete dentures. *Int J Prosthodont*. 2006; 3: 151-6.
 97. Sumi Y, Miura H, Sunakawa M, Michiwaki Y, Sakagami N. Colonization of denture plaque by respiratory pathogens in dependent elderly. *Gerodontology*. 2002; 19: 25-9.
 98. Torres SR, Peixoto CB, Caldas DM, Silva EB, Akiti T, Nucci M, et al. Relationship between salivary flow rates and *Candida* counts in subjects with xerostomia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2002; 93: 149-54.
 99. Vanden Abbeele A, de Meel H, Ahariz M, Perraudin JP, Beyer I, Courtois P. Denture contamination by yeasts in the elderly. *Gerodontology*. 2008; 25: 222-8.
 100. Vela GR, Wu JF. Mechanism of lethal action of 2450 Mhz radiation on microorganisms. *Appl Environ Microbiol*. 1979; 37: 550-3.
 101. Verran J, Maryan CJ. Retention of *Candida albicans* on acrylic resin and silicone of different surface topography. *J Prosthet Dent*. 1997; 77: 535-9.
 102. Waltimo T, Tanner J, Vallittu P, Haapasalo M. Adherence of *Candida albicans* to the surface of polymethylmethacrylate--E glass fiber composite used in dentures. *Int J Prosthodont*. 1999; 12: 83-6.
 103. Watanabe K, Kakita Y, Kashige N, Miake F, Tsukiji T. Effect of ionic strength on the inactivation of micro-organisms by microwave irradiation. *Lett Appl Microbiol*. 2000; 31: 52-6.
 104. Webb BC, Thomas CJ, Harty DWS, Willcox MDP. Effectiveness of two methods of denture sterilization. *J Oral Rehabil*. 1998; 25: 416-23.
 105. Webb BC, Thomas CJ, Whittle T. A 2-year study of *Candida*-associated denture stomatitis treatment in aged care subjects. *Gerodontology*. 2005; 22: 168-76.

-
106. Wilson J. The etiology, diagnosis and management of denture stomatitis. Br Dent J. 1998; 185: 380-4.
107. Yeo CB, Watson IA, Stewart-Tull DE, Koh VH. Heat transfer analysis of *staphylococcus aureus* on stainless steel with microwave radiation. J Appl Microbiol. 1999; 87: 396-401.

APÊNDICES

APÊNDICE 1

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(GRUPO I – PACIENTES TRATADOS COM NISTATINA)

Por esse instrumento particular declaro, para os fins éticos e legais, que eu, (nome) _____, (nacionalidade) _____, portador do RG n. _____, C.P.F. n. _____ residente à _____, na cidade de _____, Estado de _____, concordo voluntariamente em participar da pesquisa **“DESINFECÇÃO DE PRÓTESES TOTAIS POR MICRO-ONDAS. EFEITO DA FREQUÊNCIA DE IRRADIAÇÃO NO TRATAMENTO DA ESTOMATITE PROTÉTICA”**, sob responsabilidade do cirurgião-dentista Carlos Eduardo Vergani e de sua orientada, a cirurgiã-dentista Mariana Montenegro Silva, que executará a pesquisa. Declaro que tomei ciência e que fui esclarecido de maneira a não restarem quaisquer dúvidas sobre a minha participação no estudo, de acordo com os termos abaixo relacionados:

1 – Fui devidamente esclarecido sobre os conceitos de estomatite protética e, portanto conscientizado que sou portador dessa doença. Fui esclarecido que a referida pesquisa tem por objetivo avaliar a efetividade de métodos de tratamento da estomatite protética. Para tanto, serei submetido a exames clínicos que possibilitarão constatar o estado atual de minha doença, bem como os efeitos do tratamento ao qual me submeterei. Estou ciente que serei medicado com um antifúngico, Nistatina Suspensão Oral, utilizado para o tratamento de estomatite protética. Após a remoção da prótese total, um conta-gotas do medicamento deverá ser bochechado por um minuto antes de ser cuspidos. A aplicação do medicamento deverá ser feita quatro vezes ao dia, após a limpeza da prótese, por um período de quinze dias. Estou ciente que, com a utilização desse medicamento, há possibilidade de ocorrer náuseas, vômitos ou diarreia e, raramente, reação alérgica. Fui também esclarecido que não receberei nenhuma forma de tratamento odontológico como parte do estudo.

2 - Fui esclarecido que os pacientes participantes desta pesquisa não serão prejudicados, uma vez que os tratamentos que serão realizados são bastante estudados e já foram realizados em seres vivos. Fui também conscientizado da utilização da medicação tanto quanto à quantidade, forma e

período de utilização. Fui orientado quanto à importância dos meus retornos para avaliação do tratamento, e também da necessidade da minha colaboração na higienização das minhas próteses com creme dental e escova, além de não utilizá-las durante o sono. Estou ciente de que, durante os exames, o operador estará protegido por meio da utilização de luvas descartáveis, máscara, gorro e óculos, e todo o instrumental clínico será esterilizado. Receberei informações, orientações e tratamento necessários caso não ocorra melhora da minha doença após um mês do início do tratamento.

3 – Estou ciente que deverei retornar à Faculdade de Odontologia de Araraquara 5 vezes, e que não serão cobertas as despesas com o transporte.

4 – Estou ciente que serei esclarecido durante todo o decorrer da pesquisa sobre quaisquer dúvidas relacionadas ao tratamento e que possuo plena liberdade para desistir desta pesquisa, retirando meu consentimento a qualquer momento, sem sofrer nenhuma penalização.

