

KARIN HERMANA NEPPELENBROEK

**Efetividade da desinfecção de próteses
totais por energia de microondas no
tratamento da estomatite protética
associada à Candida spp.**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de
Araraquara, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho”, para a obtenção do título de Doutor em
Reabilitação Oral

Orientadora: Profa. Dra. Ana Cláudia Pavarina
Co-orientadores: Profa. Dra. Elaine Maria S. Massucato
Profa. Dra. Denise Madalena P. Spolidorio
Prof. Dr. Luís Carlos Spolidorio

Araraquara
2005

Neppelenbroek, Karin Hermana

Efetividade da desinfecção de próteses totais por energia de microondas no tratamento de estomatite protética / Karin Hermana Neppelenbroek. – Araraquara : [s.n.], 2005.

209 f. ; 30 cm.

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

Orientadora: Profa. Dra. Ana Cláudia Pavarina

1. Estomatite sob prótese 2. Prótese total 3. Desinfecção
4. Microondas 5. Candida I. Título.

Banca Examinadora

Profa. Dra. Ana Cláudia Pavarina (Orientadora)

Professor Assistente Doutor do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese da Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

Profa. Dra. Dalva Cruz Laganá

Professor Titular do Departamento de Prótese da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Profa. Dra. Helena de Freitas Oliveira Paranhos

Professor Associado do Departamento de Materiais Dentários e Prótese da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

Prof. Dr. Carlos Eduardo Vergani

Professor Adjunto do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese da Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

Profa. Dra. Ana Lucia Machado

Professor Adjunto do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese da Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

Dados curriculares

KARIN HERMANA NEPPELENBROEK

NASCIMENTO: 25/09/1979 – Orlândia - São Paulo

FILIAÇÃO: Antonio Marino Geraldo Neppelenbroek

Jacyra Abrahão Neppelenbroek

1997/2000: Curso de Graduação pela Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

1998: Estágio de Treinamento na Disciplina de Histologia da Faculdade de Odontologia de Araraquara

1999-2000: Estágio de Iniciação Científica na Disciplina de Materiais Dentários da Faculdade de Odontologia de Araraquara

2000: Estágio de Iniciação Científica na Disciplina de Prótese Parcial Removível da Faculdade de Odontologia de Araraquara

2001-2002: Curso de Pós-graduação em Reabilitação Oral, nível de Mestrado, pela Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP

2003: Estágio de Atualização na Disciplina de Prótese Parcial Removível da Faculdade de Odontologia de Araraquara

2002-2003: Estágio-docência na Disciplina de Prótese Parcial Removível da Faculdade de Odontologia de Araraquara

2003-2005: Curso de pós-graduação em Reabilitação Oral, nível de Doutorado, pela Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	6
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	15
3. PROPOSIÇÃO.....	83
4. MATERIAL E MÉTODO.....	84
4.1- Materiais.....	84
4.2- Instrumentos.....	85
4.3- Equipamentos.....	86
4.4- Métodos.....	88
4.5- Planejamento Experimental.....	99
5. RESULTADOS.....	105
5.1- Efetividade dos tratamentos nos grupos de estudo.....	105
5.1.1- Resultados dos exames citológicos por esfregaço e das culturas micológicas quantitativas de <i>Candida</i> spp.....	105
5.1.2- Avaliação das fotografias intrabucais.....	110
5.2- Efetividade dos tratamentos a longo prazo.....	114
5.3- Avaliação dos fatores predisponentes	118
6. DISCUSSÃO.....	126
7. CONCLUSÃO.....	149
8. REFERÊNCIAS.....	151
9. APÊNDICE.....	163
9.1- Apêndice 1.....	163
9.2- Apêndice 2.....	180
9.3- Apêndice 3.....	185
RESUMO	196
ABSTRACT.....	198

1 Introdução

As espécies do gênero *Candida*, sobretudo a *Candida albicans*, vivem como comensais em diversas regiões do organismo da maioria dos indivíduos saudáveis⁹⁵. No entanto, sob determinadas condições ambientais, esses microrganismos podem colonizar mucosas e invadir tecidos como patógenos oportunistas²³. Diferentes fatores microbianos e ambientais podem favorecer a adesão das espécies de *Candida* às superfícies mucosas, que é o mecanismo necessário para ocorrer colonização e invasão tecidual^{17,19}. A adesão, relacionada à virulência dos microrganismos, se deve a características químicas e estruturais de sua parede celular bem como a moléculas de aderência, como as adesinas do agente infectante, e receptores protéicos presentes na superfície celular das mucosas^{17,19,23}. Um aspecto importante relacionado à adesão e ao início da infecção por *Candida* spp. é a capacidade de dimorfismo desse tipo de fungo, ou seja, de alterar sua morfologia comensal para formas patogênicas. Quando comensais, as células de *Candida* spp. são leveduriformes (blastóporos), unicelulares e freqüentemente esporuladas. Para o desenvolvimento do processo infeccioso, as espécies de *Candida* alteram a morfologia leveduriforme para a micelial^{27,50}. As formas miceliais correspondem a estruturas multicelulares alongadas, em forma de tubo, denominadas pseudohifas (não septadas) ou hifas (septadas). As pseudohifas são estruturas freqüentemente encontradas nas infecções por *Candida* spp.⁵⁹, entretanto, as hifas são raramente observadas, sendo produzidas apenas por algumas espécies, como a *C. albicans*⁵⁹. As formas miceliais têm maior capacidade de invadir os tecidos e maior patogenicidade que as formas leveduriformes^{50,59}. Além de mais difícil de ser fagocitada

pelos macrófagos do hospedeiro, a célula com morfologia micelial é considerada mais hidrofóbica, o que favorece sua penetração em diferentes superfícies e tecidos⁵⁰. Outras características microbianas de virulência, como a produção de substâncias toxigênicas (toxicoglicoproteínas e candidoxina) e exoenzimas (aspartil proteinases e fosfolipases), também podem facilitar a adesão das células de *Candida* spp. às superfícies mucosas e o desenvolvimento da infecção^{17,23,97}. Os fatores ambientais que favorecem a proliferação fúngica envolvem deficiências nos mecanismos imunológicos do hospedeiro³. As situações de debilidade imunológica do indivíduo, por doenças sistêmicas ou condições locais, propiciam um ambiente favorável para microrganismos oportunistas, como as espécies do gênero *Candida*, iniciarem o processo infeccioso^{3,19,50}.

A infecção da cavidade bucal por *Candida* spp., denominada candidose bucal, é considerada a infecção fúngica mais comum entre humanos, principalmente em idosos e usuários de próteses totais². A candidose bucal pode promover dificuldade de deglutição (disfagia) decorrente da proliferação fúngica na mucosa esofágica, o que pode levar a desnutrição, prolongamento de estados hospitalares e baixa resistência imunológica^{2,44}. Em indivíduos imunocomprometidos, sobretudo em pacientes com leucemia aguda e HIV-positivos, a infecção bucal pelas espécies de *Candida* pode se estender para o trato gastrointestinal superior ou para a corrente sanguínea, desencadeando fungemia^{41,62}, infecção sistêmica que acarreta mortalidade em até 79% dos casos⁴⁴. A candidose bucal relacionada à utilização de próteses removíveis, parciais ou totais, é denominada estomatite protética e caracteriza-se pela presença de área eritematosa na mucosa que mantém contato com a prótese^{8,17,18}. Essa patologia é considerada a lesão bucal mais comumente observada em usuários de próteses removíveis^{3,11,31,50,71,99}. A região palatina sob as próteses removíveis dos pacientes com estomatite protética se apresenta

com múltiplos pontos hiperêmicos, e, em casos mais avançados, também podem ser observadas áreas eritematosas difusas ou, ainda, hiperplasia papilar do palato⁷⁵. Além da região palatina correspondente à área de suporte das próteses totais superiores, outras regiões podem ser acometidas, tais como áreas de suporte de próteses parciais removíveis superiores e inferiores^{79,101}. Apesar de muitas vezes ser assintomática, a estomatite protética pode causar prurido, ardência, dor, sabor desagradável, desconforto, hemorragia na mucosa bucal, alteração no paladar, halitose, xerostomia e lesões associadas, como queilite angular e glossite rombóide mediana^{52,54,79,101}.

Embora a etiologia da estomatite protética seja considerada multifatorial, a infecção por *Candida* spp., especialmente *C. albicans*, é considerada o principal fator etiológico^{3,10,36,57}. Tem sido relatado que 93% dos indivíduos com sinais clínicos dessa patologia apresentam infecção fúngica, sendo a *C. albicans* a espécie mais comumente encontrada^{11,67,69,82,96}. No entanto, outras espécies menos patogênicas que a *C. albicans*, tais como *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida guilliermondii*, *Candida parapsilosis* e *Candida krusei*, têm sido recentemente isoladas de indivíduos com estomatite protética^{34,40,82}. Outros fatores etiológicos dessa patologia são debilidade física, alergia, idade, gênero, tabaco, endocrinopatologias, deficiências nutricionais, antibióticos de amplo espectro, imunossupressores e alterações nos mecanismos imunológicos^{43,100}. A maioria das infecções fúngicas bucais acomete pacientes usuários de próteses totais^{31,36,50,68}, sobretudo indivíduos do gênero feminino^{31,36,69} e idosos de ambos os gêneros^{3,11,19,50,56,68}. Fatores locais associados à prótese também são predominantes no desenvolvimento da estomatite protética. Placa microbiana^{19,62,83}, trauma local causado pela prótese^{19,62,83}, xerostomia^{93,96}, uso contínuo da prótese^{11,19,83} e alteração do

pH da saliva^{19,62} são condições locais freqüentemente relacionadas a essa patologia.

As próteses removíveis, parciais e totais, são consideradas como agentes catalisadores na iniciação da estomatite protética, uma vez que podem bloquear o fluxo de anticorpos da saliva e a ação mecânica de limpeza da língua⁹³. Com a redução do fluxo salivar e a diminuição dos níveis de pH bucal, desenvolve-se um ambiente propício para a sobrevivência de microrganismos e a formação de biofilmes^{17,64,93,96}. Além disso, a utilização de prótese pode alterar a microbiota bucal, facilitando a proliferação de formas patogênicas (miceliais) de *Candida* spp.^{3,19}, o que leva ao desenvolvimento de intensa reação imunológica e subsequente invasão tecidual²⁰. Assim, a utilização de prótese, principalmente do tipo total superior, pode promover o desenvolvimento da estomatite protética, mesmo na ausência de outros fatores predisponentes¹⁷. As células de *Candida* spp. apresentam capacidade de adesão não apenas às células epiteliais da mucosa bucal, mas também à resina acrílica da base das próteses^{17,19,63}. Vários estudos têm demonstrado que as colônias de *Candida* spp. são mais freqüentemente isoladas da superfície interna das próteses totais do que da mucosa correspondente^{3,10,36,57,64,70}. Isso sugere que o tratamento para a estomatite protética deve ser direcionado primariamente à prótese^{36,90}, uma vez que as colônias de *Candida* spp. presentes nas superfícies de resina acrílica podem causar reinfecção da mucosa do paciente^{36,37}.

Os tratamentos direcionados à estomatite protética são variados, podendo incluir terapia antifúngica tópica, medicação antifúngica sistêmica, cuidados com a higiene bucal, procedimentos de limpeza e desinfecção das próteses. A escolha de um tratamento ou a associação de mais de um deles é um aspecto a ser individualmente considerado⁹⁹. O grau de infecção decorrente da estomatite, as condições de saúde geral e bucal, a idade e o gênero do paciente e a idade da prótese são aspectos que devem

ser avaliados para a escolha do tratamento¹⁰¹. Em qualquer situação clínica, é necessário orientar devidamente os pacientes quanto à higienização das próteses e à sua remoção durante o período noturno^{12,83,99}. Além disso, as próteses com mais de cinco anos de uso ou em condições inadequadas devem ser substituídas após o tratamento da estomatite protética^{62,83}.

Se a terapia antifúngica tópica for instituída, agentes como nistatina e miconazol podem ser utilizados^{19,50,62}. Apesar de esses medicamentos serem eficazes para aliviar os sinais e sintomas clínicos da estomatite associada à *Candida* spp., muitas vezes não eliminam completamente esses microrganismos^{10,83}. A redução da ação do agente antifúngico tópico tem sido atribuída à diminuição de sua concentração nos tecidos infectados em decorrência dos efeitos diluentes da saliva e dos movimentos da língua¹⁰. Quando o paciente apresentar imunossupressão, a terapia antifúngica sistêmica pode ser recomendada^{19,62}. Vários agentes antifúngicos sistêmicos estão comercialmente disponíveis para o tratamento da estomatite protética. Os mais comumente utilizados pertencem ao grupo dos polienos, como anfotericina B e nistatina, ou ao grupo dos azóis, como itraconazol e fluconazol¹⁹. Tem sido relatado que o uso de antifúngicos de polienos, particularmente a anfotericina B, pode induzir efeitos hepatotóxicos e nefrotóxicos⁶². Um aspecto importante a ser analisado na terapia com antifúngicos tópicos ou sistêmicos se refere à resistência que as espécies de *Candida*, sobretudo a *C. albicans*, podem desenvolver a esses medicamentos. A resistência fúngica é considerada a principal causa das falhas na terapia com antifúngicos^{29,58}. Chandra et al.²⁹ demonstraram que as cepas de *C. albicans* associadas a um modelo de biofilme em prótese apresentaram resistência a antifúngicos tópicos (nistatina, clorexidina) e sistêmicos (anfotericina B, fluconazol) freqüentemente utilizados para o tratamento de estomatite protética. Com a resistência da *C. albicans* aos

antifúngicos, a incidência de outras espécies de *Candida* menos susceptíveis, como *C. krusei*, *C. tropicalis* e *C. glabrata*, tem aumentado progressivamente^{58,82}. Outro problema associado à terapia antifúngica, freqüente logo após sua suspensão, é a recorrência da estomatite protética^{10,83}. A re-infecção da mucosa bucal tratada pode ocorrer em até duas semanas após o tratamento, sendo atribuída à sobrevivência de *Candida* spp. devido a uma concentração insuficiente do antifúngico nas superfícies das próteses^{22,66}. Assim, para o tratamento de estomatite protética, torna-se fundamental adotar métodos que reduzam ou, preferencialmente, eliminem os microrganismos das superfícies das próteses, sobretudo as espécies de *Candida*.

Entre os métodos para remoção desses microrganismos, podem ser citadas a higienização das próteses por escovação e a imersão em agentes químicos. A escovação associada a algum tipo de detergente, sabão ou dentífrico é o método utilizado pela maioria dos usuários de próteses removíveis^{1,16,31}. No entanto, a efetividade da escovação, isoladamente, é considerada um dos métodos menos eficientes^{28,56}. Provavelmente a remoção mecânica dos microrganismos pela escovação é dificultada pelas irregularidades presentes na resina acrílica^{37,56}. Outro fator agravante é que os pacientes mais idosos freqüentemente apresentam capacidade visual reduzida e destreza manual limitada, o que resulta em uma higienização menos eficiente^{17,48}. Para assegurar o controle da placa microbiana presente nas próteses, pode-se associar a escovação à imersão diária em agentes químicos. Entre os métodos de desinfecção de próteses, a utilização de soluções químicas, como glutaraldeído a 2%, hipoclorito de sódio, dióxido de cloro, iodóforo, álcool e clorexidina, tem sido recomendada^{1,6,14,16,30,46,61,80,87}. No entanto, há vários inconvenientes relatados sobre a utilização desses agentes químicos para limpeza de próteses⁹². O glutaraldeído, apesar de possuir ação bactericida, não deveria

ser utilizado para imersão de próteses, uma vez que pode ficar impregnado nas porosidades das resinas, resultando em efeito irritante aos tecidos bucais^{33,88}. O hipoclorito de sódio pode causar efeitos citotóxicos moderados aos tecidos bucais⁸⁸, além de promover branqueamento das bases acrílicas e corrosão dos componentes metálicos das próteses⁶⁸. Outras desvantagens associadas à desinfecção por agentes químicos são a redução da resistência à flexão após a imersão em álcool⁴, a baixa efetividade antimicrobiana dos iodóforos⁸⁰ e o manchamento das bases das próteses pela utilização de soluções à base de clorexidina⁵.

Uma alternativa à imersão em soluções químicas é a desinfecção por energia de microondas. A irradiação por microondas tem sido utilizada para a desinfecção de alimentos^{26,35,78}, lentes de contato^{47,85}, materiais microbiológicos laboratoriais^{15,89}, instrumentais médicos^{60,86,104} e odontológicos^{49,84}, roupas íntimas contaminadas com *C. albicans*⁴⁵ e esponjas para uso doméstico⁵¹. No entanto, a utilização das microondas como método de desinfecção de próteses ainda é restrita. Roher e Bulard⁸⁴ observaram que as próteses parciais removíveis contaminadas com *Staphylococcus epidermis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus subtilis* e *C. albicans* apresentaram esterilização após 10 minutos de irradiação por microondas a 720 W. No entanto, a esterilização somente foi observada nas próteses acopladas a um dispositivo rotacional tridimensional, que não está comercialmente disponível. Os resultados obtidos por Webb et al.⁹⁸ demonstraram que próteses totais inoculadas com *C. albicans* e *Streptococcus gordonii* foram esterilizadas em forno de microondas caseiro convencional após 6 minutos de irradiação em potência média. Banting e Hill¹⁰ compararam a desinfecção de próteses totais por imersão em clorexidina e por irradiação em microondas como métodos adjuntos no tratamento de estomatite protética. Todos os pacientes receberam medicação antifúngica tópica à base de nistatina e tiveram suas próteses

totais superiores submetidas a um dos seguintes tratamentos: irradiação a seco por 1 minuto a 850 W em 3 dias diferentes ou imersão em solução de clorexidina a 0,2% durante a noite, por 14 dias. Os autores observaram que, comparada à imersão em clorexidina, a irradiação por microondas reduziu significativamente os riscos de recorrência de *C. albicans* na superfície da prótese e na mucosa palatina correspondente. Para assegurar a efetividade da desinfecção, Dixon et al.³⁹ recomendaram a imersão das resinas acrílicas em água durante a irradiação por microondas. Segundo os autores, esse procedimento proporciona um aquecimento uniforme dos materiais pelas microondas, inativando até mesmo os microrganismos localizados no interior dos poros. Os autores inocularam *C. albicans* em três resinas acrílicas e observaram que os corpos-de-prova imersos em água durante a irradiação foram esterilizados após 5 minutos em potência máxima, enquanto aqueles não imersos em água foram apenas desinfetados após o mesmo tempo de exposição. Outros autores^{45,51} também sugeriram o umedecimento dos materiais antes da irradiação, com o objetivo de obter maior efetividade de desinfecção. Considerando a importância da imersão em água durante a irradiação por microondas, Neppelenbroek et al.^{73,74} avaliaram a efetividade desse procedimento na desinfecção de resinas autopolimerizáveis para reembasamento imediato e resina termopolimerizável para base de prótese. As amostras foram irradiadas com uma combinação padronizada de tempo e potência (650 W/6 minutos) estabelecida a partir da análise dos resultados obtidos na literatura. Para a realização dos testes microbiológicos, foram utilizados quatro microrganismos patogênicos considerados indicadores na avaliação de métodos de esterilização e desinfecção: *S. aureus* (gram-positivo), *Pseudomonas aeruginosa* (gram-negativo), *C. albicans* (fungo) e *B. subtilis* (aeróbico esporulado)^{32,102}. A irradiação por microondas por 6 minutos (650 W) promoveu esterilização em todos os corpos-de-prova. O procedimento foi também considerado efetivo a longo prazo, uma vez que

não houve crescimento microbiano nos corpos-de-prova irradiados após 7 dias de incubação em caldo nutritivo^{73,74}. A partir desses resultados, Silva et al.⁹⁴ avaliaram a efetividade do mesmo protocolo na desinfecção de próteses totais imersas em água durante a irradiação. A exposição às microondas por 6 minutos a 650 W promoveu esterilização das próteses contaminadas com *S. aureus* e *C. albicans* e desinfecção daquelas contaminadas com *P. aeruginosa* e *B. subtilis*. Com os resultados favoráveis obtidos com o ciclo de desinfecção adotado (650 W/6 minutos), outros estudos foram desenvolvidos com o objetivo de avaliar o efeito da irradiação por microondas em algumas propriedades de resinas acrílicas^{77,81} e dentes artificiais²⁵. Pavarina et al.⁸¹ concluíram que dois ciclos de desinfecção por microondas (650 W/6 minutos), com os corpos-de-prova imersos em água, não promoveram efeitos deletérios na resistência à flexão de quatro materiais para reembasamento definitivo e uma resina para base de prótese. Os resultados obtidos por Campanha et al.²⁵ demonstraram que a dureza Vickers de cinco marcas de dentes artificiais de resina acrílica previamente imersos em água por 90 dias não foi significativamente alterada após dois ciclos de irradiação por microondas. No estudo de Novais⁷⁷, dois ou sete ciclos de desinfecção por microondas (650 W/6 minutos) não alteraram adversamente a porosidade superficial de três materiais para reembasamento imediato e uma resina para base de prótese.

De acordo com estudos prévios, a irradiação por microondas por 6 minutos a 650 W provou ser efetiva na desinfecção de resinas acrílicas^{73,74} e próteses totais⁹⁴. Além disso, tem sido demonstrado que esse procedimento parece preservar as propriedades estruturais das resinas acrílicas^{77,81} e dos dentes artificiais²⁵. Apesar da alta prevalência de estomatite protética em pacientes usuários de próteses, há pouca informação sobre a utilização da desinfecção de próteses por microondas para o tratamento dessa patologia. É importante enfatizar que, na literatura

disponível, não há estudos sobre a avaliação desse procedimento como único tratamento para a estomatite protética.

