

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FOA - UNESP – ARAÇATUBA

ANTONIO CARLOS MARQUETI

Próteses Totais Removíveis como Reservatório de Microrganismos Oportunistas

ARAÇATUBA - SP

2011

ANTONIO CARLOS MARQUETI

Próteses Totais Removíveis como Reservatório de Microrganismos Oportunistas

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia, Câmpus de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como parte integrante dos requisitos para obtenção do título de DOUTOR, pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Área de Concentração em Estomatologia.

Orientador: Prof. Dr. Elerson Gaetti-Jardim Júnior

Co-Orientador: Prof. Dr. Alvimar Lima de Castro

ARAÇATUBA - SP

2011

Catálogo na Publicação (CIP)

Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

Marqueti, Antonio Carlos.

M357a Próteses Totais Removíveis como Reservatório de
Microrganismos Oportunistas / Antonio Carlos Marqueti. -

Araçatuba : [s.n.], 2011

79 f.: il. + 1 CD-ROM

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista,

Faculdade de Odontologia de Araçatuba

Orientador: Prof. Dr. Elerson Gaetti-Jardim Júnior

Co-Orientador: Prof. Dr. Alvimar Lima de Castro

1. *Enterobacteriaceae* 2. Leveduras 3. Reação em
Cadeia da Polimerase 4. Infecções oportunistas.

Black D65

CDD 617.634

DADOS CURRICULARES

ANTONIO CARLOS MARQUETI

27 de Junho de 1969	Nascimento, na cidade de Jaborandi SP
1988 – 1991	Graduação em Odontologia pela Faculdade de Odontologia da Fundação Educacional de Barretos - SP
1999 – 2000	Especialização em Endodontia pelo Centro de Pós-Graduação da Fundação Educacional de Barretos
2001 - 2003	Pós-Graduação em Odontologia, Área de Estomatologia, nível Mestrado pela Faculdade de Odontologia de Araçatuba - Unesp.
2008 – 2011	Pós-Graduação em Odontologia, Área de Estomatologia, nível Doutorado pela Faculdade de Odontologia de Araçatuba - Unesp.

DEDICATÓRIA

A DEUS

Que através do dom da vida me proporcionou a oportunidade do aprendizado, do conhecimento, do convívio e do amadurecimento.

A MINHA FAMÍLIA

Pela paciência, compreensão, carinho, apoio, força, amparo e, sobretudo, pelo amor que muito me impulsionou durante esta jornada.

AOS MEUS AMIGOS

Que através da amizade, do companheirismo e cumplicidade fizeram parte do meu convívio nesses longos anos em Araçatuba e muito contribuíram para o meu crescimento e amadurecimento. Divido com todos vocês esta conquista.

DEDICATÓRIA ESPECIAL

Antonio Marqueti e Dalva Sadoco Marqueti

Meus pais sempre lembrados, presentes e amados.

Pela participação ativa e decisiva em minha vida, junto aos meus filhos, sempre oferecendo o suporte necessário durante minhas ausências, serei eternamente grato por tudo.

Paulo Sérgio Marqueti

Meu irmão querido e amado, presente e sempre solícito.

Pelas muitas vezes em que o tio deu lugar ao pai, oferecendo suporte afetivo em forma de atenção, carinho e orientação aos meus filhos, como também pelo apoio pessoal durante este período.

Laíssa Helena Marqueti e Rafael Carlos Marqueti

Meus filhos queridos que representam alegria e felicidade em minha vida.

Sempre amados, presentes e grandes motivadores da minha busca.

Pela compreensão, paciência e maneira com que lidaram com minha ausência ao longo deste período.

Adriana de Castro Pereira

Minha companheira, presente, amável, querida e amada.

A cada retorno um sorriso, uma palavra de carinho ou um carinho que muito me confortaram ao longo desta caminhada.

Pelas vezes que seu silêncio e sua paciência me proporcionaram a oportunidade do desabafo no auge de minha ansiedade e estresse.

Seu equilíbrio, simpatia, compreensão e determinação contribuíram sobremaneira para o bom desenvolvimento deste trabalho.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A Deus

Por ter me dado o dom da vida e permitir que os meus desejos
pudessem ser transformados em realidade.

Ao Prof. Dr. *Elerson Gaetti-Jardim Júnior*, amigo e **orientador**, agradeço pela oportunidade do convívio e aprendizado. Personalidade forte, marcante, idéias claras e objetivo definido. Pessoa jovem em relação à vida, entretanto sua experiência o coloca muito à frente de seu tempo. Criterioso, capaz, exigente e referência certa quando o assunto é pesquisa em Odontologia. Dedicção exclusiva. Titular, no sentido mais amplo e irrestrito que esta palavra possa representar no meio acadêmico. Estes anos de convivência muito contribuíram para o meu crescimento profissional, acadêmico e pessoal. A você, professor Elerson, meus sinceros e mais respeitosos agradecimentos pelo apoio, incentivo e orientações oferecidos durante este período.

Ao meu **co-orientador**, Prof. Dr. *Alvimar Lima de Castro*, pela oportunidade dada a minha pessoa, pelo fato de poder contar com sua amizade verdadeira, consideração e respeito durante todos esses anos de convivência, não esquecendo jamais de agradecer sua participação decisiva em minhas conquistas acadêmicas, em especial, nas oportunidades a mim oferecidas em relação à pós-graduação, Mestrado e Doutorado, desenvolvidos junto ao **Departamento de Patologia e Propedêutica Clínica** da Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” – Câmpus Araçatuba, SP. Obrigado por ter me iniciado e incentivado na Estomatologia.

Deus, com sua graça, fez com que nossos caminhos se encontrassem na FOA - Unesp neste período, *Francisco Isaac Nicolas Ciezielsky, Livia Trevelin Arede, Livia Buzati Meca, Marcell M. Buso Ramos, Marcell Moço Silva, Henrique José Baldo de Toledo e Jorgiana Sangalli*.

Ao meu “sobrinho” *Chico*, que muito contribuiu para que os compromissos da pós-graduação pudessem ser atingidos, meu especial agradecimento. Levarei comigo a amizade, o apoio e o incentivo dedicados a mim nos momentos mais difíceis.

Aos **estagiários** que desenvolveram seus projetos no laboratório de Microbiologia e Imunologia da FOA - Unesp, que muito me auxiliaram na árdua tarefa do processamento laboratorial. Agradeço verdadeiramente a todos vocês pela oportunidade do convívio.

À **Faculdade de Odontologia do Câmpus de Araçatuba – UNESP**, na pessoa do seu diretor *Prof. Dr. Pedro Felício Estrada Bernabé*, pela oportunidade de realização de minha pós-graduação, mestrado e doutorado

Aos **docentes** do Departamento de Patologia e Propedêutica Clínica da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, na pessoa do *Prof. Dr. Marcelo Macedo Crivelini* pela oportunidade de convívio ao longo deste período.

Aos **funcionários** do Departamento de Patologia e Propedêutica Clínica, na pessoa do Sr. *Robson Varlei Ranieri* pelo apoio recebido durante o desenvolvimento das atividades laboratoriais.

Aos **funcionários** da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, na pessoa da Sra *Valéria de Queiroz Marcondes Zagatto* pela paciência, atenção e orientação.

Aos **bibliotecários** da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, na pessoa da Sr.^a *Izamar da Silva Freitas*, pela dedicação e paciência na orientação literária durante a confecção deste trabalho.

Ao **Curso de Odontologia do Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos**, na pessoa de seu coordenador, *Prof. Dr. Fabiano de Sant'Ana dos Santos*, pela compreensão, consideração e apoio pessoal durante este período de formação acadêmica.

Aos meus **amigos professores** do Curso de Odontologia do Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos, na pessoa do *Prof. Miguel Alfredo Isper*, em especial aos membros das Disciplinas que lecionei durante esta jornada que, por praticarem o trabalho em equipe, supriram minhas ausências no período, colaborando assim com minha formação acadêmica, um agradecimento especial.

Epígrafe

*“ Cada um que passa em nossa vida,
Passa só, pois cada pessoa é única,
E nenhuma substitui a outra.
Cada um que passa em nossa vida,
Passa sozinho, mas não vai só.
Leva um pouco de nós,
Deixa um pouco de si.
Há os que levaram muito,
Mas não há os que não deixaram nada.
Esta é a maior responsabilidade
De nossa vida
E a prova de que duas almas
Não se encontram por acaso ...”*

(Antoine de Saint-Exupéry)

De tudo ficaram três coisas:

A certeza de que estamos começando;

A certeza de que é preciso continuar e

A certeza de que podemos ser interrompidos antes de terminar.

Fazer da interrupção um caminho novo,

Fazer da queda um passo de dança,

Do medo uma escola,

Do sonho uma ponte,

Da procura um encontro,

E assim terá valido a pena existir!

(Fernando Sabino)

MARQUETI, AC. **Próteses totais removíveis como reservatório de microrganismos oportunistas.** 81f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2011.

Resumo

Este estudo avaliou a ocorrência de leveduras do gênero *Candida* sp além dos principais microrganismos periodontopatogênicos e enterobactérias na saliva, em mucosa e no biofilme aderido à prótese total, correlacionando com aspectos clínicos e condição de higiene bucal de 90 indivíduos edêntulos e portadores de prótese total, por meio de métodos moleculares (PCR). Espécimes clínicos intrabucais foram coletados desses indivíduos após avaliação das condições sócio-econômicas e comportamentais. A microbiota bucal dos pacientes foi caracterizada por meio da obtenção de amostras de biofilme aderido às próteses totais, mucosa e saliva, as quais foram processadas, por meio de PCR. As inter-relações entre os diferentes microrganismos foram determinadas por meio dos testes de Qui-quadrado e Mann-Whitney. Verificaram-se diferenças na ocorrência de *Prevotella intermedia* e *Enterobacteriaceae* na saliva dos pacientes edêntulos, o mesmo ocorrendo com *Enterobacteriaceae*, *Camphylobacter rectus* e gênero *Pseudomonas* no biofilme aderido às próteses totais. As condições de higiene bucal e estado de conservação da prótese total precários favoreceram a ocorrência de leveduras do tipo *Candida* sp, em especial *Candida albicans*, em níveis estatisticamente significante nas amostras de mucosa e biofilme aderido à prótese total, tornando este dispositivo protético um potencial reservatório de leveduras e bactérias entéricas que podem ser de relevância na patogênese das infecções oportunistas.

Palavras-chave: *Enterocateriaceae*; Leveduras; PCR; Infecções oportunistas.

MARQUETI, AC. **Removable total prostheses as reservoir of Opportunists Microorganisms.** 81f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2011.

Abstract

The aim of this study was to evaluate the occurrence of major periodontopathogenic microorganisms and *Enterobacteriaceae* and biofilm adhered to the denture, mucosa and saliva in 90 edentulous subjects with complete dentures, using molecular methods (PCR). Clinical specimens were collected from these individuals after assessing the socio-economic circumstances and behavioral. The oral microbiota of patients was characterized by obtaining samples of the biofilm adhered to the dental prosthesis and saliva, for detection of major pathogens using PCR. The possibility of inter-relationships between different microorganisms was determined using the chi-square test and Mann-Whitney test. There were differences in the occurrence of *Prevotella intermedia* and *Enterobacteriaceae* in the saliva of edentulous patients, likewise, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*, *Camphylobacter rectus* and the biofilm attached to denture patients. The conditions for oral hygiene and stat of preservation of prosthesis total precarious favored the occurrence of yeasts of the *Candida* sp, particularly *Candida albicans*, statistically significant levels in samples of mucosa and biofilm acceded to total prosthesis, prothetic device, making it a potential reservoir of enteric bacteria and yeasts that may be of relevance in the pathogenesis of opportunistic infections.

Key word: *Enterobacteriaceae*, Yeasts; PCR; Opportunistic infections.