5 – Autorizo, para os devidos fins, o uso, a divulgação e publicação em revistas científicas brasileiras ou estrangeiras; dos dados obtidos com a pesquisa. Recebi a garantia do sigilo de minha identidade, assegurando a minha privacidade.

6 - Caso haja qualquer problema odontológico durante minha participação na pesquisa, terei plena liberdade de contatar o pesquisador responsável, Prof. Dr. Carlos Eduardo Vergani, pelo telefone (16) 3301-6410.

7 - Além disso, estou ciente que possuo plena liberdade de consultar o Comitê de Ética em Pesquisa, para qualquer informação adicional em relação à pesquisa da qual participo, pelo telefone (16) 3301-6431.

Desta forma, uma vez tendo lido e entendido tais esclarecimentos, dato e assino esse termo de consentimento, por estar de pleno acordo com o teor do mesmo.

Araraquara, de de 200...

Assinatura do paciente

Prof. Dr. Carlos Eduardo Vergani
Pesquisador responsável

Mariana Montenegro Silva (orientada)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(GRUPO II – PACIENTES TRATADOS COM MICRO-ONDAS UMA VEZ POR SEMANA DURANTE 15 DIAS)

Por esse instrumento particular declaro, para os fins éticos e legais, que eu, (nome) _____, (nacionalidade) _____, portador do RG n. _____, C.P.F.n. _____ residente à _____, na cidade de _____, Estado de _____, concordo voluntariamente em participar da pesquisa **“DESINFECÇÃO DE PRÓTESES TOTAIS POR MICRO-ONDAS. EFEITO DA FREQUÊNCIA DE IRRADIAÇÃO NO TRATAMENTO DA ESTOMATITE PROTÉTICA”**, sob responsabilidade do cirurgião-dentista Carlos Eduardo Vergani e de sua orientada, a cirurgiã-dentista Mariana Montenegro Silva, que executará a pesquisa. Declaro que tomei ciência e que fui esclarecido de maneira a não restarem quaisquer dúvidas sobre a minha participação no estudo, de acordo com os termos abaixo relacionados:

1 – Fui devidamente esclarecido sobre os conceitos de estomatite protética e, portanto conscientizado que sou portador dessa doença. Fui esclarecido que a referida pesquisa tem por objetivo avaliar a efetividade de métodos de tratamento da estomatite protética. Para tanto, serei submetido a exames clínicos que possibilitarão constatar o estado atual de minha doença, bem como os efeitos do tratamento ao qual me submeterei. Fui também esclarecido que minha prótese será submetida ao tratamento com as micro-ondas, 1 (uma) vez por semana durante 15 (quinze) dias. Não receberei nenhuma forma de tratamento odontológico como parte do estudo, ao menos que minha prótese seja alterada durante a realização do tratamento proposto.

2 - Fui esclarecido que os pacientes participantes desta pesquisa não serão prejudicados, uma vez que os tratamentos que serão realizados são bastante estudados e já foram realizados em seres vivos. Fui também conscientizado de que o tratamento pela irradiação por micro-ondas vai ser realizado apenas em minha prótese total superior e não traz riscos à minha saúde. Fui orientado quanto à importância dos meus retornos para o tratamento das próteses em micro-ondas. Além disso, devo retornar periodicamente para avaliação de minha doença. Também fui orientado a higienizar minhas próteses com creme dental e escova e de não utilizá-las durante o sono. Estou

ciente de que, durante os exames, o operador estará protegido por meio da utilização de luvas descartáveis, máscara, gorro e óculos, e todo o instrumental clínico será esterilizado. Receberei informações, orientações e tratamento necessários caso não ocorra melhora da minha doença após quinze dias do início do tratamento.

3 – Estou ciente que deverei retornar à Faculdade de Odontologia de Araraquara 6 vezes, e que não serão cobertas as despesas com o transporte.

4 - Estou ciente que serei esclarecido durante todo o decorrer da pesquisa sobre quaisquer dúvidas relacionadas à metodologia e que possuo plena liberdade para desistir da referida pesquisa, retirando meu consentimento a qualquer momento, sem sofrer nenhuma penalização.

5 – Autorizo, para os devidos fins, o uso, a divulgação e publicação em revistas científicas brasileiras ou estrangeiras dos dados obtidos com a pesquisa. Recebi a garantia do sigilo de minha identidade, assegurando a minha privacidade.

6 - Caso haja qualquer problema odontológico durante minha participação na pesquisa, terei plena liberdade de contatar o pesquisador responsável, Prof. Dr. Carlos Eduardo Vergani, pelo telefone (16) 3301-6410.

7 - Além disso, estou ciente que possuo plena liberdade de consultar o Comitê de Ética em Pesquisa, para qualquer informação adicional em relação à pesquisa da qual participo, pelo telefone (16) 3301-6431.

Desta forma, uma vez tendo lido e entendido tais esclarecimentos, lido e assino esse termo de consentimento, por estar de pleno acordo com o teor do mesmo.

Araraquara, de de 200...