2 Revisão da literatura

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

Em 1965, Olsen⁷⁸ investigou a utilização da energia de microondas com o objetivo de reduzir a quantidade de fungos em pães. Os esporos de três fungos comumente encontrados nesse tipo de alimento (*Aspergillus niger*, *Penicillium* spp. e *Rhizopus nigricans*) foram cultivados em tubos contendo ágar batata dextrose e incubados durante sete dias. Os esporos obtidos por meio dessa cultura foram ressuspensos em 10 mL de água destilada contendo 0,01% de lauril sulfato de sódio sob agitação. Alíquotas dessas suspensões foram inoculadas em fatias de pães

produzidos com ou sem a incorporação de conservante. As fatias de pães foram irradiadas por 2 minutos em um aparelho de microondas não convencional a 5.000 W. Após a irradiação, a região dos pães inoculada com os microrganismos foi removida, macerada e inserida em recipientes contendo 50 mL de água destilada. Os recipientes foram agitados por 10 minutos, e alíquotas da solução resultante foram semeadas em placas de Petri ou tiveram o número de esporos viáveis contados em uma câmara hemocitométrica. O número de colônias e de esporos viáveis foi comparado com amostras obtidas a partir de pães não irradiados, mas que foram submetidos à mesma temperatura atingida pela irradiação. Foi observado que os números de esporos viáveis e de colônias dos três fungos avaliados foram significativamente reduzidos após a irradiação por microondas. De acordo com o autor, foi demonstrado na literatura que as espécies de *Aspergillus* e *Penicillium* são inativadas em temperaturas entre 54,11°C a 56,88°C, quando mantidas por 20 minutos. No entanto, a maior temperatura registrada no aparelho de microondas utilizado nesse estudo foi de 51,33°C. Considerando-se o tempo de exposição utilizado (2 minutos) e a incapacidade de as amostras de pães utilizadas reterem a temperatura atingida por tempo maior do que 5 a 10 minutos, o autor concluiu que a redução no número de esporos após a irradiação não foi provavelmente originada de um efeito térmico convencional. Além disso, foi sugerido que as soluções salinas presentes no citoplasma dos esporos poderiam representar um alvo preferencial para a energia de microondas, o que leva a temperatura interna desses microrganismos a exceder o suficiente para promover lise ou inativação.

O objetivo do estudo de Carrol e Lopez²⁶, em 1969, foi avaliar a possibilidade de um efeito não térmico de inativação de microrganismos pelas microondas. Para os procedimentos experimentais, foi utilizado um aparelho de microondas não convencional com potência de

500 W. Inicialmente, foi avaliado o efeito das alterações de pH sobre os microrganismos testados (*Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae* e *B. subtilis*) por meio da imersão dos mesmos em diferentes soluções com pHs específicos. Para o cultivo nas placas de Petri, os microrganismos foram previamente inoculados em alimentos (leite, suco de tomate e suco de laranja) e irradiados por períodos entre 16 e 64 minutos. Os autores observaram que não houve diminuição significativa do número dos microrganismos testados nas soluções com diferentes valores de pH. Após a irradiação por microondas, não foi observada redução de *S. cerevisiae* e *E. coli* previamente inoculados no leite e no suco de tomate. Para o suco de laranja, foi observada redução progressiva dos números de microrganismos com o aumento do tempo de exposição às microondas. A variabilidade dos resultados obtidos levou os autores a sugerirem que a composição química da suspensão irradiada e a das células microbianas poderiam explicar os efeitos não térmicos provenientes das microondas. Além disso, os autores relataram que existe a possibilidade da lise celular de um microrganismo ocorrer devido à rápida oscilação das cargas celulares elétricas negativas em decorrência de interação com o campo eletromagnético das microondas. Essa oscilação, segundo os autores, pode exceder os limites elásticos da estrutura celular, promovendo seu rompimento. Foi também enfatizado que, como a energia das microondas é absorvida seletivamente por certas moléculas constituintes de uma célula microbiana, tais como DNA ou alguma proteína essencial, poderia ocorrer uma desnaturação irreversível dessas estruturas, e os microrganismos seriam inativados mesmo em níveis baixos de calor.

Ritchie et al.⁸³, em 1969, avaliaram a significância de fatores locais e sistêmicos na etiologia da estomatite protética. Foram selecionados 100 pacientes usuários de próteses removíveis superiores, parciais ou totais, e com diagnóstico clínico de estomatite protética segundo os critérios da

classificação de Newton. Inicialmente, foram obtidas informações sobre idade, frequência de utilização e higienização das próteses de todos os pacientes. A presença de trauma causado pelo uso das próteses também foi clinicamente avaliada. Os pacientes foram questionados em relação a possíveis alergias, discrasias sanguíneas, alterações hormonais e nutricionais e uso de medicamentos. Foram realizados testes alérgicos e exames de sangue nos pacientes com história de alergias e que não responderam a tratamentos prévios. A mucosa palatina dos pacientes foi avaliada quanto à presença de infecção por bactérias e fungos. Para a obtenção das culturas nas placas de Petri, o material superficial presente na mucosa palatina dos pacientes foi coletado com *swab* oral. A presença de *Candida* e/ou bactérias na mucosa palatina dos pacientes também foi avaliada por exames citológicos por esfregaço. A avaliação histológica da mucosa palatina foi realizada por meio de biópsias. O tratamento dos pacientes com hiperemia inicial na mucosa palatina consistiu apenas da substituição das antigas próteses. Os pacientes com hiperemia difusa, que apresentaram na análise dos esfregaços infecção por fungos foram tratados com nistatina tópica. Para pacientes com hiperemia difusa que demonstraram nos exames de esfregaço outros patógenos além de fungos, o tratamento foi realizado com Remiderm, um agente tópico com ação antibiótica e antifúngica. Os pacientes que apresentaram intolerância à nistatina foram tratados com anfotericina B. Para os pacientes com queilite angular severa e infecção mista (bacteriana e fúngica), o tratamento foi realizado com Triadcortyl, um creme preparado com várias substâncias ativas, incluindo nistatina, gramicidina, neomicina e triancinolona. Os pacientes foram avaliados após um, três, seis e doze meses da suspensão do tratamento. Os resultados demonstraram que os principais agentes etiológicos da estomatite protética foram o trauma causado pelas próteses e a infecção por *C. albicans*. Os pacientes com doenças debilitantes

apresentaram maior predisposição à estomatite protética e, a incidência em mulheres foi ainda maior na fase de menopausa. A presença de alergias não demonstrou ser um agente etiológico associado à estomatite protética. No entanto, segundo os autores, possíveis reações de hipersensibilidade na mucosa bucal podem ocorrer devido a presença de monômero residual nas resinas acrílicas das bases após a polimerização e à absorção de agentes de limpeza pelas irregularidades da superfície interna das próteses. Foi observado que 74% dos pacientes com estomatite protética não removiam as próteses da cavidade bucal antes de dormir. Essa prevalência foi associada à menor resistência dos tecidos bucais aos processos infecciosos em decorrência do uso contínuo das próteses. Os agentes antifúngicos utilizados (nistatina e anfotericina) foram considerados efetivos para o tratamento da estomatite protética. Segundo os autores, a nistatina é melhor aceita pelos pacientes quando administrada na forma de creme. O tratamento com anfotericina B foi considerado satisfatório para a maioria dos pacientes, com a vantagem de apresentar sabor mais agradável que a nistatina. O Triadcortyl foi sugerido como o tratamento mais efetivo para a queilite angular. Após um mês do tratamento, a recorrência de infecção por *Candida* foi observada em 48% dos pacientes. As avaliações após os tratamentos realizados também demonstraram que a infecção fúngica foi recorrente em cinco pacientes após três meses, em um pacientes após seis meses e em dois pacientes após doze meses.

Em 1970, Davenport³⁶ avaliou a distribuição e a concentração de *Candida* em pacientes com estomatite protética. Para o estudo, foram selecionados 50 pacientes com estomatite protética e 50 pacientes sem alteração da mucosa bucal (controle). Foram realizados exames citológicos por esfregaço da mucosa palatina e da superfície interna das próteses removíveis, parciais ou totais, de todos os pacientes. Para a

diferenciação de *C. albicans* de outras espécies, amostras de saliva estimulada dos pacientes foram cultivadas em ágar cornmeal e soro de cavalo. A presença de *Candida* na mucosa palatina e na superfície interna das próteses foi também avaliada nas culturas em placas de ágar Sabouraud. Em dez pacientes, foram realizadas biópsias da mucosa palatina inflamada. A análise dos esfregaços das próteses demonstrou a presença de leveduras em 94% dos pacientes com estomatite protética e em 30% dos pacientes do grupo controle. A avaliação quantitativa dos esfregaços demonstrou maior número de células de *Candida* nos esfregaços obtidos das próteses em relação aos obtidos das mucosas palatinas. As culturas das amostras de saliva demonstraram a presença de *C. albicans* em 70% dos pacientes com estomatite protética e 14% dos pacientes do grupo controle. As culturas em ágar Sabouraud demonstraram o mesmo padrão de distribuição de *Candida* obtido com os esfregaços. Não foram observadas células de *Candida* em nenhuma das secções das biópsias obtidas. O autor sugeriu que a estomatite protética está associada à proliferação de *Candida*, a qual é primariamente associada à presença de placa na superfície interna das próteses.

O estudo de Budtz-Jørgensen e Løe²¹ (1972) teve por objetivo avaliar o efeito da desinfecção de próteses totais com clorexidina no tratamento de estomatite protética. Foram selecionados 53 usuários de próteses totais com sinais clínicos de estomatite protética na mucosa palatina. Os pacientes foram instruídos a realizar a imersão de suas próteses por 15 segundos, durante 14 dias, em uma das seguintes soluções: digluconato de clorexidina a 2% ou solução placebo (água deionizada com 0,1% de cloreto de quinina). Os pacientes foram orientados a não enxaguar suas próteses após a imersão, deixando-as secar à temperatura ambiente antes de retorná-las à cavidade bucal. Cada paciente foi avaliado por cinco

vezes: antes, durante e ao término do tratamento e após uma e cinco semanas da suspensão do mesmo. A efetividade do tratamento foi avaliada clinicamente por fotografias da mucosa palatina dos pacientes. Foram obtidos também exames citológicos por esfregaços obtidos da mucosa palatina e da língua. Além disso, foram realizadas biópsias da mucosa palatina dos pacientes antes e imediatamente após o término do tratamento. A análise dos esfregaços obtidos antes do tratamento demonstrou a presença de *Candida* em 94% dos pacientes avaliados, sendo a *C. albicans* identificada em 90% dos casos. A presença de hifas foi observada em 79% dos esfregaços obtidos da mucosa palatina antes do tratamento. Após uma semana do término do tratamento, houve melhora clínica em 78% dos pacientes que realizaram a desinfecção das próteses com clorexidina. A solução de clorexidina promoveu eliminação das hifas de *Candida* em 90% dos esfregaços obtidos da mucosa palatina dos pacientes após duas semanas do término do tratamento. No entanto, as formas de blastóporos foram observadas em 75% dos esfregaços após o término do tratamento. Antes do tratamento com clorexidina, 16 pacientes (59%) apresentaram hifas de *Candida* nos esfregaços obtidos da língua. Após o tratamento, somente cinco esfregaços da língua de pacientes apresentaram a presença de hifas. No entanto, a presença de blastóporos foi observada em 78% dos esfregaços da língua após o tratamento com clorexidina. A solução placebo não apresentou efeitos sobre as células de *Candida* e não promoveu melhora clínica da inflamação da mucosa palatina dos pacientes. Histologicamente, o tratamento com clorexidina produziu uma redução significativa das alterações epiteliais, reduzindo o grau de infiltração leucocitária e o acúmulo de glicogênio. Uma semana após o tratamento com clorexidina, a recorrência de hifas de *Candida* foi observada nos esfregaços dos palatos da maioria dos pacientes (69%). Após cinco semanas do término do tratamento com clorexidina, os esfregaços na mucosa palatina de todos

os pacientes, exceto um, apresentaram hifas de *Candida*. Nesse mesmo período de avaliação, foi observada a presença de hifas em 75% dos esfregaços da língua. O tratamento com clorexidina produziu alteração de cor no epitélio da língua (cor amarronzada) de dez pacientes e causou manchamento nas próteses de cinco pacientes.

Davenport³⁷, em 1972, avaliou a porosidade e a textura superficial de resinas acrílicas processadas em contato com diferentes materiais de moldagem, modelos, resinas, isolantes e lâminas de vidro. As amostras obtidas com materiais de moldagem foram vazadas com gesso para viabilizar a análise de sua superfície. Primeiramente, as amostras foram analisadas visualmente com uma lupa com aumento de 10X para a localização de defeitos. A leitura da superfície das amostras foi realizada com perfilômetro, e medidas de profundidade e largura foram obtidas. Nas amostras processadas em contato com o vidro, não foram detectadas rugosidades que permitissem mensuração em decorrência da baixa rugosidade intrínseca da resina acrílica. Os resultados demonstraram que a profundidade de rugosidade das amostras de resina variou de 0,4 μm a 12 μm e a largura de 5,1 μm a 22,8 μm . As medidas médias de microrganismos tipo cocos (1 μm) e de leveduras (5 μm) foram utilizadas como parâmetro para comparação. De acordo com o autor, a inclinação dos flancos das depressões registradas ofereceu pouca resistência ao deslocamento de microrganismos. Para análise da porosidade, foi utilizada a técnica de difusão de corante fluorescente. A ausência de difusão observada indicou que, se houve porosidades, estas não estavam abertas na superfície. Assim, no caso de superfícies de próteses com textura fina e ausência de porosidade, a remoção da placa poderia ser obtida por uma cuidadosa escovação. Entretanto, em casos de irregularidades maiores que as

encontradas pelo autor, um método de desinfecção poderia ser utilizado como adjunto à limpeza das próteses.

Em 1974, Budtz-Jørgensen¹⁷ discutiu a significância da *C. albicans* na patogenia da estomatite protética. Segundo o autor, a presença de prótese na cavidade bucal é considerada o fator predisponente primário para o desenvolvimento da estomatite protética. A infecção por *C. albicans* deveria ser reconhecida como uma complicação comumente associada à utilização de próteses removíveis, parciais ou totais. Apesar de a infecção por *C. albicans* ser facilmente tratada, as recorrências são muito freqüentes. Além disso, é comum que a infecção comprometa outras áreas da mucosa bucal, como língua e comissuras labiais. Em indivíduos saudáveis, a estomatite protética causada por *Candida* não é considerada uma condição patológica séria. No entanto, a candidose bucal pode evoluir para quadros de infecções sistêmicas em pacientes debilitados, principalmente quando submetidos a terapias prolongadas com antibióticos, corticosteróides ou medicamentos imunossupressores. Apesar de quantidades significativas de formas miceliais de *Candida* serem observadas nos esfregaços obtidos da superfície das próteses, a invasão tecidual não é observada na mucosa palatina dos pacientes. Os efeitos patogênicos das espécies de *Candida* são atribuídos à degradação da superfície epitelial pela ação de enzimas e ao desenvolvimento de resposta hipersensitiva tardia. Além disso, as endotoxinas produzidas pelas espécies de *Candida* podem agravar as lesões decorrentes da estomatite protética. Considerando a significância das espécies de *Candida* na estomatite protética, o autor concluiu que seria necessária a adoção de medidas que previnam a colonização desses microrganismos na mucosa palatina e nas próteses. Entre as medidas, foram citadas limpeza adequada das próteses, cuidados com a higiene bucal, eliminação de traumas locais e remoção das próteses

no período noturno. Quando a infecção já estiver presente, a terapia antifúngica tópica poderia ser recomendada. De acordo com o autor, no tratamento de estomatite protética, é essencial que o método selecionado promova a eliminação das espécies de *Candida* tanto da mucosa palatina quanto da superfície interna das próteses.

Culkin e Fung³⁵, em 1975, avaliaram a efetividade da irradiação por microondas na eliminação de microrganismos presentes em alimentos e seu mecanismo de ação sobre os mesmos. Para a realização dos experimentos, as bactérias selecionadas (*Salmonella typhimurium* e *E. coli*) foram inoculadas em uma concentração de 10^7 org/mL nos alimentos líquidos (sopa de tomate, sopa de vegetais e caldo de carne). O número de células viáveis tanto nos alimentos crus quanto nos cozidos, para porções individuais (200 mL) ou triplas (600 mL), foi determinado por semeadura em placas de Petri incubadas a 37°C por 24 horas. A irradiação das sopas inoculadas foi realizada em períodos superiores a 150 segundos para porções individuais e a 10 minutos para as porções triplas. Tiras térmicas de papel foram utilizadas nas mensurações das temperaturas das sopas irradiadas. Os resultados evidenciaram redução progressiva na viabilidade das bactérias avaliadas de acordo com o aumento do tempo de exposição às microondas. Foi observado padrão similar para o aquecimento das sopas avaliadas, sendo a maior temperatura observada na região intermediária. Segundo os autores, se a ação letal da energia de microondas fosse atribuída ao efeito do calor produzido pelas microondas, seria esperado que os microrganismos da região de maior temperatura apresentassem os menores valores de viabilidade microbiana. Entretanto, foi evidenciado que os microrganismos nas regiões superficiais, de temperatura inferior, apresentaram menores níveis de viabilidade quando comparados aos das regiões intermediárias, que apresentaram maior temperatura. Considerando

esses aspectos, os autores sugeriram que o mecanismo de ação das microondas sobre os microrganismos pode ser explicado não somente por um efeito térmico, produzido pelo calor gerado com a irradiação, mas também por um provável efeito mecânico resultante da intensidade do campo das microondas.

Em 1977, vários experimentos foram realizados por Latimer e Matsen⁶⁰ com o objetivo de avaliar as microondas na inativação de bactérias patogênicas presentes em laboratório de análises clínicas microbiológicas. As bactérias patogênicas gram-positivas e gram-negativas selecionadas (*B. subtilis*, *Enterobacter cloacae*, *K. pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *P. aeruginosa*, *Streptococcus* alpha hemolítico do grupo D, *Enterococcus* e *S. epidermidis*.) foram inoculadas em 50 mL de caldo de tryptic soy e incubadas pelo período noturno a 35°C. Após a incubação, as culturas foram irradiadas por 15, 30, 45 ou 60 segundos. Essas amostras foram diluídas e semeadas em placas de Petri contendo ágar tryptic soy. Além disso, tiras de papel contaminadas com esporos de *Bacillus stearothermophilus* foram irradiadas por um dos seguintes tempos experimentais: 15, 30, 45 e 60 segundos e 2, 3, 4 e 5 minutos. Após a exposição, as tiras foram inoculadas em caldo de tryptic soy e incubadas a 56°C por 72 horas. Em outro experimento, suspensões de esporos de *B. subtilis* foram irradiadas em tempos entre 15 segundos e 11 minutos e semeadas em placas de ágar tryptic soy para quantificação dos esporos viáveis. Além disso, os autores testaram a efetividade das microondas nos tempos de exposição de 5, 10, 15 e 20 minutos na desinfecção de embalagens autoclaváveis contendo placas de Petri plásticas com meio de cultura contaminado. Em seguida, tiras inoculadas com o meio de cultura irradiado foram incubadas em caldo de tryptic soy por 48 horas a 35°C. Os resultados desse estudo evidenciaram esterilização das bactérias

patogênicas gram-positivas e gram-negativas selecionadas após 60 segundos de exposição às microondas. Por outro lado, as tiras de papel contaminadas com *B. subtilis* não foram esterilizadas após 11 minutos de irradiação em microondas. O tempo de exposição de 5 minutos às microondas foi considerado adequado para assegurar a eliminação dos esporos de *B. stearothermophilus* presentes nas culturas puras e promover esterilização das placas contaminadas.

A efetividade da irradiação por microondas na esterilização de microrganismos patogênicos foi avaliada por Fitzpatrick et al.⁴² em 1978. Para os experimentos, foram utilizados tubos de ensaio contendo suspensão salina de *S. aureus*, esporos a seco de *B. subtilis* ou tiras umedecidas com esporos de *B. subtilis*. Inicialmente, cada condição avaliada foi submetida a cinco irradiações sucessivas de 12 segundos a 1.000 W. Esses experimentos demonstraram que o tratamento, apesar de ter sido efetivo para eliminar microrganismos em suspensão (*S. aureus*), foi insuficiente para inativar as formas esporuladas. A partir desses resultados, os autores realizaram experimentos com tiras contaminadas por esporos (*B. stearothermophilus* e *B. subtilis*) e umedecidas em água destilada. Em seguida, essas tiras foram irradiadas por períodos superiores a 15 e 30 minutos. No entanto, ainda foi observada cultura positiva para os esporos testados. Com base nessas observações, culturas desses esporos foram incubadas em outros tubos de ensaio abertos. Entretanto, os experimentos demonstraram crescimento em todas as culturas avaliadas. Considerando essas observações, os autores realizaram experimentos com tubos de ensaio vedados com roscas e verificaram que não houve crescimento nas culturas avaliadas pelo período de 7 dias. Foi concluído que a esterilização pela energia de microondas apresentou-se viável quando o conteúdo a ser irradiado era adequadamente selado e apresentava água suficiente para a produção de vapor. Com base

nos resultados obtidos, os autores sugeriram que a esterilização ocorrida foi decorrente de um efeito térmico.

Hume e Makinson⁴⁹, em 1978, avaliaram a efetividade da irradiação por microondas e da utilização de óleos lubrificantes bactericidas para peças de mão na esterilização de instrumentais odontológicos. Para os experimentos com as microondas, tiras de papel com esporos de *B. stearothermophyllus* foram irradiadas por tempos de até 64 minutos e incubadas por 24 horas. Instrumentais odontológicos (alicates ortodônticos, alargadores endodônticos, escovas de profilaxia e brocas carbide) foram contaminados com *S. aureus*, irradiados por tempos de até 12 minutos e incubados a 37°C por 24 horas. Em outro experimento, alicates ortodônticos e peças de mão contaminados com *Herpes simplex*, foram irradiados por até 12 minutos e analisados quanto às alterações no citoplasma. Além disso, várias marcas de óleos lubrificantes foram aplicadas em meios de cultura com *S. aureus* incubados a 37°C por 24 horas. Os resultados demonstraram que a exposição às microondas não foi efetiva na inativação dos esporos em até 64 minutos de irradiação. Além disso, foi observado crescimento bacteriano mesmo após 12 minutos de exposição. O crescimento viral também foi positivo para todos os alicates irradiados, mas apresentou-se negativo para as peças de mão irradiadas por 12 minutos. Foi demonstrado que os óleos lubrificantes avaliados, exceto o KaVo All-Air, apresentaram apenas um efeito bacteriostático. Os autores concluíram que a ineficácia na esterilização pela irradiação por microondas poderia ser atribuída ao fato de os microrganismos terem sido protegidos das microondas pela superfície metálica dos instrumentos odontológicos. Além disso, como os experimentos foram realizados com os microrganismos a seco, não foi possível avaliar os efeitos do calor proveniente do meio circundante e das alterações ocorridas na água presente no próprio microrganismo.