Lista de Tabelas

Tabela 1: Iniciadores específicos utilizados para detecção de diferentes microrganismos autóctones da boca.....	41
Tabela 2: Iniciadores específicos utilizados para detecção de diferentes microrganismos oportunistas ou exógenos da boca.....	42
Tabela 3: Aspectos sócio-demográficos do grupo populacional analisado. Dados obtidos por meio da anamnese.....	46
Tabela 4: Condições de saúde dos pacientes examinados	47
Tabela 5: Condições bucais dos pacientes examinados. Dados obtidos por meio de exame físico intrabucal.....	48
Tabela 6 - Higienização dos dispositivos protéticos, higienização bucal com antisépticos e histórico de uso noturno do dispositivo protético.	49
Tabela 7: Conservação insatisfatória da peça protética: critérios de inadequação	50
Tabela 8: Ocorrência dos diferentes microrganismos alvo nas amostras de saliva de pacientes portadores de prótese total.	53
Tabela 9: Ocorrência dos diferentes microrganismos alvo nas amostras de mucosa de pacientes portadores de prótese total.....	54
Tabela 10: Ocorrência dos diferentes microrganismos alvo nas amostras de biofilme obtidas das próteses totais utilizadas	55

Lista de Abreviaturas

μg - micrograma

ml - mililitro

N_2 - gás nitrogênio

CO_2 - gás carbônico

$^{\circ}\text{C}$ - graus Celsius

PCR - Reação em cadeia da polimerase

DNA - Ácido desoxirribonucleico

MgCl_2 - Cloreto de magnésio

dNTP - Nucleotídeos sintéticos

UV – Radiação Ultravioleta

UNESP - Universidade Estadual Paulista

pH – potencial Hidrogeniônico

μl – microlitro

mM – milimolar

μM – micromolar

ng – nanograma

min – minutos

s – segundos

% - percentual

Taq DNA polimerase - enzima termoestável isolada do *eubacterium Thermus aquaticus*

U/ μl – Unidade por microlitro

Sumário

1- Introdução.....	20
2- Revisão de Literatura	23
3- Proposições.....	34
4- Casuística e Método	35
5- Resultados.....	45
6- Discussão.....	55
7- Conclusões.....	66
8- Referências	67
9- Anexos	81

1- INTRODUÇÃO

A boca vem sendo considerada um importante reservatório para patógenos oportunistas, sendo o ponto fraco no controle de infecções de caráter nosocomial, visto que o acesso do cirurgião-dentista ao ambiente hospitalar é, por vezes, vedado, além de que as peculiaridades da microbiota bucal escapam ao conhecimento médico convencional^{1,2,3,4}.

Esses microrganismos são os principais responsáveis pela pneumonia nosocomial, que é a segunda infecção mais comum em hospitais e instituições públicas⁵, representando em cerca de 10 a 15% do total de infecções¹, envolvendo pneumonia por ventilação mecânica, osteomielites, doença pulmonar obstrutiva crônica entre outras^{6,7}, que por meio da aspiração de secreções contaminadas, evoluem para pneumonia podendo levar a óbito 20 a 50% dos pacientes afetados^{1,8,9,10,11}, principalmente os portadores de epilepsia, acometidos por acidentes vasculares cerebrais, portadores de doença de Parkinson e dependentes químicos, que favorecem a aspiração de patógenos orais ou secreções orofaríngeas^{1,3,8}.

Na boca, os sítios anatômicos envolvidos por processos infecciosos crônicos, como o periodonto, podem se tornar reservatórios de microrganismos associados a esses quadros sépticos, destacando-se, além daqueles associados às infecções de cabeça e pescoço, como os gêneros *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Aggregatibacter*, *Selenomonas*, *Eikenella*, *Streptococcus* e *Campylobacte*^{12,13,14,15}, outros microrganismos de

importância médica, como *Staphylococcus*, *Enterococcus*, membros da família *Enterobacteriaceae* e pseudomonados, dentre outros^{9,16,17,18,19,20}.

Outros fatores, como a higiene precária, podem resultar em maior concentração e patógenos na saliva e no biofilme, podendo ser aspirados ou adentrar à corrente sanguínea após pequenos traumas, resultando em infecções sérias, por vezes fatais^{9,10,11,15,21}.

Logo, a despeito da grande ênfase dada à participação de microrganismos presentes na boca, mesmo que oriundos de outros ambientes, vários quadros patológicos podem estar ligados a esses microrganismos, como septicemias, infecções uterinas, abscessos hepáticos e cerebrais, dentre outros^{2,19,22}, principalmente em pacientes com baixa reatividade imunológica, como idosos e institucionalizados, onde a transmissão dos patógenos é facilitada pelas condições ambientais^{17,23}. Além desses aspectos, deve-se ressaltar que a ocorrência de quadros infecciosos graves, principalmente pneumonias, é uma das três principais causas de óbitos em idosos^{9,10,11}.

Em pacientes idosos de países em desenvolvimento, o edentulismo frequentemente associado à extração precoce dos elementos dentais, é bastante comum, variando entre 27 e 69% da população acima de 60 anos²³, sendo geralmente reparada pelo uso de dispositivos próticos^{23,24}, os quais recebem pouca ênfase em termos de manutenção e higiene^{17,24}.

Desta forma, a superfície de resina acrílica dessas próteses constitui ambiente extremamente favorável à colonização microbiana, particularmente para leveduras do gênero *Candida*^{25,26} e microrganismos bucais, inclusive os anaeróbios^{3,15,27,28}, atuando como fator agravante, assim como as próprias características da boca, banhada por saliva, que facilita a precipitação

constante de proteínas e acaba por exacerbar a formação de biofilme sobre a prótese^{17,29,30}.

Em pacientes institucionalizados, idosos, por vezes sem atendimento odontológico regular, essas condições de uso e manutenção das próteses tendem a se deteriorar, possibilitando, pelo menos teoricamente, o desenvolvimento de biofilmes microbianos, calcificados ou não^{9,17,24}. Esse fenômeno é relevante quando se verifica que a simples melhora nos padrões de higiene bucal leva a uma significativa redução da prevalência da colonização bucal e de orofaringe dos principais patógenos associados às infecções oportunistas¹.

Muitos desses microrganismos endógenos da boca e outros presentes, de forma transitória, como microrganismos entéricos, podem ser portadores de genes de resistência a agentes antimicrobianos e os podem espalhar à população microbiana de infecções nosocomiais, em função destes grupos bacterianos estarem comumente envolvidos em infecções sistêmicas^{3,12,14}. Entretanto, a despeito de alguns dados sugerirem que as próteses totais sejam o principal reservatório bucal dessas bactérias e que a boca seja a rota quase obrigatória para a disseminação desses patógenos^{19,31}, poucas são as informações disponíveis sobre a contaminação microbiana presente nas próteses e na mucosa desses pacientes edêntulos.

2- Revisão de Literatura

2.1- Microbiota bucal e resina acrílica: princípios teóricos ligados à colonização bucal.

A literatura se refere ao biofilme como uma comunidade sésil onde as células são organizadas em microcolônias que se encontram aderidas a uma superfície ou substrato ou, ainda, umas às outras em caráter irreversível e envolvidas em uma matriz extracelular de substâncias poliméricas, representando um padrão de crescimento microbiano predominante na natureza, sendo de suma importância no desenvolvimento de infecções, já que são verdadeiros nichos de retenção de agentes patogênicos e estão associados a altos níveis de resistência a antimicrobianos^{32,33}.

Na boca, em recém-nascidos, já foram encontrados microrganismos como *Prevotella melaninogenica*, *Fusobacterium nucleatum*, *Veillonella* sp e espécie não pigmentadas do gênero *Prevotella* em maior frequência entre as crianças analisadas, atribuindo-se à microbiota materna^{27,34}.

Quanto à colonização da boca por *Streptococcus mutans* e espécies afins, Sachdeo *et al.* (2008)²⁷ sugeriram haver a necessidade de superfícies duras para sua adesão, sendo detectados em indivíduos dentados, em baixos níveis sobre o tecido mole. Quando todos os dentes foram extraídos, tem reaparecido em superfícies duras como as dentaduras. Fenômeno semelhante foi descrito para *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* e *Porphyromonas gingivalis*, destacando-se que os mesmos não reaparecem em superfícies de dentaduras sugerindo sua dependência em relação à superfície dental e sulco gengival^{2,35}.

Sachdeo *et al.* (2008)²⁷ avaliaram a microbiota de biofilmes presentes em dentaduras, em tecidos moles orais e na saliva de pacientes edêntulos, concluindo que periodontopatógenos, como *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* e *Porphyromonas gingivalis*, foram encontrados em número significativo no biofilme sobre a prótese e tecidos moles. Outros microrganismos, como os gêneros *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Bacteroides*, *Neisseria* e *Lactobacillus* podem colaborar com a formação do biofilme sobre esses dispositivos protéticos^{36,37}.

Gaetti-Jardim Junior *et al.* (2008)³ isolaram microrganismos entéricos de biofilme subgingival de pacientes HIV-positivos com periodontite necrosante, destacando-se enterobactérias como *Enterobacter sakazakii*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia liquefaciens*, *Klebsiella oxytoca* e *Enterococcus* spp, além de leveduras como *Candida albicans*, evidenciando que esses patógenos mostravam nítida associação com quadros de imunossupressão e estomatites.

Segundo Paiva *et al.* (2009)³⁸ as bactérias podem ser agentes facilitadores da adesão de leveduras do gênero *Candida*, principalmente *C. albicans*, às superfícies internas das próteses, através do fenômeno de coagregação e são comumente encontradas no biofilme microbiano associado às bases de próteses em resina acrílica. Espécies menos virulentas como *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida guilliermondii*, *Candida parapsilosis*, *Candida dubliniensis* e *Candida krusei* que têm sido isoladas recentemente de bases de próteses e associada à estomatite protética, devido ao fato desses microrganismos penetrarem e sobreviverem na resina acrílica a uma profundidade que varia de 1,0 a 2,0 micrômetros, produzindo reinfecção, mesmo após o controle do biofilme da prótese e higienização bucal³⁹.

A prevalência de *Candida* spp varia de 11 a 67%, com maior incidência nos pacientes usuários de próteses totais mucossuportadas, gênero feminino. Essa levedura está associada à estomatite por dentadura, hiperplasia fibrosa inflamatória e queilite angular, reforçando assim a necessidade de implementação de métodos de controle e prevenção dessas enfermidades. Estudo realizado por Ramage *et al.* (2004)⁴⁰ comprovaram a eficácia de um protocolo preventivo à base de fluconazol e de higiene oral na redução da colonização da mucosa e da prótese total mucossuportada por *Candida* spp, melhorando a condição de higiene oral⁴¹.

Além dos estudos que relatam o envolvimento de *Candida albicans* com a etiologia da estomatite protética, autores como Paiva *et al.* (2009)³⁸, Jorge *et al.* (2007)³⁹ e Sesma *et al.* (2005)⁴² sugerem que o aparecimento dessa enfermidade possa estar vinculado à presença de um biofilme não específico, sugerindo ainda uma característica multifatorial e polimicrobiana para esta alteração de mucosa, mas sempre com a participação de leveduras.

Os fungos desenvolveram a habilidade de se aderir às resinas das próteses totais, de maneira direta ou por meio de uma camada intermediária formada pela matriz do biofilme onde, inicialmente, as células de *Candida albicans* aderem à superfície da lâmina de polimetacrilato da resina, formando microcolônias logo nas primeiras onze horas, seguida por uma fase intermediária marcada pela emergência e predominância de substâncias poliméricas extracelulares, assemelhando-se a um filme que cobre as microcolônias do fungo, enquanto que na fase de maturação, a quantidade de substância polimérica extracelular se intensifica, associada ao tempo de

incubação, favorecendo com que as comunidades de *Candida albicans* sejam completamente cobertas por essa substância⁴³.

Quanto à virulência desses fungos oportunistas e suas manifestações, em especial o gênero *Candida*, encontram-se associados fatores predisponentes intrínsecos do hospedeiro, como idade avançada, gravidez, prematuridade, neoplasias, hemopatias, endocrinopatias e outras enfermidades, que também levam a significativa queda de imunidade. Há também os fatores extrínsecos como o uso de antibacterianos, corticóides, antineoplásicos, terapia intravenosa prolongada, intervenções cirúrgicas, ação de agentes físicos e químicos, além daqueles ligados aos fatores de virulência do próprio fungo^{44,45}.

2.2 Adesão microbiana

Entre os microrganismos e a resina acrílica, a adesão microbiana se dá por meio de uma película que se forma sobre a prótese, principalmente no lado que está em contato com o rebordo residual. A adesão inicial pode ser reversível ou irreversível, onde os microrganismos são fixados nas células epiteliais e na resina acrílica por meio de interações específicas, ocorrendo processos de colonização microbiana com consequente formação do biofilme microbiano^{17,38,46}.

As resinas termopolimerizáveis, por micro-ondas apresentaram adaptação e propriedades semelhantes às termopolimerizáveis em banho de água. Além disso, não apresentaram diferenças estatisticamente significantes quanto a porosidade, sugerindo que não há diferença significativa em relação à aderência dos microrganismos em relação ao tipo de resina acrílica utilizada⁴⁷.

Gonçalves *et al.* (2008)⁴⁸, através da microscopia eletrônica de varredura, demonstraram uma maior porosidade superficial em resina autopolimerizável em relação às duas resinas termopolimerizáveis avaliadas, sugerindo que os poros aumentavam a retenção de biofilme na superfície da resina acrílica e o manchamento de algumas partes das próteses e que a maior porosidade beneficiaria microrganismos como leveduras e bactérias que seriam protegidas contra as forças de cisalhamento da limpeza mecânica⁴⁹.

Vitkov *et al.* (2002)⁵⁰ relataram que bactérias e fungos, em especial *Candida albicans* possuem vários habitats preferenciais dentro do ambiente bucal, principalmente as células epiteliais da mucosa, língua, bem como superfície dos dentes e das próteses fixas ou removíveis. A presença de outros microrganismos que já colonizam inicialmente estas superfícies produz uma ancoragem para as pseudohifas, permitindo o seu crescimento e desenvolvimento nesse ambiente.

