

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste trabalho será disponibilizado somente a partir de 16/03/2018.



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



JACQUELINE DE OLIVEIRA ZOCCOLOTTI

**AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADES FÍSICAS, MECÂNICAS E BIOLÓGICAS DE UMA
RESINA ACRÍLICA PARA BASE DE PRÓTESES APÓS IMERSÃO EM SOLUÇÕES DE
SABONETES LÍQUIDOS DESINFETANTES: EFEITO DE TEMPO DE IMERSÃO.**

Araraquara

2017



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



JACQUELINE DE OLIVEIRA ZOCCOLOTTI

**AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADES FÍSICAS, MECÂNICAS E BIOLÓGICAS DE UMA
RESINA ACRÍLICA PARA BASE DE PRÓTESES APÓS IMERSÃO EM SOLUÇÕES DE
SABONETES LÍQUIDOS DESINFETANTES: EFEITO DE TEMPO DE IMERSÃO.**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação
em Reabilitação Oral - Área de Prótese, da Faculdade de
Odontologia de Araraquara, da Universidade Estadual
Paulista para título de Mestre em Reabilitação Oral.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Janaina Habib Jorge

Araraquara

2017

Zoccolotti, Jacqueline de Oliveira

Avaliação de propriedades físicas, mecânicas e biológicas de uma resina acrílica para base de próteses após imersão em soluções de sabonetes líquidos desinfetantes: efeito de tempo de imersão / Jacqueline de Oliveira Zoccolotti.-- Araraquara: [s.n.], 2017
87 f.; 30 cm.

Dissertação (Mestrado em Prótese) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia

Orientadora: Profa. Dra. Janaina Habib Jorge

1. Resinas acrílicas 2. Prótese dentária 3. Desinfetantes
4. Biofilmes 5. Técnicas de cultura de células I. Título

JACQUELINE DE OLIVEIRA ZOCCOLOTTI

**AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADES FÍSICAS, MECÂNICAS E BIOLÓGICAS DE UMA
RESINA ACRÍLICA PARA BASE DE PRÓTESES APÓS IMERSÃO EM SOLUÇÕES DE
SABONETES LÍQUIDOS DESINFETANTES: EFEITO DE TEMPO DE IMERSÃO.**

Comissão julgadora

Defesa para obtenção do grau de Mestre

Presidente e orientadora: Profa. Dra. JANAINA HABIB JORGE

2º examinador: Prof. Dr. FRANCISCO DE ASSIS MOLLO JUNIOR

3º examinador: Profa. Dra. NARA HELLEN CAMPANHA

Araraquara, 16 de Março de 2017.

DADOS CURRICULARES

JACQUELINE DE OLIVEIRA ZOCCOLOTTI

NASCIMENTO: 09 de Janeiro de 1989

FILIAÇÃO: Roberto Sidnei Zoccolotti

Silvia Maria de Oliveira Zoccolotti

2010-2014: Curso de Graduação na pela Faculdade de Odontologia de Araraquara.

2013-2014: Estágio de iniciação Científica na Disciplina de Prótese Parcial Removível da Faculdade de Odontologia de Araraquara.

2015-2017: Curso de Pós-Graduação em Reabilitação Oral, Área de concentração em Prótese, nível de Mestrado, pela Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP.

2015: Estagio de Docência na Disciplina de Prótese Parcial Removível I, do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP.

2016: Estagio de Docência na Disciplina de Prótese Parcial Removível II, do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP.

Dedicatória

Dedico este trabalho aos meus pais, Silvia Maria de Oliveira Zoccolotti e Roberto Sidnei Zoccolotti, que com muito amor sempre me apoiaram, incentivaram, e não mediram esforços para que eu pudesse chegar até aqui.

E também a minha orientadora, Janaina Habib Jorge, pela dedicação e confiança em mim depositadas, representadas pela sua amizade e disposição a qualquer momento. Eu posso dizer que a minha formação, inclusive pessoal, não teria sido a mesma sem você.

Agradecimentos

Agradeço a todos que estiveram ao meu lado durante esses dois anos, vocês me deram apoio e suporte para que eu pudesse concluir esse trabalho:

Aos meus amigos e parceiros de pós-graduação, ao pessoal do laboratório e funcionários da faculdade, aos professores do departamento, a minha irmã Camila, a minhas amigas de vida - Bebel, Marcela, Laisi, Camila, Julia, Juliana, Suelen, Bruna, Gabriela, Bianca, Marina e Rafaella, a minhas amigas e parceiras de trabalho que me ajudaram na realização desta pesquisa - Maria Izabel, Camilla e Isadora, e a quem mais conviveu comigo neste ultimo ano, e que estive ao meu lado me apoiando e incentivando com muita paciência e carinho: Diego.

"Obrigada por tudo, à realização desse sonho é o resultado da confiança e da força de cada um de vocês."

Zoccolotti JO. Avaliação de propriedades físicas, mecânicas e biológicas de uma resina acrílica para base de próteses após imersão em soluções de sabonetes líquidos desinfetantes: efeito de tempo de imersão. [Dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia UNESP; 2017.