Em 1979, Arendorf e Walker³ realizaram um estudo para determinar, pela técnica de “imprint”, a densidade e a frequência de colonização por *C. albicans* na mucosa bucal e na superfície interna de próteses totais. Foram avaliados 52 pacientes com estomatite protética e 60 sem alterações na cavidade bucal. A avaliação da presença de *C. albicans* na mucosa bucal também foi realizada em 60 indivíduos dentados saudáveis. Para a técnica de “imprint”, esponjas estéreis, cortadas em quadrados, foram umedecidas em caldo de Sabouraud. Em seguida, as esponjas foram individualmente mantidas por 60 segundos em contato com vários sítios da mucosa bucal e da superfície interna das próteses totais. As esponjas foram transferidas para placas de Petri contendo ágar Sabouraud e incubadas a 37°C por 48 horas para a contagem de colônias. Após a incubação, a frequência e a densidade de colônias de *Candida* spp. foram calculadas, em unidade de área, para cada sítio avaliado. A *C. albicans* foi diferenciada de outras espécies por testes de fermentação e assimilação de carboidratos e formação de tubo germinativo e clamidósporo. A distribuição de *C. albicans* foi variável para os pacientes usuários de próteses sem alteração na cavidade bucal. Para os pacientes com estomatite protética, foi observada correlação entre a distribuição de *C. albicans* e os sítios infectados da mucosa bucal. Os sítios correspondentes aos pacientes com estomatite protética apresentaram significativamente maiores frequências e densidades de *C. albicans* que os sítios dos usuários de próteses totais sem alteração na cavidade bucal. A densidade de colonização por *C. albicans* nos usuários de próteses totais sem alteração na cavidade bucal foi significativamente maior do que nos indivíduos dentados. Segundo os autores, a técnica de “imprint” de culturas poderia ser utilizada para diferenciar o indivíduo portador de microrganismos do gênero *Candida* do indivíduo com candidose bucal, uma vez que houve um limite aparente de densidade de *Candida* em indivíduos dentados e usuários de próteses sem estomatite protética. Nos pacientes

com estomatite protética, as mais altas densidades de *Candida* foram observadas no palato, na língua e na superfície interna das próteses, sugerindo que a *C. albicans* deva ser considerada na patologia da estomatite protética. A presença de prótese total, particularmente associada à utilização no período noturno, foi correlacionada aos aumentos da frequência e da densidade de colonização por *Candida*.

Sanborn et al.⁸⁹, em 1982, realizaram um estudo com o objetivo de avaliar o efeito da irradiação por microondas na esterilização de recipientes plásticos para cultura de células. Recipientes estéreis de várias marcas e dimensões foram inoculados com meios de cultura contendo um dos seguintes microrganismos: *E. coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *K. pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Spondias lutea*, *Corynebacterium equi*, *Bacillus alvei*, *Bacillus globigii* e *Streptococcus faecium*. Após a contaminação, os recipientes foram submetidos às microondas nos tempos de exposição de 0, 15, 30, 60, 120, 180, 240, 300 ou 600 segundos. Em seguida, as superfícies dos recipientes foram recobertas com meio de cultura, incubadas a 37°C por 48 horas e avaliadas quanto à presença de crescimento bacteriano. Além disso, os autores avaliaram se os recipientes de culturas poderiam ser lavados, esterilizados por microondas e reutilizados. Para esses experimentos, recipientes utilizados foram escovados com detergente para remoção de células aderentes e enxaguados quatro vezes com água deionizada. Após 2 horas em temperatura ambiente, os recipientes foram irradiados durante os tempos de exposição previamente selecionados. Em seguida, vários tipos de células foram colocados nos recipientes. O crescimento dessas células foi comparado com o de outras colocadas em recipientes novos quanto à capacidade de aderência e formação de monocamadas. Os resultados demonstraram que, após 3 minutos de irradiação, todos os recipientes contaminados com as bactérias selecionadas

foram esterilizados. Os autores concluíram que não houve diferença no crescimento das células colocadas nos recipientes estéreis e não reutilizados em relação ao crescimento observado nos recipientes reutilizados após exposição às microondas.

O objetivo do estudo de Rohrer e Bulard⁸⁴, em 1985, foi avaliar a efetividade das microondas na redução da infecção cruzada entre consultório odontológico e laboratório de prótese. Os autores realizaram os experimentos com os microrganismos inoculados em recipientes contendo caldo nutritivo, próteses acrílicas com e sem metal, brocas metálicas ou peças de mão. Esses materiais foram contaminados com 10^5 org/mL de cada um dos seguintes microrganismos: três tipos de bactérias aeróbicas não-esporuladas (*S. aureus*, *S. epidermidis* e *K. pneumoniae*), uma bactéria aeróbica esporulada (*B. subtilis*), uma bactéria esporulada anaeróbica (*Clostridium histolyticum*), um fungo (*C. albicans*) e dois vírus (pólio tipo 1 e *H. simplex* tipo 1). Para as irradiações no forno de microondas, os materiais foram ou não fixados a um dispositivo rotacional tridimensional desenvolvido pelos autores. Os materiais contaminados foram submetidos às microondas a uma potência de 720 W pelos tempos experimentais de 0, 1, 3, 5, 8 ou 10 minutos e incubados a 37°C. O *B. subtilis* foi também inoculado em tiras de papel irradiadas por 20 minutos. O crescimento dos microrganismos foi avaliado para todos os materiais após 24 e 48 horas pela análise da turvação do meio de cultura e pelo crescimento de colônias em placas de Petri. Para a avaliação da estabilidade dimensional, as próteses foram imersas em água por 15 minutos ou mantidas a seco antes da exposição às microondas. Os resultados obtidos demonstraram que a desinfecção por microondas foi mais efetiva quando o dispositivo rotacional tridimensional foi utilizado. O caldo nutritivo contendo uma suspensão de quatro bactérias aeróbicas e *C. albicans* não demonstrou crescimento microbiano após 10 minutos de

irradiação. A inativação da bactéria esporulada anaeróbica *C. histolyticum* foi observada após 3 minutos de irradiação. As tiras de papel com a bactéria esporulada aeróbica *B. subtilis* demonstraram esterilização apenas após 15 minutos de exposição às microondas. Após 10 minutos de irradiação, as brocas dentárias e as peças de mão contaminadas com uma suspensão de quatro bactérias aeróbicas foram esterilizadas. As próteses contaminadas com as suspensões individuais de quatro bactérias aeróbicas e do fungo apresentaram esterilização para todos os microrganismos testados após 8 minutos de irradiação. Quando uma mistura de suspensões desses microrganismos foi utilizada, a esterilização das próteses foi observada após 10 minutos de irradiação. Não foram observadas alterações dimensionais tanto para as próteses imersas previamente em água quanto para as mantidas a seco e expostas às microondas por até 16 minutos. Para uma esterilização efetiva de materiais odontológicos, os autores recomendaram a irradiação por microondas associada à utilização do dispositivo tridimensional desenvolvido nesse estudo.

Young et al.¹⁰⁴, em 1985, avaliaram a efetividade da irradiação por microondas na esterilização de aparelhos nasais para sedação com óxido nitroso. Os autores utilizaram o mesmo forno de microondas com o dispositivo rotacional tridimensional idealizado por Rohrer e Bulard⁸⁴. Inicialmente, os aparelhos nasais foram esterilizados com óxido de etileno e, então, contaminados com rinovírus, vírus parainfluenza tipo 3, adenovírus tipo 1 e vírus *H. simplex* tipo 1. Os aparelhos inoculados foram irradiados por 0, 1, 2, 4, 6, 8 ou 10 minutos. Após a desinfecção, os microrganismos aderidos foram removidos das áreas contaminadas dos aparelhos por meio de enxágüe com meio de cultura. Duas amostras de 50 µL desse meio foram diretamente colocadas em duas monocamadas de células e, em seguida, foram realizadas diluições seriadas da solução resultante. A eliminação dos

vírus testados após a irradiação em microondas foi avaliada em níveis de redução da formação de placa (CPE) nas monocamadas infectadas. Os experimentos foram realizados em triplicatas. Além disso, com o objetivo de avaliar a possibilidade de efeitos deletérios por exposições sucessivas às microondas, um aparelho nasal foi irradiado por 25 vezes com intervalos de 5 minutos entre cada exposição. De acordo com os resultados, após 4 minutos de exposição às microondas, todos os vírus avaliados foram completamente inativados. O aparelho nasal exposto por 25 vezes consecutivas às microondas não evidenciou nenhuma alteração quanto à textura e flexibilidade. Os autores concluíram que os aparelhos nasais para sedação com óxido nitroso contaminados por vírus podem ser esterilizados em forno de microondas apropriadamente modificado por um dispositivo rotacional tridimensional.

A efetividade da irradiação por microondas na esterilização de lentes de contato hidrófilas foi avaliada por Rohrer et al.⁸⁵, em 1986. Após a esterilização em autoclave, as lentes de contato foram contaminadas com um dos seguintes microrganismos (10^6 org/mL): *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris*, *Bacillus cereus*, *E. coli*, *S. marcescens*, *Aspergillus fumigatus* e *C. albicans*. Em seguida, as lentes foram transferidas para casulos de hidratação estéreis e colocadas em embalagens autoclaváveis, que foram fixadas no dispositivo tridimensional rotatório previamente desenvolvido em estudo prévio⁸⁴. As embalagens contendo as lentes de contato foram irradiadas a 700 W por 1, 2, 4, 6, 8 ou 10 minutos. Após a irradiação, as lentes foram transferidas para tubos de ensaio contendo meio de cultura e incubadas a 37°C por 24 horas. O crescimento microbiano foi avaliado pela turvação do meio de cultura nos tubos de ensaio. As amostras foram semeadas em placas de Petri e incubadas a 37°C por 48 horas ou 7 dias, de acordo com o microrganismo testado. Os

experimentos foram realizados em triplicatas. Para a avaliação das possíveis alterações nas propriedades refringentes das lentes de contato após a irradiação, um par de lentes para hipermetropia foi exposto às microondas durante 10 minutos por 101 vezes. Além disso, um par de lentes de contato submetido a esse último tratamento foi preparado para avaliação em microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os resultados evidenciaram que a exposição às microondas resultou em desidratação das lentes de contato após um período de aproximadamente 2 minutos. Porém, uma nova hidratação com solução salina restaurou a forma e a aparência das lentes sem alterações microscópicas. Foi observada a presença de pequenas partículas nas superfícies das lentes de contato testadas para a refringência. A MEV demonstrou pequenas partículas de detritos com estrutura cristalina em ambas as lentes avaliadas. Os autores observaram que, para a esterilização completa das bactérias avaliadas, foram necessários 8 minutos de irradiação por microondas. Já a inativação de dois fungos patogênicos (*C. albicans* e *A. fumigatus*) foi observada após 4 minutos de exposição às microondas. Os autores atribuíram a efetividade da esterilização por microondas a um possível efeito não-térmico proveniente dessa irradiação. Esse efeito seria explicado pela absorção das microondas em vários graus por moléculas fundamentais dos microrganismos, tais como os ácidos nucléicos.

Jeng et al.⁵³, em 1987, conduziram um estudo para investigar a possível presença de efeitos não-térmicos das microondas sobre os microrganismos. Os autores utilizaram suspensões de esporos de *B. subtilis* na concentração de 10^7 org/mL em água destilada. Alíquotas de 10 µL dessas suspensões foram inoculadas na região central do fundo de frascos de borosilicato. Após a secagem dessa alíquota, os recipientes foram colocados durante uma semana no interior de uma câmara contendo um

béquer com cloreto de cálcio saturado. Amostras paralelas dos microrganismos foram simultaneamente expostas a seco em forno elétrico de propagação de calor ou em forno de microondas até as temperaturas de 107°C, 117°C, 130°C e 137°C. Uma sonda térmica fluoróptica registrou a temperatura dentro dos fornos e um dispositivo automático ajustou a temperatura do forno de propagação de acordo com a do forno de microondas. As amostras foram resfriadas e ressuspensas em 5 mL de água destilada para posterior semeadura em placas de Petri e contagem de colônias viáveis. De acordo com curvas de sobrevivência em função do tempo, os autores puderam verificar que não houve diferença significativa entre a exposição às microondas ou ao calor seco. Além disso, a inativação dos esporos foi observada após um tempo mínimo de 45 minutos de exposição para as duas formas de aquecimento avaliadas. Os autores concluíram que não há efeitos não-térmicos significativos em processos de esterilização por microondas a seco e que a atividade esporicida dessa energia é de origem térmica.

Em 1988, Friedrich Jr. e Phillips⁴⁵ avaliaram a efetividade das microondas na esterilização de tecidos de algodão contaminados com *C. albicans*. Amostras de tecidos de algodão para roupas íntimas femininas foram imersas em suspensão de *C. albicans*, mantidas a seco em placas de Petri por três dias em temperatura ambiente e irradiadas por 5, 10, 15, 20, 25 ou 30 minutos. As amostras irradiadas foram semeadas em placas de Petri e incubadas por 48 horas a 35°C. Em um segundo experimento, as amostras foram umedecidas em solução salina estéril, irradiadas e semeadas em placas de Petri incubadas a 35°C por 48 horas. De acordo com os resultados, a exposição do material seco às microondas não foi efetiva para eliminar *C. albicans*. Entretanto, quando as amostras foram umedecidas em salina antes das irradiações e expostas às microondas por 5 minutos ou mais

não foi observado crescimento de *C. albicans*. Os autores sugeriram que a esterilização por microondas de roupas íntimas, desde que mantidas úmidas, poderia ser recomendada como um método para redução da recorrência de infecções por *Candida*.

A efetividade da irradiação por microondas na esterilização de modelos odontológicos de gesso foi avaliada por Davis et al.³⁸ em 1989. Os autores confeccionaram modelos de gesso idênticos a partir de moldes de silicone contaminados com 0,1 mL de suspensões de bactérias esporuladas (*B. subtilis*) ou não-esporuladas (*S. marcescens*). Os modelos assim obtidos foram submetidos ou não à irradiação por microondas. Modelos de gesso obtidos a partir de moldes não contaminados foram designados como grupo controle negativo e não foram irradiados. A irradiação foi realizada após 45 minutos ou 24 horas do início da presa. Os tempos de exposição utilizados foram 1, 2 ou 20 minutos. Primeiramente, foi coletado material das regiões de 1º e 2º molares para semeadura em placas de Petri. A seguir, os modelos foram seccionados na região localizada entre esses dentes e foi coletado material da camada mais interior do gesso para inoculação em caldo nutritivo, seguida de semeadura em ágar. O crescimento das colônias viáveis foi avaliado como positivo ou negativo, quanto à morfologia de colônia e quanto à coloração pelo método de Gram, para ambas as bactérias inoculadas. Foi observado crescimento positivo para o *B. subtilis* em todas as amostras irradiadas, exceto no grupo controle negativo. Apesar disso, o crescimento microbiológico referente ao grupo de modelos irradiados durante 20 minutos foi visualmente menor para esse microrganismo. Para o *S. marcescens*, não foi encontrado crescimento positivo para todas as amostras, exceto para os modelos pertencentes ao grupo controle positivo, irradiados após 45 minutos do início da reação de presa. De acordo com os autores, a irradiação com microondas foi efetiva na

esterilização de modelos contaminados com *S. marcescens*, mas não com *B. subtilis*. Segundo os autores, a falta de efetividade das microondas para a inativação do *B. subtilis* pode ser atribuída ao conteúdo insuficiente de água presente no gesso cristalizado.

Os fatores relacionados à etiologia e patogenia da candidose bucal bem como os métodos para tratamento e profilaxia dessa infecção foram discutidos por Budtz-Jørgensen¹⁹ em 1990. Segundo o autor, as espécies de *Candida* causam infecção por indução de hipersensibilidade ou produção de toxinas durante a invasão tecidual. A adesão das células microbianas às camadas epiteliais é condição determinante nos processos de colonização e infecção das superfícies mucosas por *Candida*. A adesão de *Candida* às células do epitélio, in vitro, pode ser influenciada por diversos fatores relacionados ao microrganismo (concentração, fase de crescimento, meio de crescimento, espécies e cepas), às células epiteliais e às condições ambientais (temperatura, concentração de íons de hidrogênio, bactérias e anticorpos). A *C. albicans*, a mais patogênica das espécies de *Candida*, apresenta alta capacidade de se aderir firmemente às células epiteliais in vitro. Essa adesão parece envolver interações entre a porção protéica das manoproteínas localizadas nas fibrilas superficiais da levedura e os receptores de glicosídeo das células epiteliais. A adesão de *C. albicans* in vitro pode ser favorecida pela incubação prévia de células epiteliais com certas espécies de bactérias e pela adição de carboidratos ao substrato. Além das interações específicas com as células epiteliais do hospedeiro, outro aspecto que deve ser considerado na patogenia da *C. albicans* são as interações não-específicas de afinidade e ligação desse microrganismo às resinas acrílicas das bases das próteses, o que frequentemente proporciona o desenvolvimento de estomatite protética. A adesão às resinas acrílicas é também favorecida por carboidratos, que pode ser considerado um

importante fator na maioria dos casos de colonização de *Candida* imediatamente após a suspensão da terapia com antifúngicos. Após a adesão e colonização, as células de *Candida* invadem os tecidos pela ação de enzimas hidrolíticas. Com a invasão tecidual, inicia-se um processo de resposta inflamatória aguda caracterizada pela predominância de neutrófilos. As condições sistêmicas predisponentes para a candidose bucal envolvem fatores fisiológicos (idade avançada, infância, gravidez, menopausa), desordens endócrinas (diabetes, hipotireoidismo), deficiências nutricionais (deficiências de ferro, vitamina B e ácido fólico) e doenças e medicamentos que causem deficiências imunológicas ou imunossupressão (AIDS, corticoterapia, leucemia aguda). Entre as condições locais predisponentes para a candidose bucal estão xerostomia, antibióticos de amplo espectro, fumo, dieta rica em carboidratos, leucoplasia, câncer bucal, uso de próteses, higiene bucal inadequada e traumas locais. De acordo com o autor, o tratamento para a estomatite protética deveria envolver cuidados com a higiene das próteses, remoção das mesmas da cavidade bucal durante a noite, imersão em clorexidina e terapia antifúngica tópica com nistatina, anfotericina B ou miconazol. A terapia com antifúngico sistêmico (fluconazol) deveria ser indicada apenas para os pacientes com imunossupressão.

No mesmo ano, Budtz-Jørgensen²⁰ discutiu os principais mecanismos envolvidos na histopatologia, imunologia e sorologia das infecções bucais causadas por leveduras. Segundo o autor, para o diagnóstico de candidose bucal, não é necessário realizar biópsias para análise histológica. O diagnóstico clínico de candidose bucal crônica, incluindo a estomatite protética, pode ser confirmado por exames citológicos por esfregaço ou por culturas semiquantitativas das unidades formadoras de colônias. Mesmo a mais virulenta das espécies de *Candida*, a *C. albicans*, encontra-se comumente no organismo humano, em relação de

comensalismo. No entanto, quando há deficiência nos mecanismos de defesa sistêmica e local do hospedeiro, esse microrganismo é capaz de invadir os tecidos. A irritação mecânica causada por prótese é considerada um fator local que pode alterar a integridade da membrana mucosa e favorecer a infecção por *Candida*. De acordo com o autor, a presença de prótese removível, total ou parcial, na cavidade bucal dificulta o contato das substâncias antimicrobianas e dos anticorpos presentes na saliva com a mucosa bucal de suporte e a superfície interna da prótese. Além disso, com a colocação da prótese, ocorre uma alteração da flora bucal comensal, facilitando a proliferação de *Candida*. A candidose bucal é freqüentemente associada à supressão da resposta das células T à *Candida* e a outros antígenos. A deficiência na função das células T pode ser a condição predisponente para que a infecção se desenvolva. Os testes sorológicos para *Candida* não são indicados como métodos de diagnóstico, uma vez que a aglutinação, a hemaglutinação, a precipitação e a imunofluorescência de anticorpos são também encontradas em indivíduos saudáveis, que não apresentam infecção por *Candida*. A alteração ou a depressão do sistema imunológico, causadas pela AIDS, quimioterapia e radioterapia, representam um fator predisponente para o desenvolvimento de infecções mais severas de *Candida*.

Os principais métodos utilizados para o diagnóstico das infecções bucais causadas por leveduras foram discutidos por Olsen e Stenderup⁷⁹ em 1990. De acordo com os autores, o diagnóstico clínico das infecções fúngicas deve ser sempre associado a exames micológicos. A administração de antifúngicos somente deve ser realizada após a obtenção dos resultados dos exames micológicos. Para o diagnóstico de infecções fúngicas, vários exames micológicos podem ser realizados, entre os quais culturas micológicas quantitativas, enxágües bucais ou saliva, esfregaços,

técnica de “imprint”, culturas em tiras de Microtix-Candida, técnicas de fluorescência, biópsias e cromatografia. Para o diagnóstico de estomatite protética, os autores sugeriram a associação de culturas micológicas quantitativas e esfregaços citológicos. Segundo os autores, a presença de pseudohifas nos esfregaços obtidos da mucosa palatina e da superfície interna das próteses é a característica mais marcante da infecção por *Candida* spp. Geralmente, a maior concentração de pseudohifas é observada nos esfregaços obtidos das próteses, o que demonstra a associação da placa microbiana presente nas bases de resina acrílica com a etiologia da estomatite protética. Os autores ressaltaram que as biópsias não são recomendadas como método de diagnóstico para estomatite protética, uma vez que a presença de pseudohifas não é observada nas camadas do tecido inflamado.