Assinatura do paciente

Prof. Dr. Carlos Eduardo Vergani

Pesquisador responsável

Mariana Montenegro Silva (orientada)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(GRUPO III – PACIENTES TRATADOS COM MICRO-ONDAS TRÊS VEZES POR SEMANA DURANTE 15 DIAS)

Por esse instrumento particular declaro, para os fins éticos e legais, que eu, (nome) _____, (nacionalidade) _____, portador do RG n. _____, C.P.F.n. _____ residente à _____, na cidade de _____, Estado de _____, concordo voluntariamente em participar da pesquisa **“DESINFECÇÃO DE PRÓTESES TOTAIS POR MICRO-ONDAS. EFEITO DA FREQUÊNCIA DE IRRADIAÇÃO NO TRATAMENTO DA ESTOMATITE PROTÉTICA”**, sob responsabilidade do cirurgião-dentista Carlos Eduardo Vergani e de sua orientada, a cirurgiã-dentista Mariana Montenegro Silva, que executará a pesquisa. Declaro que tomei ciência e que fui esclarecido de maneira a não restarem quaisquer dúvidas sobre a minha participação no estudo, de acordo com os termos abaixo relacionados:

1 – Fui devidamente esclarecido sobre os conceitos de estomatite protética e, portanto conscientizado que sou portador dessa doença. Fui esclarecido que a referida pesquisa tem por objetivo avaliar a efetividade de métodos de tratamento da estomatite protética. Para tanto, serei submetido a exames clínicos que possibilitarão constatar o estado atual de minha doença, bem como os efeitos do tratamento ao qual me submeterei. Fui também esclarecido que minha prótese será submetida ao tratamento com as micro-ondas, 3 (três) vezes por semana durante 15 (quinze) dias. Não receberei nenhuma forma de tratamento odontológico como parte do estudo, ao menos que minha prótese seja alterada durante a realização do tratamento proposto.

2 - Fui esclarecido que os pacientes participantes desta pesquisa não serão prejudicados, uma vez que os tratamentos que serão realizados são bastante estudados e já foram realizados em seres vivos. Fui também conscientizado de que o tratamento pela irradiação por micro-ondas vai ser realizado apenas em minha prótese total superior e não traz riscos à minha saúde. Fui orientado quanto à importância dos meus retornos para o tratamento das próteses em micro-ondas. Além disso, devo retornar periodicamente para avaliação de minha doença. Também fui orientado a higienizar minhas próteses com creme dental e escova e de não utilizá-las durante o sono. Estou

ciente de que, durante os exames, o operador estará protegido por meio da utilização de luvas descartáveis, máscara, gorro e óculos, e todo o instrumental clínico será esterilizado. Receberei informações, orientações e tratamento necessários caso não ocorra melhora da minha doença após quinze dias do início do tratamento.

3 – Estou ciente que deverei retornar à Faculdade de Odontologia de Araraquara 9 vezes, e que não serão cobertas as despesas com o transporte.

4 - Estou ciente que serei esclarecido durante todo o decorrer da pesquisa sobre quaisquer dúvidas relacionadas à metodologia e que possuo plena liberdade para desistir da referida pesquisa, retirando meu consentimento a qualquer momento, sem sofrer nenhuma penalização.

5 – Autorizo, para os devidos fins, o uso, a divulgação e publicação em revistas científicas brasileiras ou estrangeiras dos dados obtidos com a pesquisa. Recebi a garantia do sigilo de minha identidade, assegurando a minha privacidade.

6 - Caso haja qualquer problema odontológico durante minha participação na pesquisa, terei plena liberdade de contatar o pesquisador responsável, Prof. Dr. Carlos Eduardo Vergani, pelo telefone (16) 3301-6410.

7 - Além disso, estou ciente que possuo plena liberdade de consultar o Comitê de Ética em Pesquisa, para qualquer informação adicional em relação à pesquisa da qual participo, pelo telefone (16) 3301-6431.

Desta forma, uma vez tendo lido e entendido tais esclarecimentos, lido e assino esse termo de consentimento, por estar de pleno acordo com o teor do mesmo.

Araraquara, de de 200...

Assinatura do paciente

Prof. Dr. Carlos Eduardo Vergani

Pesquisador responsável

Mariana Montenegro Silva (orientada)

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA
CLÍNICA DE PRÓTESE

Data: ___ / ___ / ____

Nome: _____

Idade: _____ Data de nascimento: ___ / ___ / ____

Naturalidade: _____ Nacionalidade: _____

Estado Civil: _____ Sexo: _____ Raça: _____

Profissão: _____ Fone profissional: (___) _____

Endereço completo: _____

Cidade: _____ Estado: _____ Fone: (___) _____

QUESTIONÁRIO DE SAÚDE GERAL

Está tomando algum medicamento? () sim () não

1. () Hipoglicemiantes 2. () Anticoncepcionais 3. () Antihipertensivos
4. () Insulina 5. () Antialérgicos 6. () Antibióticos 7. () Corticóides
8. () Anticoagulantes 9. () Psiquiátricos 10. () Analgésicos
11. () Anticonvulsivantes 12. Outros 13. () Não soube relatar

Qual (is)?

Apresenta ou apresentou algum problema de saúde relacionado aos seguintes sistemas? () sim () não

1. () Cardiovascular 2. () Endócrino 3. () Genito-urinário
4. () Hematológico 5. () Neurológico 6. () Psiquiátrico
7. () imunológico 8. () Respiratório 9. () Gastro-intestinal
10. () Músculo/esquelético 11. () Pele
12. () Doenças infecto-contagiosas 13. () Outros
14. () Não apresenta problemas 16) () História-familiar

Qual (is)?

Vícios:

1. Tabaco () sim () não

Fuma () Masca () Tipo _____

Há qto tempo? _____ Qto/dia/semana? _____

Ex-tabagista? Há qto deixou? _____ Qto/dia/semana?

2. Álcool () sim () não

Tipo _____

Há qto tempo? _____ Qto/dia/semana? _____

Ex-alcoolista? Há qto deixou? _____ Qto/dia/semana?