RESUMO

A desinfecção química associada ao método mecânico tem sido recomendada para a higienização de próteses removíveis parciais ou totais. Levando-se em consideração as desvantagens dos agentes químicos de limpeza utilizados para a desinfecção ou redução do biofilme das próteses, como o manchamento, branqueamento e corrosão das partes metálicas, novos estudos são necessários. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar as propriedades biológicas, físicas e mecânicas de uma resina acrílica para base de próteses após imersão em sabonetes líquidos desinfetantes, nas suas concentrações inibitórias mínimas (CIM) para *Candida albicans*, após diferentes períodos de tempo. Primeiramente, a CIM de cada sabonete foi determinada. Amostras de resina acrílica (Vipi Wave®) foram confeccionadas e divididas em grupos para avaliação da capacidade de formação de biofilme (n=6), citotoxicidade (n=9), rugosidade (n=15), dureza (n=15) e alteração de cor (n=15), após imersão por 0, 7, 14, 21 e 28 dias, nas seguintes soluções: AD: imersão em água destilada a 37°C (grupo controle); SD: ciclos de imersão diária em sabonete Dettol® a 0,39%, por 8 horas a temperatura ambiente, seguido de imersão em água destilada por 16 horas a 37°C, simulando a desinfecção noturna das próteses; SP: ciclos de imersão diária em sabonete Protex® a 3,12%, conforme descrito para o grupo anterior. SL: ciclos de imersão diária em sabonete Lifebuoy® a 0,78%, conforme descrito para o grupo SD. Além disso, a redução do biofilme de *Candida albicans* formado sobre a superfície de amostras (n=9) imersas por 8 horas (overnight) nas soluções também foi avaliada. Para análise da capacidade de formação de biofilme, realizaram-se os testes de contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) e o alamarBlue® após a fase de adesão e após 24 horas de formação do biofilme. Os resultados foram submetidos ao teste de ANOVA ($\alpha = 0,05$). Para a fase de adesão, os resultados mostraram que o tipo de sabonete teve um efeito estatisticamente significativo na capacidade da formação do biofilme, mas após 24 horas, tanto para a contagem de UFC quanto para o teste alamarBlue®, nenhuma diferença foi encontrada entre as soluções ou entre os tempos de armazenamento. Para saber a eficácia na redução de biofilme após imersão por 8 horas nas soluções desinfetantes, avaliou-se o remanescente do

biofilme de 48 horas também por meio da contagem de UFC. Para a análise estatística, recorreu-se ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis seguido do teste post-hoc de Dunn ($\alpha = 0,05$). A análise mostrou uma diferença significativa ($p=0.014$) quando os grupos foram comparados entre si. O grupo imerso em sabonete Protex® apresentou uma pequena redução do biofilme em comparação com o grupo controle; já os grupos imersos em sabonete Dettol® e Lifebuoy® eliminaram totalmente o biofilme existente nas superfícies das resinas acrílicas. Os resultados do teste de citotoxicidade foram avaliados qualitativamente (comparação com o grupo controle) e quantitativamente (ANOVA two-way seguido do teste post-hoc de Bonferroni). Na análise qualitativa observou-se que todos os sabonetes foram classificados como não citotóxicos, pois apresentaram inibição menor que 25% em relação ao grupo controle, independentemente do tempo de armazenamento. Os resultados da análise quantitativa demonstraram que não houve diferença quanto à viabilidade celular para os diferentes grupos, mas que, após 21 dias, houve diminuição da viabilidade celular em decorrência do tempo prolongado de imersão, independentemente do tipo de sabonete. ANOVA two-way e teste post-hoc de Bonferroni e LSD foram usados para análise dos resultados dos testes de propriedades mecânicas e física ($\alpha=0.05$). Nos valores de rugosidade não existiu diferença estatisticamente significativa ($p>0,05$) entre os grupos avaliados. O sabonete Lifebuoy® diminuiu os valores de dureza da resina, independentemente do tempo de armazenamento ($p=0,003$). Após 21 e 28 dias de armazenamento, houve um aumento dos valores de dureza, independentemente do tipo de sabonete utilizado. Os valores de unidades de NBS (National Bureau of Standards) ficaram entre 0,27 e 0,58 indicando alterações de cor imperceptíveis ou leves para todos os grupos, porém na análise quantitativa o sabonete Lifebuoy® produziu maior efeito na alteração de cor independentemente do tempo de armazenamento, e independente do tipo de sabonete houve um aumento da alteração da cor de acordo com o maior tempo de imersão. Concluiu-se que, de maneira geral, as soluções dos sabonetes desinfetantes não foram capazes de inibir o crescimento do biofilme, porém todos os sabonetes testados foram eficazes na redução do biofilme formado sobre a resina acrílica para bases de próteses. Todos os grupos foram classificados como não citotóxicos e não houve alteração dos valores de rugosidade para nenhum deles. Porém o sabonete Lifebuoy® alterou os valores de dureza e cor da resina acrílica, independente do tempo de armazenamento.

Palavras Chaves: Resinas acrílicas. Prótese dentária. Desinfetantes. Biofilmes. Técnicas de cultura de células.

Zoccolotti JO. Evaluation of physical, mechanical and biological properties of a denture base acrylic resin after immersion in liquid soaps solutions disinfectants: effect of storage time. [Dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia UNESP; 2017.