Abraham, Beachey, Simpson (1983)⁵¹ e Hasty, Simpson (1987)⁵² estudaram a relação entre o processo da adesão microbiana e evidenciaram que a fibronectina atua como receptor facilitando o processo de adesão de bactérias como estreptococos do grupo A às células do epitélio bucal, porém, inibe a adesão de bactérias Gram negativas, como *E. coli* e *Pseudomonas aeruginosa*.

A adesão às superfícies celulares constitui o evento primário e necessário à colonização bucal e desenvolvimento da enfermidade⁴⁴, sendo que para iniciar a doença propriamente dita, a *Candida albicans* adere às células epiteliais da mucosa bucal e, posteriormente, invade e destrói essas

células, promovendo deformação dos queratinócitos do hospedeiro durante a sua penetração⁵³.

Ainda em relação ao processo de adesão dos microrganismos, outros fatores relacionados ao processo de virulência dos fungos patogênicos dizem respeito à produção de enzimas histolíticas, como a aspartil proteinase (SAP), enzimas fosfolipase B e lipases⁴⁴ e, ainda, sua forma filamentosa, que é controlada pelos genes que regulam a morfologia das hifas e são correguladores dos genes que codificam outros processos de virulência como as proteases e adesinas⁵⁴.

2.3 Métodos de desinfecção da peça protética

O processo de higienização e desinfecção da peça protética é de fundamental importância e a escovação com dentífrício se destaca como o método mais utilizado para limpeza das próteses, embora seja insuficiente para um controle efetivo do biofilme presente nas bases acrílicas das próteses removíveis³⁶.

Nesse particular, métodos como a imersão noturna em solução de hipoclorito de sódio (0,02%) e clorexidina (1%) têm sido recomendados, embora o risco de manchamento da resina acrílica possa ocorrer, fazendo com que a escovação associada ao protocolo de desinfecção em micro-ondas seja uma alternativa viável^{18,55}.

De acordo com Peracini (2008)⁵⁶ a respeito da utilização de micro-ondas para a descontaminação de próteses, o tempo de exposição de seis minutos à

potência média resultou favorável, sendo consequência de um efeito térmico, sugerindo ainda que outros mecanismos relativos à interação do campo eletromagnético poderiam estar envolvidos, associados a mudanças intracelulares específicas induzidas pelas micro-ondas nos microrganismos.

Na tentativa de explicar o mecanismo de ação do micro-ondas como método de desinfecção, Neppelenbroek (2005)⁵⁷ relatou fenômenos envolvendo a parede celular bacteriana, onde alterações na permeabilidade possivelmente produziriam clivagem da célula, embora essa teoria não tenha sido comprovada, naquele momento e a presença de água tanto no meio circundante quanto no interior da célula, poderiam influenciar as alterações celulares produzidas pelas micro-ondas.

Esse método, como sugerido por Pavan (2006)⁵⁸, levaria ao aquecimento de moléculas polares, como a água, gorduras, os aminoácidos e as proteínas que oscilariam devido ao desequilíbrio elétrico existente nessas moléculas, onde a vibração molecular produziria calor e, possivelmente, degradação das moléculas afetadas, sendo um processo rápido e que não alteraria as moléculas não polares como as das resinas acrílicas⁵⁹.

A adição de água durante a exposição às micro-ondas promove um aquecimento uniforme do material e é considerada adequada para eliminar a viabilidade microbiana, mesmo daqueles presentes nos poros dos materiais que compõe a base das próteses totais^{44,56,60,61}.

Dentre os métodos difundidos para desinfecção das próteses em resina acrílica, destaca-se a utilização da imersão e do spray com soluções desinfetantes, com preferência para o método de imersão, o qual provoca a

eliminação da maioria dos microrganismos vegetativos, embora a redução eficaz dos níveis de contaminação microbiana dependa do tipo de agente químico, concentração, tempo de contato, espectro de atividade antimicrobiana, temperatura e reutilização^{44,62,63}.

Como características de um agente químico para controle de biofilme, destacam-se o amplo espectro de ação (microrganismos e vírus) não ser afetado por fatores como matéria orgânica ou sabões, detergentes ou demais substâncias químicas, concentração da substância química ativa, o tempo de exposição, a quantidade de resíduos orgânicos acumulados, a natureza do objeto (presença de poros), além do pH da solução, ser atóxico, inodoro, econômico, de fácil utilização e não produzir alterações superficiais que causem danos ao objeto desinfetado, sendo consenso entre os autores que nenhuma substância desinfetante disponível preencha todos os critérios estabelecidos^{44,62,63,64,65}, considerando-se ainda que a eficácia dos desinfetantes de superfície e de imersão seja dependente de alguns fatores como a concentração e o tipo de microrganismos.

Com base nesses critérios, a literatura destaca a solução aquosa de hipoclorito de sódio, como a substância mais utilizada para a desinfecção química de próteses de resina acrílica, pelo fato de ser poderoso germicida, não ser prejudicial aos tecidos nas concentrações comercializadas, ser de amplo espectro de ação, não produzir resíduos nocivos e nem alteração de cor da solução, ser de fácil manuseio além de possuir baixo custo, entretanto, exige cautela devido ao fato de produzir corrosão em determinados metais, principalmente o alumínio^{62,63,65,66}.

A eficácia antimicrobiana desse agente reside na liberação de cloro ativo como subproduto das interações entre o hipoclorito e a água⁴⁴, e são atribuídos dois efeitos antimicrobianos ao cloro, como a inibição enzimática e a formação de cloraminas, que ocorre por meio da reação do cloro com o grupamento amina de proteínas citoplasmáticas induzindo a formação de cloraminas, cuja toxicidade é reconhecida, interferindo rapidamente no metabolismo celular, mesmo em baixas concentrações e a oxidação enzimática, sendo este o principal mecanismo de ação envolvido na destruição da célula microbiana^{64,66,67}.

Estrela *et al.* (2002)⁶⁷ indicaram o hipoclorito de sódio como agente desinfetante para próteses totais porque este agente remove manchas, dissolve a mucina e outros compostos orgânicos e é bactericida e fungicida. Embora não dissolva o cálculo, pode inibir sua formação em próteses por dissolver a matriz orgânica do biofilme.

Machado *et al.* (2009)⁶⁸ consideraram que, independentemente do tipo do método de desinfecção das próteses, dever-se-ia considerar o tempo de imersão e a concentração do produto, baseando-se na eficácia da desinfecção e no menor dano causado ao material de confecção da base da dentadura.

2.4 - Antissepsia oral por meio de enxaguatórios.

O uso de produto enzimático à base de lactoperoxidase foi relatado por Santos *et al.* (2008)⁶⁹ como meio auxiliar na redução do biofilme bucal, com a vantagem de não possuir substância abrasiva (álcool, detergente ou corante) que prejudique ainda mais a mucosa bucal, que já se encontra comprometida,

reforçado pela presença da lactoferrina, interagem com a saliva, reduzindo a incidência de leveduras do gênero *Candida* spp, em particular, *Candida albicans* na mucosa oral.

Lamfon *et al.*(2005)⁷⁰ avaliaram a susceptibilidade de leveduras do gênero *Candida* spp, em pacientes usuários próteses totais com manifestação clínica da estomatite protética, em relação ao fluconazol, miconazol e digluconato de clorexidina, constatando que os antifúngicos utilizados isoladamente e em concentrações terapêuticas viáveis foram incapazes de impedir o crescimento de leveduras do gênero *Candida*, entretanto, a associação do miconazol com a clorexidina reduziu o crescimento dessas leveduras.

Bambace *et al.*(2003)⁷¹ se refere às maneiras como a clorexidina pode ser utilizada, destacando-se como desinfetante de campo cirúrgico, de canais radiculares, higienização de próteses, degermante para mãos, além de sua ação reduzir o risco de cárie e doença periodontal, sendo utilizada ainda na forma de gel, dentifrícios, colutórios, irrigações, chicletes e spray.

Khan *et al.*(2008)¹ relataram que o uso de clorexidina 0,12% em antisséptico bucal permitiu reduzir o índice de pneumonia em pacientes hospitalizados variou de 65 a 71% dos casos analisados, associados a controle mecânico do biofilme, sugerindo que a implantação deste tipo de protocolo contribuirá para diminuição dos índices de morbidade e mortalidade em pacientes institucionalizados, principalmente em ambientes de terapia intensiva.

3 PROPOSIÇÕES

Considerando-se a inter-relação existente entre a presença de próteses totais mucossuportadas, a má higienização bucal e a ocorrência de infecções oportunistas em pacientes edêntulos usuários dessas próteses, o presente estudo teve por objetivos:

- 1) Avaliar as condições de saúde sistêmicas, bucais, sócio-econômicas e comportamentais de uma população usuária de próteses totais mucossuportadas, procurando correlacionar o uso da prótese, as condições dos tecidos moles de suporte e a condição de higienização bucal desses pacientes.
- 2) Avaliar, por meio de PCR, a microbiota de superfície das próteses em resina acrílica, nas mucosas chapeáveis, bem como a contaminação microbiana salivar nesses pacientes.

4- CASUÍSTICA E MÉTODOS

Todos os indivíduos envolvidos no presente estudo assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido para a realização do trabalho, obedecendo-se a orientação ética vigente.

4.1- População estudada

A amostra estudada se constituiu de noventa pacientes usuários de prótese total, em pelo menos uma das arcadas. Foram incluídos na amostra pacientes com idade igual ou superior a sessenta anos, edêntulos e usuários de, pelo menos, uma prótese total removível por no mínimo um ano, e que assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Foram excluídos os pacientes que receberam medicação tópica ou sistêmica com atividade antimicrobiana nos quatro meses que precederam as coletas dos espécimes clínicos para análise da microbiota, que fizeram uso de medicamentos que afetavam o fluxo salivar ou que possuíam doenças sistêmicas debilitantes adicionais que poderiam comprometer a realização dos exames clínicos intra e extrabucais⁷².

4.2- Exame Clínico.

O exame clínico compreendeu o exame físico intra e extrabucal, bem como a coleta de dados através da anamnese. Inicialmente, realizou-se a anamnese em formulários padronizados, constando a identificação do paciente, idade, aspectos étnico-raciais, história da doença atual, médica e familiar.

Como parte da anamnese, aplicou-se um questionário para a avaliação de fatores sócio-econômicos, culturais, comportamentais e uso de medicamentos pelos pacientes. Os fatores sócio-econômicos e culturais incluíram idade, gênero, nível de escolaridade, profissão e renda familiar mensal. Os fatores comportamentais englobaram os hábitos de higiene bucal, número de escovações diárias, idade em que o indivíduo recebeu a primeira prótese total, frequência ao dentista, dieta alimentar, uso de medicamentos em particular os psicoativos, antimicrobianos e anti-inflamatórios, presença de enfermidades sistêmicas e percepção dos indivíduos sobre a manutenção dos dispositivos protéticos e sua relevância para a saúde sistêmica.

A seguir, procedeu-se o exame físico intrabucal para avaliar a ocorrência de algum tipo de lesão ou desvio de normalidade em tecidos moles, em especial, mucosa palatina, jugal, assoalho de boca e dorso lingual, bem como verificar a presença de sinais sugestivos de comprometimento sistêmico ou dos tecidos duros.

4.3- Coleta dos espécimes clínicos

As coletas de saliva não estimulada foram realizadas imediatamente antes do exame clínico das condições bucais dos pacientes. A saliva foi coletada com pipetas Pasteur plásticas, esterilizadas, e transferida para microtubos contendo água ultrapura Milli Q.

As amostras oriundas das mucosas bucais foram coletadas, individualmente e por região, por meio de zaragoas alginatadas suavemente friccionadas contra o dorso da língua, assoalho de boca, palato

duro e mucosa jugal, além dos tecidos dos rebordos alveolares que serviam de suporte para os dispositivos protéticos. A seguir, as zaragatoas foram transferidas para tubos contendo água ultrapura Milli Q, para extração de DNA e detecção dos patógenos por PCR.

As amostras oriundas das próteses foram coletadas de forma similar à descrita para as mucosas bucais, por meio de zaragatoas alginatadas, que foram friccionadas contra a superfície da prótese que ganhava contato com os tecidos dos pacientes, bem como da superfície vestibular e sobre os dentes dos dispositivos protéticos. A seguir, as zaragatoas foram transferidas para tubos contendo água ultrapura Milli Q.

Todas as amostras coletadas foram imediatamente acondicionadas em meio de transporte contendo neve carbônica e enviados para o laboratório para análise, sendo que, quando a extração do DNA microbiano não podia ser realizada imediatamente, os microtubos eram armazenados a -20°C por, no máximo, 60 dias, até a extração do DNA microbiano.

4.4- Detecção, por meio de PCR, dos principais microrganismos alvo associados a infecções bucais e oportunistas.

4.4.1- Extração do DNA bacteriano e determinação de sua concentração

O DNA das amostras clínicas nos tubos com água Milli Q foi extraído através do kit QIAamp DNA (QIAGEN, Hilden, Alemanha), seguindo as recomendações do fabricante.

As concentrações dos DNA bacterianos foram determinadas em espectrofotômetro (Beckman, Modelo DU-640), com leitura da absorbância ($A_{260\text{ nm}}$).