3. Outras drogas? () sim () não

Qto/dia/semana? _____

QUESTIONÁRIO DE SAÚDE BUCAL

1. Sente a boca seca? () sim () não

2. Usa prótese removível?

Superior () sim () não Tipo : _____

Inferior () sim () não Tipo : _____

3. Há quanto usa prótese?
 Superior _____
 Inferior _____
4. Há quanto tempo é desdentado?
 Superior _____
 Inferior _____
5. Há quanto tempo usa a (s) prótese (s) atual (is) ?
 Superior: _____
 Inferior: _____
6. Frequência de uso: Contínuo () Esporádico ()
 Retira pra dormir? () sim () não
7. Condições da (s) prótese (s) atual (is)?
 Suporte Adequado () Inadequado ()
 Retenção Adequada () Inadequada ()
 Estabilidade Adequada () Inadequada ()
 Adaptação Adequada () Inadequada ()
8. Condições de higienização da (s) prótese (s)
 Superior Boa () Satisfatória () Regular () Insatisfatória ()
 Placa () sim () não Cálculo () sim () não
 Inferior Boa () Satisfatória () Regular () Insatisfatória ()
 Placa () sim () não Cálculo () sim () não
9. Condições de higiene bucal
 Escovação da língua () sim () não
 Higiene Bucal Boa () Satisfatória () Regular () Insatisfatória ()
10. Estomatite protética
 Tipo de estomatite protética : I () II () III ()
 Sintomatologia dolorosa () sim () não
 Glossite rombóide mediana () sim () não
 Queilite angular () sim () não

APÉNDICE 2

Tabela A1 – Valores de logaritmo na base 10 de ufc/mL de *Candida* spp. para a mucosa palatina e superfície interna da prótese total superior dos pacientes do Grupo I (Controle) antes de iniciar o tratamento (0 dia) e no final do tratamento (15 dias)

Paciente	Inicial		15 dias	
	Palato	Prótese	Palato	Prótese
1	4,08	4,08	0,00	3,97
2	4,08	4,08	0,00	0,00
3	4,08	4,08	0,00	0,00
4	3,38	4,68	0,00	0,00
5	2,75	4,80	2,08	3,88
6	0,00	3,24	0,00	0,00
7	0,00	3,46	0,00	1,90
8	0,00	3,96	1,30	2,94
9	3,37	5,61	1,60	2,90
10	1,60	3,97	0,00	1,60
11	2,30	4,68	0,00	0,00
12	0,00	4,43	0,00	0,00
13	1,60	4,29	0,00	3,30
14	2,94	4,47	0,00	0,00
15	0,00	3,64	0,00	2,75
16	2,94	4,60	0,00	0,00
17	0,00	3,27	0,00	0,00
18	1,60	5,06	0,00	5,51
19	1,60	2,88	0,00	0,00
20	2,75	5,54	0,00	2,78

Tabela A2 – Valores de logaritmo na base 10 de ufc/mL de *Candida* spp. para a mucosa palatina e superfície interna da prótese total superior dos pacientes do Grupo I (Controle) após 30, 60 e 90 dias do início do tratamento

Paciente	30 dias		60 dias		90 dias	
	Palato	Prótese	Palato	Prótese	Palato	Prótese
1	X	X	X	X	X	X
2	0,00	0,00	1,90	4,06	0,28	0,61
3	0,00	3,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4	4,80	4,24	0,00	4,36	0,00	4,46
5	2,60	5,12	0,00	4,17	3,39	4,17
6	0,00	3,25	4,52	2,64	1,60	3,77
7	0,00	5,16	0,00	2,56	0,00	3,05
8	0,00	2,56	3,44	5,32	2,68	6,68
9	2,38	4,53	3,55	5,64	2,38	5,55
10	0,00	3,33	0,00	3,81	1,90	3,13
11	0,00	0,00	1,60	1,90	0,00	4,05
12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
13	0,00	3,69	1,90	5,31	X	X
14	2,90	5,55	2,30	4,66	0,00	4,27
15	0,00	1,90	X	X	X	X
16	2,75	4,70	X	X	X	X
17	0,00	0,00	0,00	2,08	1,60	3,70
18	0,00	3,33	1,60	3,37	0,00	0,00
19						
20	0,00	0,00	0,00	2,08	0,00	0,00
	0,00	4,24	3,20	6,85	2,81	5,79

Tabela A3 – Valores de logaritmo na base 10 de ufc/mL de *Candida* spp. para a mucosa palatina e superfície interna da prótese total superior dos pacientes do Grupo II antes de iniciar o tratamento (0 dia) e no final do tratamento (15 dias)

Paciente	Inicial		15 dias	
	Palato	Prótese	Palato	Prótese
1	0,00	3,63	0,00	0,00
2	0,00	3,69	0,00	0,00
3	0,00	2,72	0,00	0,00
4	0,00	3,47	0,00	0,00
5	0,00	3,71	1,60	0,00
6	0,00	4,53	0,00	0,00
7	2,30	4,66	0,00	2,30
8	0,00	4,92	1,60	0,00
9	3,62	6,37	3,15	3,62
10	1,60	3,41	0,00	1,60
11	1,60	4,42	0,00	1,60
12	1,90	5,16	0,00	1,90
13	0,00	4,76	0,00	0,00
14	0,00	4,27	0,00	0,00
15	1,60	4,59	0,00	1,60
16	1,60	4,05	0,00	1,60
17	0,00	2,08	0,00	0,00
18	2,20	4,56	2,45	2,20
19	0,00	4,52	1,60	0,00
20	2,68	6,37	0,00	2,68

Tabela A4 – Valores de logaritmo na base 10 de ufc/mL de *Candida* spp. para a mucosa palatina e superfície interna da prótese total superior dos pacientes do Grupo II após 30, 60 e 90 dias do início do tratamento