Abstract

Chemical disinfection associated with the mechanical method has been recommended for the cleaning of partial or full dentures. Taking into consideration the drawbacks of the cleaning chemicals used for disinfection or reduction of biofilm of prostheses, such as staining, bleaching and corrosion of metal parts, further studies are needed. The objective of this study was to evaluate the biological, physical and mechanical properties of an acrylic resin for denture base (Vipi Wave®) after immersion in liquid disinfectant soaps in their minimum inhibitory concentrations (MIC) for *Candida albicans*, after different periods of time. Samples of acrylic resin (Vipi Wave®) were made. Samples from acrylic resin (Vipi Wave®) were made and shared in groups for the assessment of the biofilm formation capacity (n=6), cytotoxicity (n=9), roughness (n=15), hardness (n=15) and color change (n=15) after immersion in the following solutions for 0, 7, 14, 21 and 28 days: AD: immersion in distilled water at 37 ° C (control group); SD: daily immersion cycles in soap Dettol® 0.39% for 8 hours at room temperature, followed by soaking in distilled water for 16 hours at 37 ° C, simulating the night disinfection of prostheses; SP: daily immersion cycles in soap Protex® to 3.12%, as described for the previous group. SL: daily immersion cycles in Lifebuoy® in soap to 0.78%, as described for the SD group. In soap Dettol® was found the MIC of 0.39% of the soap concentration; in Protex® 3.12% and in Lifebuoy® the MIC was 0.78%. In addition, capacity of reduction of the biofilm of *Candida albicans* formed on the surface of samples (n = 9) immersed for 8 hours (overnight) in the solutions was also evaluated. To know the biofilm-forming capacity, there were the forming unit count tests of colonies and alamarBlue® after accession and after 24 hours of biofilm formation. The results were submitted to ANOVA ($\alpha = 0.05$). For the adhesion layer, the results showed that the type of soap had a statistically significant effect on the ability of biofilm formation, but after 24 hours, both methods counting colony forming units and the alamarBlue® test, had resulted in no differences was between solutions or between storage times. For effectiveness in reducing biofilm after soaking for 8 hours in disinfectant solutions, it was evaluated the remaining biofilm by counting colony forming units. For statistical analysis, it was used the nonparametric Kruskal-Wallis test followed by post-hoc Dunn ($\alpha = 0.05$). The analysis showed a significant difference ($p =$

0.014) when the groups were compared amongst themselves. The immersed group, Protex® soap showed a small reduction in the biofilm compared to the control group, while the groups immersed in soap Dettol® and Lifebuoy® totally eliminated the existing biofilm on the surfaces of acrylic resins. The results of the cytotoxicity assay were qualitatively assessed (compared with the control group) and quantitatively (two-way ANOVA followed by post-hoc Bonferroni). In qualitative analysis, it was observed that all the soaps were classified as non-cytotoxic, because they showed less than 25% of inhibition in relation to the control group, regardless of storage time. The results of quantitative analysis showed no difference in cell viability for different groups, but after 21 days, there was a decrease in cell viability as a result of prolonged immersion, regardless of the type of soap. ANOVA two-way and physical and post-hoc Bonferroni and LSD were used for analysis of the results of mechanical properties testing ($\alpha = 0.05$). In the roughness values there was no statistically significant difference ($p > 0.05$) between the groups. The Lifebuoy® soap decreased resin hardness values, regardless of the storage time ($p = 0.003$). After 21 and 28 days of storage, there was an increase of hardness values, regardless of the type of soap used. The values of NBS units (National Bureau of Standards) were between 0.27 and 0.58 indicating unnoticeable or light color changes for all groups, but in the quantitative analysis of the Lifebuoy® soap was produced greater effect on color change regardless of time storage, regardless of the type of soap there was an increase in color change according to the longer duration of immersion. In conclusion, generally, solutions of disinfectant soaps were not able to inhibit biofilm growth, but all tested soaps are effective at reducing the biofilm formed on the acrylic resin for denture bases. All groups were classified as non-cytotoxic and there was no change of roughness values for any group, but Lifebuoy® soap changed the hardness and color values of acrylic resin, regardless of the storage time.

Key Words: Acrylic resin. Prosthesis. Disinfectant. Biofilms. Cell culture techniques.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	15
3 PROPOSIÇÃO.....	28
4 MATERIAL E MÉTODO.....	29
4.1 Material de Consumo.....	29
4.2 Instrumentais.....	30
4.3 Equipamentos.....	31
4.4 Metodologia.....	32
4.4.1 Preparo da Mufla.....	32
4.4.2 Confeção do Corpo de Prova.....	34
4.4.3 Concentração Inibitória Mínima (CIM).....	36
4.4.4 Sabonetes Desinfetantes Utilizados.....	39
4.4.5 Medidas de ph.....	39
4.4.6 Grupos Experimentais.....	40
4.4.7 Capacidade de Formação de Biofilme.....	40
4.4.8 Capacidade de Redução de Biofilme.....	43
4.4.9 Citotoxicidade.....	45
4.4.10 Rugosidade.....	47
4.4.11 Dureza.....	47
4.4.12 Alteração de cor.....	47
4.4.13 Análise dos resultados.....	48
5 RESULTADOS.....	51
5.1 Determinação dos MIC's.....	51
5.2 Capacidade de formação de biofilme.....	52
5.3 Capacidade de redução de biofilme.....	56
5.4 Citotoxicidade.....	58
5.5 Rugosidade.....	60
5.6 Dureza.....	61
5.7 Alteração de cor.....	63
6 DISCUSSÃO.....	68
7 CONCLUSÃO.....	78
REFERÊNCIAS.....	79

1 INTRODUÇÃO

A estomatite protética é a condição inflamatória eritematosa encontrada com maior frequência nos pacientes portadores de próteses removíveis parciais ou totais. A etiologia da estomatite protética mostra-se extremamente variável, sendo considerada multifatorial. Biofilme microbiano, trauma, uso contínuo da prótese e xerostomia constituem fatores predominantes na patologia desta alteração (Dorocka-Bobkowska et al.²¹, 1996; Budtz-Jorgensen¹¹, 2000; Feltrin et al.²⁶, 1993; Webb et al.^{92, 93, 94}, 1998). A adesão de mico-organismos, principalmente as espécies de *Candida*, na superfície interna das bases das próteses ou materiais reembasadores, é considerada fator primordial para o aparecimento da estomatite protética. As falhas nos procedimentos de higienização permitem que os resíduos aderidos a determinadas superfícies transformem-se em potencial fonte de contaminação. Sendo assim, os cuidados de higiene são aspectos importantes na manutenção da saúde bucal dos usuários de próteses removíveis parciais ou totais (Radford et al.⁷⁴, 1998; Morgan, Wilson⁶², 2001).