4.4.2- Detecção dos microrganismos alvo por PCR

A presença de diferentes espécies do gênero *Candida* foi avaliada através de “semi-nested” PCR, enquanto *Helicobacter pylori* foi detectado por “nested” PCR. A presença da família *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus* spp e *Enterococcus faecalis*, foi avaliada pela amplificação do DNA por PCR, empregando-se iniciadores e condições específicas para cada agente microbiano^{12,13,14,19}. A presença de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Pseudomonas* spp, *Pseudomonas aeruginosa*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola* foi avaliada por PCR convencional, seguindo metodologia previamente utilizada no laboratório segundo Gaetti-Jardim Júnior *et al.* (2010)⁷³.

A amplificação do DNA foi realizada em volumes de 25 µl, contendo 2,5 µl de 10 X tampão PCR, 1,25 µl de MgCl₂ (50 mM), 2,0 µl de dNTP (10 mM), 0,25 µl de *Taq* DNA polimerase (5 U/µl), 1,0 µl de cada iniciador (0,4 µM), 7 µl de água ultrapura “Milli-Q” esterilizada e 10 µl de DNA (ng). A amplificação foi realizada em termociclador de PCR (Perkin Elmer, GeneAmp PCR System 2400) programado para: 1 ciclo de 94°C (5 min.); 30 a 36 ciclos de 94°C (1 min), temperatura de anelamento de cada iniciador por um tempo que variou de 30s a 2 min., 72°C (30 s a 2 min.) e 1 ciclo de 72°C (5 min.), para a extensão final da cadeia de DNA.

Nas reações de “*nested*” PCR, 5 µL do produto final da amplificação inicial do DNA, utilizando-se iniciadores externos, foram submetidos a um segundo conjunto de ciclos de amplificação se empregando iniciadores internos. Nas reações de “*semi-nested*” PCR, 2 µL o produto final da amplificação inicial do DNA, com os iniciadores para *Candida* spp., foram submetidos à nova série de ciclos de amplificação empregando-se o iniciador reverso (5'-TCT TTT CCT CCG CTT ATT GAT ATG C-3') associado ao iniciador específico para cada espécie de levedura a ser detectada.

Os iniciadores e a temperatura de anelamento dos diferentes iniciadores são apresentados nas tabelas 1 e 2.

Em todas as reações foi utilizado, como controle positivo, DNA de cepas de referência dos microrganismos estudados. Os produtos da amplificação pelo PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1%, corados com brometo de etídio (0,5 µg/ml) e fotografados sobre transiluminador Raio UV, com câmara Kodak (*Eletrophoresis Documentation and Analyses System 120*).

Como padrão de peso molecular foi utilizado o marcador 1Kb DNA ladder (Gibco, SP).

Tabela 1: Iniciadores específicos utilizados para detecção de diferentes microrganismos autóctones da boca

Microrganismo s	Iniciadores específicos Oligonucleotídeos (5'→3')	Temperatura de anelamento
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	CTA GGT ATT GCG AAA CAA TTT G CCT GAA ATT AAG CTG GTA ATC	60°C
<i>Campylobacter rectus</i>	TTT CGG AGC GTA AAC TCC TTT TC TTT CTG CAA GCA GAC ACT CTT	55°C
<i>Candida</i> spp	TCG CAT CGA TGA AGA ACG CAG C TCT TTT CCT CCG CTT ATT GAT HTG C	60°C
<i>Candida albicans</i>	TT GCT TGC GGC GGT AAC GTC C TCT TTT CCT CCG CTT ATT GAT ATG C'	60°C
<i>Candida glabrata</i>	TAG GTT TTA CCA ACT CGG TGT T TCT TTT CCT CCG CTT ATT GAT ATG C	60°C
<i>Candida. parapsilosis</i>	ACA AAC TCC AAA ACT TCT TCC A TCT TTT CCT CCG CTT ATT GAT ATG C	60°C
<i>Candida tropicalis</i>	AAC GCT TAT TTT GCT AGT GGC C TCT TTT CCT CCG CTT ATT GAT ATG C	60°C
<i>Eikenella corrodens</i>	CTA ATA CCG CAT ACG TCC TAA G CTA CTA AGC AAT CAA GTT GCC C	45°C
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	ATT GTG GCT AAA ATT ATA GTT ACC CTC ACT TTG AGG ATT ATA G	40°C
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	TGT AGA TGA CTG ATG GTG AAA CC ACG TCA TCC CCA CCT TCC TC	60°C
<i>Prevotella intermedia</i>	TTT GTT GGG AGT AAA GCG GG TTC AAC ATC TCT GTA TCC TGC GT	55°C
<i>Tanarella forsythia</i>	GCG TAT GTA ACC TGC CCG CA TGC TTC AGT GTC AGT TAT ACC T	60°C
<i>Treponema denticola</i>	TAA TAC CGA ATG TGC TCA TTT ACA T CAA AGA AGC ATT CCC TCT TCT TCT TA	55°C
Universal	AGA GTT TGA TCC TGG CTG AG ACG GCT ACC TTG TTA CGA CTT	55°C

Tabela 2: Iniciadores específicos utilizados para detecção de diferentes microrganismos oportunistas ou exógenos à boca

Microrganismos	Iniciadores específicos Oligonucleotídeos (5'→3')	Temperatura de anelamento
<i>Enterobacteriaceae</i>	AAC CAG TTC CGC GTT GGC CTG G CCT GAA CAA CAC GCT CGG A	50°C
<i>Enterococcus</i> spp	TAC TGA CAA ACC ATT CAT GAT G AAC TTC GTC ACC AAC GCG AAC	55°C
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATC AAG TAC AGT TAG TCT ACG ATT CAA AGC TAA CTG	47°C
<i>Pseudomonas</i> spp	GAC GGG TGA GTA ATG CCT A CAC TGG TGT TCC TTC CTA TA	54°C
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	GGG GGA TCT TCG GAC CTC A TCC TTA GAG TGC CCA CCC G	58°C
<i>Helicobacter pylori</i>	CTG GAG AGA CTA AGC CCT CC iniciador. externo AGG ATC AAG GTT TAA GGA TT iniciador externo CTG GAG AGA CTA AGC CCT CC- iniciador interno	55°C 62°C

4.5- ANÁLISE ESTATÍSTICA

As amostras permitiram, por meio de estatísticas pontuais e intervalos de confiança, caracterizar os dois grupos experimentais quanto aos parâmetros microbiológicos. Os dados foram tabulados e analisados em planilhas do software SPSS. Prevalência e análise de risco foram feitas utilizando-se o teste de Qui-quadrado de Pearson para análise de proporções, quando as variáveis apresentavam 3 ou mais categorias, ou o teste de Mann-Whitney. Associações entre a ocorrência dos diferentes microrganismos alvo foram avaliadas através do teste de correlações de Spearman. Os níveis de significância adotados nos testes foram sempre iguais a 5%.

5- Resultados

Os resultados obtidos (Tab. 3) evidenciaram que as amostras de 90 indivíduos portadores próteses totais removíveis apresentaram homogeneidade em termos de idade (teste Qui-quadrado, $p= 0,905$) e heterogeneidade quanto ao gênero (teste Qui-quadrado, $p= 0,736$). A população estudada apresentou média de idade de 70,7 anos (desvio padrão 8,3), refletindo as características gerais e demográficas, dos pacientes que recebem atendimentos nas disciplinas de graduação envolvidas, com predomínio do gênero feminino, pacientes de renda familiar inferior a 5 salários mínimos e baixo nível de escolaridade. Os pacientes ou se mostravam aposentados ou possuíam profissões ligadas à atividade braçal, ou setor primário, além de atividades domésticas.

No que se refere às condições de saúde sistêmicas (Tab. 4), obtidas somente por meio da anamnese, observou-se elevada frequência de hipertensão arterial, diabetes, cardiopatias e artrites, que foram estatisticamente mais prevalentes do que as demais doenças relatadas (teste de Qui-Quadrado, $p<0,001$). As ocorrências bucais mais frequentes estão apresentadas na tabela 5, destacando-se a ocorrência de xerostomia e candidose detectadas clinicamente, que foram as mais prevalentes (Teste de Qui-Quadrado, $p=0,03$), seguidas pela hiperplasia fibrosa inflamatória e estomatite associada ao uso de prótese total removível. Seis pacientes apresentaram lesões brancas clinicamente compatíveis com hiperkeratose friccional.

Tabela 3: Aspectos sócio-demográficos do grupo populacional analisado. Dados obtidos através da anamnese

Características do Grupo Analisado	N (%)
Gênero	
Masculino	35 (38,8)
Feminino	55 (61,1)
Caracterização racial autodeclarada	
Branca	46 (51,1)
Parda	33 (36,6)
Negra	10 (11,1)
Asiáticos	1 (1,1)
Hábitos	
Etilismo	28 (31,1)
Tabagismo	37 (41,1)
Renda familiar	
Até 3 salários mínimos	29 (32,2)
De 3 a 5 salários mínimos	42 (46,6)
Acima de 5 salários mínimos	8 (8,8)
Não Declarada	11 (12,2)
Profissão ¹	
Inativos (Aposentados)	31 (34,4)
Serviços Gerais	22 (24,4)
Comerciário	8 (8,8)
Pequeno empresário	4 (4,4)
Professor	3 (3,3)
Do lar	22 (24,4)
Nível de Instrução formal	
Não alfabetizado	7 (7,7)
Fundamental incompleto	13 (14,4)
Fundamental completo	25 (27,7)
Médio incompleto	22 (24,4)
Médio completo	19 (21,1)
Superior incompleto	1 (1,1)
Superior completo	3 (3,3)

¹Refere-se à profissão em exercício no momento do exame clínico;

Tabela 4: Condições de saúde dos pacientes examinados

Ocorrências relatadas	N (%)
Hipertensão arterial	61 (67,8)
Diabete melito	38 (42,2)
Cardiopatía	37 (41,1)
Artrite	33 (36,7)
Alergia respiratória	5 (5,6)
Enfisema pulmonar	3 (3,3)
Alergia a medicamentos	2 (2,2)
Cirrose hepática	2 (2,2)

Tabela 5: Condições bucais dos pacientes examinados. Dados obtidos por meio de exame físico intrabucal.

Alterações ou enfermidades bucais	N (%)
Candidose	29 (32,2)
Xerostomia	27 (30,0)
Estomatite associada a prótese total	10 (11,1)
Hiperplasia fibrosa inflamatória	10 (11,1)
Hiperkeratose friccional	6 (6,6)
Queilite angular	6 (6,6)
Nevo pigmentado	2 (2,2)

Quanto aos métodos empregados na higiene bucal, a escovação bucal com creme dental era praticada por todos os pacientes avaliados, mas em 38,9% dos mesmos a higiene foi considerada insatisfatória, em função da presença de cálculo e acúmulos de biofilme na superfície. Associa-se, ainda, o alto percentual relativo ao uso noturno da peça protética (66,7%) e a baixa ocorrência de utilização de antissépticos bucais como meio de higienização bucal (13,3%), conforme descrito na tabela 6.

Tabela 6: Higienização dos dispositivos protéticos, higienização bucal com antissépticos e histórico de uso noturno do dispositivo protético

Característica avaliada	
Higienização da prótese	N(%)
Satisfatória	55 (61,1)
Insatisfatória	35 (38,9)
Uso noturno	54 (66,7)
Agente antimicrobiano ou enxaguatório bucal	12 (13,3)

A conservação da peça protética também foi avaliada, constatando-se que em 4,4% dos indivíduos avaliados, as próteses se apresentaram satisfatórias para uso, visto que a quase totalidade dos dispositivos protéticos se apresentava com tempo de uso superior ao recomendado, tendo, em média, $16 \pm 14,1$ anos de uso, além da presença de cálculo, desgastes severos, fraturas, falta de um ou mais dentes e presença de consertos realizados (Tab. 7).

Tabela 7: Conservação insatisfatória da peça protética: critérios de inadequação

Conservação Insatisfatória: características observadas	N(%)
Tempo de uso acima de 5 anos	81 (90,0)
Desgastes dentais ou da resina acrílica	39 (43,3)
Fraturada	14 (15,5)
Falta de um ou mais dentes	11(12,2)
Consertos	10 (11,1)

A ocorrência de candidose bucal se mostrou associada à higiene deficiente (teste de Mann-Whitney, $p= 0,02$), inadequação das condições de manutenção de prótese, tempo de uso da prótese (mais de 10 anos, teste de Mann-Whitney, $p< 0,01$) e ocorrência de *C. albicans* e outras leveduras na microbiota bucal (teste de Mann-Whitney, $p< 0,01$). Não foram observadas relações estatisticamente significantes entre candidose bucal e diabetes ou outras condições sistêmicas como hipertensão arterial (teste de Mann-Whitney, variando de $p=0,37$ a $p=0,69$).

Observou-se associação significativa entre estomatite associada a prótese total, diabetes e xerostomia (teste de Qui-Quadrado, $p= 0,019$). Dos pacientes diabéticos, 53,3% eram portadores de artrite, enquanto que entre os pacientes não diabéticos, a ocorrência dessas alterações articulares foi restrita a 20% dos pacientes, mas as dimensões do grupo experimental não permitiu uma adequada avaliação estatística dessas variáveis.