O efeito das microondas produzidas por dois fornos convencionais (Néon-licence Litton e Néon-type Riviera) sobre bactérias esporuladas e não-esporuladas foi avaliado por Najdovski et al.⁷² em 1991. Suspensões aquosas de cepas vegetativas de *S. aureus*, *Streptococcus pyogenes* do grupo A, *E. coli*, *P. aeruginosa* e *Enterococcus faecalis* e de esporos de *B. subtilis* e *B. stearothermophilus* foram irradiadas a 325 W ou 650 W em diferentes tempos de exposição (5, 10, 15 e 20 minutos). Adicionalmente, cepas vegetativas de *Streptococcus faecalis* e esporos de *B. subtilis* e *B. stearothermophilus* a seco e em suspensões aquosas foram irradiados a 1.400 W, nos tempos de exposição de 3, 5, 10 e 20 minutos. Após a exposição às microondas, as amostras foram observadas microscopicamente e as culturas foram quantificadas por meio de semeadura em placas de Petri. Os resultados demonstraram que as cepas vegetativas avaliadas foram eliminadas após 5 minutos de irradiação a 650 W, exceto pelas cepas de *E. faecalis*, que foram inativadas após 10 minutos de

exposição. Quando a potência de 1.400 W foi utilizada, cepas de *E. faecalis* a seco foram eliminadas após 5 minutos e as suspensões aquosas dos esporos bacterianos foram inativadas somente após 10 minutos (*B. subtilis*) ou 20 minutos (*B. stearothermophilus*). As suspensões a seco não foram completamente eliminadas mesmo após a exposição por 20 minutos a 1.400 W. Com base nos resultados, os autores sugeriram que os fornos de microondas convencionais podem ser utilizados para desinfecção quando em presença de quantidade suficiente de água.

Em 1992, Iacopino e Wathen⁵⁰ discutiram, por meio de uma revisão de literatura, os principais fatores etiológicos, as técnicas de diagnóstico e os métodos de tratamento para estomatite protética e outras infecções bucais causadas por *Candida*. Segundo os autores, a colonização da cavidade bucal por *Candida* geralmente ocorre em associação a um fator predisponente que promova algum tipo de deficiência nos mecanismos imunológicos do indivíduo. Esses fatores predisponentes podem ser locais (trauma causado pela prótese, xerostomia), medicamentos (antibióticos, imunossupressores), regimes de tratamentos (quimioterapia e radioterapia) e desordens sistêmicas (debilidade física, deficiências nutricionais, alterações endócrinas e imunológicas). A infecção por *Candida* pode ser controlada por terapias antifúngicas em indivíduos com boas condições de saúde bucal e geral. Entretanto, para os pacientes debilitados, imunologicamente comprometidos ou portadores de doenças sistêmicas, a candidose bucal pode se tornar crônica e causar risco à vida. Há várias doenças associadas à candidose bucal, tais como neutropenia, diabetes mellitus e desordens endócrinas. Quanto à morfologia, a *C. albicans* pode adotar forma de blastósporo (levedura) ou formas miceliais. Ambas as formas podem colonizar superfícies, mas apenas as miceliais são capazes de invadir tecidos. As hifas mais alongadas não são passíveis de fagocitose, sendo

eliminadas por mecanismos relacionados às células gigantes. Os mecanismos de defesa do hospedeiro à colonização e invasão por *Candida* envolvem processos de confinamento e proliferação epitelial com posterior descamação. Esses mecanismos são conduzidos por células imunológicas mediadoras, que respondem à injúria tecidual com produção de citocinas. Assim, quando as células imunológicas mediadoras são comprometidas, ocorre o desenvolvimento do processo infeccioso. A forma mais comum de candidose bucal é a estomatite protética. Essa patologia acomete mais freqüentemente a região palatina da mucosa bucal, mas outras superfícies que mantêm contato com as próteses também podem ser infectadas. A *C. albicans* pode ser responsável pelo início, pela manutenção e pela exacerbação da estomatite protética. O diagnóstico clínico de estomatite protética é facilmente confirmado por cultura quantitativa e exame citológico por esfregaços. A higienização das próteses deve ser eficiente, podendo-se realizar a imersão em agentes de limpeza como clorexidina, ácido benzóico e enzimas. A nistatina tópica (Micostatin) pode também ser utilizada para o tratamento de estomatite protética. No entanto, esse medicamento apresenta gosto amargo e pode causar náuseas e vômitos nos pacientes. Além disso, tem sido relatado que as espécies de *Candida* podem desenvolver resistência à nistatina. Outras drogas podem ser também recomendadas para o tratamento de infecção por *Candida*, como o cetoconazol e outros derivados dos azóis. Considerando que a *C. albicans* pode proliferar, infectar e reinfectar os tecidos via prótese, os autores concluíram que o tratamento deveria ser primariamente direcionado à eliminação desses microrganismos da superfície interna das próteses.

O objetivo do estudo de Lal et al.⁵⁷, em 1992, foi avaliar a efetividade da solução de clorexidina a 0,12% no tratamento da estomatite

protética. Para a seleção dos pacientes, o material presente na superfície interna das próteses totais superiores dos pacientes foi coletado com *swab* oral. As suspensões obtidas com as coletas foram cultivadas em placas de Petri para o crescimento das colônias viáveis de *C. albicans*. Réplicas seletivas da superfície interna das próteses foram obtidas em ágar. Foram selecionados cinco pacientes com presença de *C. albicans* nas próteses totais superiores e com diagnóstico clínico de estomatite protética na região palatina. Os pacientes foram instruídos a realizar bochechos com a solução de clorexidina por 30 a 60 segundos, duas vezes ao dia, durante 24 dias. Nesse mesmo período, os pacientes também mergulharam diariamente suas próteses totais superiores na solução de clorexidina durante a noite. Após 14 dias do início do tratamento, as réplicas da superfície interna das próteses foram novamente obtidas, e a mucosa palatina dos pacientes foi fotografada. Após 24 dias de tratamento, os pacientes foram aconselhados a higienizar suas próteses apenas com creme dental e agente de limpeza (Efferdent ou Polident). As réplicas em ágar foram repetidas após cinco semanas da suspensão do tratamento com clorexidina. Após 14 dias de tratamento com clorexidina, houve redução significativa da inflamação presente nas mucosas palatinas dos pacientes. Nesse mesmo período, não houve crescimento de colônias viáveis de *C. albicans* nas placas de Petri referentes às próteses totais superiores. As culturas obtidas após cinco semanas da suspensão do tratamento com clorexidina demonstraram recorrência de *C. albicans* nas próteses. Para todos os pacientes, as áreas de infecção por *C. albicans* observadas nas réplicas das próteses durante a fase de recorrência corresponderam às áreas observadas antes do início do tratamento com clorexidina. Além disso, clinicamente, a inflamação da mucosa palatina dos pacientes aumentou após a suspensão do tratamento. Como não foram realizadas culturas das mucosas palatinas dos pacientes, os autores não puderam concluir se a inflamação observada após a suspensão do

tratamento foi decorrente da sobrevivência de *Candida* nessa região. Os autores sugeriram que, aparentemente, existem áreas nas superfícies internas das próteses que favorecem a aderência e a colonização por *Candida*. Essas áreas são determinadas pelas propriedades físicas e químicas das resinas acrílicas das bases das próteses. Dessa forma, as áreas de recorrência da mucosa palatina via prótese podem ser, ao menos em parte, associadas às áreas das bases de resina acrílica com maior densidade de aderência e colonização por *Candida*. A higienização das próteses com os agentes comerciais Efferdent e Polident não foi considerada adequada após a suspensão do tratamento com clorexidina, uma vez que não preveniu o aumento da inflamação da mucosa palatina e a recorrência por *C. albicans*. Como houve recorrência da infecção após a suspensão do tratamento com clorexidina, os autores sugeriram que a utilização diária e contínua da solução de clorexidina como enxagüatório bucal e agente de limpeza de prótese poderia ser mais efetiva para o tratamento da estomatite protética. No entanto, como a clorexidina requer prescrição, a sua utilização deveria ser recomendada apenas nos casos mais severos de estomatite protética.

O objetivo da revisão da literatura realizada por Lombardi e Budtz-Jørgensen⁶², em 1993, foi discutir os principais procedimentos adotados para o tratamento da estomatite protética. Segundo os autores, o controle de placa microbiana na superfície interna das próteses removíveis, parciais ou totais, deve ser sempre indicado, independentemente da terapia adotada. A higienização inadequada das próteses é considerada um dos fatores etiológicos locais da estomatite protética. O uso contínuo das próteses também favorece o desenvolvimento da patologia, uma vez que prolonga o trauma local sobre a mucosa de contato. As próteses antigas

também podem traumatizar a mucosa bucal em decorrência da falta de suporte promovida pela reabsorção do rebordo alveolar. As próteses com condições inadequadas de suporte e estabilidade devem ser periodicamente reembasadas até que possam ser substituídas. As próteses novas devem ser somente confeccionadas quando a mucosa de suporte estiver saudável e o paciente apresentar boas condições de higiene bucal. Os pacientes devem ser instruídos a remover suas próteses durante a noite e higienizá-las após cada refeição. Vários agentes antifúngicos podem ser utilizados para o tratamento da estomatite protética. A escolha de um agente específico é determinada por diversos fatores, como interação medicamentosa, função dos órgãos vitais (toxicidade) e aceitação (tolerância) pelo paciente. A utilização de agentes sistêmicos deve ser limitada aos pacientes que não responderem à terapia tópica ou quando fatores sistêmicos predisponentes estiverem presentes (diabetes não controlada, neutropenia, disfunções imunológicas e endócrinas). Antes da administração de terapia antifúngica, devem ser realizados testes micológicos que confirmem o diagnóstico clínico de estomatite protética. Esses testes incluem culturas da lesão e da superfície interna da prótese em meio de ágar Sabouraud e exames citológicos por esfregaços. Entre os agentes antifúngicos, a nistatina (Micostatin) deve ser utilizada apenas como tratamento tópico, pois é tóxica quando administrada parenteralmente. Devido ao gosto amargo, a nistatina pode produzir efeitos colaterais como náuseas e intolerância. A anfotericina B pode ser administrada via intravena (candidose sistêmica) ou como agente tópico (candidose superficial). No entanto, esse medicamento pode produzir efeitos hepatotóxicos e náuseas. O cetoconazol (Nizoral) é administrado sistemicamente, sendo indicado para os casos de candidose mucocutânea crônica em pacientes com imunodeficiências. Esse antifúngico é pouco absorvido na ausência de acidez gástrica e pode reduzir a ação de alguns antibióticos. O miconazol (Daktarin) é amplamente utilizado para o

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

No estudo de Rosaspina et al.⁸⁶ (1994), foi avaliado o efeito da irradiação de microondas na esterilização de instrumentais cirúrgicos contaminados com *C. albicans*. As amostras (50 lâminas de bisturi em aço inoxidável e 25 lamínulas de microscopia) foram contaminadas com *C. albicans* a uma concentração de 10^7 org/mL. Em seguida, foram imersas em recipiente de vidro contendo 0,4 cm de esferas de vidro e água destilada. Esses recipientes foram irradiados a 600 W durante 1, 3, 5, ou 6 minutos. As amostras do grupo controle foram preparadas similarmente às irradiadas,

sendo esterilizadas em estufa por 2 horas a 140°C ou em autoclave por 20 minutos a 121°C. Amostras adicionais foram imersas em banho de água fervente durante os mesmos tempos determinados para as exposições às microondas. Além disso, algumas foram preparadas para análise em MEV. As lâminas de bisturi e de microscopia foram colocadas em contato com placas de Petri contendo ágar tryptic soy e incubadas a 37°C por 48 horas. Os resultados demonstraram esterilização das amostras após 2 minutos de irradiação por microondas. A análise em MEV revelou que alterações causadas pelas microondas para o microrganismo estudado foram proporcionais ao tempo de exposição testado. Quando amostras contaminadas foram colocadas em banho de água fervente por 9 minutos, foi verificada inativação microbiana, embora não tenham sido observadas modificações na morfologia celular dos microrganismos. Foi sugerido que as microondas produziram efeito letal inicial sobre os microrganismos sem provocar alterações em sua morfologia celular. A desintegração celular foi observada em tempo de exposição prolongado. Como as alterações morfológicas obtidas após a exposição em microondas foram completamente diferentes daquelas verificadas após o tratamento em banho de água, os autores concluíram que, além de um efeito proporcionado pelo aumento de temperatura, as microondas também exerceriam um efeito mais complexo no corpo celular dos microrganismos. Esse efeito, segundo os autores, precisaria ser avaliado.

A efetividade de uma solução de nistatina para imersão de próteses como método adjunto para o tratamento de estomatite protética foi avaliada por Banting et al.⁹ em 1995. Todos os pacientes receberam medicação antifúngica tópica (Nistatina) na forma de pastilhas, três vezes ao dia, durante o período de sete dias. As próteses totais dos pacientes foram imersas durante a noite em solução de nistatina ou água (controle) no

mesmo período de tratamento com antifúngico tópico. Foram realizados exames citológicos por esfregaço da mucosa bucal e da superfície interna das próteses totais ao final do tratamento e após uma, quatro e doze semanas do seu início. Ao final do tratamento, todos os pacientes apresentaram melhora significativa dos sintomas e sinais clínicos de estomatite protética. No entanto, a presença de formas invasivas (hifas) de *C. albicans* foi observada na mucosa bucal e/ou superfície interna das próteses de aproximadamente 80% dos pacientes, independentemente da solução de imersão utilizada. A probabilidade de recorrência de estomatite protética (presença de hifas de *C. albicans*) ao longo das doze semanas de avaliação foi de 66% para os pacientes que realizaram imersão das próteses em solução de nistatina e de 78% para aqueles as imergiram em água. Os autores concluíram que o tratamento foi efetivo para resolver os sintomas e sinais clínicos da estomatite protética, mas não para remover o agente etiológico da mucosa palatina e das próteses, o que resultou, na maioria dos casos, em recorrência da patologia.

Chau et al.³⁰, em 1995, realizaram um estudo para avaliar a possibilidade de penetração de microrganismos na resina acrílica após curto período de exposição. Os corpos-de-prova de três resinas acrílicas foram polidos apenas em uma de suas faces para simular as superfícies externa e interna (não polida) de uma prótese. Em seguida, os corpos-de-prova foram imersos por 24 horas em um meio de cultura contendo bactérias gram-positivas e gram-negativas. Após a contaminação, os corpos-de-prova foram imersos em uma das soluções desinfetantes avaliadas (iodóforo, dióxido de cloro e hipoclorito de sódio a 5,25%) ou em uma solução salina estéril por 10 minutos (controle). Os dois lados dos corpos-de-prova desinfetados foram submetidos à coleta de material para as sementeiras em placas de Petri incubadas a 37°C por 48 horas. Os autores observaram, pela análise das

culturas, que os corpos-de-prova tratados com iodóforo ou dióxido de cloro apresentaram um número de colônias significativamente inferior ao número apresentado pelos corpos-de-prova do grupo controle. Por outro lado, os corpos-de-prova imersos em hipoclorito de sódio não apresentaram colônias viáveis na placas de Petri. Os autores concluíram que a resina acrílica pode ser contaminada com bactérias tanto na parte externa quanto na interna e que o tratamento com hipoclorito de sódio foi eficiente para inativação microbiana.

Em 1995, Larone⁵⁹ descreveu os principais aspectos morfológicos e os métodos utilizados para identificação de fungos. Segundo o autor, existem dois tipos morfológicos de fungos de importância médica causadores de micoses: leveduras, que são unicelulares, e bolores ou fungos filamentosos, que são multicelulares. Entre as centenas de espécies descritas, as leveduras do gênero *Candida* são os maiores agentes de infecção hospitalar, representando risco à vida de pacientes com doenças graves ou em período pós-operatório. A morfologia das leveduras, ao contrário do que ocorre com os bolores, não apresenta muita diversidade e, portanto, nem sempre é um parâmetro suficiente para a identificação da espécie. Uma característica morfológica marcante para as leveduras do gênero *Candida* é a formação de pseudohifas e, mais raramente, hifas verdadeiras. Na maioria das espécies de *Candida*, incluindo *C. lusitaniae*, *C. Krusei*, *C. kefyr*, *C. guilliermondi* e *C. glabrata*, apenas as pseudohifas são observadas microscopicamente. No entanto, na micromorfologia de algumas espécies, como *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. dubliniensis*, podem ser observadas, além de pseudohifas, hifas verdadeiras. De acordo com os autores, a presença de pseudohifas e hifas não permite a diferenciação entre as espécies de *Candida*.

Atmaca et al.⁷, em 1996, avaliaram o efeito da irradiação por microondas e da aplicação de calor convencional na reprodução de bactérias. Cepas de *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* e *Pseudomonas acidovorans* foram cultivadas em suspensão, e o número de ufc/mL de cada espécie foi determinado e utilizado como controle. Uma alíquota de 1 mL de cada suspensão bacteriana foi irradiada por microondas a 550 W durante 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 25 e 30 segundos. Em seguida, cada suspensão foi diluída e cultivada em placas a 37°C por 24 horas e os valores de ufc/mL foram calculados. A temperatura da suspensão bacteriana foi determinada por meio de um termômetro digital antes e após a irradiação. O experimento foi realizado cinco vezes para cada espécie bacteriana e para cada tempo de exposição. Também foram realizados experimentos com aplicação de calor convencional durante 16, 20, 25 e 30 segundos, tempos em que a contagem de bactéria foi significativamente reduzida. Suspensões de 5 mL de cada espécie bacteriana também foram irradiadas durante 14, 16, 18, 20, 25 e 30 segundos. Os resultados demonstraram que a redução na contagem de bactérias após a irradiação por microondas foi estatisticamente significativa em relação ao controle. A diminuição na contagem de bactérias expostas ao calor convencional foi significativa em relação às amostras irradiadas por microondas. Porém, diferentemente ao observado com as amostras irradiadas, a aplicação de calor convencional por 30 segundos resultou em sobrevivência bacteriana, de modo que tempos adicionais de 1 e 2 minutos de aplicação de calor convencional também foram avaliados. O aumento do volume das suspensões exacerbou o efeito destrutivo das microondas, uma vez que, após a irradiação, os valores de ufc/mL das suspensões de 5 mL foram significativamente inferiores que a das suspensões de 1 mL. Os autores concluíram que o efeito da irradiação por microondas na inativação de bactérias é diferente do efeito térmico e que o conteúdo de líquido no

meio desempenha uma função importante na absorção da energia originada pela irradiação por microondas.

Em 1996, Cole e Robison³² relataram que, para selecionar adequadamente os microrganismos para estudos de efetividade de tratamentos químicos, é importante considerar os mecanismos de resistência germicida, bem como os conceitos de patógenos hospedeiros e indicadores. Com base em dados científicos publicados na literatura, os autores sugeriram que alguns grupos de microrganismos poderiam ser utilizados em pesquisas para a avaliação da efetividade de desinfecção de agentes químicos. Foi recomendada a utilização de formas bacterianas vegetativas gram-positivas, como *S. aureus*, e gram-negativas, como *P. aeruginosa*. Esses microrganismos apresentam resistência à inativação química, sendo a *P. aeruginosa* mais resistente a uma ampla variedade de classes de germicidas em relação ao *S. aureus*. Segundo os autores, de acordo com padrões europeus e com um estudo que avaliou nove fungos expostos a sete germicidas, a *C. albicans* foi considerada o fungo mais resistente e, por isso, deveria ser utilizada em pesquisas de desinfecção. Os autores recomendaram a utilização de esporos bacterianos como *B. subtilis* e *B. stearothermophilus* ou, uma vez que esses microrganismos são mais resistentes à inativação por desinfecção. Segundo os autores, os patógenos sugeridos (bactéria gram-positiva, bactéria gram-negativa, fungo e esporo bacteriano) são considerados indicadores de esterilização e, portanto, podem ser utilizados na validação de métodos de desinfecção.

O efeito da irradiação por microondas na inativação de bactérias patogênicas foi avaliado por Wu¹⁰² em 1996. Quatro bactérias consideradas indicadoras de esterilização foram selecionadas: *B. subtilis*,

S. aureus, *Bacillus pumilis* E₆₀₁ e *B. stearothermophilus*. Além disso, foram avaliados o *B. subtilis* var nigar e o *B. cereus*. Os materiais selecionados para a irradiação (placas, bastões e papéis para embalagens de comida) foram contaminados individualmente com uma das bactérias testadas (10^6 org/mL). Os materiais foram divididos em vários grupos, sendo submetidos a potência alta ou média por tempos de exposição entre 0 e 50 minutos. Após a irradiação de cada grupo, os materiais foram colocados em tubos de ensaio contendo ágar nutriente e incubados por 24, 48 e 2 horas. Foi observado que a inativação das bactérias sobre os itens contaminados não dependeu somente do tempo de exposição às microondas e dos tipos de materiais envolvidos, mas também da potência de irradiação utilizada e das espécies testadas. A bactéria *B. subtilis* foi considerada como ótima indicadora para a desinfecção em microondas, visto que necessitou de maior tempo de irradiação para ser eliminada (45 minutos em média potência ou 35 minutos em alta potência). Para os bastões e papéis para embalagens de comida, as outras bactérias testadas foram inativadas, em média, após 20 minutos em alta ou média potência.