Diversos são os tratamentos propostos para a estomatite protética. O tratamento mais comumente recomendado tem sido a utilização de medicamentos antifúngicos, os quais podem ser de aplicação tópica ou sistêmica, orientação do paciente quanto à higienização da prótese e verificação da necessidade da troca da mesma. Além disso, é consenso na literatura que a suspensão do uso da prótese favorece a diminuição do componente inflamatório. Porém, o uso de drogas antifúngicas é limitado por inúmeros fatores, como resistência fúngica, baixa solubilidade e alta toxicidade.

Sendo assim, a prevenção é considerada a medida mais eficaz a ser assumida contra os problemas relacionados ao uso de próteses removíveis. Dentre os métodos de prevenção, a limpeza das próteses é fator essencial. A higienização pode ser realizada mecanicamente, quimicamente ou pela combinação de ambas (Nikawa et al.⁶⁸, 1999).

Os procedimentos mecânicos compreendem a escovação e a utilização de vibradores sônicos ou ultrassônicos. O procedimento mecânico de remoção do biofilme nas superfícies das próteses mais utilizado pelos pacientes é a escovação com sabão ou dentífrico (Radford et al.⁷⁴, 1998). A remoção efetiva do biofilme pelo método da escovação é considerada duvidosa, uma vez que as superfícies das bases das próteses são irregulares e porosas. Além disso, apesar da escovação ser o método mais amplamente utilizado, pacientes com coordenação motora comprometida tem dificuldade em realizar esse procedimento de forma adequada (Nikawa et al.⁶⁸, 1999 ; Kulak-Ozkan et al.⁴⁴, 2002).

Dessa forma, a limpeza química, como a imersão das próteses em soluções desinfetantes, deveria também ser realizada (Moffa et al.⁵⁹, 2011). Estratégias de desinfecção por soluções químicas têm sido freqüentemente recomendadas devido a sua efetividade em inibir ou eliminar diferentes micro-organismos (Altieri et al.³, 2013).

Vários são os agentes químicos de limpeza utilizados para a desinfecção ou redução do biofilme das próteses, como hipoclorito de sódio, digluconato de clorexidina e álcool (Bell et al.⁸, 1989; da Silva et al.¹⁶, 2008; Smith, Hunter⁸⁵, 2008). O hipoclorito de sódio pode ser útil para a desinfecção das próteses, uma vez que inativa o biofilme bacteriano e inibe a formação de cálculo (da Silva et al.¹⁶, 2008; BudtzJørgensen et al.¹³, 1979). Já o gluconato de clorexidina, além de inativar o biofilme, reduz a capacidade de adesão dos micro-organismos, sendo considerado efetivo na desinfecção de próteses (McCourtie et al.⁵⁷, 1985).

Porém, estudos mostram algumas desvantagens em relação à utilização desses agentes desinfetantes. O glutaraldeído, apesar de possuir ação bactericida, não deve ser utilizado para a imersão de próteses, uma vez que pode ficar impregnado nas porosidades das resinas, resultando em efeito irritante aos tecidos bucais (Sagripanti, Bonifacino et al.⁷⁹, 2000). O hipoclorito de sódio pode causar efeitos citotóxicos moderados aos tecidos bucais, além de promover branqueamento das bases acrílicas e corrosão dos componentes metálicos das próteses (Molinari, Runnells⁶¹, 1991).

Outras desvantagens associadas à desinfecção por agentes químicos são redução da resistência à flexão após a imersão em álcool (Asad et al.⁵, 1993), baixa efetividade antimicrobiana dos iodóforos (Pavarina et al.⁷², 2003) e manchamento das bases das próteses pelo uso de soluções à base de clorexidina (Asad et al.⁵, 1993).

Atualmente, os sabonetes antissépticos têm sido muito utilizados com o objetivo de eliminar os micro-organismos de várias superfícies. A eficácia como agente antimicrobiano tem sido constantemente comprovada. Os sabonetes antissépticos são capazes de remover de 65% a 85% dos micro-organismos existentes na pele humana (Larson et al.⁴⁵, 2004; Farzana et al.²⁴, 2011).

Idealmente, um agente de limpeza químico deveria ser capaz de inativar os micro-organismos, ser biologicamente compatível e não deveria causar efeitos adversos sobre os materiais que compõem a prótese. Todavia, pode haver o branqueamento e/ou descoloração da resina acrílica após exposição prolongada em agentes químicos de desinfecção (Sepúlveda-Navarro et al.⁸², 2011).

Levando-se em consideração as desvantagens dos agentes químicos de limpeza utilizados para a desinfecção ou redução do biofilme das próteses, julgou-se necessário avaliar as propriedades físicas, mecânicas e biológicas de uma resina acrílica para base de próteses após imersão em soluções de sabonetes líquidos. Além disso, o efeito do tempo de imersão também foi avaliado. Tal estudo é considerado importante, pois, além de tornar viável mais uma opção para a desinfecção de próteses parciais ou totais, não há relatos na literatura com este propósito.