Quanto aos dados microbiológicos, verificou-se uma grande similaridade entre a ocorrência dos microrganismos alvo na mucosa dos pacientes, na prótese e saliva, com exceção de *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella intermedia*, as quais foram observadas nas superfícies mucosas e na saliva dos pacientes, mas que foram raramente detectadas (*Porphyromonas gingivalis*) ou sequer foram detectadas (*Prevotella intermedia*) na superfície das próteses. Empregando-se o índice de correlações de Spearman, observou-se que a presença dos microrganismos na saliva e na prótese tinham, para todas as demais espécies estudadas, relação direta com a presença dos mesmos nas superfícies mucosas.

A contaminação salivar mostrou que, mesmo após a perda de elementos dentais, os pacientes ainda podiam albergar microrganismos anaeróbios e microaerófilos associados a doenças periodontais e outras enfermidades, como *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens* e *Fusobacterium nucleatum*, embora os microrganismos mais prevalentes sejam leveduras do gênero *Candida*, em particular *Candida albicans*, a qual foi significativamente mais prevalente do que as demais leveduras (teste de Mann-Whitney, $p < 0,01$), sendo que sua presença esteve associada principalmente a xerostomia, onde 80% dos pacientes com essa condição apresentavam o fungo na saliva e na mucosa bucal, e, também, associação com a estomatite ligada ao uso de prótese, onde 23 dos 27 pacientes portadores eram colonizados por alguma levedura (85,2%).

A tabela 8 apresenta dados que mostram a elevada prevalência de cocos Gram-positivos entéricos (*Enterococcus* spp e *Enterococcus faecalis*) na saliva, sendo que os dados das tabelas 9 e 10, sobre a contaminação das mucosas e próteses, respectivamente, corroboram essa observação. Nas amostras de saliva, bem como de biofilme e mucosa, verificou-se a presença de microrganismos da família *Enterobacteriaceae* em 25,5% das amostras de saliva, 35,5% das amostras de mucosa e de 42,2% das amostras de prótese total. Esses bastonetes Gram-negativos foram os únicos microrganismos estudados que mostraram ocorrência mais elevada no dispositivo protético quando comparados com as mucosas e amostras de saliva, embora sem significância estatística. Através do teste de correlação de Spearman verificou-se que a presença de membros da família *Enterobacteriaceae* esteve

associada à presença concomitante de pseudomonados em parcela significativa das amostras ($p=0,023$).

Os resultados mostraram que a boca de pacientes usuários de prótese total pode ser convertida em reservatório para microrganismos associados às infecções do canal alimentar, como *Helicobacter pylori*, o qual foi observado em 28,9% das amostras de saliva, 38,9% das amostras de mucosa e de 21,1% das amostras oriundas dos próprios dispositivos protéticos. A distribuição desses patógenos foi associada a condições deficientes de uso da prótese e higiene precária, sendo que todos os pacientes colonizados utilizavam os mesmos dispositivos protéticos por mais de 5 anos e/ou apresentavam intenso desgaste ou fraturas/reparos nas próteses (teste de Qui-Quadrado, $p=0,02$). Deve-se ressaltar que a ocorrência desse patógeno foi estatisticamente associada a higiene precária (teste de Qui-Quadrado, $p=0,016$) e ao uso noturno do dispositivo protético (teste de Qui-Quadrado, $p=0,022$).

As tabelas 9 e 10 evidenciaram a possibilidade de se utilizar a saliva (Tab. 8) para avaliar a composição da microbiota bucal de pacientes com prótese total, pelo menos quando a avaliação se mostrar restrita às espécies aqui estudadas.

Tabela 8: Ocorrência dos diferentes microrganismos alvo nas amostras de saliva de pacientes portadores de prótese total

Microrganismo	Ocorrência N (%)
<i>Aggregatibacter</i>	0 (0,0)
<i>actinomycescomitans</i>	
<i>Campylobacter rectus</i>	23 (25,5)
<i>Candida albicans</i>	56 (62,2)
<i>Candida glabrata</i>	9 (10,0)
<i>Candida parapsilosis</i>	11 (12,2)
<i>Candida tropicalis</i>	6 (6,6)
<i>Eikenella corrodens</i>	28 (31,1)
Família <i>Enterobacteriaceae</i>	23 (25,5)
<i>Enterococcus</i> spp.	19 (21,1)
<i>Enterococcus faecalis</i>	16 (17,7)
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	19 (21,1)
<i>Helicobacter pylori</i>	26 (28,9)
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	12 (13,3)
<i>Prevotella intermedia</i>	6 (6,6)
<i>Pseudomonas</i> spp.	15 (16,6)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13 (14,4)
<i>Tanerella forsythia</i>	0 (0,0)
<i>Treponema denticola</i>	0 (0,0)

Tabela 9: Ocorrência dos diferentes microrganismos alvo nas amostras de mucosa de pacientes portadores de prótese total

Microrganismo	Ocorrência N (%)
<i>Aggregatibacter</i>	1 (1,1)
<i>actinomycescomitans</i>	
<i>Campylobacter rectus</i>	27 (30,0)
<i>Candida albicans</i>	69 (76,6)
<i>Candida glabrata</i>	20 (22,2)
<i>Candida parapsilosis</i>	18 (20,0)
<i>Candida tropicalis</i>	8 (8,8)
<i>Eikenella corrodens</i>	31(34,4)
Família <i>Enterobacteriaceae</i>	32 (35,5)
<i>Enterococcus spp</i>	15 (16,6)
<i>Enterococcus faecalis</i>	15 (16,6)
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	16 (17,7)
<i>Helicobacter pylori</i>	35 (38,9)
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	13 (14,4)
<i>Prevotella intermedia</i>	9 (10,0)
<i>Pseudomonas spp</i>	12 (13,3)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11 (12,2)
<i>Tanerella forsythia</i>	0 (0,0)
<i>Treponema denticola</i>	1(1,1)

Tabela 10: Ocorrência dos diferentes microrganismos alvo nas amostras de biofilme obtidas das próteses totais utilizadas

Microrganismo	Ocorrência N (%)
<i>Aggregatibacter</i>	0 (0,0)
<i>actinomycetemcomitans</i>	
<i>Campylobacter rectus</i>	22 (24,4)
<i>Candida albicans</i>	41(45,5)
<i>Candida glabrata</i>	1 (1,1)
<i>Candida parapsilosis</i>	2 (2,2)
<i>Candida tropicalis</i>	0 (0,0)
<i>Eikenella corrodens</i>	27 (30,0)
Família <i>Enterobacteriaceae</i>	38 (42,2)
<i>Enterococcus spp</i>	17 (18,8)
<i>Enterococcus faecalis</i>	14(15,5)
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	21(23,3)
<i>Helicobacter pylori</i>	19 (21,1)
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	2 (2,2)
<i>Prevotella intermedia</i>	0 (0,0)
<i>Pseudomonas spp</i>	14 (15,5)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9(10,0)
<i>Tanerella forsythia</i>	0 (0,0)
<i>Treponema denticola</i>	0 (0,0)

6- Discussão

A manutenção das condições de higiene bucal em pacientes edêntulos portadores de próteses totais de resina acrílica é considerada um ponto crítico, devido a dificuldade de se atingir um estado de conscientização que se traduza em práticas diárias por parte dos pacientes, mesmo com a instituição de campanhas e atividades de orientação em grupos, a presença de biofilme aderido a próteses de resina acrílica ainda tem sido relatada^{17,27}, como também observado no presente estudo, mostrando as precárias condições de manutenção desses dispositivos^{19,24,49}.

Nesse sentido, alguns aspectos de higiene, como a frequência de escovação da peça protética e higienização oral foram obtidos por meio da anamnese, podendo-se questionar a veracidade da informação fornecida pelos indivíduos avaliados. Assim, por vezes, a informação dada, mais do que evidenciar o que de fato é realizado, reflete o conhecimento que os indivíduos têm sobre o “procedimento ideal”.

Os resultados apresentados no presente estudo evidenciam que aspectos de higiene, tempo de uso e manutenção das próteses decididamente interferiram em algumas enfermidades bucais nesses pacientes, sendo que as modificações qualitativas e quantitativas que tais dispositivos produzem na microbiota são também perceptíveis, como a frequência elevada de microrganismos entéricos e uma ocorrência menor de patógenos mais exigentes quanto às condições de cultivo, como os anaeróbios e microaerófilos periodontopatogênicos. Contudo, esses microrganismos podem vir a se estabelecer em próteses e mucosas precariamente higienizadas³⁹, como no caso de *Fusobacterium nucleatum*, microrganismo anoxibionte que produz a

mais potente endotoxina dentre as espécies tipicamente bucais, pode contribuir para o estabelecimento de reações inflamatórias bucais, por vezes atribuídas apenas a leveduras e outros patógenos oportunistas não bucais^{20,24,27,49,74}.

A idade dos mesmos acaba por induzir quadros de imunossupressão progressiva, como agravante da falta de higiene de parcela bastante significativa dos pacientes, por vezes associada a outras enfermidades debilitantes, como diabete e hipertensão⁴⁹. Para esses pacientes, poucos fatores podem ser mais favoráveis à implantação de microrganismos oportunistas bucais do que a ocorrência de xerostomia, a qual induz ao consumo de dieta mais pastosa e rica em carboidratos e reduz a autolimpeza representada pela saliva, a qual perde a capacidade tamponante, deixando o pH mais ácido e facilitando a adesão e colonização das próteses por leveduras do gênero *Candida*^{1,26,36,38,39,49}.

Por outro lado, esse pH mais ácido dificulta a implantação de outros microrganismos, como *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella intermedia*, que preferem um pH mais alcalino, gerado pela fermentação de aminoácidos, levando à liberação de amônia e, por conseguinte, elevando o pH^{75,76}. Os resultados apresentados nas tabelas 9 e 10 evidenciam que essa reação antagônica possivelmente esteja se desenvolvendo com nítida vantagem para as espécies que aderem melhor em tecidos moles e resina acrílica e/ou que colonizam ambientes mais ácidos, em detrimento de microrganismos de biofilme dental, associados ao sulco gengival^{19,77,78,79,80}. Esse fenômeno também poderia estar associado à modesta ocorrência de outros microrganismos sensíveis ao oxigênio molecular, como *Tanerella forsythia* e *Treponema denticola*, que também apresentam metabolismo proteolítico^{81,82}

O edentulismo, principalmente em pacientes idosos, associa-se a outros fatores como a motricidade orofacial, que gera necessidade de adaptações estruturais envolvendo a mandíbula, área oclusal, lábios e língua, assim como também em relação às funções estomatognáticas como sucção, mastigação, respiração, deglutição e fonação^{83,84}. Nesse sentido, uma modificação no padrão da dieta se torna necessário, preferindo-se uma alimentação mais macia e, de maneira geral, rica em carboidratos, que favorece o controle de bolo alimentar durante o processo de mastigação^{84,85,86}. Com esse tipo de dieta, ocorre o favorecimento do mecanismo de adesão e formação do biofilme dental sobre a base acrílica das próteses^{87,88}. Assim sendo, reforça-se o aspecto da atenção multidisciplinar em relação a atenção ao idoso, principalmente com a introdução da geriatria e gerontologia, em relação ao atendimento odontológico e acompanhamento nutricional, que consideram as mudanças sofridas durante o processo fisiológico de envelhecimento, reduzindo os fatores de risco local⁸⁹ e orientando uma dieta mais saudável, restringindo os carboidratos fermentáveis e reforçando uma alimentação rica em frutas e vegetais contendo beta-carotenos e outros carotenóides⁹⁰, que contribui, inclusive, com a redução do risco de câncer^{85,86,91}.

Por outro lado, considerando-se o aspecto psicossocial do idoso e tudo a que ele se relaciona, o edentulismo é considerado um fator precipitador do “sentir-se velho”, podendo acarretar depressão e sintomas de desadaptação que, associados a prejuízos nos relacionamentos social, familiar, amoroso e profissional, promove a baixa estima e conduz ao isolamento que culmina com a falta de autocuidados, incluindo a higiene bucal⁸⁵. Esses fatores, acrescidos da debilidade orgânica e higiene precária contribuíam para a instalação de

patógenos oportunistas bactérias entéricas, leveduras e a conseqüente inflamação mucosa, embora a presença de mediadores da inflamação possam ser associados a uma alta porcentagem de infecção por *Candida* spp e microrganismos entéricos⁷⁸.