Paciente	30 dias		60 dias		90 dias	
	Palato	Prótese	Palato	Prótese	Palato	Prótese
1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2	0,00	2,08	0,00	0,00	0,00	4,26
3	1,90	4,45	1,60	4,18	1,90	3,56
4	0,00	0,00	4,08	4,18	1,90	4,53
5	1,60	3,38	0,00	0,00	0,00	3,74
6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7	0,00	2,08	X	X	X	X
8	1,60	3,78	X	X	X	X
9	3,08	3,83	3,25	5,42	3,06	3,30
10	0,00	2,64	2,88	2,86	0,00	0,00
11	0,00	3,16	2,08	5,67	1,60	4,52
12	2,45	3,67	3,41	3,00	X	X
13	0,00	5,75	1,90	5,58	2,51	3,82
14	0,00	0,00	0,00	2,96	0,00	2,38
15	0,00	0,00	0,00	3,00	2,51	4,05
16	1,60	4,21	0,00	4,55	1,60	4,45
17	0,00	0,00	2,20	2,30	0,00	2,60
18	2,51	6,08	0,00	5,71	0,00	4,24
19	2,60	2,90	2,72	2,75	0,00	4,15
20	2,90	4,61	3,12	4,64	2,75	5,54

Tabela A5 – Valores de logaritmo na base 10 de ufc/mL de *Candida* spp. para a mucosa palatina e superfície interna da prótese total superior dos pacientes do Grupo III antes de iniciar o tratamento (0 dia) e no final do tratamento (15 dias)

Paciente	Inicial		15 dias	
	Palato	Prótese	Palato	Prótese
1	4,44	5,45	0,00	0,00
2	0,00	4,41	0,00	0,64
3	1,60	4,24	0,00	0,63
4	2,08	5,52	0,00	0,74
5	2,56	5,66	0,41	0,75
6	1,60	4,85	0,00	0,00
7	2,51	4,35	0,00	0,00
8	3,00	4,55	2,30	1,60
9	0,00	3,19	0,00	0,00
10	2,30	4,49	0,00	0,00
11	0,00	4,20	2,30	4,18
12	1,90	4,66	0,00	0,00
13	0,00	5,48	0,00	0,00
14	1,60	4,24	0,00	0,00
15	2,08	0,00	2,94	5,39
16	0,00	4,31	0,00	2,51
17				
18	1,60	3,06	1,60	1,60
19	1,60	4,00	0,00	3,12
20	2,08	5,54	0,00	0,00
	5,08	4,37	5,24	3,90

Tabela A6 – Valores de logaritmo de ufc/mL de *Candida* spp. para a mucosa palatina e superfície interna da prótese total superior dos pacientes do G III após 30, 60 e 90 dias do seu início.

Paciente	30 dias		60 dias		90 dias	
	Palato	Prótese	Palato	Prótese	Palato	Prótese
1	1,90	4,35	3,33	6,70	3,25	4,39
2	0,00	3,84	3,11	3,47	1,90	3,34
3	0,00	4,90	X	X	X	X
4	2,20	5,33	3,57	5,61	X	X
5	3,20	4,91	2,30	4,76	2,56	4,90
6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7	0,00	2,94	0,00	2,81	0,00	4,74
8	2,72	6,46	3,33	4,78	5,16	6,47
9	1,60	4,39	0,00	4,73	2,78	4,26
10	0,00	0,00	0,00	0,00	3,02	3,57
11	2,08	5,15	0,00	4,60	2,20	4,56
12	1,60	0,00	1,90	4,61	1,60	4,46
13	0,00	1,90	0,00	5,06	1,60	4,77
14	0,00	1,60	0,00	4,17	0,00	5,28
15	2,92	5,51	1,60	4,49	1,90	4,68
16	1,60	0,00	0,00	3,06	0,00	3,37
17	2,60	3,26	1,60	4,16	1,90	4,68
18	1,90	3,41	0,00	3,25	3,25	2,75
19	0,00	0,00	0,00	3,73	1,90	5,70
20	3,86	4,31	4,47	4,47	4,06	4,68

Tabela A7 – Análises qualitativas das fotografias intrabucais da mucosa palatina dos pacientes do Grupo I

N	0 dia		15 dias		30 dias		60 dias		90 dias	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
1	3	3	2	2	1	1	1	1	1	1
2	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2
3	2	2	2	2	2	2	2	2	1	0
4	2	2	2	2	0	0	1	1	1	1
5	2	2	2	2	1	1	1	1	0	0
6	2	2	1	1	2	2	2	2	3	3
7	3	3	1	1	0	0	0	0	2	2
8	2	2	0	0	0	0	0	0	1	1
9	2	2	0	0	0	0	2	2	x	x
10	2	2	0	0	2	2	2	2	2	2
11	2	2	2	2	2	2	2	2	x	x
12	2	2	2	2	2	2	2	2	x	x
13	2	2	3	2	3	3	3	3	x	x
14	2	2	2	2	1	1	2	2	1	1
15	2	2	1	1	0	0	2	2	0	0
16	2	2	1	1	2	2	1	1	2	2
17	2	0	0	0	0	0	2	2	2	2

Tabela A8 – Análises qualitativas das fotografias intrabucais da mucosa palatina dos pacientes do Grupo II

N	0 dia		15 dias		30 dias		60 dias		90 dias	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
1	2	2	0	0	0	0	0	0	1	1
2	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0
3	2	2	1	1	2	2	0	0	0	0
4	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
5	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
6	2	2	1	1	1	1	0	0	0	0
7	2	2	0	0	0	0	X	x	x	x
8	3	3	3	3	3	3	2	2	x	x
9	3	3	3	3	1	1	1	2	2	2
10	2	2	2	2	1	1	2	2	2	2
11	2	2	0	0	2	2	1	1	0	0
12	2	2	2	2	2	2	2	2	x	x
13	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0
14	2	2	1	1	1	1	0	0	0	0
15	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1
16	2	2	0	0	0	0	2	2	1	1
17	2	2	1	1	2	2	0	0	2	2
18	2	2	2	2	0	0	2	2	2	2
19	1	1	0	0	0	0	2	2	1	1
20	2	2	0	0	1	1	2	2	2	2