7 CONCLUSÃO

Para todos os tipos sabonetes foram encontradas concentrações inibitórias mínimas para *Candida albicans* em altas diluições, o que demonstra a eficácia dos mesmos para esse propósito. Apesar dos resultados encontrados nos testes de capacidade de formação de biofilme após diferentes períodos de imersão não apresentarem diferença significativa, sendo observada a formação do biofilme para todos os grupos, todas as soluções foram eficazes quando testamos a capacidade de reduzir o biofilme da superfície dos corpos de prova de resina acrílica após 8 horas de imersão, sendo que o Dettol® e o Lifebuoy® eliminaram totalmente o biofilme formado. Outro resultado positivo deste estudo foi a classificação dos três sabonetes como não citotóxicos além de não promover alteração na rugosidade das amostras. Apenas o sabonete Lifebuoy® diminuiu significativamente os valores de dureza e produziu maior efeito na alteração de cor das resinas acrílicas, mas de acordo com a relevância clínica, para todos os grupos, as alterações encontradas foram classificadas como imperceptíveis ou leves.

Necessitamos de novos estudos para estabelecer um protocolo clínico de desinfecção, que seja seguro para os pacientes e que não diminua a vida útil das próteses. Pelos resultados demonstrados até o momento, podemos afirmar que essas soluções são promissoras para tal finalidade, além de serem de simples acesso para a população, possuírem baixo custo e se apresentarem eficazes contra o biofilme de *Candida albicans* sem causar prejuízos para o material de confecção das próteses.

REFERÊNCIAS*

1. Abe S, Ishihara K, Adachi M, Okuda K. Oral hygiene evaluation for effective oral care in preventing pneumonia in dentate elderly. *Arch Gerontol Geriatr.* 2006; 43(1): 53-64.
2. Abelson DC. Denture plaque and denture cleansers: review of the literature. *Gerodontology.* 1985; 1(5): 202-6.
3. Altieri KT, Sanitá PV, Machado AL, Giampaolo ET, Pavarina AC, Jorge JH et al. Eradication of a mature methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) biofilm from acrylic surfaces. *Braz Dent J.* 2013;24(5):487-91.
4. Arendorf T, Walker D. Denture stomatitis: a review. *J Oral Rehabil.* 1987; 14(3): 217-27.
5. Asad T, Watkinson AC, Huggett R. The effects of various disinfectant solutions on the surface hardness of an acrylic resin denture base material. *Int J Prosthodont.* 1993; 6(1):9-12.
6. Bagheri R, Burrow MF, Tyas M. Influence of food-simulating solutions and surface finish on susceptibility to staining of aesthetic restorative materials. *J Dent* 2005; 33(5):389-98.
7. Barnabé W, Mendonça T, Neto A, 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(5): 453–9.
8. Bell JA, Brockmann SL, Feil P, Sackuvich DA. The effectiveness of two disinfectants on denture base acrylic resin with an organic load. *J Prosthet Dent.* 1989; 61(5):580-3.
9. Bettencourt AF, Neves CB, Almeida MS, Pinheiro LM, Arantes e Oliveira S, Lopes L, et al.. Biodegradation of acrylic based resins: a review. *Dent Mater.* 2010;(26):171–80.
10. Brondani MA, Samim F, Feng H. A conventional microwave oven for denture cleaning: a critical review. *Gerodontology.* 2012; 29(2):6-15.
11. Budtz-Jørgensen E, Mojon P, Rentsch A, Deslauriers N. Effects of an oral health program on the occurrence of oral candidosis in a long-term care facility. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2000; 28(2):141-9.

* De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca: <http://www.foar.unesp.br/Home/Biblioteca/guia-de-normalizacao-marco-2015.pdf>

12. Budtz-Jorgensen E. Oral mucosal lesions associated with the wearing of removable dentures. *J Oral Pathol.* 1981; 10(2):65-80.
13. Budtz-Jørgensen E. Materials and methods for cleaning dentures. *J Prosthet Dent.* 1979;42(6):619-23.
14. Campanha NH, Pavarina AC, Jorge JH, Vergani CE, Machado AL, Giampaolo ET. The effect of long-term disinfection procedures on hardness property of resin denture teeth. *Gerodontology.* 2012;29(2): 571-6.
15. Chandra J, Kuhn DM, Mukherjee PK, Hoyer LL, McCormick T, Ghannoum MA. Biofilm formation by the fungal pathogen *Candida albicans*: development, architecture, and drug resistance. *J Bacteriol.* 2001;183(18): 5385–94.
16. da Silva FC, Kimpara ET, Mancini MN, Balducci I, Jorge AO, Koga-Ho CY. Effectiveness of six different disinfectants on removing five microbial species and effects on the topographic characteristics of acrylic resin. *J Prosthodont.* 2008;17(8):627-33.
17. Dandekeri S, Prasad K, Shetty M, Hegde C, Sowmya MK, Jagadeesh M. Occurrence of streptococcus and *Candida* species and salivary pH in patients wearing complete denture. *Int J Health Rehabil Sci.* 2013;2(4):198-203.
18. Dantas APFM, Consani RLX, Sardi JCO, Mesquita MF, Silva MCVS, Sinhoreti MAC. Biofilm formation in denture base acrylic resins and disinfection method using microwave. *J Res Pract Dent.* 2014; 2014: 112424
19. Darwazeh AMG, Al-Dwairi ZN, Al-Zwairi AA. The Relationship between tobacco smoking and oral colonization with *Candida* species. *J Contemp Dent Pract.* 2010; 1;11(3):017-24.
20. Devine DA1, Percival RS, Wood DJ, Tuthill TJ, Kite P, Killington RA, et al. Inhibition of biofilms associated with dentures and toothbrushes by tetrasodium EDTA. *J Appl Microbiol.* 2007;103(6):2516-24.
21. Dorocka-Bobkowska, B.; Budtz-Jorgensen, E.; Wloch, S. Non-insulin dependent diabetes mellitus as a risk factor for denture stomatitis. *J Pathol Med.* 1996; 25(8):411-5.
22. Estrela CRA. Eficácia antimicrobiana de soluções irrigadoras de canais radiculares. [Dissertação de Mestrado]. Goiânia: Universidade Federal de Goiás; 2000.