Os patógenos com prevalência elevada nas próteses, saliva e mucosas, como os gêneros *Enterococcus* e *Pseudomonas*, bem como a família *Enterobacteriaceae*, são frequentemente associados a infecções nosocomiais^{3,19,92,93,94,95}, notadamente as respiratórias^{3,19,93,94}. Desta forma, vários autores alegam que as infecções respiratórias em pacientes edêntulos portadores de próteses totais removíveis tendem a gerar quadros mais agressivos, mais intensos e refratários, devido ao acúmulo de biofilme na prótese, quando comparados com pacientes não usuários de dispositivos protéticos^{17,46}. Nesse sentido, estudos revelam que as infecções respiratórias se desenvolvem precocemente em indivíduos edêntulos e portadores de prótese total com cuidados precários de higienização e má conservação das peças protéticas^{24,49}. Entretanto, os dados do questionário e fichas médicas, embora limitados ao universo de noventa pacientes, não suportam a idéia de uma maior severidade ou frequência das infecções respiratórias entre a população estudada.

Daniluk *et al.*¹⁹ consideraram a prótese total como um reservatório de agentes patogênicos capazes de colonizar a faringe e sugeriram que a higiene da prótese seja um fator importante na promoção de colonização microbiana da árvore respiratória, em especial a superfície da mucosa oral, a qual pode também constituir um reservatório adicional e possivelmente mais estável desses patógenos. Os resultados deste estudo mostraram uma diferença

significativa na taxa de incidência de bactérias no biofilme de dentadura e mucosa dos pacientes com dentadura, ressaltando-se que essa relação entre microrganismos entéricos e outros patógenos oportunistas também está em conformidade com dados de outros estudos^{19,78}.

Além desses aspectos, o próprio processo de aderência dos microrganismos ao epitélio da mucosa bucal é facilitado², pela íntima relação existente entre mucosa oral e superfície da prótese total, associada ao seu tempo de uso, enquanto a presença de uma dentadura na mucosa oral por si só altera as condições ambientais locais devido à inacessibilidade de saliva e falta de limpeza mecânica pela língua.

Dentre os microrganismos que mostraram maior íntima relação com a precariedade das condições de higiene e manutenção das próteses, destacou-se a família *Enterobacteriaceae*, a qual também é frequentemente associada com infecções respiratórias, urogenitais e septicemia em idosos^{3,9,19}. Assim, a ocorrência dessas enterobactérias na boca necessita ser melhor avaliada, visto que em países desenvolvidos esses patógenos são encontrados em uma frequência muito baixa ou sequer são detectados^{77,78}. Esses anaeróbios facultativos podem exacerbar o risco e a intensidade de inflamação mucosa em pacientes portadores de prótese⁶³, particularmente em função do seu lipopolissacarídeo (LPS) ou endotoxina, que apresenta múltiplos papéis biológicos ligados ao sistema complemento e reação inflamatória, além de induzir morte celular e reabsorção óssea⁶⁵.

A família *Enterobacteriaceae* e outros microrganismos entéricos, bem como os pseudomonados, não é considerada como parte relevante da microbiota bucal, mas desequilíbrios nessa microbiota podem criar condições

favoráveis para a implantação desses microrganismos no biofilme^{44,62}. Além da falta de higiene, problemas no tratamento de água e esgoto de uma comunidade podem colaborar para a presença desses microrganismos na boca⁶⁴. Esses microrganismos ainda podem se converter em reservatórios de genes de resistência a antimicrobianos⁷⁸, que podem ser disseminados para os demais microrganismos do biofilme⁴⁴.

Adicionalmente, a colonização da orofaringe por membros da família *Enterobacteriaceae* parece estar associada à pneumonia por aspiração em indivíduos idosos ou imunologicamente debilitados^{3,19,78}, podendo representar risco de infecções sistêmicas. Entretanto, a participação de membros desses patógenos e também da família *Pseudomonadaceae* na microbiota bucal de pacientes edêntulos e portadores de prótese total ainda não foi esclarecida, sendo que, em pacientes portadores de gengivite ou periodontite, Gaetti-Jardim Júnior *et al.* (2008)³ verificaram que o fator higiene precária foi fundamental para implantação desses patógenos, que colonizavam de 11% a 16% dos pacientes, valores significativamente menores do que observado no presente estudo com pacientes usuários de dentadura e também inferiores aos dados de Gaetti-Jardim (2009)⁷⁸ com pacientes com perfil demográfico semelhante ao empregado no presente estudo.

Nesse sentido, Gaetti-Jardim (2009)⁷⁸ evidenciou que *Pseudomonas aeruginosa* foi significativamente mais prevalente em indivíduos portadores de prótese total, quando comparadas com indivíduos não portadores de prótese, destacando-se a relação entre esses pseudomonados e a falta de higiene dos pacientes. Esses microrganismos, principalmente *Pseudomonas aeruginosa*, aderem com mais facilidade às células epiteliais de pacientes hospitalizados do

que aqueles não hospitalizados^{2,96,97,98,99}, sendo que a saliva contém enzimas hidrolíticas que diminuem o poder de adesão dos receptores às adesinas bacterianas^{74,100}, o que pode ajudar a explicar a maior prevalência desses microrganismos e bactérias entéricas nos pacientes com xerostomia^{78,100}. Esse fenômeno é ainda mais importante quando se considera o efeito xerostômico que atinge esses pacientes devido a medicação para tratamentos de alterações neurológicas e cardiopatas, além de radio e quimioterapia para câncer de cabeça e pescoço⁷² e, ainda, durante internações hospitalares, onde os pseudomonados estão entre as principais causas de óbito por infecções oportunistas em Unidades de Terapia Intensiva^{3,23,92,98,99,101,102}.

Estudos em pacientes com síndrome de Down mostraram elevadas prevalências desses pseudomonados e de entéricos, incluindo aí o gênero *Enterococcus*, reforçando que uma ampla janela de transmissibilidade permanece aberta quando as condições locais, como falta de higiene, e sistêmicas favoráveis, como a imunossupressão, estão presentes⁷⁷. Dentre esses casos, destaca-se o *Enterococcus faecalis* pela sua resistência aos antimicrobianos e antibióticos, bem como prevalência na boca⁷⁸, embora pouco se conheça sobre a distribuição desses microrganismos em pacientes edêntulos, particularmente em portadores de próteses totais.

Os achados apresentados nas tabelas 9 e 10 indicam que o habitat principal de *Enterococcus* spp. e *Enterococcus faecalis*, na boca, é o biofilme aderido à prótese total e, de forma bastante similar, as superfícies mucosas em contato com a dentadura. Entretanto, os dados aqui apresentados não evidenciam qualquer correlação entre as infecções respiratórias e a ocorrência

dos enterococos, tanto no grupo de indivíduos edêntulos e portadores de prótese total como no grupo controle.

O gênero *Helicobacter*, em especial *Helicobacter pylori* é o principal responsável pelas gastrites e úlceras gástricas, possuindo ainda uma forte relação com alguns tipos de cânceres no estômago¹⁰³. Embora tenha distribuição mundial, esse bastonete é mais frequentemente encontrado em países em desenvolvimento⁷⁸, onde sua transmissão ocorre principalmente na infância, através da própria família, sendo relevante a relação mãe-filho¹⁰⁴, através do contato oral-oral. Nesse sentido, em especial as formas gastro-oral e orofecal, se relacionam com questões como refluxo gastroesofágico e condições de higienização, respectivamente, contribuindo desta forma para transformação da boca em um possível reservatório deste microrganismo⁷⁹. Entretanto, ainda não está plenamente determinado o momento em que essa transmissão ocorre e se, de fato, a transmissão intrafamiliar é a mais relevante¹⁰⁵. Assim sendo, o conhecimento do mecanismo de transmissão entre os indivíduos propicia uma melhor avaliação dos fatores envolvidos diretamente com esse fenômeno, o que poderia levar à criação de métodos preventivos.

Malaty *et al.* (2002)¹⁰⁶, em seus estudos com crianças caucasianas, concluíram que 4% delas, com idade entre 12 e 36 meses, eram portadoras de anticorpos reativos frente a esse microrganismo e esse valor se elevava para 13% em crianças negras oriundas de famílias mais numerosas e com as mesmas condições socioeconômicas. Por outro lado, no presente estudo, o percentual de prevalência desse bastonete em indivíduos adultos, com média de idade de 70,7 anos, foi de 21,1%, em biofilme aderido à prótese total e de

28,9 % em amostras de saliva do grupo experimental. Malaty (2007)¹⁰⁷ atribuiu a alta prevalência em crianças ao número de membros na família bem como as condições sócio-econômicas da mesma, mostrando que a existência de famílias menores, certamente interfere com a transmissão desses microrganismos¹⁰⁸. Isso pode ser corroborado através dos resultados obtidos em nosso estudo, onde os indivíduos analisados faziam parte de núcleos familiares maiores.

Os dados aqui apresentados mostram uma frequência homogênea de distribuição desse microrganismo na saliva e biofilme aderido à prótese total de pacientes edêntulos e uma elevada prevalência na mucosa, saliva e, em menor extensão, na própria prótese. Nesse sentido, a ocorrência desse patógeno foi associada com condições deficientes de uso da prótese e higiene precária, sendo que todos os pacientes colonizados geralmente utilizavam os mesmos dispositivos protéticos por mais de 5 anos e apresentavam higiene precária e mantinham uso noturno do dispositivo protético, sugerindo que a transmissão desse agente necessita de longo período de contato com a fonte de infecção.

Esses dados sugerem que a boca dos pacientes que utilizam dentadura é um reservatório capaz de prover as amostras de *Helicobacter pylori* que poderão, nos anos seguintes, reinfestar a mucosa gástrica e esofageana, o que poderia explicar a recorrência frequente de infecções gástricas¹⁰⁹, o que atribui uma importância ainda maior para a manutenção dos dispositivos protéticos bucais. Por outro lado, desde que essa colonização por *Helicobacter pylori* sofre flutuações frequentes e os fatores associados a esse fenômeno não são conhecidos¹⁰⁰, deve-se dar maior atenção a estudos longitudinais que possam esclarecer o quanto essa colonização da boca edêntula é estável.

7- Conclusões

O presente estudo permitiu concluir que:

- A condição sócio-econômica dos indivíduos analisados manteve relação direta com o grau de higienização bucal e cuidados em relação às próteses totais.

- A presença da prótese total, associada ao seu estado de conservação e higienização precária se constituem em fatores de risco favoráveis à adesão e colonização microbiana.

- A falta de higiene e condições de uso das próteses têm relação direta com a ocorrência de leveduras do gênero *Candida*.

- A frequência de detecção de microrganismos entéricos e pseudomonados se mostrou bastante elevada.

- A prevalência de microrganismos anaeróbios e microaerófilos se manteve baixa.

- A ocorrência de *Pseudomonas* e microrganismos entéricos mostrou correlação com a falta de higiene e manutenção da prótese, bem como tempo de uso do dispositivo protético.

- Xerostomia foi a primeira condição bucal mais associada com a proliferação microbiana, sendo que nenhuma condição sistêmica mostrou correlação com os aspectos microbiológicos estudados.

8- Referências

- 1- Kahn S, Garcia CH, Galan Júnior J, Namen FM, Machado WAS, Silva Júnior JA, Sardenberg SEM, Egreja AM. Avaliação da existência de controle de infecção oral nos pacientes internados em hospitais do estado do Rio de Janeiro. *Ciência & Saúde Coletiva*. 2008;13(6):1825-183.
- 2- Oliveira LCBS, Carneiro PPM, Fischer RG, Tinoco EMB. Presença de patógenos respiratórios no biofilme bucal de pacientes com pneumonia nosocomial. *Revista Brasileira de Terapia Intensiva*. 2007;19(4):428-433.
- 3- Gaetti-Jardim Júnior E, Nakano V, Wahasugui TC, Cabral FC, Gamba R, Ávila-Campos MJ. Ocorrência de leveduras, enterococos e outra bactéria entérica no biofilme subgingival de pacientes HIV- positivos com gengivite crônica e periodontite necrosante. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2008;39:257-261.
- 4- Gaetti-Jardim Júnior E, Landucci LF, Gaetti-Jardim EC, Sangali J, Sousa FRN. Atividade Inibitória de Extratos do Cerrado Brasileiro sobre Microrganismos Anaeróbios e Associados a Infecções Nosocomiais. *R Bras Ci Saúde*. 2009;13(2):43-52.
- 5- França ISX, Marinho DDT, Baptista RS. índices de morbi-mortalidade. *Rev. Rene*. Fortaleza. 2008 jul/set;9(3):52-61.
- 6- Gaetti-Jardim Júnior E, Fardin AC, Gaetti-Jardim EC, Castro AL, Schweltzer CM, Ávila-Campos MJ. Microbiota Associated with chronic osteomyelitis of the jaws. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2010;41:1056-1064.
- 7- Conte Neto N, Spagnol G, Campos JADB, Gabrielli MAC, Pereira Filho VA. Infecções Bacterianas da cabeça e pescoço: estudo retrospectivo. *Revista Odontol*. 2009 jul/dez;17(34).