O objetivo do estudo de Kulak et al.⁵⁵, em 1997, foi avaliar a presença e a densidade de *C. albicans* e outros microrganismos em pacientes com estomatite protética. Para o estudo, foram selecionados 60 usuários de próteses totais, sendo 45 pacientes com estomatite protética e 15 pacientes sem alteração na cavidade bucal. As culturas referentes às mucosas palatinas dos pacientes foram obtidas por meio de coletas com *swab*. As suspensões do material coletado foram cultivadas em ágar Sabouraud para a contagem de colônias de *Candida* spp. e em ágar tryptic soy para a contagem de bactérias aeróbias e anaeróbias facultativas. A

C. albicans foi diferenciada de outras espécies pela produção de filamentos e pela capacidade de crescimento em ágar cornmeal. Para a identificação das bactérias, foram utilizados métodos bioquímicos e coloração pela técnica de Gram. As análises das culturas dos pacientes sem estomatite protética demonstraram quantidades consideráveis de *Streptococcus* alfa-hemolítico e quantidades mínimas de outras bactérias. Poucas colônias de *C. albicans* foram observadas em seis pacientes. As análises das culturas dos pacientes com estomatite protética demonstraram elevadas quantidades de *C. albicans* e *Streptococcus* alfa-hemolítico e quantidades significativas de *Neisseria*. Poucas colônias de outras bactérias também foram observadas nas culturas da mucosa palatina dos pacientes com estomatite protética. Os autores sugeriram que a presença de elevadas quantidades de *C. albicans* e outros microrganismos poderia ser considerada como o principal fator etiológico da estomatite protética.

No mesmo ano, Kulak et al.⁵⁶ realizaram um estudo com o objetivo de comparar a efetividade da escovação e da imersão em soluções químicas na remoção da contaminação superficial de próteses totais superiores. A superfície palatina das próteses de cinco pacientes foi seccionada em oito amostras de 1 cm². Em seguida, seis amostras de cada prótese foram imersas durante o período noturno em soluções em efervescentes (Corega, Dentipur, Fittydent), hipoclorito de sódio a 5%, clorexidina a 1% (Savlon) ou Ipanol (enxagüatório bucal). Das outras duas amostras, uma foi submetida à escovação com dentifício e a outra mantida como controle. A efetividade das soluções foi avaliada por meio de MEV das amostras. As fotomicrografias demonstraram que todos os métodos de limpeza removeram os microrganismos das superfícies das amostras. No entanto, em relação aos demais métodos, as soluções de hipoclorito de sódio a 5% e de clorexidina a 1% (Savlon) foram significativamente mais

efetivas em reduzir a contaminação superficial das amostras. As soluções efervescentes (Corega, Dentipur e Fittydent) e a escovação foram similares entre si e superiores à imersão em Ipanol. Segundo os autores, a escovação não reduziu eficientemente os contaminantes superficiais das amostras em decorrência das irregularidades da resina acrílica. Os autores concluíram que, apesar do hipoclorito de sódio ter sido efetivo para remover microrganismos das amostras em relação aos demais métodos, a clorexidina a 1% foi ainda mais efetiva e, portanto, poderia ser utilizada para imersão das próteses totais durante o período noturno.

Em 1997, Nikawa et al.⁷⁶ realizaram um estudo para avaliar o efeito de carboidratos na formação do biofilme de *Candida* em superfícies de resina acrílica recobertas por películas de saliva ou soro. Foram utilizados três isolados de *C. albicans*, dois de *C. glabrata* e dois de *C. tropicalis*. Amostras de resina acrílica (10 mm x 10 mm x 0,7 mm) foram confeccionadas por meio de técnicas convencionais de inclusão e polimerização de próteses. A saliva utilizada foi coletada de indivíduos saudáveis, enquanto o soro humano foi adquirido comercialmente. Após a incubação em saliva ou soro a 37°C por 1 hora, as amostras foram individualmente inoculadas por uma das suspensões fúngicas (10^5 org/mL). A saliva ou o soro foi substituído por água destilada estéril nas amostras controle. Para promover aderência e colonização dos fungos, as amostras foram incubadas a 37°C por 2 horas. Em seguida, os carboidratos glicose ou galactose foram adicionados às amostras, que foram novamente incubadas por 0, 12, 24, 48, 72 e 96 horas a 37°C para avaliação do conteúdo de adenosina trifosfato (ATP) dos microrganismos. Os resultados demonstraram maior atividade de biofilme nas amostras de uma das cepas de *C. tropicalis* cultivada em galactose. Atividade significativamente menor foi observada nos cultivos em galactose de uma das cepas de *C. glabrata* e da outra cepa de

C. tropicalis. O cultivo de fungos em galactose demonstrou atividade de biofilme significativamente menor que o cultivo em glicose, exceto para uma das cepas de *C. tropicalis*. A presença de película de saliva aumentou de forma significativa a atividade de biofilme de todas as cepas de *C. albicans* e de uma cepa de *C. tropicalis*. Os autores sugeriram que uma dieta rica em glicose/galactose poderia modificar a formação de biofilme de *Candida* spp. na superfície interna das próteses, tornando os pacientes mais susceptíveis ao desenvolvimento de estomatite protética.

Tendo em vista que compostos antimicrobianos derivados de plantas (fitoquímicos) têm sido investigados como uma alternativa terapêutica na profilaxia e no tratamento da estomatite protética, Sato et al.⁹¹, em 1997, avaliaram a efetividade antibacteriana de três chalconas (2,4,2'-trihidroxi-5'-metilchalcona – THMC; 2,4,2'-trihidroxichalcona – THC; 2-hidroxichalcona - HC) na inibição do crescimento de várias espécies de bactérias secundariamente associadas a essa patologia. Para a determinação da mínima concentração inibitória (MIC) dos agentes fitoquímicos, soluções etílicas de todas as chalconas foram adicionadas ao meio ágar BHI contendo as bactérias avaliadas (10^8 org/mL). O valor do MIC foi definido como a concentração na qual não foram observadas colônias viáveis após o período de incubação de 48 horas a 37°C. Para as bactérias gram-positivas, o agente fitoquímico THMC obteve a maior atividade bactericida seguido por THC e HC. Foi observado que o THMC inibiu o crescimento de *Lactibacillus casei* em uma concentração de 75 µg/mL e de espécies de *Streptococcus* e *Staphylococcus* em concentrações entre 50 µg/mL e 75 µg/mL. Nessas últimas concentrações, esse agente fotoquímico também reduziu o crescimento de *C. albicans*. No entanto, o THMC não foi efetivo em inibir o crescimento de espécies gram-negativas como *K. pneumoniae*, *E. coli* e *S. marcescens* em concentrações de até 100 µg/mL. Foi concluído que o

agente fotoquímico THMC inibiu o crescimento de *C. albicans* e bactérias gram-positivas, mas não reduziu a quantidade de bactérias gram-negativas. Seguindo os autores, esse agente deveria ser considerado como uma alternativa no tratamento da estomatite protética. Entretanto, os autores enfatizaram que o THMC deve ser utilizado com precaução uma vez que pode levar à supressão da microflora bucal.

Verran e Maryan⁹⁷, em 1997, avaliaram o efeito da rugosidade na aderência de *C. albicans* em resina acrílica e elastômero. Próteses de resina acrílica de polimetil metacrilato foram submetidas a polimento (superfície lisa) ou a desgaste manual com lixa de granulação 600 (superfície rugosa). Os moldes de silicone de adição foram confeccionados sobre uma superfície polida de resina acrílica (superfície lisa) ou sobre modelo de gesso (superfície rugosa). A rugosidade dos materiais foi mensurada por meio de um perfilômetro antes dos procedimentos de aderência. Em seguida, suspensões de *C. albicans* ($1,29 \times 10^7$ org/mL) foram adicionadas em placas de Petri contendo um dos materiais avaliados. Após a incubação por uma hora a 24°C, os materiais foram enxaguados cuidadosamente, para que as células pouco aderidas fossem removidas. Então, os materiais foram secos em temperatura ambiente, fixados com metanol e corados para possibilitar a análise microscópica e a contagem do número de células aderentes por área. Os resultados evidenciaram que não houve diferença estatisticamente significativa para o número de células verificadas em cada um dos lados das amostras com superfície lisa. As amostras com superfície rugosa apresentaram números de células significativamente mais elevados em relação às amostras com superfícies lisas. No entanto, os moldes de silicone com superfície rugosa demonstraram maior aderência comparados às próteses com superfície rugosa. Os autores

concluíram que um aumento da rugosidade superficial facilitou a aderência de *C. albicans* nas superfícies da resina e do silicone avaliados.

A efetividade da irradiação por microondas na desinfecção de um material reembasador resiliente contaminado com microrganismos patogênicos foi avaliada por Baysan et al.¹³, em 1998. Corpos-de-prova do reembasador (Molloplast-b) foram esterilizados em autoclave, inoculados com os microrganismos testados (*C. albicans* ou *S. aureus*) e incubados aerobicamente a 37°C. Após três dias de incubação, o meio de cultura foi descartado e os corpos-de-prova enxaguados cuidadosamente em 10 mL de salina para remoção de células não aderentes. Então, os corpos-de-prova foram divididos em quatro grupos (três experimentais e um controle) com dez amostras cada. Três grupos experimentais foram avaliados quanto aos procedimentos de desinfecção, sendo os corpos-de-prova do grupo A submetidos à desinfecção por microondas a 650 W por 5 minutos; os do grupo B mantidos a seco em temperatura ambiente por 5 horas e os do grupo C imersos em solução de hipoclorito de sódio a 2% durante a noite. Para o grupo controle, as amostras foram enxaguadas e deixadas em solução salina por 5 horas em temperatura ambiente. Em seguida, os corpos-de-prova foram individualmente colocados em tubos de ensaio contendo 10 mL de solução salina e agitados por 15 minutos. As diluições seriadas (10^{-1} a 10^{-3}) foram realizadas em placas com ágar sangue, que foram incubadas durante a noite a 37°C. Após a incubação, as colônias foram contadas e os números de ufc/mm² foram calculados. Os resultados demonstraram que o tratamento por microondas e a imersão em hipoclorito de sódio promoveram uma redução semelhante do número de microrganismos. Entretanto, o grupo do procedimento a seco apresentou redução do número de células viáveis significativamente inferior em relação aos demais grupos. Os autores recomendaram a irradiação por

microondas como um método de desinfecção efetivo e simples uma vez que o hipoclorito de sódio apresenta algumas desvantagens para utilização na clínica odontológica, sobretudo em longos períodos de imersão, como efeitos deletérios sobre as resinas acrílicas das próteses e corrosão de componentes metálicos.

Webb et al.⁹⁸, em 1998, avaliaram a efetividade da irradiação por microondas e da imersão em hipoclorito de sódio na desinfecção de próteses totais superiores. Após a esterilização em autoclave, as próteses foram inoculadas com *C. albicans* ou *S. gordonii* e incubadas a 37°C. Em seguida, metade das próteses de cada microrganismo foi utilizada como controle (não irradiadas), sendo imersas em solução salina. As próteses submetidas à desinfecção por microondas foram expostas a 350 W ou 604 W por 1, 2, 4, 6, 8 ou 10 minutos. As próteses selecionadas para desinfecção química foram imersas por 8 horas em solução de hipoclorito de sódio a 1%, 0,02% ou 0,0125%. Todas as próteses foram submetidas aos procedimentos de semeadura em placas de Petri. Algumas amostras em resina acrílica de cada condição foram preparadas para MEV. Os resultados evidenciaram que a irradiação em microondas por 6 minutos foi efetiva na inativação de *C. albicans* e *S. gordonii*, apesar não ter removido os microrganismos não-viáveis das superfícies acrílicas, conforme observado nas fotomicrografias. Além disso, a imersão das próteses por 8 horas em hipoclorito de sódio nas concentrações de 0,02% e 0,0125% inativou as células de *C. albicans* e reduziu o crescimento de *S. gordonii*, removendo parte dos microrganismos das superfícies das amostras. Os autores concluíram que a irradiação por microondas por 6 minutos foi mais efetiva para a esterilização de próteses que a imersão em hipoclorito de sódio, apesar de nenhum procedimento eliminar todos os microrganismos das superfícies.

O objetivo do estudo realizado por Border e Rice-Spearman¹⁵, em 1999, foi avaliar a efetividade da irradiação por microondas na esterilização de materiais laboratoriais (meios de cultura, gazes e algodão). Quatro bactérias (*S. epidermidis*, *P. aeruginosa*, *E. coli* e *S. aureus*,) e um fungo (*C. albicans*) foram inoculados individualmente em cinco tubos de ensaio contendo caldo de tryptic soy e incubados a 37°C por 24 horas. A seguir, 25 mL de cada solução foram irradiados a 650 W por 5 segundos. Esse procedimento foi repetido e, após 15 segundos de intervalo, uma nova irradiação de 90 segundos foi realizada. Os meios de cultura irradiados foram semeados em placas de Petri incubadas a 37°C por 24 horas. Chumaços de algodão e gazes foram imersos separadamente no meio de cultura inoculado, irradiados por 15 segundos a 650 W e novamente irradiados por 90 segundos. Após as irradiações, as gazes e os chumaços de algodão foram semeados por esfregaço em placas de Petri incubadas a 37°C por 24 horas. As colônias foram quantificadas em números por quadrante. Além disso, um frasco contendo caldo de tryptic soy não inoculado foi irradiado em intervalos de um minuto até um total de 5 minutos, sendo semeados em placas de Petri a cada intervalo. As placas foram incubadas a 37°C por 48 horas. Os resultados demonstraram que foram necessários 60 segundos de irradiação para a esterilização de todos os microrganismos presentes no meio de cultura, nas gazes e nos chumaços de algodão. Além disso, os autores verificaram que, para esterilizar o meio de cultura não inoculado, foram necessários 3 minutos de exposição às microondas. Os autores concluíram que a irradiação por microondas foi efetiva para esterilização dos materiais laboratoriais avaliados.

Em 1999, Dixon et al.³⁹ avaliaram a efetividade da irradiação por microondas na desinfecção de resinas acrílicas contaminadas com

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

albicans presente nos materiais avaliados desde que os corpos-de-prova estivessem imersos em água durante a irradiação.

Tendo em vista que o uso sucessivo de uma mesma esponja pode transferir bactérias de uma superfície a outra durante um procedimento de assepsia, Ikawa e Rossen⁵¹, em 1999, avaliaram vários métodos para a desinfecção de rotina desses materiais. Para simular utilização doméstica, algumas esponjas, previamente ao tratamento, foram lavadas manualmente em solução de composto quaternário de amônio e cloreto de magnésio, secas ao ar ambiente e embaladas. Outras esponjas foram inoculadas com microrganismos patogênicos com o objetivo de simular condições de uso em laboratório. Essas esponjas foram individualmente umedecidas com 54 mL de água destilada estéril e contaminadas com 4 mL de uma suspensão bacteriana de *E. coli*, *Salmonella choleraesuis*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *Shewanella putrefaciens*. As esponjas foram incubadas a 25°C por 48 horas. Os tratamentos químicos selecionados para cada condição simulada constituíram-se de imersão, por 5 minutos, em uma das seguintes soluções: hipoclorito de sódio, peróxido de hidrogênio, álcool isopropil, quaternário de amônio, vinagre e amônia. Os tratamentos físico-químicos avaliados foram: escovação com detergente à base de composto quaternário de amônia ou alvejante e secagem associada ou não a um ciclo de alta temperatura a seco. Além disso, foi utilizada a imersão em água fervente por 5 minutos ou irradiação em microondas por um minuto em alta potência (tratamento físico). Os autores enfatizaram que as esponjas foram umedecidas antes da irradiação para maior efetividade do método e também para prevenir que, em estado seco, entrassem em combustão. Após cada tratamento, 1 mL da solução remanescente das esponjas era inoculado em tubos de ensaio contendo caldo de tryptic soy. Após a incubação a 35°C por 48 horas, os tubos de ensaio que apresentaram crescimento foram semeados em placas

de Petri. Os tratamentos químicos avaliados foram efetivos na redução dos microrganismos presentes nas esponjas com as quais a utilização doméstica foi simulada. No entanto, esses produtos não reduziram de forma significativa as bactérias presentes nas esponjas com as quais a utilização laboratorial foi simulada. Além disso, foi verificado que, para as duas condições de uso avaliadas, a limpeza com detergente alvejante ou à base de composto quaternário de amônio, a imersão em água em ebulição por 5 minutos ou irradiação em alta potência por um minuto reduziram a viabilidade dos microrganismos em 99,9 %.

Em 1999, McMullan-Vogel et al.⁶⁷ avaliaram a distribuição de *C. albicans* (sorotipos A e B) e a sua secreção de proteinase ácida em isolados de pacientes com estomatite protética. Esses resultados foram comparados aos obtidos com isolados de pacientes não usuários de próteses e com candidose bucal (HIV-negativos). Os autores também compararam os resultados dos isolados de pacientes com estomatite protética com os obtidos com isolados de *C. albicans* de pacientes HIV-positivos. Foram selecionados 99 pacientes usuários de próteses removíveis, totais ou parciais, com diagnóstico clínico de estomatite protética. Após a obtenção das culturas em ágar Sabouraud, as espécies de *Candida* foram identificadas por métodos fenotípicos confirmados pelo teste API 32-C. A sorotipagem das espécies identificadas como *C. albicans* foi avaliada por teste de aglutinação. Para a indução de secreção de proteinase ácida, uma alíquota de suspensão de *C. albicans* foi adicionada em meio de Remold incubado por seis dias. Os resultados demonstraram que a *C. albicans* foi isolada em 75% dos pacientes com estomatite protética. As outras espécies de *Candida* isoladas desses pacientes foram *C. glabrata* e *C. tropicalis*. A sorotipagem de *C. albicans* revelou que 75% dos isolados eram sorotipo A e 25% sorotipo B. As porcentagens de *C. albicans* sorotipo B dos pacientes

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

O mecanismo de transferência transitória de calor de uma suspensão de *S. aureus* após a irradiação em microondas foi avaliado por Yeo et al.¹⁰³ em 1999. Culturas bacterianas de *S. aureus* foram inoculadas em meio nutriente, incubadas a 37°C por 8 horas e centrifugadas por 10 minutos. Para a exposição às microondas, foram utilizadas suspensões bacterianas em meio de cultura e em água destilada estéril. Alíquotas de 15 µL dessas suspensões foram pipetadas sobre as superfícies de discos estéreis de aço inoxidável (15 mm x 5 mm). Adesivos indicadores de temperatura foram aplicados nesses discos. Em seguida, os discos foram irradiados a 800 W, em vários tempos de exposição. As potências absorvidas pelos discos de aço inoxidável e pelas suspensões bacterianas foram

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

Banting e Hill¹⁰, em 2001, avaliaram in vivo a desinfecção de próteses totais por imersão em clorexidina ou irradiação em microondas como métodos adjuntos no tratamento de estomatite protética. Trinta e quatro pacientes portadores de próteses totais superiores com esfregaços positivos para pseudohifas de *C. albicans* foram selecionados para um dos seguintes tratamentos: irradiação da prótese em microondas ou imersão da prótese em solução clorexidina a 0,2% (controle). Todos os pacientes receberam medicação antifúngica tópica (Nistatina 300000 IU 3 vezes ao dia) por 14 dias. As próteses selecionadas para o tratamento com as microondas

foram escovadas com sabão anti-séptico e água e então irradiadas por um minuto a 850 W em três dias diferentes (1^o, 5^o e 10^o dia). Para o grupo controle, as próteses foram imersas na solução de clorexidina durante a noite por 14 dias, com renovação da solução a cada 2 dias. Essas próteses também foram escovadas em 3 dias diferentes (1^o, 5^o e 10^o dias), estabelecendo parâmetro para comparação entre os grupos. Os resultados demonstraram que, após 14 dias, 53% das próteses irradiadas por microondas apresentaram pseudohifas de *C. albicans* e que essa porcentagem aumentou para 84% para as próteses imersas em clorexidina. Por outro lado, após esse mesmo período, os esfregaços citológicos referentes à mucosa palatina dos pacientes cujas próteses foram irradiadas apresentaram 1/4 do risco de infecção dos tecidos palatinos em relação aos pacientes que tiveram suas prótese imersas em clorexidina. Três meses após o tratamento, o grupo controle foi considerado 5 vezes mais susceptível a apresentar pseudohifas de *C. albicans* quando em comparação com o grupo que recebeu tratamento com as microondas. Os autores concluíram que a exposição das próteses às microondas foi efetiva para uma adequada desinfecção nas próteses sem ocasionar efeitos deletérios aparentes nas propriedades das mesmas.

Em 2001, Chandra et al.²⁹ desenvolveram um modelo reproduzível de biofilme de *C. albicans* em prótese para determinar a susceptibilidade de isolados do microrganismo a quatro agentes antifúngicos (nistatina, anfotericina, fluconazol, clorexidina). Inicialmente foi obtida uma suspensão celular de dois isolados de *C. albicans*, sendo um de paciente com estomatite protética e um de paciente HIV-positivo com candidose orofaríngea. Para a formação do biofilme, uma alíquota da suspensão celular foi aplicada nas superfícies de um corpo-de-prova de resina acrílica. A susceptibilidade da *C. albicans* presente no biofilme foi comparada à de

células planctônicas desse microrganismo. Houve 50% de redução da atividade metabólica do biofilme quando os antifúngicos nistatina, anfotericina, clorexidina e fluconazol foram aplicados nas concentrações de 8 µg/mL, 16 µg/mL, 128 µg/mL e superior a 64 µg/mL, respectivamente. Entretanto, as células planctônicas de *C. albicans* foram susceptíveis aos agentes antifúngicos, com 50% de redução da atividade metabólica para as concentrações de 0,25 µg/mL, 1 µg/mL, 4 µg/mL e 0,5 µg/mL dos antifúngicos nistatina, anfotericina B, clorexidina e fluconazol, respectivamente. Os autores concluíram que, comparadas às células planctônicas, as células de *C. albicans* associadas ao modelo de biofilme em prótese apresentaram resistência aos antifúngicos mais frequentemente utilizados para o tratamento da estomatite protética.