23. Faot F, Cavalcanti YW, Bertolini MM, Pinto LR, Silva WJ, Del Bel Cury AA. Efficacy of citric acid denture cleanser on the *Candida albicans* biofilm formed on poly(methylmethacrylate): effects on residual biofilm and recolonization process. *BMC Oral Health*. 2014;14:77.
24. Farzana K. Comparative bactericidal activity of various soaps against gram-positive and gram-negative bacteria. *Sci Res Essays*. 2011; 6(16): 3514-8.
25. Felton D, Cooper L, Duqum I, Minsley G, Guckes A, Haug S et al. Evidence based guidelines for the care and maintenance of complete dentures: a publication of the American College of Prosthodontists. *J Prosthodont*. 2011; 20 Suppl 1:S1-S12.
26. Feltrin PP, Tortamano N, Jaeger RG, Araújo VC. Estomatite protética: estudo da superfície interna da prótese total em microscopia eletrônica de varredura e da mucosa de suporte através de exame citológico, histopatológico e imunohistoquímico. *Rev Assoc Bras Odontol*. 1993; 1(1): 31-8.
27. Finnegan S, Percival SL. EDTA: an antimicrobial and antibiofilm agent for use in wound care. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2015;1;4(7):415-21.
28. Goiato MC, Dos Santos DM, Baptista GT, Moreno A, Andreotti AM, Bannwart LC, et al. Effect of thermal cycling and disinfection on colour stability of denture base acrylic resin. *Gerodontology* 2013; 30(4):276-82.
29. Goiato MC, Dos Santos DM, Andreotti AM, Nobrega AS, Moreno A, Haddad MF, et. al. Effect of beverages and mouthwashes on the hardness of polymers used in intraoral prostheses. *J Prosthodont*. 2014; 23(7):559-64.
30. Gomes PN, da Silva WJ, Pousa CC, Narvaes EA, Del Bel Cury AA. Bioactivity and cellular structure of *Candida albicans* and *Candida albicans glabrata* biofilms grown in the presence of fluconazole. *Arch Oral Biol*. 2011;56(11):1274–81.
31. Hahnel S, Rosentritt M, Burgers R, Handel G, Lang R. *Candida albicans* biofilm formation on soft denture liners and efficacy of cleaning protocols. *Gerodontology* 2012; 29(2):383-91.
32. Hollis S, Eisenbeisz E, Versluis A. Color stability of denture resins after staining and exposure to cleansing agents. *J Prosthet Dent*. 2015;114(5):709-14.
33. Hoshing C, Dixit S, Mootha A, Diwan N. Role of *Candida albicans* in denture stomatitis. *J Indian Acad Oral Med Radiol*. 2011;23:617-9.

34. Huh JB, Lim Y, Youn HI, Chang BM, Lee JY, Shin SW. Effect of denture cleansers on *Candida albicans* biofilm formation over resilient liners. *J Adv Prosthodont* 2014; 6(2):109-14.
35. Iacopino AM, Wathen WF. Oral candidal infection and denture stomatitis: a comprehensive review. *J Am Dent Assoc.* 1992; 123(1):46–51.
36. International Organization for Standardization. International standard ISO 10993-5, Biological evaluation of medical devices. 1992. Part 5: Tests for cytotoxicity: in vitro methods. Geneva: ISO; 1992.
37. Izumida FE, Jorge JH, Ribeiro RC, Pavarina AC, Moffa EB, Giampaolo ET. Surface roughness and *Candida albicans* biofilm formation on a reline resin after long-term chemical disinfection and toothbrushing. *J Prosthet Dent.* 2014; 112(6):1523-9.
38. Jorge JH, Giampaolo ET, Vergani CE, Machado AL, Pavarina AC, Carlos IZ. Effect of post-polymerization heat treatments on the cytotoxicity of two denture base acrylic resins. *J Appl Oral Sci.* 2006;14(3):203-7.
39. Jorge JH, Giampaolo ET, Vergani CE, Machado AL, Pavarina AC, Carlos IZ. Biocompatibility of denture base acrylic resins evaluated in culture of L929 cells. Effect of polymerisation cycle and post-polymerisation treatments. *Gerodontology.* 2007;24(1):52-7.
40. Jorge JH, Giampaolo ET, Vergani CE, Machado AL, Pavarina AC, Carlos IZ. Effect of microwave postpolymerization treatment and of time of storage in water on the cytotoxicity of denture base and reline acrylic resins. *Quintessence Int,* 2009; 40(10):e93-100.
41. Jorge JH, Giampaolo ET, Vergani CE, Machado AL, Pavarina AC, Carlos IZ. Cytotoxicity of denture base resins: effect of water bath and microwave postpolymerization heat treatments. *Int J Prosthodont.* 2004; 17(3): 340-4.
42. Koibuchi H, Kotani K, Taniguchi N. Ultrasound probes as a possible vector of bacterial transmission. *Med Ultrason.* 2013;15(1):41-4.
43. Kulak Y, Arikan A, Kazazoglu E. Existence of *Candida albicans* and microorganisms in denture stomatitis patients. *J Oral Rehabil.* 1997;24(10): 788–90.
44. Kulak-Ozkan Y, Kazazoglu E, Arikan A. Oral hygiene habits, denture cleanliness, presence of yeasts and stomatitis in elderly people. *J Oral Rehabil.* 2002; 29(3):300-4.