- 8- Francisco PMSB, Donalisio MR, Barros MBA, César CLG, Carandina L, Goldbaum M. Fatores associados à doença pulmonar em idosos. *Rev Saúde Pública*. 2006;40(3):428-35.
- 9- Amaral SM, Cortês AQ, Pires FR. Pneumonia nosocomial: importância do microambiente oral. *J Bras Pneumol*. 2009;35(11):1116-1124.
- 10- Villas Boas PJF, Ruiz T. Ocorrências de infecção hospitalar em idosos internados em hospital universitário. *Rev Saude Pública*. 2004;38(3):372-8.
- 11- Lisboa T, Faria M, Hoher JA, Borges LAA, Gómez J, Schifelhain L, Dias FS, Lisboa J, Friedman G. Prevalência de Infecção Nosocomial em Unidades de Terapia Intensiva do Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Terapia Intensiva*. 2007 out-dez;19(4):414-420.
- 12- Avila-Campos MJ. PCR detection of four periodontopathogens from subgingival clinical samples. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2002;33:01-04.
- 13- Foschi F, Izard J, Sasaki H, Sambri V, Prati C, Müller R, Stashenko P. *Treponema denticola* in disseminating endodontic infections. *J. Dent Res*. 2006;85(8):761-765.
- 14- Malheiros VJ, Avila-Campos MJ. Detection of pathogens from periodontal lesions. *Rev. Saúde Pública* [online]. 2004;38(5):723-728.
- 15- Gaetti-Jardim Júnior E, Fardin AC, Gaetti-Jardim EC, Castro AL, Schweltzer CM, Ávila-Campos MJ. Microbiota Associated with chronic osteomyelitis of the jaws. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2010;41:1056-1064.
- 16- Betancourth M, Arce R, Botero J, Jaramilo A, Cruz C, Contreras A. Microorganismos inusuales em surcos y bolsas periodontales. *Colomb. Med*. 2006; 37: 6-14.

- 17- Neppelenbroek KH, Pinto ECT, Pavarina AC, Vergani CE, Jorge JH, Almithatti HJ. Aderência de microrganismos em materiais para base de próteses. *Revista de Odontologia da Universidade Cidade de São Paulo*. 2009 mai-ago; 21(2):126-36.
- 18- Neppelenbroek KH, Mima EGO, Spolidorio DMP, Giampaolo ET, Vergani CE, Pavarina AC. Efetividade da irradiação por micro-ondas na desinfecção de resinas reembasadoras rígidas e resina acrílica para base de prótese. *Rev Odontol UNESP*. 2006 out-dez; 35(4): 303-11.
- 19- Daniluk T, Fiedoruk K, Sciepek M, Zaremba ML, Rozkiewicz D, Cylwik-Rokicka D, Tokajuk G, Kedra BA, Anielska I, Stokowska W, Górska M, Kedra BR. Aerobic bacteria in the oral cavity of patients with removable dentures. *Avances in Medical Sciences*. 2006;51;Suppl.1.
- 20- Dambroso D, Svidzinski TIE, Svidzinski AE, Dalalio MMO, Moliterno RA. Radiotherapy effect on frequency of *Candida* spp and on virulence of *C. albicans* isolated from the oral cavity of head and neck cancer patients. *Rev. Ciênc Farm Básica Apl*. 2009;30(2):25-32.
- 21- Conte Neto N, Spagnol G, Campos JADB, Gabrielli MAC, Pereira Filho VA. Infecções Bacterianas da cabeça e pescoço: estudo retrospectivo. *Revista Odontol*. 2009 jul/dez;17(34).
- 22- Souza CAI, Scarcelli E. Agressão por microrganismos da microbiota endógena. *Arq. Inst. Biol.*; São Paulo. 2000 jul/dez;67(2):275-281.
- 23- Caldas Júnior AF, Caldas KU, Oliveira MRM, Amorin AA, Barros PMF. O impacto do edentulismo na qualidade de vida de idosos. *Rev.Ciênc. Méd.*; Campinas. 2005 maio/jun;14(3):229-238.

- 24- Paranhos HFO, Lovato da Silva CH, Cruz PC. Métodos de Quantificação de biofilme em prótese total: revisão da literatura. Revista de Odontologia da Unesp. 2004;33(4):203-10.
- 25- Cabrera MAS, Mesas AE, Rossato LA, Andrade SM. Fluxo salivar e uso de drogas psicoativas em idosos. Rev Assoc Med Bras. 2007;53(2):178-81.
- 26- Castro AL, Furuse TA, Gaetti-Jardim Júnior E, Castro EVFL, Jardim PTC, Paro MLC. Estomatite protética induzida pelo mau uso de prótese total: caso clínico. Revista Odontológica de Araçatuba. 2006 julho/dezembro;27(2):87-90.
- 27- Sachdeo, A; Haffajee, AD; Socransky, SS. Biofilms in the Edentulous Oral Cavity. Journal of Prosthodontics. 2008;17;348–356.
- 28- Castro AL, Vieira EMM, Arêde LT, Gaetti-Jardim Júnior E. Infection of Keratocystic Odontogenic Tumour by *Pseudomonas aeruginosa*. Braz J Otorhinolaryngol.2009;75(1):157.
- 29- Johanson WG Jr, Higuchi JH, Chaudhuri TR et al - Bacterial adherence to epithelial cells in bacillary colonization of the respiratory tract. Am Rev Respir Dis, 1980;121:55-63.
- 30- Johanson WG Jr, Higuchi JH, Chaudhuri TR et al - Bacterial adherence to epithelial cells in bacillary colonization of the respiratory tract. Am Rev Respir Dis, 1980;121:55-63.
- 31- Pereira-Cenci T, Del Bel Cury AA, Crielaard W, Ten Cate JM. Development of *Candida* – Associated denture stomatitis: new insights. J Appl Oral Sci. 2008;16(2):86-94.

- 32- Kuhn DM, Chandra J, Mukherjee PK, Ghanncum MA. Comparison of biofilms formed by *Candida albicans* and *Candida parapsilosis* on bioprosthetic surfaces. *Infect Immun*. 2002;70(2):878-88.
- 33- Donlan RM. Biofilm formation: a clinically relevant microbiological process. *Clin Infect Dis*. 2001;33(8):1387-92.
- 34- Pace MA. Avaliação clínica e microbiológica da boca de pacientes críticos com entubação orotraqueal internados em um hospital de emergência. [Dissertação – Mestrado]. Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto;2007;108f.
- 35- Li X, Kolltveit KM, Tronstad L, et al: Systemic diseases caused by oral infection. *Clin Microbiol Ver*. 2000;13:547-558.
- 36- Falah-Tafti A, Jafari AA, Lofti-Kamran MH. Comparison of the effectiveness of sodium Hypochlorite and dentamize tablet for denture disinfection. *World Journal of Medical Sciences*.2008;3(1):10-14.
- 37- Pereira-Cenci T, Del Bel Cury AA, Crielaard W, Ten Cate JM. Development of *Candida* – Associated denture stomatitis: new insights. *J Appl Oral Sci*. 2008;16(2):86-94.
- 38- Paiva LCA, Ribeiro RA, Pereira JV, Oliveira NMC. Avaliação clínica e laboratorial do gel da *Uncaria tomentosa* (Unha de Gato) sobre candidose oral. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2009 Abr./Jun;19(2):423-428.
- 39- Jorge JH, Giampaolo ET, Vergani CE, Machado AL, Pavarina AC, Rodrigues MG. Efeito da desinfecção em micro-ondas sobre a microinfiltração na interface de resinas para base e reembasamento de prótese. *Revista de Odontologia da Unesp*. 2007;36(3):261-266.

- 40- Ramage G, Tomsett K, Wickes LB, López-Ribot J, Reddin SW. Denture stomatitis: a role for *Candida* biofilms. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2004;98:53-9.
- 41- Araújo SSC, Padilha DMP, Baldisserotto J. Saúde Bucal e qualidade de vida em pacientes com Câncer de cabeça e pescoço. Fac Odontol. Porto Alegre, Porto Alegre. 2007 jan/dez;48(1/3):73-76.
- 42- Sesma N, Lagana DC, Morimoto S, Gil C. Effect of denture surface glazing on denture plaque formation. Braz Dent J. 2005;16(2):129-134.
- 43- 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.
- 44- Pinto LR. Detecção da expressão dos genes HWP1, ALS 1 e ALS 3 de *Candida albicans* por meio de RT-PCR em tempo real, após desinfecção química e por microondas de resina acrílica para confecção de dentaduras. [Tese – Doutorado]. Faculdade de Odontologia de Bauru, USP. Bauru. 2010;128f.
- 45- Hube B. From commensal to pathogen: stage and tissue-specific gene expression of *Candida albicans*. Curr Opin Microbiol. 2004;3(3):93-6.
- 46- KanUntorski KZ, Pagani C. Influencia da rugosidade superficial dos materiais odontológicos na adesão bacteriana: revisão de literatura. Revista de Odontologia da Universidade Cidade de São Paulo. 2007set-dez;19(3):325-30.
- 47- Távora FFF. Efeito de sucessivos ciclos de desinfecção por microondas sobre a microdureza e rugosidade superficial de diferentes bases de próteses

totais. Estudo longitudinal. [Dissertação – Mestrado]. Faculdade de Odontologia de Bauru - Universidade de São Paulo, Bauru. 2007;139f.

48- Gonçalves TS, Spohr AM, Souza RM, Menezes LM. Surface roughness of auto polymerized acrylic resin according to different manipulation and polishing methods. *Angle Orthodontist*. 2008;78(5):931-934.

49- Baena-Monroy T, Moreno-Maldonado V, Franco- Martínez F, Aldaípe-Barrios B, Quindós G, Sanches- Vargas LO. *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus mutans* colonization in patients wearing dental prosthesis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2005 Apr;1;10 Suppl1:E27-39.

50- Vitkov L, Krautgartner WD, Hanning M, Weitgasser R, Stoiber W. *Candida* attachment to oral epithelium. *Oral Microbiol Immunol*.2002;25(6):416-23.

51- Abraham SN, Beachey EH, Simpson WA. Adherence of streptococcus pyogenes, Escherichia coli, and Pseudomonas aeruginosa to a fibronectin-coated and uncoated epithelial cells. *Infect Immun*, 1983;41:1261-1268.

52- Hasty DL, Simpson WA - Effects of fibronectin and other salivary macromolecules on the adherence of Escherichia coli to buccal epithelial cells. *Infect Immun*, 1987;55:2103-2109.

53- Farah CS, Ashman RB, Challacombe SJ. Oral candidosis. *Clin Dermatol*. 2000;18(5):553-62.

54- Kumamoto CA, Vines MD. Contributions of hyphae and hyphae-co-regulated genes to *Candida albicans* virulence. *Cell Microbiol*. 2005;7(11):1546-54.

- 55- Sartor, EA, Schmidt CB, Walber LF, Shinkai RSA. Effect of microwave disinfection on denture base adaptation and resin surface roughness. *Braz Dent J.* 2006;17(3):195-200.
- 56- Peracini A. Avaliação *in vitro* da ação do hipoclorito de sódio e de pastilhas efervescentes quanto à alteração de cor em resinas acrílicas temopolimerizáveis e de micro-ondas. [Dissertação – Mestrado]. Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008;124f.
- 57- Neppelenbroek K.H. Efetividade da desinfecção de próteses totais por energia de microondas no tratamento de estomatite protética. [Tese de Doutorado]. Araraquara: Universidade Estadual Paulista. 2005;209f.
- 58- Pavan S. Efetividade microbiológica da desinfecção por micro-ondas e seus efeitos sobre a dureza de materiais reembasadores macios. [Tese de Doutorado]. Faculdade de Odontologia – Universidade Estadual Paulista. Araraquara. 2006;135f.
- 59- Santos PH, Gomes EA, Pavan S, Vergani CE. Energia por micro-ondas: efeito na estabilidade dimensional de resinas acrílicas. *Revista de Odontologia da Universidade Cidade de São Paulo.* 2007 Jan-abr;19(1):84-9.
- 60- Meloto CB, Silva-Concilio LR, Machado C, Ribeiro MC, Joia FA, Rizzatti-Barbosa CM. Water sorption of heat-polymerized acrylic resins processed in mono and bimaxillary flasks. *Braz Dent. J.*2006;17(2):122-5.
- 61- Banting DW, Hill SA. Microwave disinfection of dentures for the treatment of oral candidiasis. *Spec Care Dentist.* 2001; 21(1):4-8.
- 62- Merchant VA. An update on infection control in the dental laboratory. *Quintess Dent Technol. Lombard.*1997;157-169.