Tabela A9 – Análises qualitativas das fotografias intrabucais da mucosa palatina dos pacientes do Grupo III

N	0 dia		15 dias		30 dias		60 dias		90 dias	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
1	3	3	0	0	2	2	3	3	3	3
2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1
3	2	2	2	2	2	2	X	x	x	x
4	2	2	0	0	2	2	2	2	x	x
5	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3
6	2	2	1	1	0	0	0	0	0	0
7	2	2	0	0	1	1	1	1	1	1
8	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
9	2	2	1	1	2	2	0	0	0	0
10	3	3	0	0	0	0	2	2	2	2
11	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2
12	2	2	2	2	1	1	2	2	1	1
13	2	2	1	1	1	1	1	1	0	0
14	2	2	2	2	0	0	2	1	2	2
15	2	2	1	1	2	2	1	1	0	0
16	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1
17	2	2	1	1	0	0	2	2	2	2
18	2	2	0	0	2	2	1	1	0	0
19	2	2	1	1	0	0	1	1	2	2
20	2	0	0	0	0	0	2	2	2	1

Tabela A10 – Identificações das espécies de *Candida* spp. para a mucosa palatina e superfície interna da prótese total superior dos pacientes do G I (Grupo Controle), antes de iniciar o tratamento (0 dia) e no seu término (15 dias)

Paciente	Inicial		15 dias	
	Palato	Prótese	Palato	Prótese
1	<i>C.albicans</i> <i>C.glabrata</i> <i>C.tropicalis</i>	<i>C.glabrata</i> <i>C.tropicalis</i>	X	X
2	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>		
3	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>		<i>C.albicans</i>
4	<i>C.albicans</i> <i>C.tropicalis</i>	<i>C.albicans</i> <i>C.tropicalis</i>	<i>C.tropicalis</i>	<i>C. albicans</i>
5	<i>C.albicans</i> <i>C.tropicalis</i>	<i>C.albicans</i> <i>C.tropicalis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
6	–	<i>C.albicans</i>	–	–
7	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	–	<i>C.albicans</i>
8	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i> <i>C.guilliermondi</i>	<i>C.albicans</i> <i>C.guilliermondi</i>
9	<i>C.albicans</i> <i>C.glabrata</i>	<i>C.albicans</i> <i>C.glabrata</i>	–	<i>C.albicans</i> <i>C.glabrata</i>
10	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	–	<i>C.albicans</i>
11	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	–	–
12	–	<i>C.albicans</i>	–	–
13	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
14	<i>C.albicans</i> <i>C.glabrata</i> <i>C.tropicalis</i>	<i>C.albicans</i> <i>C.glabrata</i> <i>C.tropicalis</i>	–	–
15	–	<i>C.albicans</i>	–	<i>C.albicans</i>
16	<i>C.albicans</i> <i>C.glabrata</i> <i>C.tropicalis</i> <i>C. parapsilosis</i>	<i>C.albicans</i> <i>C.glabrata</i> <i>C.tropicalis</i>	<i>C.glabrata</i>	<i>C.albicans</i>
17	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	–
18	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
19	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>	–	–
20	<i>C.albicans</i> <i>C. parapsilosis</i> <i>C. lusitane</i>	<i>C.albicans</i> <i>C. parapsilosis</i> <i>C. lusitane</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i> <i>C.glabrata</i>

Tabela A11 – Identificações das espécies de *Candida* spp. para a mucosa palatina e superfície interna da prótese total superior dos pacientes do G I (Grupo Controle) após 30, 60 e 90 dias do início do tratamento

Paciente	30 dias		60 dias		90 dias	
	Palato	Prótese	Palato	Prótese	Palato	Prótese
1	X	X	X	X	X	X
2	–	–	–	–	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. tropicalis</i>
3	–	<i>C. albicans</i>				
4	–	<i>C. albicans</i> <i>C. tropicalis</i>	<i>C. albicans</i> <i>C.</i> <i>tropicalis</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. tropicalis</i>
5	<i>C. albicans</i> <i>C. tropicalis</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. tropicalis</i>	<i>C. albicans</i> <i>C.</i> <i>tropicalis</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. tropicalis</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. tropicalis</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. tropicalis</i>
6	–	<i>C. albicans</i>	–	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i>
7	–	<i>C. albicans</i>	–	<i>C. albicans</i>	–	<i>C. albicans</i>
8	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
9	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i>
10	–	<i>C. albicans</i>	–	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
11	–	–	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
12	–	–	–	–	–	–
13	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	X	X	X	X
14	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i> <i>C. tropicalis</i>	–	<i>C. albicans</i> <i>C. tropicalis</i>
15	–	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	X	X
16	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i> <i>C. tropicalis</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i> <i>C. tropicalis</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i> <i>C. tropicalis</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i>	X	X
17	–	–	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	–	<i>C. albicans</i>
18	–	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	–	–
19	<i>C. albicans</i> <i>C.</i> <i>parapsilosis</i>	–	–	<i>C. albicans</i>	–	–
20	–	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>

Tabela A12 – Identificações das espécies de *Candida* spp. para a mucosa palatina e superfície interna da prótese total superior dos pacientes do G II, antes de iniciar o tratamento (0 dia) e no seu término (15 dias)