45. Larson E, Lin SX, Gomez-Duarte C, Della-Latta P. Effect of antibacterial home cleaning and handwashing products on infectious disease symptoms. *Ann Int Med*. 2004;140(5):321-9.
46. Lazarin AA, Zamperini CA, Vergani CE, Wady AF, Giampaolo ET, Machado AL. *Candida albicans* adherence to an acrylic resin modified by experimental photopolymerised coatings: an in vitro study. *Gerodontology*. 2014;31(1): 25–33.
47. Lefebvre CA, Schuster GS, Marr JC, Knoernschild KL. The effect of pH on the cytotoxicity of eluates from denture base resins. *Int J Prosthodont*. 1995; 8(2):122-8.
48. Lefebvre CA, Knoernschild KL, Schuster GS. Cytotoxicity of eluates from light-polymerized denture base resins. *J Prosthet Dent* 1994; 72(6):644-50.
49. Lefebvre CA, Schuster GS. Biocompatibility of visible light-cured resin systems in prosthodontics. *J Prosthet Dent.*, 1994; 71(2): 178-85.
50. Levy SB. Antibacterial household products: cause for concern. *Emerg Infect Dis*. 2001;7(3):512–5.
51. Loster BW, Loster J, Wieczorek A, Ryniewicz W. Mycological analysis of the oral cavity of patients using acrylic removable dentures. *Gastroenterol Res Pract* 2012; 2012:951572.
52. Machado AL, Breeding LC, Vergani CE, da Cruz Perez LE. Hardness and surface roughness of reline and denture base acrylic resins after repeated disinfection procedures. *J Prosthet Dent*. 2009;102(2):115-22.
53. Machado AL, Giampaolo ET, Pavarina AC, Jorge JH, Vergani CE. Surface roughness of denture base and reline materials after disinfection by immersion in chlorhexidine or microwave irradiation. *Gerodontology*. 2012;29(2):375-82.
54. Mahonen K, Virtanen K, Larmas M. The effect of prosthesis disinfection on salivary microbial levels. *J Oral Rehabil*. 1998; 25(4):304–10.
55. Marcos-Arias C, Eraso E, Madariaga L, Quindos G. In vitro activities of natural products against oral *Candida* isolates from denture wearers. *BMC Complement Altern Med* 2011;11:119.
56. Mayer FL, Wilson D, Hube B. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Virulence*. 2013;4(2):119–28.
57. McCourtie J, MacFarlane TW, Samaranayake LP. Effect of chlorhexidine gluconate on the adherence of *Candida* species to denture acrylic. *J Med Microbiol*. 1985;20(1):97-104.

58. Minnich KE, Stolarick R, Wilkins RG, Chilson G, Pritt SL, Unverdorben M. The effect of a wound care solution containing polyhexanide and betaine on bacterial counts: results of an in vitro study. *Ostomy Wound Manage.* 2012;58(10):32-6.
59. Moffa EB, Giampaolo ET, Izumida FE, Pavarina AC, Machado AL, Vergani CE. Colour stability of relined dentures after chemical disinfection. A randomised clinical trial. *J Dent.* 2011;39 Suppl 3:e65-71.
60. Moffa EB, Mussi MC, Xiao Y, Garrido SS, Machado MA, Giampaolo ET et al. Histatin 5 inhibits adhesion of *Candida albicans* to reconstructed human oral epithelium. *Front Microbiol.* 2015; 28;6:885.
61. Molinari JA, Runnells RR. Role of disinfectants in infection control. *Dent Clin North Am.* 1991; 35(2):323-37.
62. Morgan TD, Wilson M. The effects of surface roughness and type of denture acrylic on biofilm formation by *Streptococcus oralis* in constant depth film fermentor. *J Appl Microbiol.* 2001; 91(1):47-53.
63. München S. Sabonete líquido: uma abordagem para a Química Orgânica. In: *Anais do 16º ENEQ e 10º EDUQUI*; 2012; Salvador, BA [anais eletrônicos]. Salvador: UFBA; 2012. [acesso em 01 de março de 2017]. Disponível em: [\[https://portalseer.ufba.br/index.php/anaiseneq2012/article/view/7862/5687\]](https://portalseer.ufba.br/index.php/anaiseneq2012/article/view/7862/5687).
64. Mwambete KD, Lyombe F. Antimicrobial activity of medicated soaps commonly used by dar es salaam residents in tanzania. *Indian J Pharm Sci.* 2011; 73(1):92–8.
65. 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(11): 836–46.
66. Neppelenbroek KH, Pavarina AC, Vergani CE, Giampaolo ET. Hardness of heat-polymerized acrylic resins after disinfection and long-term water immersion. *J Prosthet Dent* 2005; 93(2):171-6.
67. Nett JE, Marchillo K, Spiegel CA, Andes DR. Development and validation of an in vivo *candida albicans* biofilm denture model. *Infec Immun* 2010; 78(9):3650-9.
68. Nikawa H, Hamada T, Yamashiro H, Kumagai H. A review of in vitro and in vivo methods to evaluate the efficacy of denture cleansers. *Int J Prosthodont.* 1999; 12(2):153-9.