Hiti et al.⁴⁷, em 2001, avaliaram o efeito da irradiação por microondas na desinfecção de recipientes para armazenagem de lentes de contato contaminados com *Acanthamoeba*. Recipientes para armazenagem de lentes de contato foram contaminados (10^6 org/mL) com três diferentes espécies de *Acanthamoeba* (*A. comandoni*, *A. castellanii*, *A. hatchetti*), nas formas de trofozoítos e cistos. Foi também avaliado o efeito das microondas sobre cistos de *Acanthamoeba* completamente desidratados. A irradiação por microondas para cada recipiente foi realizada a 600 W por 3, 5 ou 8 minutos. Em seguida, esfregaços da parte interna dos recipientes foram semeados em placas de Petri incubadas a 30°C por 14 dias. Os autores observaram que a irradiação por microondas foi efetiva na esterilização dos recipientes contaminados com as três espécies de *Acanthamoeba* após 3 minutos de exposição a 600 W. Além disso, a desidratação dos cistos de *Acanthamoeba* reduziu sua susceptibilidade às microondas, uma vez que houve crescimento microbiano independentemente do tempo de exposição utilizado. Os autores enfatizaram que os materiais contendo água são

aquecidos pela vibração molecular e, como a célula biológica é caracterizada por um alto conteúdo de água, os microrganismos se tornam sensíveis à irradiação por microondas. Uma vez que a célula desidratada não apresenta essa vibração molecular, a efetividade das microondas se torna reduzida.

Pires et al.⁸², em 2002, avaliaram a associação entre estomatite protética e o fluxo salivar, bem como a quantificação e a identificação das espécies de *Candida*, antes e seis meses após a substituição de próteses totais superiores. Foram avaliados 77 pacientes, com idade entre 36 e 84 anos, sendo a maioria mulheres (63,6%). A estomatite protética foi classificada de acordo com os critérios de Newton e a higiene da prótese foi qualificada como boa, regular, deficiente ou inadequada. Para a determinação do fluxo salivar, amostras de saliva não estimulada foram coletadas dos pacientes durante 5 minutos. Alíquotas das amostras coletadas foram semeadas em ágar Sabouraud e, após 48 horas de incubação, foi realizada a contagem de colônias viáveis (ufc/mL). As espécies de *Candida* foram identificadas pelos testes de tubo germinativo, produção de clamidósporos e assimilação e fermentação de carboidratos. Todos os pacientes receberam instruções de higiene bucal após a substituição das próteses totais e não foram medicados. Após 6 meses da substituição, os pacientes retornaram para uma segunda avaliação, na qual todos os procedimentos clínicos e laboratoriais realizados previamente foram repetidos. Os resultados demonstraram que, na primeira avaliação, 50,6% dos pacientes apresentavam estomatite protética e 63% demonstravam higienização inadequada das próteses. Na segunda avaliação, a porcentagem de pacientes com estomatite protética foi reduzida a 18,2% e a higienização das próteses foi considerada regular em 100% dos casos. Em ambas as avaliações, a prevalência de estomatite protética foi maior em pacientes do gênero feminino. O fluxo salivar dos pacientes variou de 0,02

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

Em 2002, Ship et al.⁹³ discutiram sobre os principais aspectos relacionados à epidemiologia, etiologia e tratamento da xerostomia. Segundo os autores, a prevalência da xerostomia é de aproximadamente 30% em indivíduos com idade superior a 65 anos e de até 72% em pacientes hospitalizados. A xerostomia e as disfunções salivares podem resultar problemas locais ou sistêmicos de ordem transitória ou permanente. Essas condições podem prejudicar as funções de mastigação, deglutição e fonação, o que pode levar a deficiências nos mecanismos imunológicos do indivíduo, interferindo com sua qualidade de vida. Apesar de a função das glândulas salivares ser menor com a idade, essa redução não é considerada clinicamente significativa em indivíduos saudáveis. No entanto, a xerostomia em idosos é freqüentemente observada em consequência de doenças auto-imunes (Síndrome de Sjögren), alterações endócrinas, uso de medicamentos indutores de hipossalivação e terapias antineoplásicas de cabeça e pescoço.

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

O objetivo do estudo de Torres et al.⁹⁶, em 2002, foi avaliar a relação entre o nível de fluxo salivar (SFRs) e a quantidade de *Candida ssp.* em pacientes com xerostomia. Foram selecionados 112 pacientes do Hospital da Universidade Federal do Rio de Janeiro que, ao responderem um questionário de saúde, relataram apresentar pelo menos um dos sintomas associados à xerostomia. Amostras de saliva foram coletadas dos pacientes no período das 9 às 11 horas da manhã. O nível de fluxo salivar inferior a 1,0 mL/min foi considerado como hiposalivação. As amostras coletadas foram aquecidas durante 2 minutos a 55°C para desagregação dos componentes da saliva. Em seguida, as amostras foram homogeneizadas em

agitador e alíquotas de 0,1 mL das soluções resultantes foram semeadas em placas de Chromagar incubadas por 72 horas. De acordo com os resultados, a hipossalivação estava presente em 58% dos pacientes, dos quais 67,9% apresentavam colonização por *Candida* spp. Foi demonstrado que, nos pacientes com quantificação de *Candida* spp. igual ou superior a 400 ufc/mL, quanto menor o fluxo salivar, maior o número de colônias. Além disso, os pacientes do gênero masculino apresentaram nível de fluxo salivar superior em relação ao gênero feminino, independentemente do uso de medicamentos ou da presença de doenças sistêmicas. Não houve relação significativa entre a quantidade de *Candida* spp. e o gênero ou a idade dos pacientes. A presença de colonização mista por diferentes espécies de *Candida* foi observada em 28% dos pacientes, sendo a *C. albicans* a mais freqüente (84,8%). Os autores concluíram que, nos pacientes com valores elevados de ufc/mL, houve uma relação inversa entre o fluxo salivar e a quantidade de *Candida* spp.

A relação entre a presença de *C. albicans* e a estomatite protética foi avaliada por Barbeau et al.¹¹, em 2003. Foram selecionados 68 usuários de próteses totais superiores. O tipo de estomatite protética foi determinado de acordo com a classificação de Newton bem como por uma classificação modificada, desenvolvida pelos autores. Essa última classificação foi utilizada para determinar tanto o tipo de estomatite protética quanto a extensão da inflamação nos tecidos acometidos por essa patologia. Para a avaliação clínica, foram realizadas três fotografias da região palatina de cada paciente. As leveduras foram coletadas da mucosa palatina e da superfície interna das próteses com swab oral. As culturas das suspensões obtidas dos swabs foram realizadas em ágar Sabouraud. Para isolar as leveduras, foi adicionado cloranfenicol aos meios de cultura Sabouraud e Lee. As colônias isoladas foram congeladas a -80°C. Para a identificação

das espécies de *Candida*, alíquotas das suspensões das colônias isoladas foram cultivadas em meio cromogênico (ChromAgar). Para a diferenciação final das espécies, as suspensões também foram submetidas à avaliação por um sistema comercial de identificação (ID *Candida*). Os resultados demonstraram que a presença de leveduras nas próteses não foi associada à estomatite protética de acordo com a classificação de Newton. Os maiores números de colônias e índices de placa nas próteses foram associados à maior extensão de inflamação, independentemente do tipo de estomatite protética segundo a classificação de Newton. A presença de *C. albicans* e da associação de mais de uma espécie de *Candida* foi observada mais comumente nos usuários de próteses totais com estomatite protética. As espécies mais associadas com a *C. albicans* foram *C. tropicalis* e *C. glabrata*. A utilização contínua das próteses e o fumo foram considerados fatores de risco associados à extensão da inflamação observada nos pacientes com estomatite protética. Os autores concluíram que a presença de leveduras nas próteses foi significativamente relacionada à extensão da inflamação e não ao tipo de estomatite protética segundo a classificação de Newton. Foi sugerido que a colonização por *Candida* spp. foi favorecida pelo processo de inflamação causado pela estomatite protética e que, portanto, deveria ser considerada no diagnóstico e tratamento dessa doença.

O estudo de Neppelenbroek et al.⁷³ (2003) teve por objetivo avaliar a efetividade da irradiação por microondas na esterilização de resinas rígidas para reembasamento imediato. Corpos-de-prova (10 mm x 10 mm x 1 mm) de três resinas reembasadoras rígidas (Kooliner, Tokuso Rebase and Ufi Gel hard) foram confeccionados e esterilizados por meio de óxido de etileno. Os corpos-de-prova foram então individualmente inoculados (10^7 ufc/mL) em caldo de tryptic soy contendo um dos seguintes microrganismos: *C. albicans*, *S. aureus*, *B. subtilis* ou *P. aeruginosa*. Após a inoculação, 40

corpos-de-prova de cada material foram imersos em 200 mL de água e irradiados a 650 W por 6 minutos. Quarenta corpos-de-prova não irradiados foram utilizados como controle positivo. A seguir, 25 µL da suspensão resultante das diluições seriadas de 10^{-1} a 10^{-6} foram semeados em placas de Petri contendo os meios de cultura seletivos para cada microrganismo. Todas as placas foram incubadas a 37°C por 48 horas. Após a incubação, as colônias foram quantificadas em ufc/mL. Os corpos-de-prova irradiados foram imersos em caldo de tryptic soy e incubados a 37°C por 7 dias. Vinte corpos-de-prova foram preparados para MEV. Todos os corpos-de-prova demonstraram esterilização após a irradiação em microondas. A análise em MEV indicou alteração na morfologia celular dos microrganismos após a irradiação em microondas. Os corpos-de-prova irradiados e incubados por 7 dias não demonstraram crescimento microbiológico visível no meio de cultura. A esterilização por microondas por 6 minutos a 650 W provou ser um método efetivo para a esterilização de resinas reembasadoras rígidas.

Em 2004, Barnabé et al.¹² avaliaram a ação antimicrobiana do hipoclorito de sódio a 0,05% associado à escovação das próteses com sabão de coco na redução dos sinais clínicos da estomatite protética e na inibição do crescimento de *C. albicans* e *Streptococcus mutans*. Inicialmente, 60 pacientes usuários de próteses totais superiores foram divididos igualmente em dois grupos, de acordo com o tratamento realizado: G1 (placebo)- escovação das próteses com sabão de coco seguida pela imersão das mesmas em 200 mL de água filtrada por 10 minutos e G2 – escovação das próteses com sabão de coco seguida pela imersão em solução de hipoclorito de sódio a 0,05% por 10 minutos. Os pacientes foram instruídos a realizarem os tratamentos uma vez ao dia por 15 dias. Dos 60 pacientes iniciais, 28 retornaram para a avaliação após 15 dias do início do tratamento. Dessa forma, somente esses pacientes foram incluídos na pesquisa, sendo 9

do G1 e 19 do G2. O biofilme presente nas próteses totais dos pacientes selecionados foi coletado com escova de dente estéril antes e após 15 dias do início dos tratamentos. Após cada coleta, as escovas foram individualmente imersas em 10 mL de solução salina por 1 minuto e a solução resultante foi semeada em placas de Petri com os meios seletivos para as duas espécies de microrganismos testadas (*C. albicans* e *S. mutans*). Antes e após 15 dias do início dos tratamentos, a mucosa palatina de cada paciente também foi avaliada clinicamente de acordo com a classificação de Newton. Os resultados demonstraram que, dos 28 pacientes avaliados, 19 (67,85%) apresentaram sinais clínicos de estomatite protética antes do início dos tratamentos. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos dos grupos de estudo em relação à redução dos microrganismos avaliados. Todos os pacientes apresentaram redução dos sinais clínicos de estomatite protética. No entanto, as culturas das próteses dos pacientes dos dois grupos de estudo não evidenciaram redução significativa da quantidade de *C. albicans* e *S. mutans* após 15 dias de tratamento. Os autores concluíram que apesar de não ter reduzido a viabilidade dos microrganismos, a imersão das próteses em hipoclorito de sódio a 0,05% associada à escovação com sabão de coco promoveu um controle efetivo do biofilme presente nas mesmas.

Coelho et al.³¹, em 2004, determinaram a frequência de lesões bucais associadas ao uso de próteses em 305 pacientes atendidos em uma faculdade de odontologia. Os autores também verificaram a relação entre a frequência das lesões e a idade e o gênero dos pacientes bem como o tipo, o tempo de uso e o método de limpeza das próteses. Essas informações foram registradas num questionário respondido pelos pacientes, que foram divididos em sete grupos de acordo com o tempo de uso da prótese. O exame clínico da cavidade bucal foi realizado por três patologistas

previamente treinados e calibrados. Os autores observaram maior prevalência de lesões no gênero feminino (72%) que no masculino (56%) e que a maioria das mulheres (60 a 70 anos) era mais idosa que os homens (50 a 60 anos). Do total de 444 próteses, 302 eram próteses totais e 142 eram próteses parciais removíveis. A maior parte dos pacientes utilizava prótese total superior (43,24%) há pelo menos 20 anos. Os usuários de próteses totais estavam na 6ª década de vida, enquanto os usuários de próteses parciais removíveis estavam entre a 3ª e a 5ª década. As lesões bucais predominantemente encontradas em usuários de próteses totais foram as seguintes: estomatite protética (atrófica e hiperplásica), hiperplasia inflamatória fibrosa, úlcera traumática, queilite angular e flacidez de rebordo. A candidose atrófica crônica (estomatite protética) foi a lesão mais freqüente, sobretudo nos pacientes com tempo de uso das próteses entre 16 a 20 anos. O método mais comum de higienização foi a escovação com dentífrício e escova dental (80,1%). Segundo os autores, a maior freqüência de lesão em mulheres poderia ser atribuída à utilização das próteses por períodos maiores em relação aos homens devido a preocupações estéticas. Além disso, durante ou após a menopausa, ocorre atrofia da mucosa bucal concomitante à diminuição da secreção ovariana. Um epitélio bucal atrófico é mais susceptível a traumas e mais propenso a reações inflamatórias. Outro fator a ser considerado é que o tempo de uso das próteses é maior em idosos, que são mais relutantes em substituí-las. Essas próteses antigas podem promover maior acúmulo de placa microbiana, além de traumatizar a mucosa de suporte pela falta de adaptação. Os resultados obtidos sugeriram que as próteses removíveis, parciais ou totais, podem causar comumente vários tipos de lesões na mucosa bucal dos pacientes. De acordo com os autores, essas lesões poderiam ser prevenidas por meio de um programa de preservação que avalie as condições das próteses e forneça as informações de higiene e manutenção da saúde bucal.

Em 2004, Neppelenbroek et al.⁷⁴ avaliaram a efetividade da irradiação por microondas na esterilização de resinas rígidas para reembasamento imediato e resina para base de prova. Corpos-de-prova (10 mm x 10 mm x 1 mm) de duas resinas reembasadoras rígidas (New Truliner e Duraliner II) foram confeccionados e esterilizados por meio de óxido de etileno. Os corpos-de-prova foram então individualmente inoculados (10^7 org/mL) com um dos seguintes microrganismos: *C. albicans*, *S. aureus*, *B. subtilis* ou *P. aeruginosa*. Após a inoculação, 40 corpos-de-prova de cada material foram imersos em 200 mL de água e irradiados a 650 W por 6 minutos. Quarenta corpos-de-prova não irradiados foram utilizados como controle positivo. A seguir, 25 μ L da suspensão resultante das diluições seriadas de 10^{-1} a 10^{-6} foram semeados em placas de Petri contendo os meios de cultura seletivos para cada microrganismo. Todas as placas foram incubadas a 37°C por 48 horas. Os corpos-de-prova irradiados foram incubados a 37°C por 7 dias. Vinte corpos-de-prova foram preparados para análise em MEV. Todos os corpos-de-prova demonstraram esterilização após a irradiação em microondas. A análise em MEV indicou alteração na morfologia das células e/ou colônias dos microrganismos após irradiação em microondas. Os corpos-de-prova irradiados e incubados por 7 dias não demonstraram crescimento microbiológico visível no meio de cultura. A esterilização por microondas por 6 minutos a 650 W foi considerada efetiva para esterilização de resinas reembasadoras rígidas e resina para base de prótese.

O objetivo do estudo de Campanha²⁴, em 2005, foi investigar os efeitos da irradiação por microondas sobre células de *C. albicans* por meio de parâmetros de contagem celular e de liberação de substâncias intracelulares. Foram obtidas culturas de *C. albicans* de 24 horas em caldo

de tryptic soy a partir de cepas padrão. As células foram centrifugadas, lavadas e ressuspensas em 400 mL de água destilada gelada na concentração de 10^8 org/mL. Essa suspensão foi dividida em experimental e controle. A suspensão experimental (200 mL) foi colocada em um béquer contendo uma prótese total acrílica estéril e irradiada por microondas a 650 W por 6 minutos. A suspensão controle não foi submetida à irradiação. Para ambas as suspensões, foram realizadas diluições seriadas para contagem celular em câmara de Neubauer, utilizando a entrada do corante azul de metileno como indicativo de alteração de permeabilidade de membrana. Alíquotas diluídas também foram semeadas em ágar Sabouraud. Alíquotas não diluídas foram analisadas quanto à densidade óptica. Para a quantificação de substâncias liberadas, as células foram eliminadas das suspensões por centrifugação e filtragem e a solução resultante foi liofilizada. O conteúdo liofilizado foi ressuspenso em 5 mL de água destilada e analisado pelos seguintes métodos: Microprote e Sensiprote, para quantificação de proteínas; potenciometria, para quantificação de Na^+ e K^+ ; Liquiform, para quantificação de Ca^{++} ; e DO a 260 nm para quantificação de ácidos nucleicos. Todos os testes foram realizados em duplicata e repetidos em 8 dias diferentes. Não foram encontradas diferenças entre as suspensões experimental e controle quando foram comparadas as suas médias de densidade óptica. As células da suspensão controle apresentaram-se íntegras, enquanto as da suspensão experimental não apresentaram integridade de membrana de acordo com a entrada do azul de metileno. Não foram observadas colônias viáveis de *C. albicans* nas placas de Petri da suspensão experimental, enquanto a suspensão controle apresentou contagens da ordem de 10^8 ufc/mL. A liberação de proteínas da suspensão experimental foi significativamente maior do que a da suspensão controle, tanto pelo sistema Microprote quanto para o sistema Sensiprote. A liberação de K^+ , Ca^{++} e ácidos nucleicos da suspensão experimental foi

significativamente maior do que a da suspensão controle. Pela técnica de potenciometria, não foi detectada a presença de Na^+ em nenhuma das suspensões. Foi concluído que, para a maioria dos parâmetros utilizados, a suspensão experimental apresentou valores significativamente menores de contagem de células e maiores de substâncias liberadas. Entretanto, a irradiação por microondas não causou redução na densidade óptica das células em suspensão.

No mesmo ano, Campanha et al.²⁵ avaliaram o efeito da desinfecção por microondas (650 W/6 minutos) sobre a dureza Vickers de dentes artificiais de resina acrílica de seis marcas comerciais (Dentron, Vipi Dent Plus, Postaris, Biolux, Trilux e Artiplus). Para a obtenção dos corpos-de-prova, os dentes artificiais foram individualmente incluídos em resina acrílica termopolimerizável dentro de tubos de PVC. Para cada marca comercial, a superfície oclusal de 32 dentes idênticos foi desgastada com lixas de carbetto de silício e polida com branco de espanha. Os corpos-de-prova foram divididos em quatro grupos: GI (controle)- o teste de dureza foi realizada após o polimento; GII- antes do teste, os corpos-de-prova foram imersos em 200 mL de água destilada e submetidos a dois ciclos de desinfecção por microondas (650 W/6 minutos); GIII- a dureza dos corpos-de-prova foi avaliada após a armazenagem em água destilada por 90 dias; GIV- antes do teste de dureza, os corpos-de-prova foram armazenados em água destilada por 90 dias e submetidos a dois ciclos de desinfecção por microondas (650 W/6 minutos). Os resultados demonstraram que a desinfecção por microondas reduziu a dureza dos dentes artificiais não armazenados em água. Para todas as marcas comerciais, exceto a Artiplus, os valores médios de dureza dos dentes artificiais armazenados em água por 90 dias e submetidos à desinfecção por microondas não foram significativamente diferentes dos observados para os dentes apenas armazenados em água.

Os autores concluíram que, para cinco marcas comerciais (Dentron, Vipi Dent Plus, Postaris, Biolux e Trilux), a dureza Vickers dos dentes artificiais armazenados em água por 90 dias não foi significativamente alterada por dois ciclos de desinfecção por microondas (650 W/6 minutos).

Lamfon et al.⁵⁸, em 2005, investigaram a composição do biofilme das próteses e a susceptibilidade de *Candida* spp. a agentes antifúngicos. Foram selecionados dez indivíduos, cinco sem alteração da cavidade bucal (grupo controle) e cinco com estomatite protética (grupo experimental). O material presente na mucosa palatina e na superfície interna das próteses dos pacientes selecionados foi coletado com *swab* oral. Em seguida, os *swabs* foram colocados em solução de Ringer e agitados por 1 minuto. As amostras foram individualmente congeladas a -70°C em 1 mL de caldo LB contendo 50% de glicerol para, posteriormente, serem utilizadas no estudo *in vitro*. Nesse estudo, a formação de biofilme em discos (5 mm x 1mm) de resina acrílica foi realizada por um dispositivo específico (Constant Depth Film Fermentar -CDFF). Esse dispositivo permite a produção de biofilme sob condições de baixas forças de cisalhamento decorrentes da presença de um fio contínuo de líquido sobre os microrganismos aderidos. Para os experimentos com o CDFF, realizados em condições aeróbicas a 37°C , foi utilizada como inóculo uma alíquota de 2 mL contendo 200 μL do material coletado das próteses adicionado a outros 200 μL do material proveniente da mucosa palatina dos 5 pacientes com estomatite protética. Saliva artificial foi adicionada sobre o biofilme a uma velocidade de 0,5 mL/min. Para analisar a presença de microrganismos aeróbicos e anaeróbicos no biofilme, foram realizadas culturas em meios de ágar sangue Columbia e ágar anaeróbico Fastidious, cada um contendo 5% de sangue de cavalo sem fibrina. Meios seletivos foram utilizados para avaliar a presença de colônias viáveis de *Actinomyces*, *Candida*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* e

Veillonella. A identificação das espécies de *Candida* foi realizada pelo sistema API. Para os testes de susceptibilidade de *Candida* spp. aos agentes antifúngicos, os discos acrílicos com biofilme foram removidos do CDFP após 72 horas de incubação e colocados em contato com fluconazol e miconazol nas concentrações de 0,25 µg/mL, 2 µg/mL, 16 µg/mL, 24 µg/mL ou 256 µg/mL e de digluconato de clorexidina a 0,02%, 0,15%, 0,3%, 1,25% ou 2,5%. Os discos permaneceram em contato com os agentes azólicos (fluconazol e miconazol) por 24 horas e com a clorexidina por 15 minutos. Posteriormente, os discos acrílicos foram agitados por 1 minuto para a remoção das células aderidas e alíquotas das suspensões obtidas foram semeadas em ágar Sabouraud. Os resultados demonstraram que a quantidade de microrganismos presentes nos biofilmes referentes aos pacientes com estomatite protética não foi estatisticamente diferente daquela observada para os pacientes sem essa patologia. Houve presença de *Candida* spp. nos biofilmes de todos os pacientes com estomatite protética, e as espécies isoladas incluíram *C. albicans*, *C. kefyr*, *C. tropicalis* e *C. famata*. Microrganismos dos grupos *Streptococcus* (76%) e *Actinomyces* (55%) também foram isolados dos biofilmes dos pacientes com estomatite protética. O biofilme misto de espécies de *Candida* foi resistente ao fluconazol e ao miconazol quando as concentrações utilizadas foram menores ou iguais a 256 µg/mL. A clorexidina não foi eficaz quando utilizada na concentração de até 0,3%. No entanto, o crescimento de *Candida* spp. foi reduzido pela clorexidina na concentração de 1,25% e nenhuma colônia foi observada na concentração de 2,5%. Os autores ressaltaram que a associação de agente antibacteriano e agente fúngico poderia ser eficiente na redução de microrganismos presentes em biofilmes mistos. No entanto, essa associação, mesmo que por curtos períodos de tempo, poderia resultar no desenvolvimento de resistência microbiana. Segundo os autores, as espécies de *Candida* podem modular a ação de antibióticos, enquanto as

bactérias podem afetar a atividade antifúngica dos agentes em um biofilme misto desses microrganismos, o que resulta em aumento de sua resistência.