- 63- Merchant VA, Molinari JA. Infection control in prosthodontics: a choice no longer. *Gen Dent.*1989; 37(1):29-32.
- 64- Soto FRM, Fonseca YSK, Risetto MR, Arini MLB, Marchette DS, Camargo CC. Programa de saneamento da água de poços rasos de escolas públicas rurais do município de Ibiúna-SP. *Rev. Ciênc. Ext.*2007; 3(2):12.
- 65- Rutala WA, Weber DJ. Uses of inorganic hypochlorite (bleach) in health-care facilities. *Clin Microbiol Rev.* 1997;10(4):597-610.
- 66- Fukuzaki S. Mechanisms of actions of sodium hypochlorite in cleaning and disinfection processes. *Biocontrol Sci.* 2006;11(4):147-57.
- 67- Estrela C, Estrela CR, Barbin EL, Spano JC, Marchesan MA, Pecora JD. Mechanism of action of sodium hypochlorite. *Braz Dent J.* 2002;13(2):11-7.
- 68- Machado AL, Breeding LC, Vergani CE, Cruz Perez LE. Hardness and surface roughness of relines and denture base acrylic resins after repeated disinfection procedures. *J Prosthet Dent.*2009;102(2):115-22.
- 69- Santos MWR, Wakim RCS, Paschoal MAG. Uso de solução bucal com sistema enzimático em pacientes totalmente dependentes de cuidados em Unidade de Terapia Intensiva. *Revista Brasileira de Terapia Intensiva.* 2008 Abril/junho;20(2).
- 70- Lamfon H. Composition of *in vitro* denture plaque Biofilms and susceptibility to antifungals. *FEM S Microbiology letters.* Amsterdam. 2005 jan;242(2):345-351.
- 71- Bambace AMJ, Barros EJA, Santos SSF, Jorge AOC. Eficácia de soluções aquosas de clorexidina para desinfecção de superfícies. *Rev. Biociênc.Taubaté.* 2003 abr-jun;9(2):73-81.

- 72- Guebur MI, Abrão Rapoport A, Sassi LM, Oliveira BV, Pereira JCG, Ramos GHA. Alterações de fluxo salivar não estimulado em pacientes portadores de carcinoma espinocelular de boca e orofaringe submetidos à radioterapia por hiperfracionamento. *Rev Brás Cancerol.* 2004; 50(2):103-8.
- 73- Gaetti-Jardim Júnior E, Fardin AC, Gaetti-Jardim EC, Castro AL, Schweltzer CM, Ávila-Campos MJ. Microbiota Associated with chronic osteomyelitis of the jaws. *Brazilian Journal of Microbiology.* 2010;41:1056-1064.
- 74- Pinto TMS. Vinagre como agente antimicrobiano no controle de *Candida* spp em portadores de prótese total. [Dissertação- Mestrado]. Universidade de Taubaté,2006;81p.
- 75- Gharbia SE, Shah HN. Identification of *Fusobacterium* species by the electrophoretic migration of glucamate dehydrogenase and 2-oxoglutarate reductase in relation to their DNA base composition and peptidoglycan dibasic amino acids. *J. Med. Microbiol.* 1990;33:183-188.
- 76- Gharbia SE, Shah HN. Pathways of glutamate catabolism among *Fusobacterium* species. *Journal of General Microbiology.* 1991;137:1201-1206.
- 77- Messias LPA. Ocorrência de microrganismos periodontopatogênicos e víruses herpéticos na boca de pacientes portadores de Síndrome de Down.[Dissertação – Mestrado]. Faculdade de Odontologia – FOA Unesp. Araçatuba.2009;88f.
- 78- Gaetti-Jardim EC. Fatores associados à presença de microrganismos superinfectantes ou oportunistas na boca: relações com próteses totais, condições periodontais e susceptibilidade a antimicrobianos. [Dissertação de Mestrado]. Faculdade de Odontologia – FOA Unesp. Araçatuba. 2009;116f.

- 79- Bianco KG. Ocorrência de Microrganismos Oportunistas e Superinfectantes em Crianças com 6, 12 e 18 Meses de Idade e suas Mães. [Tese – Doutorado]. Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba. 2009;146f.
- 80- Anand PS, Nandakumar K, Shenoy KT. Are dental plaque, poor oral hygiene, and periodontal disease associated with *Helicobacter pylori* infection? J Periodontol. 2006;77(4):692-8.
- 81- Lins AS, Gaetti-Jardim EC, Souza FRN, Schweitzer CM, Gaetti-Jardim Junior E. Microbiota associada à osteomielite crônica dos maxilares: estudo de casos. Revista Odontológica de Araçatuba. 2007 maio/agosto;28(2):33-37.
- 82- Carvalho C, Cabral CT. Papel da *Porphyromonas gingivalis* na doença periodontal. Rev Port Estomatol Cir Maxilofac. 2007;48:167-171.
- 83- Dias-da-Costa JS, Galli R, Oliveira EA, Backes V, Vial EA, Canuto R, Souza LL, Cremonese C, Olinto MTA, Pattussi MP, Triches JM. Prevalência da capacidade mastigatória insatisfatória e fatores associados em idosos brasileiros. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro. 2010 jan;26(1):79-88.
- 84- Lima RMF, Amaral AKFJ, Aroucha EBL, Vasconcelos TMJ, Silva HJ, Cunha DA. Adaptações na mastigação, deglutição e fonoarticulação em idosos de instituição de longa permanência. Rev CEFAC. 2009;11;Supl.3:405-422.
- 85- Shinkai RSA, Del Bel Cury AA. O papel da odontologia na equipe interdisciplinar: contribuindo para a atenção integral ao idoso. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro. 2000 out-dez;16(4):1099-1109.
- 86- Mesas AE, Trelha CS, Azevedo MJ. Saúde bucal de idosos restritos ao domicílio: estudo descritivo de uma demanda interdisciplinar. Physis [online].2008;18(1):61-75.

- 87- Volpato DE, Souza BV, Rosa LGD, Melo LH, Daudt CAS, Deboni L. Use of antibiotics without medical prescription. *The Brazilian J. Infect. Dis.* 2005 9(3):288-91.
- 88- Wybo I, Pierard D, Verschraegen I, Reynders M, Vandoorslaer K, Delmee M, Glupczynski Y, Gordts B, Ieven M, Melin P, Struelens M, Verhaegen J, Lauwers S. Third Belgian multicentre survey of antibiotic susceptibility of anaerobic bacteria. *J Antimicrob Chemother.* 2007;59:132-9.
- 89- Stramandinoli RT, Souza PHC, Westphalen FH, Bisinelli JC, Ignácio AS, Yurgel LS. Prevalência de *Candida* bucal em pacientes hospitalizados e avaliação dos fatores de risco. *Ver. Sul-Bras Odontol.* 2010 mar;7(1):66-72.
- 90- Yildirim HT. Evaluation of colour parameters and antioxidant activities of fruit wines. In: *Int. J. Food Sci. Nutr.* 2006;20:335-341.
- 91- Furtado DG. Uso e necessidade de prótese em idosos: reflexos na qualidade de vida. João Pessoa. [Trabalho de Conclusão de Curso]. UFPB – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba. 2009;64f.
- 92- Padrão MC, Monteiro ML, Maciel NR; Viana, FFCF; Freitas, NA. Prevalência de Infecções hospitalares em Unidade de Terapia Intensiva. *Rev. Bras Clin Med.* 2010;8(2):125-8.
- 93- Patarroyo M, Gonçalves PF, Flecha OD. Doença Periodontal como fator de risco para a pneumonia por aspiração – revisão de literatura. *Rev. Periodontia.* 2008;18(2):24-30.
- 94- Amaral SM, Cortês AQ, Pires FR. Pneumonia nosocomial: importância do microambiente oral. *J Bras Pneumol.* 2009;35(11):1116-1124.
- 95- Lisboa T, Faria M, Hoher JA, Borges LAA, Gómez J, Schifelhain L, Dias FS, Lisboa J, Friedman G. Prevalência de Infecção Nosocomial em Unidades

de Terapia Intensiva do Rio Grande do Sul. Revista Brasileira de Terapia Intensiva. 2007 out-dez;19(4):414-420.

96- Johanson WG Jr, Woods DE, Chaudhuri T. Association of respiratory tract colonization with adherence of gram-negative bacilli to epithelial cells. J Infect Dis, 1979;139:667-673.

97- Johanson WG Jr, Higuchi JH, Chaudhuri TR et al - Bacterial adherence to epithelial cells in bacillary colonization of the respiratory tract. Am Rev Respir Dis, 1980;121:55-63.

98- Conti S. Presença de *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonadaceae* na região posterior do dorso da língua de indivíduos adultos. [Dissertação – Mestrado]. Universidade de Taubaté, Departamento de Odontologia. 2005;61f.

99- Morehead RS, Pinto SJ. Ventilator-Associated Pneumonia. Arch Intern Med. 2000;160:1926-1936.

100- Paradella TC, Koga-Ito CY, Jorge AO. *Enterococcus faecalis*: considerações clínicas e microbiológicas. Revista de Odontologia da Unesp. 2007;36(2):163-68.

101- Milagres L, Garcia D, Castro T, Tavares K, Leão R, Folescu T, Higa L, Marques E. Infecção Pulmonar por *Pseudomonas aeruginosa* na fibrose cística: diagnóstico sorológico. Pediatría (São Paulo). 2008;30(1):56-65.

102- Hömer R, Vissotto R, Mastella A, Salla A, Meneghetti B, Dal Forno F, Right RA, Oliveira LO. Prevalência de Microrganismos em infecções do trato urinário de pacientes atendidos no Hospital Universitário de Santa Maria. RBAC. 2006;38(3):147-150.

- 103- Uemura N, Okamoto S, Yamamoto S, Matsumura N, Yamaguchi S, Yamakidom, *et al.* *Helicobacter pylori* infection and the development of gastric cancer. *N Engl J Med.*2001;345(11):784-9.
- 104- Rothenbacher D, Winkler M, Gonser T, Adler G, Brenner H. Role of infected parents in transmission of *Helicobacter pylori* to their children. *Pediatr Infect Dis J.* 2002;21(7):674-9.
- 105- Konno M, Yokota S, Suga T, Takahashi M, Sato K, Fujii N. Predominance of mother to child transmission of *Helicobacter pylori* infection detected by random amplified polymorphic DNA fingerprinting analysis in Japanese families. *Pediatr Infect Dis J.* 2008;27(11):999-1003.
- 106- Malaty HM, El-Kasabany A, Graham DY, Miller CC, Reddy SG, Srinivasan SR, *et al.* Age at acquisition of *Helicobacter pylori* infection: a follow-up study from infancy to adulthood. *Lancet.* 2002;359(9310):931-5.
- 107- Malaty HM. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2007;21(2):205-14.
- 108- Siqueira JS, Lima PSS, Barreto AS, Quintans-Júnior LJ. Infecções por *Helicobacter pylori*: revisão. *RBAC.* 2007;39(1):9-13.
- 109- Ciesielski FIN. Microrganismos oportunistas e exógenos na microbiota bucal de pacientes oncológicos submetidos à radioterapia de cabeça e pescoço [Dissertação - Mestrado]. Araçatuba: Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista.2010;49f.

9- ANEXOS



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Temos a satisfação de convidar VSa. para participar do projeto de pesquisa intitulado: **Próteses Totais Removíveis como Reservatório de Microrganismos Oportunistas**, sob responsabilidade do pesquisador **Antonio Carlos Marqueti**. Informamos que o objetivo principal dessa pesquisa é [avaliar quantitativa e qualitativamente, por meio de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase), a microbiota do biofilme subgingival, supragengival, mucosas lisas e dorso da língua e saliva, bem como o biofilme acumulado nas superfícies da próteses totais de pacientes usuários das Clínicas Odontológicas do Curso de Odontologia do Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos. Sua participação consiste em responder as questões da anamnese, permitir que seja realizado o exame físico intra oral e, permitir ainda que seja colhido uma amostra de saliva, uma amostra de esfregaço em mucosa oral e uma amostra de esfregaço da prótese total, segundo sua disponibilidade. As amostras relativas aos esfregaços de mucosa oral serão realizadas de forma suave e gentil. A sua participação é muito importante na obtenção de dados para o referido projeto. Desejamos ressaltar ainda que sua participação será mantida dentro do mais absoluto sigilo e sua privacidade estará resguardada. Informamos que os dados obtidos serão analisados e poderão ser divulgados a comunidade científica por meio de artigo científico e apresentações em eventos científicos.

Eu, _____
 _____, RG _____, nascido em _____ e domiciliado à
 _____, município de
 _____. Declaro que concordo em participar como voluntário do projeto **Próteses Totais Removíveis como Reservatório de Microrganismos Oportunistas** sob responsabilidade do pesquisador **Antonio Carlos Marqueti**. Declaro que fui satisfatoriamente esclarecido que o estudo será realizado a partir dos dados colhidos na anamnese e exame clínico, bem como análise laboratorial das amostras clínicas de saliva, mucosa oral e da prótese total a qual sou usuário. Não haverá riscos para minha saúde e posso consultar o pesquisador responsável em qualquer época, pessoalmente ou por telefone, para esclarecimento de qualquer dúvida. Estou livre para, a qualquer momento, deixar de participar da pesquisa e que não preciso apresentar justificativas para isso. Todas as informações por mim fornecidas e os resultados obtidos serão mantidos em sigilo e, estes últimos serão utilizados para divulgação em reuniões e revistas científicas sem a minha identificação. Serei informado de todos os resultados obtidos, independentemente do fato de mudar meu consentimento em participar da pesquisa. Não terei quaisquer benefícios ou direitos financeiros sobre os eventuais resultados decorrentes da pesquisa. A referida pesquisa é importante para o estudo no sentido de pesquisar a relação entre a microbiota oral e as infecções respiratórias como a pneumonia. Assim, consinto em participar do projeto de pesquisa em questão.

 Voluntário

 Pesquisador