- 69.O'Brien J, Wilson I, Orton T, Pognan F. Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. *Eur J Biochem.* 2000;267(17):5421-6.
- 70.Panariello BH, Izumida FE, Moffa EB, Pavarina AC, Jorge JH, Giampaolo ET. Effects of short-term immersion and brushing with different denture cleansers on the roughness, hardness, and color of two types of acrylic resin. *Am J Dent.* 2015; 28(3):150-6.
- 71.Patel SB, Gordan VV, Barrett AA, Shen C. The effect of surface finishing and storage solutions on the color stability of resin-based composites. *J Am Dent Assoc.* 2004; 135(5):587-94.
- 72.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(5):532-6.
- 73.Petrovic M, Kostic M, Kostic M, Krunic N, Igic M, Pesic Z, et al. Therapeutic alternatives of natural compounds in treatment of Candida-associated denture stomatitis. *Acta Med Medianae* 2014;53:73-9.
- 74.Radford DR, Sweet SP, Challacombe SJ, Walter JD. Adherence of *Candida albicans* to denture-base materials with different surface finishes. *J Dent.* 1998; 26(7):577-83.
- 75.Ramage G, Rajendran R, Sherry L, Williams C. Fungal biofilm resistance. *Int J Microbiol.*; 2012; 2012:528521.
- 76.Rawlf HR. Dental polymers. In: Anusavice KJ, editor. *Phillips dental materials* 11th ed. Philadelphia: Saunders; 2005. p. 135-57
- 77.Rodney D, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev.* 2002;15(2):167–93.
- 78.Russell AD. Whither triclosan?. *J Antimicrob Chemother.* 2004;53 (5): 693–5.
- 79.Sagripanti JL, Bonifacino A. Cytotoxicity of liquid disinfectants. *Surg Infect.* 2000; 1(1):3-14.
- 80.Salerno C, Pascale M, Contaldo M, Esposito V, Busciolano M, Milillo L, et al. Candida-associated denture stomatitis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2011; 16(2):e139-43.
- 81.Schuster GS, Lefebvre CA, Dirksen TR, Knoernschild KL, Caughman GB. Relationships between denture base resin cytotoxicity and cell lipid metabolism. *Int J Prosthodont.* 1995; 8(6): 580-6.

- 82.Sepúlveda-Navarro WF, Arana-Correa BE, Borges CP, Jorge JH, Urban VM, Campanha NH. Color stability of resins and nylon as denture base material in beverages. J Prosthodont. 2011;20(8):632-8.
- 83.Sham AS, Chu FC, Chai J, Chow TW Color stability of provisional prosthodontic materials. J Prosthet Dent. 2004; 91(5):447-52.
- 84.Sheridan, PJ, Koka S, Ewoldsen NO, Lefebvre CA, Lavin MT. Cytotoxicity of denture base resins. Int J Prosthodont. 1997;10(1): 73-7.
- 85.Smith K, Hunter IS. Efficacy of common hospital biocides with biofilms of multi-drug resistant clinical isolates. J Med Microbiol. 2008;57(pt 8):966-73.
- 86.U.S. Food and Drug Administration Alert. FDA public Health. Notification: Denture Cleanser Allergic Reactions and Misuse. February 14, 2008. [acesso em 01 de março de 2017]. Disponível em: [wayback.archive-it.org/7993/20170111190517/http://www.fda.gov/MedicalDevices/Safety/AlertsandNotices/PublicHealthNotifications/ucm062012.htm]
- 87.UNIOESTE. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Sabonetes Líquidos: fabricando sabonetes líquidos. Projeto Gerart. Volume VIII, 22p. 2009. Disponível em: [http://projetos.unioeste.br/projetos/gerart/apostilas/apostila8.pdf]. [acesso em 01 de março de 2017].
- 88.Vallittu PK, Miettinen V, Alakuijala P. Residual monomer content and its release into water from denture base materials. Dent Mater. 1995; 11(6):338-42.
- 89.Veres EM, Wolfaardt JF, Hnizdo E. Denture cleansers: part I – a survey of material and methods employed by denture wearers. J Dent Assoc South Africa. 1985; 40(10): 591–4.
- 90.Verran J, Maryan CJ. Retention of Candida albicans on acrylic resin and silicone of different surface topography. J Prosthet Dent.1997; 77(5): 535–9.
- 91.Villalta P, Lu H, Okte Z. Effects of staining and bleaching on color change of dental composite resins. J Prosthet Dent. 2006; 95(2):137-42.
- 92.Webb BC, Thomas CJ, Willcox MD, Harty DW, Knox KW. Candida-associated denture stomatitis. Aetiology and management: a review. Part.1. Factors influencing distribution of Cândida species in the oral cavity. Aust Dent J. 1998; 43(1): 45-50.

93. Webb BC, Thomas CJ, Willcox MD, Harty DW, Knox KW. Candida-associated denture stomatitis. Aetiology and management : a review. Part.2. Oral diseases caused by Candida species. Aust Dent J. 1998; 43(3): 160-6.
94. Webb BC, Thomas CJ, Willcox MD, Harty DW, Knox KW. Candida-associated denture stomatitis. Aetiology and management a review. Part.3. Treatment of oral candidosis. Aust Dent J. 1998; 43(4): 244-9.
95. Wennberg A, Hasselgren G, Tronstad, L. A method for toxicity screening oh biomaterials using cells cultured on Millipore Filters. J Biomed Mater Res. 1979; 13(1): 109-20.
96. Wiegand C, Hipler UC. Methods for the measurement of cell and tissue compatibility including tissue regeneration processes. GMS Krankenhhyg Interdiszip. 2008;3(1):Doc12.
97. Williams D, Lewis M. Pathogenesis and treatment of oral candidosis. J Oral Microbiol. 2011; 3: 3087208.
98. Yoshijima Y, Murakami K, Kayama S, Liu D, Hirota K, Ichikawa T et al. Effect of substrate surface hydrophobicity on the adherence of yeast and hyphal Candida. Mycoses. 2010; 53(3): 221–6.
99. Zissis A, Yannikakis S, Harrison A. Comparison of denture stomatitis prevalence in two population groups. Int J Prosthodont. 2006;19(6): 621–5.