O objetivo do estudo de Monroy et al.⁶⁹ (2005) foi avaliar a prevalência de *C. albicans*, *S. aureus* e *S. mutans* na mucosa palatina e na superfície interna das próteses totais de pacientes com e sem estomatite protética, bem como estabelecer fatores predisponentes dessa patologia. Para medir o pH salivar, amostras de 2 mL de saliva foram coletadas de 105 pacientes. Além disso, o material presente na mucosa palatina e na superfície interna das próteses totais superiores dos pacientes foi coletado com algodão estéril. Para o isolamento e a identificação de *C. albicans*, foi utilizado um meio cromogênico (CandiSelect) específico para crescimento de fungos. Os meios seletivos selecionados para o isolamento e a identificação de *S. aureus* foram ágar Chapman ou ágar manitol salgado. Após essa identificação, foram realizados testes de catalase e coagulase. A identificação de *S. mutans* foi realizada em placas de Petri contendo ágar mitis salivarius. Todas as placas foram incubadas a 37°C por 48 horas. Colônias viáveis de *C. albicans* foram observadas nas placas referentes à mucosa palatina de 54 pacientes, dos quais 43 apresentavam estomatite protética. As culturas em CandiSelect também demonstraram a presença desse microrganismo na superfície interna de 70 próteses. O *S. aureus* foi isolado da mucosa palatina de 55 pacientes, dos quais 42 apresentavam estomatite protética. Esse microrganismo também foi isolado da superfície interna de 52 próteses. As culturas da mucosa palatina de 71 pacientes demonstraram a presença de *S. mutans*, e apenas 8 apresentaram estomatite protética. Os resultados também demonstraram elevada acidez do pH da saliva nos pacientes com estomatite protética, bem como nos indivíduos que adotavam dieta rica em carboidratos. A presença simultânea de *C. albicans* e *S. aureus* foi observada na mucosa palatina de 39 pacientes

dos 50 que apresentavam estomatite protética. A estomatite protética e a colonização microbiana da mucosa palatina e das próteses foram encontradas preferencialmente em mulheres, portadores de diabetes mellitus e de hipertensão arterial. Esses resultados demonstraram a etiologia multifatorial da estomatite protética. Os autores concluíram que o tratamento da estomatite protética deveria reduzir tanto a presença de fungos quanto a de bactérias, uma vez que foi observada a presença de biofilmes mistos nas culturas referentes à mucosa palatina e à superfície interna das próteses totais de pacientes com essa patologia.

Novais⁷⁷, em 2005, avaliou o efeito da irradiação por microondas na porosidade superficial de quatro materiais reembasadores rígidos (Kooliner, New Truliner, Tokuso Rebase e Ufi Gel hard, e Duraliner II) e uma resina para base de prótese (Lucitone 550). Vinte amostras de cada material (20 mm x 10 mm x 3 mm) foram igualmente divididas em quatro grupos: G1- sem tratamento (controle); G2- amostras imersas em 200 mL de água destilada e submetidas a dois ciclos de irradiação por microondas (650 W/ 6 minutos); G3- amostras submetidas a um ciclo diário de irradiação por sete dias, armazenadas em água destilada a 37°C entre as irradiações; G4- amostras imersas em água destilada a 37°C por 7 dias. Todas as amostras foram fotografadas em MEV, e o número e a área total de poros foram analisados nas fotomicrografias por um analisador de imagem Leica Qwin. Os resultados demonstraram que não houve diferença significativa entre o número e a área de poros observados na região central e na periferia das amostras. A avaliação entre os grupos experimentais demonstrou que a porosidade do material Kooliner foi significativamente aumentada após sete ciclos de irradiação por microondas. Nenhuma diferença significativa foi observada para os materiais New Truliner e Lucitone 550 em todas as condições avaliadas. Quando comparada ao grupo controle, a porosidade

dos materiais Tokuso Rebase e Ufi Gel hard foi significativamente reduzida após sete ciclos de irradiação. Com base nos resultados obtidos, foi concluído que a irradiação por microondas não promoveu efeitos deletérios à porosidade dos materiais avaliados, com exceção do material Kooliner.

No mesmo ano, Pavarina et al.⁸¹ investigaram o efeito da desinfecção por microondas (650 W/ 6 minutos) sobre a resistência à flexão de cinco resinas reembasadoras rígidas (Kooliner, Tokuso Rebase, Ufi Gel hard, New Truliner e Duraliner II) e uma resina para base de prótese (Lucitone 550). Para cada material, foram confeccionados 32 corpos-de-prova (3,3 mm x 10 mm x 64 mm), divididos igualmente em quatro grupos. O ensaio de flexão foi realizado após a polimerização (G1); após dois ciclos de desinfecção por microondas (G2); após sete dias de armazenagem em água (G3) e após sete ciclos de desinfecção (G4). Os corpos-de-prova do G4 foram submetidos a um ciclo de desinfecção diário, sendo imersos em água entre as irradiações. Os resultados demonstraram que a resistência à flexão das resinas acrílicas Kooliner e Lucitone 550 aumentou significativamente após dois ciclos de desinfecção por microondas. Após sete ciclos, as resinas Kooliner e New Truliner apresentaram aumento significativo nos valores de flexão. A resistência à flexão do material Tokuso Rebase não foi significativamente alterada por dois ou sete ciclos de desinfecção. Os valores de flexão do material Ufi Gel hard foram significativamente reduzidos pela desinfecção por microondas. Com base nos resultados obtidos, os autores concluíram que a desinfecção em microondas não promoveu efeitos deletérios à resistência à flexão dos materiais avaliados, com exceção do material Ufi Gel hard.

O estudo realizado por Silva et al.⁹⁴ (2005) teve por objetivo avaliar a efetividade da irradiação por microondas na esterilização de

próteses totais. Oitenta próteses totais padronizadas foram confeccionadas e submetidas à esterilização com óxido de etileno. As próteses foram então individualmente inoculadas (10^7 org/mL) com caldo de cultura tryptic soy contendo um dos seguintes microrganismos: *C. albicans*, *S. aureus*, *B. subtilis* e *P. aeruginosa*. Após 48 horas de incubação a 37°C, 40 próteses foram imersas em 200 mL de água destilada estéril e irradiadas a 650 W por 6 minutos. Quarenta próteses não irradiadas foram utilizadas como controle. A seguir, 25 µL da suspensão resultante das diluições seriadas de 10^{-1} a 10^{-6} foram semeados em placas de Petri contendo os meios de cultura seletivos para cada microrganismo. Todas as placas foram incubadas a 37°C por 48 horas. Após a incubação, as colônias foram quantificadas em ufc/mL. Para a verificação da efetividade da exposição às microondas a longo prazo, as próteses irradiadas foram imersas em béqueres contendo caldo de tryptic soy e incubadas a 37°C por 7 dias. As placas de Petri referentes às próteses contaminadas com *C. albicans*, *S. aureus* e *B. subtilis* não demonstraram presença de colônias viáveis após 48 horas de incubação. Nesse mesmo período, um número reduzido de colônias viáveis foi observado em duas placas de Petri referentes às próteses contaminadas com *P. aeruginosa*. Após 7 dias, houve crescimento microbiológico em três béqueres, sendo dois para *P. aeruginosa* e um para *B. subtilis*. Todas as próteses totais do grupo controle apresentaram crescimento microbiano nas placas de Petri após 48 horas. Os autores concluíram que a irradiação por microondas por 6 minutos a 650 W promoveu esterilização das próteses totais contaminadas com *C. albicans* e *S. aureus* e desinfecção daquelas contaminadas com *P. aeruginosa* e *B. subtilis*.

3 Proposição

Com base nas informações apresentadas nos capítulos anteriores, o presente estudo teve como objetivo avaliar a efetividade da desinfecção de próteses totais por energia de microondas no tratamento da estomatite protética associada à *Candida* spp. Além disso, foi avaliada a influência de fatores predisponentes no desenvolvimento e na recorrência dessa patologia.

4 Material e método

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

4.1 Materiais

- 1- Meio de cultura Ágar Sabourand Dextrose, Cod. 7150A, produzido pela Acumedia Manufactures Inc., Baltimore, EUA
- 2- Quemicetina 500 mg (cloranfenicol levógiro), comprimidos revestidos, produzida pelos Laboratórios Pfizer Ltda., Jandira, São Paulo
- 3- Cloreto de sódio (P.A.A.C.S.), produzido pela CAQ- Casa da química Indústria e Comércio Ltda., Diadema, São Paulo
- 4- Ponta descartável para micropipeta, fabricada pela Gilson Inc., Middleton, EUA
- 5- Swab oral estéril, fabricado pela Diagnósticos Microbiológicos Especializados, Araçatuba, São Paulo
- 6- Lâmina para microscopia 76 mm x 26 mm, fabricada pela Knittel Gläser, Braunschweig, Alemanha
- 7- Lamínula para microscopia 24 mm x 50 mm, fabricada pela Knittel Gläser, Braunschweig, Alemanha

- 8- Álcool Etílico Absoluto, fabricado pela Labsynth Produtos para Laboratório Ltda., Diadema, São Paulo
- 9- Éter Etílico, fabricado pela Labsynth Produtos para Laboratório Ltda., Diadema, São Paulo
- 10-Xilol, fabricado pela Labsynth Produtos para Laboratório Ltda., Diadema, São Paulo
- 11- Solução de ácido periódico, produzida pela Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA
- 12- Reativo de Schiff, produzido pela Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA
- 13- Hematoxilina nº 3 de Gill, produzida pela Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA
- 14- Papel filtro 60 cm x 60 cm, fabricado pela Comercial Química Americana Ltda., Paulínia, São Paulo
- 15- Escova dental Tek, tamanho médio, cerdas duras, produzida pela Johnson & Johnson Com. e Distribuição Ltda., São Paulo, São Paulo
- 16- Daktarin gel Oral, bisnaga com 40 g, produzido pela Janssen-Cilag Farmacêutica Ltda, São Paulo, São Paulo

4.2 Instrumentos

- 1- Espátula de aço inoxidável nº 31, Duflex Ind. Brasil. Ltda., Juiz de Fora, Minas Gerais
- 2- Placa de Petri Pyrex® 100 x 15 mm, fabricada pela Corning Life Sciences, New York, EUA
- 3- Tubo de ensaio Pyrex® nº9820, fabricado pela Corning Life Sciences, New York, EUA
- 4- Béquer graduado de 600 mL, fabricado pela Labor Quimi Vidrolabor, Poá, São Paulo

- 5- Béquer graduado de 1.000 mL, fabricado pela Labor Quimi Vidrolabor, Poá, São Paulo
- 6- Erlenmeyer graduado, fabricado pela Labor Quimi Vidrolabor, Poá, São Paulo
- 7- Proveta graduada de 1.000 mL, fabricada pela Labor Quimi Vidrolabor, Poá, São Paulo
- 8- Proveta graduada de 100 mL, fabricada pela Labor Quimi Vidrolabor, Poá, São Paulo
- 9- Micropipeta de 20-200 μ L, fabricada pela Boeco, Hamburg, Alemanha
- 10- Micropipeta de 100-1.000 μ L, fabricada pela Boeco, Hamburg, Alemanha
- 11- Bico de Bunsen, fabricado pela OGP Produtos Odontológicos, São Paulo, São Paulo
- 12- Alça de Drigalsky, fabricada pela Labor Quimi Vidrolabor, Poá, São Paulo
- 13- Berço de vidro com ranhuras e alça de aço inox, ref. 76325 B, para coloração de lâminas de microscopia 26 mm x 76 mm, fabricado pela Comercial Química Americana Ltda., Paulínia, São Paulo
- 14- Cuba de vidro ref. 76323 B, fabricada pela Comercial Química Americana Ltda., Paulínia, São Paulo
- 15- Funil de vidro analítico liso com haste longa e ângulo de 60°, fabricada pela Comercial Química Americana Ltda., Paulínia, São Paulo

4.3 Equipamentos

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

Modelo: PA 115

Nº 12898

- 8- Microondas de dupla emissão de ondas, fabricado pela Brastemp, Manaus, Amazonas

Modelo: Sensor Crisp 27 – DES (Double Emission System)

- 9- Máquina fotográfica digital Sony, fabricada pela Sony Corporation, Tokyo, Japão

Modelo: Cyber-shot DSC-F828

- 10- Microscópio ótico Olympus, fabricado pela Olympus Latin America Inc., Miami, EUA

Modelo: BX 51

4.4 Métodos

4.4.1 Critérios para a seleção dos pacientes

Para a realização da presente pesquisa, foram selecionados 60 indivíduos saudáveis, entre homens e mulheres com idade entre 35 e 90 anos e portadores de estomatite protética nas áreas subjacentes às próteses totais superiores. Foram excluídos os pacientes imunocomprometidos, com endocrinopatologias não controladas, que faziam uso de antibióticos e submetidos a radio ou quimioterapia. Este estudo somente foi iniciado após a aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP. Para participar da pesquisa, todos os pacientes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido específico para cada grupo de estudo e devidamente preenchido pelo pesquisador responsável. As cópias dos termos de consentimento livre e esclarecido aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade estão anexos ao Apêndice 1.

Para a seleção dos 60 pacientes, 384 indivíduos usuários de próteses totais superiores foram avaliados por um especialista em Medicina Bucal. Após a avaliação, a estomatite protética foi clinicamente diagnosticada em 74 pacientes. O diagnóstico clínico foi determinado pela presença de eritema em áreas subjacentes à base das próteses totais superiores. Os 74 pacientes foram submetidos a uma anamnese inicial que consistia apenas das questões especificamente relacionadas aos critérios de exclusão adotados para a pesquisa. De acordo com esses critérios, 5 pacientes foram excluídos da pesquisa. Para a confirmação do diagnóstico clínico de estomatite protética dos 69 pacientes remanescentes, foram realizados exames citológicos por esfregaço tanto das áreas eritematosas da mucosa palatina de cada paciente quanto das áreas da superfície interna da prótese total superior correspondentes aos eritemas. Para ser considerada como positiva, a análise microscópica dos esfregaços deveria evidenciar a presença de formas miceliais (pseudohifas e hifas), que é uma característica morfológica indicativa de infecção pelas espécies de *Candida*. O resultado positivo deveria ser observado em, pelo menos, uma das superfícies avaliadas (palato e prótese). O resultado positivo para os exames de esfregaço confirmou o diagnóstico clínico para estomatite protética em 60 pacientes do total de 69 avaliados. Os 9 remanescentes que apresentaram resultado negativo para a patologia em questão foram excluídos da pesquisa.

4.4.2- Anamnese e exame clínico

Os 60 pacientes com diagnóstico positivo para estomatite protética incluídos neste estudo foram inicialmente submetidos a anamnese completa e exame clínico detalhado. Na anamnese, os pacientes foram questionados quanto a uso de medicamentos, estado geral de saúde (anterior e atual) e histórico de saúde familiar. Pela anamnese, também foi possível obter informações sobre idade e gênero do paciente, tempo e

freqüência de uso das próteses atuais e uso de tabaco. As próteses dos pacientes também foram visualmente inspecionadas em relação à presença de biofilme. Outras condições das próteses observadas clinicamente foram retenção, suporte, estabilidade, adaptação e desgaste dos dentes artificiais.

Além disso, foi realizado um exame clínico detalhado das seguintes regiões: palato, mucosa jugal, língua, lábios, orofaringe e dentes (quando presentes na arcada inferior) de cada paciente. Todas as alterações observadas nessas regiões foram devidamente anotadas no esquema representativo da cavidade bucal anexado à ficha clínica. O exame criterioso da região palatina permitiu a classificação da estomatite protética de cada paciente em três tipos clínicos, de acordo com Newton⁷⁵:

- **Tipo I:** Hiperemia puntiforme – caracteriza-se pela presença de áreas puntiformes de inflamação dispersas pela mucosa normal, geralmente próximas aos orifícios dos ductos das glândulas salivares palatinas menores (Figura 1);
- **Tipo II:** Hiperemia difusa - caracteriza-se pela inflamação generalizada sobre a mucosa recoberta pela prótese, a qual se apresenta lisa e atrófica (Figura 2);
- **Tipo III:** Hiperemia granular - caracteriza-se pela mucosa hiperêmica, com aparência nodular, que pode estar presente em toda a região recoberta pela prótese ou, mais freqüentemente, restrita à região central do palato, sobretudo nas áreas sob câmara de sucção das próteses totais (Figura 3).



FIGURA 1- Estomatite protética Tipo I de Newton



FIGURA 2- Estomatite protética Tipo II de Newton



FIGURA 3- Estomatite protética Tipo III de Newton

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

4.4.3 Grupos de estudo

Os 60 pacientes selecionados foram igualmente distribuídos em 4 grupos de 15 indivíduos, de acordo com o tratamento: G0 (controle) – higienização das próteses e remoção das mesmas no período noturno; G1 – desinfecção das próteses por microondas; G2 – desinfecção das próteses por microondas e utilização de medicação antifúngica tópica e G3 – utilização de medicação antifúngica tópica. Os tratamentos foram instituídos por um período de 30 dias, e os pacientes avaliados antes (0 dia), durante (15 dias) e ao final do tratamento (30 dias). Para avaliar a efetividade dos tratamentos propostos a longo prazo, os pacientes também foram analisados após 30 e 60 dias decorridos da suspensão dos mesmos. Durante os três meses de avaliação, cada paciente recebeu do pesquisador responsável uma escova dental ao mês.

➤ Grupo Controle

Os 15 pacientes do Grupo Controle (G0) foram orientados a realizar a higienização de suas próteses. Inicialmente, os pacientes foram instruídos a realizar a limpeza de sua prótese total superior com escova dental e sabão de coco¹². Em seguida, a prótese deveria ser enxaguada e, então, escovada com dentífrico. Foi ressaltado que a escova de higienização da prótese total superior não deveria ser utilizada para outro fim, sendo necessária outra (s) escova (s) para a limpeza da língua, da prótese inferior e/ou dos dentes remanescentes. Os pacientes portadores de prótese removível inferior, parcial ou total, também foram instruídos a higienizá-las com uma outra escova dental. Aqueles com dentes remanescentes inferiores foram devidamente orientados em relação à higienização com escova dental e dentífrico e à utilização do fio dental. Todos os pacientes foram

devidamente instruídos quanto à importância e à necessidade de higienização da língua por meio de escova dental ou raspador de língua. Os procedimentos de higienização da (s) prótese (s), língua e dos dentes remanescentes (quando presentes) deveriam ser realizados quatro vezes ao dia, após as principais refeições e antes de dormir. Além disso, todos os pacientes foram instruídos a não utilizar sua (s) prótese (s) para dormir, devendo mantê-la (s), nesse período, individualmente imersa (s) em recipiente limpo contendo água filtrada. Os pacientes foram orientados verbalmente e por escrito, e as instruções eram reforçadas a cada retorno. Uma cópia das recomendações por escrito, com conteúdo de teor acessível aos pacientes, está anexa ao Apêndice 1. Os pacientes do G0 foram orientados a seguir apenas as instruções anteriormente descritas.

➤ **Grupo 1**

Os 15 pacientes selecionados para o Grupo 1 (G1) foram instruídos em relação aos mesmos procedimentos de higienização e remoção das próteses no período noturno descritos para o G0. Além disso, esses pacientes também tiveram suas próteses totais superiores irradiadas por microondas. Para este procedimento, realizado pelo pesquisador responsável, cada prótese foi cuidadosamente imersa em um bquer contendo 200 mL de água destilada estéril e irradiada em forno de microondas a 650 W por 6 minutos (Figura 4)^{73,74,94}.

O bquer contendo a prótese era sempre colocado no centro do forno de microondas antes da irradiação. Um único operador realizou todas as irradiações de forma padronizada, sempre no mesmo forno. A desinfecção das próteses em microondas foi realizada, para cada pacientes, três vezes por semana, em dias alternados, por um período de 30 dias.