Paciente	Inicial		15 dias	
	Palato	Prótese	Palato	Prótese
1	–	<i>C. albicans</i>	–	–
2	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	–	<i>C. rugosa</i>
3	–	<i>C. albicans</i>	–	–
4	–	<i>C. albicans</i> <i>C. tropicalis</i>	–	–
5	<i>C. glabrata</i> <i>C. colliculosa</i>	<i>C. albicans</i>	–	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i>
6	–	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i>	–	–
7	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	–	<i>C. albicans</i>
8	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	–	<i>C. albicans</i>
9	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i> <i>C. tropicalis</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i> <i>C. tropicalis</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i> <i>C. tropicalis</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i> <i>C. tropicalis</i>
10	–	<i>C. albicans</i>	–	–
11	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	–	<i>C. albicans</i>
12	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	–	<i>C. albicans</i>
13	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i>	–	<i>C. albicans</i>
14	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	–	–
15	–	<i>C. albicans</i>	–	–
16	–	<i>C. albicans</i> <i>C. tropicalis</i>	–	–
17	–	<i>C. albicans</i>	–	–
18	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>
19	–	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	–
20	<i>C. albicans</i> <i>C. tropicalis</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. tropicalis</i>	–	–

Tabela A13 – Identificações das espécies de *Candida* spp. para a mucosa palatina e superfície interna da prótese total superior dos pacientes do G II após 30, 60 e 90 dias do início do tratamento

Paciente	30 dias		60 dias		90 dias	
	Palato	Prótese	Palato	Prótese	Palato	Prótese
1	–	–	–	–	–	–
2	–	<i>C. parapsilosis</i>	–	–	–	<i>C. albicans</i>
3	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
4	–	–	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>
5	–	<i>C. albicans</i>	–	–	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
6	–	–	–	–	–	–
7	–	<i>C. intermedia</i>	X	X	X	X
8	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	X	X	X	X
9	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i> <i>C. tropicalis</i> <i>C. parapsilosis</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i> <i>C. tropicalis</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i> <i>C. tropicalis</i> <i>C. parapsilosis</i>
10	–	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	–	–
11	–	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	–	<i>C. albicans</i>
12	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i>	X	X
13	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. parapsilosis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
14	–	–	–	<i>C. tropicalis</i>	–	<i>C. tropicalis</i>
15	–	–	–	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. parapsilosis</i>
16	–	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	–	<i>C. albicans</i>
17	–	–	–	–	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
18	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i>
19	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
20	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. parapsilosis</i> <i>C. lusitane</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. parapsilosis</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. parapsilosis</i> <i>C. lusitane</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. parapsilosis</i> <i>C. lusitane</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. parapsilosis</i> <i>C. lusitane</i>

Tabela A14 – Identificações das espécies de *Candida* spp. para a mucosa palatina e superfície interna da prótese total superior dos pacientes do G III, antes de iniciar o tratamento (0 dia) e no seu término (15 dias)

Paciente	Inicial		15 dias	
	Palato	Prótese	Palato	Prótese
1	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i> <i>C. tropicalis</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i> <i>C. tropicalis</i>	–	–
2	–	<i>C. albicans</i>	<i>C. sphaerica</i>	<i>C. albicans</i>
3	–	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
4	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. sphaerica</i>	–	<i>C. albicans</i>
5	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i> <i>C. tropicalis</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i> <i>C. tropicalis</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i>
6	–	<i>C. albicans</i>	–	–
7	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	–	–
8	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i>
9	–	<i>C. albicans</i>	–	–
10	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	–	–
11	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. tropicalis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
12	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	–	–
13	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i>	–	–
14	–	<i>C. albicans</i> <i>C. tropicalis</i>	–	–
15	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. tropicalis</i>
16	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	–	<i>C. albicans</i>
17	–	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>
18	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	–	<i>C. albicans</i>
19	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	–	–
20	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>

Tabela A15 – Identificações das espécies de *Candida* spp. para a mucosa palatina e superfície interna da prótese total superior dos pacientes do G III após 30, 60 e 90 dias do início do tratamento

Paciente	30 dias		60 dias		90 dias	
	Palato	Prótese	Palato	Prótese	Palato	Prótese
1	–	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
2	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
3	–	<i>C. albicans</i>	X	X	X	X
4	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	X	X
5	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>
6	–	–	–	–	–	–
7	–	<i>C. albicans</i>	–	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
8	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
		<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>
9	–	–	–	–	–	–
10	–	–	–	–	<i>C. famata</i>	<i>C. glabrata</i>
						<i>C. guilliermondi</i>
11	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	–	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
				<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>
12	–	<i>C. zeulanoide</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
13	–	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
14	–	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	–	<i>C. albicans</i>
		<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. parapsilosis</i>			
15	<i>C. kefyr</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>
		<i>C. krusei</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>		<i>C. tropicalis</i>
			<i>C. krusei</i>	<i>C. krusei</i>		
16	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	–	<i>C. albicans</i>	–	<i>C. albicans</i>
17	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. albicans</i>
	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>				<i>C. glabrata</i>
18	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	–	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
19	–	–	–	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>
20	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. albicans</i>
		<i>C. humicola</i>		<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>

Tabela A16 – Dados dos pacientes do GI (controle) para os fatores predisponentes: gênero do paciente, uso de medicamentos indutores de xerostomia (antihipertensivos, antihiperlicemiantes e ansiolíticos), uso de tabaco, grau de inflamação (estomatite protética Tipo I, II e III), idade do paciente e tempo de uso da prótese total superior

Paciente	Gênero	Medicamentos			Uso de tabaco	Grau de inflamação	Idade (anos)	PT	PT
		AHT	HGL	ASL				Anos de uso	Uso contínuo
1 – JJC	M	S	N	N	S	3	66	16	S
2 – LM	F	S	S	N	N	2	75	3	S
3 – VFF	M	N	N	N	N	2	65	28	S*
4 – PSL	F	N	S	N	N	2	62	33	S
5 – BAS	M	N	N	N	S	2	56	15	S
6-NL	F	S	N	N	N	1	58	35	S
7 - LP	F	S	N	S	N	1	60	47	S
8 – LAA	F	N	N	N	S	3	41	15	S
9 – MAP	F	S	N	N	N	2	59	3	S
10 – DBC	M	S	N	N	N	2	49	27	S
11 – IRS	F	N	N	N	N	1	65	25	S
12 – ANF	F	N	N	N	N	2	73	30	S
13 – MFS	F	N	N	N	N	2	65	15	S
14 – LLC	F	S	N	N	N	3	57	20	S
15 – DPP	F	S	N	S	N	2	64	23	S
16 – HPP	M	N	N	N	N	2	72	3	S
17 – AA	F	S	S	N	N	2	75	5	S
18- MAA	F	N	N	N	N	1	70	2	S
19-MJ	F	S	N	N	N	2	69	16	S
20-ML	F	S	S	N	N	2	45	10	S*

Gênero: F= feminino; M= masculino; Medicamentos: AHT= anti-hipertensivos, HGL= hiperglicemiantes, ASL= ansiolíticos; S= sim; N= não; *= não utilizava a PT durante o sono.

Tabela A17 – Dados dos pacientes do GII para os fatores predisponentes: gênero do paciente, uso de medicamentos indutores de xerostomia (antihipertensivos, antihiperlipidêmicos e ansiolíticos), uso de tabaco, grau de inflamação (estomatite protética Tipo I, II e III), idade do paciente e tempo de uso da prótese total superior

Paciente	Gênero	Medicamentos			Uso de tabaco	Grau de inflamação	Idade (anos)	PT	PT
		AHT	HGL	ASL				Anos de uso	Uso contínuo
1 – ACF	F	S	N	N	N	2	59	6	S
2 – TRFB	F	N	N	N	N	2	64	30	S*
3 – MASS	F	S	N	N	N	2	61	22	S
4 – AM	F	S	N	N	N	1	66	45	S
5 – TC	F	S	N	N	N	2	68	30	S
6 – IS	M	N	N	N	S	1	65	17	S
7 – MF	F	S	S	N	N	2	65	17	S
8 – MRC	F	N	N	N	N	2	53	1,2	S
9 – HRP	M	N	N	N	N	2	72	3	S
10 – DPP	F	S	N	S	N	2	64	23	S
11 – ARF	F	S	S	N	N	2	67	29	S
12 – EM	F	S	N	S	N	2	49	1	S
13 – NC	F	S	N	N	N	2	66	25	S
14 – INC	F	N	N	N	N	2	55	10	S
15-ETS	F	N	N	N	N	3	59	13	S
16-EMOS	F	S	N	S	N	1	46	3	S
17-FFSG	F	N	N	N	N	2	52	15	S
18-IJA	F	S	N	N	N	2	59	40	S*
19-IBN	M	S	N	N	S	1	49	5	S
20-ML	F	S	S	N	N	2	45	10	S*

Gênero: F= feminino; M= masculino; Medicamentos: AHT= anti-hipertensivos, HGL= hipoglicemiantes, ASL= ansiolíticos; S= sim; N= não; *= não utilizava a PT durante o sono.

Tabela A18 – Dados dos pacientes do GIII para os fatores predisponentes: gênero do paciente, uso de medicamentos indutores de xerostomia (antihipertensivos, antihiperlipemiantes e ansiolíticos), uso de tabaco, grau de inflamação (estomatite protética Tipo I, II e III), idade do paciente e tempo de uso da prótese total superior

Paciente	Gênero	Medicamentos			Uso de tabaco	Grau de inflamação	Idade (anos)	PT	PT
		AHT	HGL	ASL				Anos de uso	Uso contínuo
1 – JJC	M	S	N	N	S	3	66	16	S
2 – MRC	F	N	N	N	N	2	53	1,2	S
3 – CRS	F	S	N	N	N	2	57	16	S
4 – MHS	F	S	S	N	N	2	46	3	S*
5 – LLC	F	S	N	N	N	3	57	20	S
6 – LST	F	N	N	N	N	2	57	11	S
7 – CPS	F	S	N	N	S	2	56	11	S
8 – MJJ	F	S	N	N	S	2	56	8	S
9 – JBS	M	N	N	N	N	2	74	1	S
10 – ETC	F	S	N	N	N	3	67	20	S
11 – IJA	F	S	N	N	N	2	59	40	S*
12 – DDR	F	S	N	N	N	3	59	4,5	S
13 – EOF	F	S	N	N	N	2	44	5	S
14 – EMSL	F	N	N	N	N	1	45	3	S
15 – BAFG	F	N	N	S	S	3	57	13	S
16 – MHSC	F	N	N	N	N	2	50	20	S
17-MSS	F	S	S	N	N	2	46	3	S*
18-ASS		S	N	N	N	2	63	3	
19-LAM	M							meses	S
	F	N	N	N	N	1	37	4	S
20-ACRC	F	S	N	N	N	1	62	16	S

Gênero: F= feminino; M= masculino; Medicamentos: AHT= anti-hipertensivos, HGL= hiperlipemiantes, ASL= ansiolíticos; S= sim; N= não; *= não utilizava a PT durante o sono.

Autorizo a reprodução deste trabalho.
(Direitos de publicação reservados ao autor)

Mariana Montenegro Silva

Araraquara, 02 Julho de 2009.