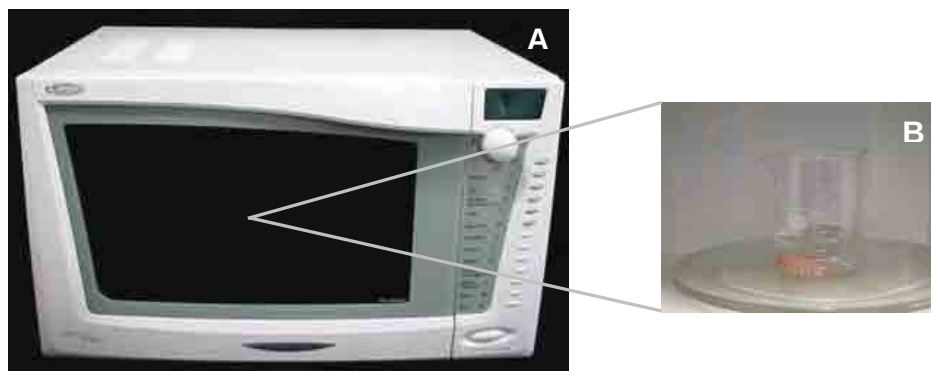


FIGURA 4– Irradiação de uma prótese total superior em microondas. A: Forno de microondas utilizado neste estudo; B: Prótese total superior imersa em 200 mL de água destilada estéril

➤ Grupo 2

Os 15 pacientes selecionados para o Grupo 2 (G2) foram orientados em relação aos mesmos cuidados com a higienização e a remoção das próteses no período noturno previamente descritos para os pacientes do G0. Esses pacientes também tiveram suas próteses irradiadas em microondas, utilizando-se os mesmos procedimentos descritos para o G1. Além disso, esses pacientes foram tratados com antifúngico tópico em gel à base de miconazol (Daktarin gel Oral). Os pacientes foram instruídos a aplicar manualmente o medicamento na superfície interna da prótese total superior limpa e seca e em toda a superfície palatina recoberta pela prótese previamente seca com gaze, três vezes ao dia, por um período de 30 dias. Antes de dormir, os pacientes foram orientados a realizar uma aplicação adicional do antifúngico apenas na mucosa palatina, uma vez que as próteses deveriam ser removidas da cavidade bucal nesse período. Cada paciente recebeu uma bisnaga de antifúngico, suficiente para todo o período de tratamento.

➤ **Grupo 3**

Os 15 pacientes selecionados para o Grupo 3 (G3) receberam as mesmas orientações de higienização da cavidade bucal e das próteses previamente descritas para os pacientes do G0. Os pacientes também foram incentivados a não dormir com suas próteses, deixando-as imersas em recipiente com água filtrada. Para esses pacientes, também foi administrada a medicação antifúngica tópica (Daktarin gel Oral) utilizada para o G2, sendo adotada a prescrição anteriormente descrita.

4.4.4 Métodos para avaliação dos tratamentos

Para a avaliação da efetividade dos tratamentos propostos para cada grupo de estudo, três métodos foram adotados: exame citológico por esfregaço, cultura micológica quantitativa e avaliação clínica.

➤ **Exame citológico por esfregaço**

Os exames citológicos por esfregaço foram realizados tanto das áreas eritematosas da mucosa palatina de cada paciente quanto das áreas da superfície interna da prótese total superior correspondentes aos eritemas. O material dos esfregaços foi coletado por meio de raspagem superficial das áreas selecionadas com espátulas de metal nº 31 estéreis. Para cada paciente, foram utilizadas espátulas distintas para cada superfície avaliada (palato e prótese). O material coletado de cada superfície foi friccionado no centro de uma lâmina para microscopia previamente identificada. Imediatamente após a obtenção dos esfregaços, as lâminas foram fixadas em solução de álcool/éter por 30 minutos e, em seguida, coradas pela técnica do PAS (Periodic Acid-Schiff). Os procedimentos de fixação e coloração das lâminas de esfregaço estão detalhadamente

descritos no Apêndice 2. As lâminas coradas foram analisadas em microscópio óptico com aumento de 400 vezes (400X). Ao exame microscópico, os esfregaços foram analisados qualitativamente (presença ou ausência) quanto a formações miceliais (estruturas multicelulares em forma de tubo), que são características marcantes das espécies de *Candida*. As Figuras 5 e 6 ilustram exames citológicos por esfregaços com resultados positivo e negativo, respectivamente, para presença de formas miceliais de *Candida* spp. na superfície interna de uma prótese total superior.

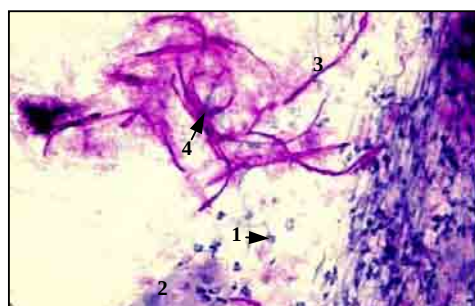


FIGURA 6- Esfregaço citológico da superfície interna de uma prótese total com resultado negativo para formas miceliais de *Candida* spp. 1- blastoporo; 2- célula epitelial; 3- forma micelial ; 4- micélio

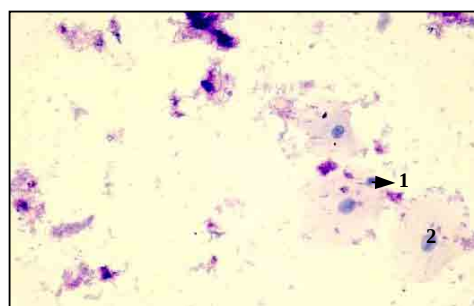


FIGURA 6- Esfregaço citológico da superfície interna de uma prótese total com resultado negativo para formas miceliais de *Candida* spp. 1- blastoporo; 2- célula epitelial

Os esfregaços foram obtidos antes (0 dia), durante (15 dias) e ao final do tratamento (30 dias). Para avaliar a efetividade de cada tratamento a longo prazo, os esfregaços foram também obtidos após 30 e 60 dias decorridos de sua suspensão. Todos os procedimentos descritos para os esfregaços foram realizados em duplicata, sendo obtidas, para cada paciente, duas lâminas da mucosa palatina e duas da superfície interna da prótese total superior em cada período de avaliação.

➤ Cultura micrológica quantitativa

Para a cultura micrológica quantitativa, foram realizadas coletas de material das áreas eritematosas da mucosa palatina de cada paciente e das áreas da superfície interna da prótese total superior correspondentes aos eritemas. As coletas foram realizadas com *swab* oral estéril, sendo utilizado um *swab* para cada superfície avaliada (Figuras 7 e 8).



FIGURA 7- Coleta de material da mucosa palatina de um paciente com *swab* oral



FIGURA 8- Coleta de material da superfície interna de uma prótese total superior com *swab* oral

Após as coletas, cada *swab* foi individualmente imerso em tubo de ensaio contendo 5,0 mL de solução salina estéril. Cada tubo de ensaio foi agitado vigorosamente por 1 minuto para promover a suspensão dos microrganismos aderidos ao *swab*. Uma alíquota de 50 µL da suspensão foi então semeada com alça de Drigalsky estéril em uma placa de Petri contendo ágar Sabourand com 5 µg/mL de cloranfenicol. As placas de Petri

foram incubadas a 37°C por 48 horas, e, então, as colônias viáveis de *Candida* spp. foram contadas em um contador de colônia digital (Figura 9).



FIGURA 9– Contagem de colônias de *Candida* spp. no contador de colônias digital

Após a contagem das colônias, os números de unidades formadoras de colônias (ufc/mL) foram calculados. As culturas micológicas quantitativas foram realizadas, para todos os pacientes, antes (0 dia), durante (15 dias) e ao final do tratamento (30 dias). Para avaliar a efetividade de cada tratamento a longo prazo, as culturas quantitativas foram também realizadas após 30 e 60 dias decorridos de sua suspensão. Os procedimentos descritos para as culturas micológicas quantitativas foram realizados em duplicata, sendo obtidas, para cada paciente, duas placas de Petri da mucosa palatina e duas da superfície interna da prótese total superior em cada período de avaliação.

A preparação de todos os materiais utilizados para o cultivo microbiológico realizado neste estudo está detalhadamente descrita no Apêndice 2.

➤ **Avaliação clínica**

A avaliação clínica de todos os pacientes foi realizada por meio de análise comparativa de fotografias intrabucais do tipo oclusal superior. As fotografias foram realizadas de maneira padronizada, sempre pelo mesmo operador. Três fotografias intrabucais foram obtidas de cada paciente em cada um dos períodos avaliados neste estudo: antes, durante (15 dias) e ao final do tratamento (30 dias). Para avaliar a efetividade de cada tratamento a longo prazo, as fotografias também foram obtidas após 30 e 60 dias decorridos de sua suspensão.

É válido ressaltar que as próteses dos pacientes avaliados foram substituídas após a última avaliação, ou seja, 60 dias após a suspensão de cada tratamento proposto. Isso porque é recomendado que o tratamento de estomatite protética seja realizado antes dessa substituição, com o objetivo de prevenir a contaminação das próteses novas por formas miceliais de *Candida* spp.^{19,37,62}. Além disso, antes de iniciar o tratamento, deve-se remover os possíveis traumas das próteses aos tecidos de suporte¹⁷. Neste estudo, todos os traumas perceptíveis foram removidos antes do tratamento por meio de pequenos desgastes nas bases de resina acrílica. No entanto, como um dos objetivos do presente estudo era avaliar a efetividade a longo prazo, as próteses dos pacientes foram substituídas apenas após a última avaliação.

4.5 Planejamento Experimental

Este trabalho teve por objetivo avaliar a efetividade da desinfecção das próteses totais superiores por energia de microondas no tratamento da estomatite protética. Para isso, foram selecionados 60 pacientes, distribuídos igualmente em quatro grupos de estudo de acordo

com o tratamento instituído: G0 (controle) – higienização das próteses e remoção das mesmas no período noturno; G1 – desinfecção das próteses por microondas; G2 – desinfecção das próteses por microondas e utilização de medicação antifúngica tópica (Daktarin) e G3 – utilização de medicação antifúngica tópica (Daktarin). Os tratamentos propostos para cada grupo de estudo foram avaliados por três métodos: exame citológico por esfregaço, cultura micológica quantitativa e avaliação clínica por fotografias intrabucais.

A avaliação da efetividade de cada tratamento pelos exames citológicos por esfregaço foi determinada qualitativamente pela presença (+) ou ausência (-) das formas miceliais (pseudohifas e hifas) de *Candida* spp. A análise qualitativa foi selecionada porque não é possível controlar a quantidade de material removido das superfícies do palato e da prótese durante a obtenção das lâminas dos esfregaços. A quantidade de material coletado pela técnica de esfregaço varia de acordo com a quantidade de saliva e biofilme presentes nas superfícies examinadas. Assim, não há como quantificar o número de formas miceliais observadas no material coletado pela técnica simples de esfregaço. Neste estudo, durante a realização dos procedimentos para obtenção dos esfregaços citológicos, procurou-se coletar a maior quantidade possível de material presente nas superfícies infectadas por *Candida* spp. (regiões eritematosas da mucosa palatina e áreas correspondentes na superfície interna da prótese). Dessa forma, foi possível assegurar a confiabilidade da técnica, uma vez que mesmo a presença de escassas formas miceliais foi indicativa da presença de infecção inicial ou recorrente pelas espécies de *Candida*.

A avaliação da efetividade de cada tratamento pela cultura micológica de *Candida* spp. foi determinada quantitativamente, por meio

do cálculo do número de microrganismos, em unidades formadoras de colônias por mililitro (ufc/mL). Para o cálculo desses valores, as colônias viáveis de *Candida* spp. presentes nas placas de Petri de cada duplicata foram contadas com o contador de colônias digital. As médias dos números de colônias das duplicatas foram obtidas e, então, os valores de ufc/mL foram calculados. Para esse cálculo, utilizou-se a fórmula a seguir:

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

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

A efetividade de cada tratamento proposto também foi avaliada clinicamente por meio de fotografias intrabucais. Como a avaliação clínica foi subjetivamente realizada, de acordo com a redução dos sinais clínicos de estomatite protética, esse método não foi incluído na análise estatística deste estudo.

Os tratamentos foram considerados efetivos apenas quando o paciente, após 30 dias (final do tratamento), apresentava resultados negativos para os exames citológicos por esfregaços, isto é, com ausência de formas miceliais de *Candida* spp., e redução significativa

do número de colônias viáveis desses microorganismos. É importante enfatizar que esses resultados deveriam ser observados simultaneamente para a mucosa palatina e para a superfície interna da prótese total superior. Assim, para ser efetivo, o tratamento deveria eliminar as formas miceliais e reduzir as colônias viáveis de *Candida* spp. tanto na mucosa palatina quanto na superfície interna da prótese total superior na maioria dos pacientes. Também é importante ressaltar que, apesar de o tratamento do G0 não ter sido suspenso após 30 dias, a denominação utilizada para os demais períodos foi mantida para este grupo com o intuito de facilitar a comparação com os demais grupos de estudo.

Tendo em vista os aspectos anteriormente descritos, a efetividade a longo prazo foi avaliada apenas para os tratamentos considerados efetivos. Os períodos de avaliação a longo prazo foram 30 e 60 dias decorridos da suspensão de cada tratamento proposto. A recorrência da estomatite protética nesses períodos foi determinada pela presença de formas miceliais e/ou colônias viáveis de *Candida* spp. em, pelo menos, uma das superfícies avaliadas (palato e prótese). A comparação de proporções pelo teste do qui-quadrado (χ^2) foi utilizada para determinar possíveis diferenças na recorrência de infecção entre os tratamentos considerados efetivos. Considerou-se significativo um valor de probabilidade p menor que 0,05.

Apesar de o objetivo do presente estudo ter sido inicialmente avaliar a efetividade da desinfecção das próteses totais para o tratamento da estomatite protética, definiu-se que alguns fatores considerados como predisponentes para o desenvolvimento e a recorrência da estomatite protética também deveriam ser incluídos na metodologia do estudo. Esses fatores foram avaliados estatisticamente em relação à prevalência nos pacientes selecionados, homogeneidade de

distribuição entre os grupos de estudo e influência na efetividade de cada tratamento proposto. Os fatores predisponentes incluídos na análise estatística deste estudo foram os seguintes: idade do paciente, tempo (anos) e frequência (horas/dia) de uso da prótese total superior, grau de inflamação da mucosa palatina antes do início do tratamento (tipo de estomatite protética segundo a classificação de Newton), uso de medicamentos indutores de xerostomia (anti-hipertensivos, hipoglicemiantes e ansiolíticos), gênero do paciente e uso de tabaco. É importante ressaltar que, para o G0 (controle), somente foram selecionados pacientes com estomatite protética Tipo I. Essa alteração foi determinada após a realização do estudo piloto, no qual foram selecionados aleatoriamente cinco pacientes para cada grupo avaliado. Antes do início do tratamento (0 dia), um dos cinco pacientes incluídos no grupo controle do estudo piloto apresentava estomatite protética Tipo III, dois apresentavam a patologia em grau moderado (Tipo II) e os outros dois apresentavam a mesma infecção em nível inicial (Tipo I). Ao final de 30 dias de avaliação, nenhum dos cinco pacientes selecionados apresentou evolução favorável para os parâmetros de avaliação adotados. Como seria antiético não tratar os pacientes com presença de sinais e/ou sintomas mais acentuados de estomatite protética (Tipos II e III), os 15 pacientes incluídos no grupo controle deste estudo apresentavam, antes do tratamento, estomatite protética Tipo I. Este grupo foi mantido na pesquisa para a avaliação da efetividade da higienização e da remoção das próteses no período noturno, uma vez que a adoção desses procedimentos foi recomendada como tratamento para os casos iniciais de estomatite protética^{62,83}. Além disso, o G0 foi utilizado como parâmetro para comparação entre os tratamentos adotados para os demais grupos de estudo. Para os Grupos 1, 2 e 3, os pacientes foram selecionados aleatoriamente, independentemente do tipo de estomatite protética

apresentado. Dessa forma, a análise estatística do fator predisponente “grau de inflamação” não foi realizada para o G0.

O teste t de Student ou a análise de variância foram utilizados para a avaliação dos fatores predisponentes que representam variáveis numéricas (idade do paciente, tempo e frequência de uso da prótese), o primeiro método para comparação de duas médias e o segundo para comparação de mais de duas médias simultaneamente. A homogeneidade de variâncias dos grupos de estudo em comparação foi avaliada pelo teste de Levene e a normalidade dos resíduos pelo teste de Shapiro-Wilk. Os testes não-paramétricos de Kruskal-Wallis ou Mann-Whitney foram utilizados para a avaliação do fator predisponente que corresponde à variável ordinal (grau de inflamação). Os fatores predisponentes que representam variáveis nominais (gênero do paciente, uso de medicamentos e uso de tabaco) foram avaliados por meio de comparação de proporções pelo teste do qui-quadrado (χ^2). Considerou-se significativo um valor de probabilidade p menor que 0,05.

5 Resultado

5.1 Efetividade dos tratamentos nos grupos de estudo

5.1.1 Resultados dos exames citológicos por esfregaço e das culturas micológicas quantitativas de *Candida* spp.

Os resultados dos exames citológicos por esfregaço (presença ou ausência de formas miceliais) e das culturas micológicas quantitativas (valores de ufc/mL) de *Candida* spp. referentes à mucosa palatina e à superfície interna da prótese total superior dos pacientes dos Grupos 0, 1, 2 e 3, para os diferentes períodos avaliados, estão apresentados, respectivamente, nas Tabelas A1, A2, A3 e A4 do Apêndice 3. É importante ressaltar que antes de cada tratamento (0 dia), todos os pacientes deveriam apresentar obrigatoriamente exames de esfregaço com resultado positivo (+) em, pelo menos, uma das superfícies avaliadas (palato e/ou prótese). Outro aspecto a ser considerado é que, apesar de o tratamento do G0 não ter sido suspenso após 30 dias, a denominação utilizada para os demais períodos foi mantida neste grupo para facilitar a comparação com os demais grupos de estudo avaliados.

Pelas Tabelas A1 a A4, é possível observar que metade dos pacientes avaliados (n=30) apresentava ausência (-) de formas miceliais de

Candida spp. na mucosa palatina antes do início do tratamento (0 dia). No entanto, a presença (+) dessas estruturas foi inicialmente (0 dia) observada nas próteses totais superiores de todos os pacientes. Embora não tenham sido avaliadas quantitativamente, todas as análises microscópicas dos esfregaços positivos da mucosa palatina (Figura 10) apresentavam claramente menor quantidade de formas miceliais de *Candida* spp. em relação às aquelas obtidas da superfície interna das próteses (Figura 11).

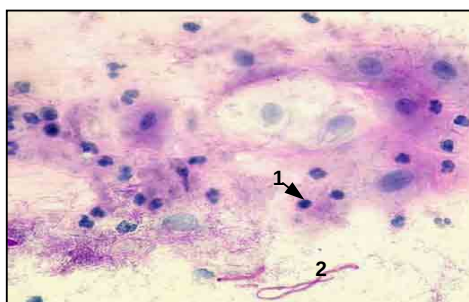


FIGURA 10- Esfregaço da mucosa palatina de um paciente do G3 antes do início do tratamento (0 dia) 1- blastóporo; 2- forma micelial

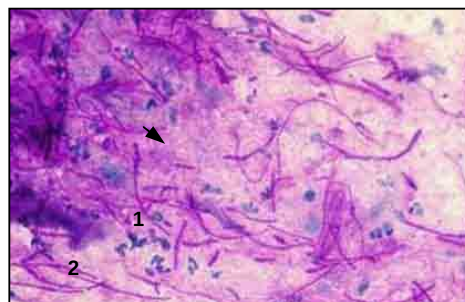


FIGURA 11- Cultura micológica da prótese total superior do mesmo paciente do G3 antes do tratamento (0 dia) 1- blastóporo; 2- forma micelial

Os resultados das culturas micológicas quantitativas antes do início do tratamento (0 dia) demonstraram viabilidade de colônias de *Candida* spp. nas próteses totais superiores de todos os pacientes avaliados (Tabelas A1 a A4). Também em relação às culturas micológicas, é possível notar que, antes do início dos tratamentos, não houve crescimento fúngico visível nas placas de Petri referentes às mucosas palatinas de 21 pacientes (Tabelas A1 a A4). Para os outros pacientes (n=39), as culturas quantitativas da mucosa palatina evidenciaram, em todas as condições avaliadas, menores valores de ufc/mL que as culturas da superfície interna das próteses (Tabelas A1 a A4). As Figuras 12 e 13 ilustram essa diferença nos números de colônias viáveis de *Candida* spp. entre as culturas micológicas da mucosa palatina dos pacientes e as da superfície interna das próteses.



FIGURA 12- Cultura micológica da mucosa palatina de um paciente do G0 antes do tratamento (0 dia)



FIGURA 13- Cultura micológica da prótese total superior do mesmo paciente do G0 antes do tratamento (0 dia)

A efetividade de cada tratamento proposto (G0, G1, G2, G3) foi avaliada a partir dos resultados dos exames de esfregaço e das culturas micológicas quantitativas referentes aos períodos analisados até o final do tratamento. Esses períodos foram: antes (0 dia), durante (15 dias) e ao término do tratamento (30 dias). Para facilitar a interpretação desses resultados, foi construída a Tabela 1. Nessa tabela está apresentado o número de pacientes de cada grupo de estudo que demonstraram presença ou ausência de formas miceliais e de colônias viáveis de *Candida* spp. nas superfícies avaliadas (palato e prótese) para os períodos analisados até o final do tratamento (0, 15 e 30 dias).

Tabela 1 – Número de pacientes dos grupos de estudo com ausência ou presença de formas miceliais e de colônias viáveis de *Candida* spp. na mucosa palatina e superfície interna da prótese total superior, nos períodos antes (0 dia), durante (15 dias) e ao final do tratamento (30 dias)

Grupo	Período	Formas miceliais				Colônias viáveis			
		Palato		Prótese		Palato		Prótese	
		não	sim	não	sim	não	sim	não	sim
G0	0 dia	8	7	0	15	5	10	0	15
	15 dias	8	7	0	15	4	11	0	15
	30 dias	8	7	0	15	5	10	0	15
G1	0 dia	7	8	0	15	5	10	0	15
	15 dias	15	0	15	0	15	0	15	0
	30 dias	15	0	15	0	15	0	15	0
G2	0 dia	7	8	0	15	6	9	0	15
	15 dias	15	0	15	0	15	0	15	0
	30 dias	15	0	15	0	15	0	15	0
G3	0 dia	8	7	0	15	5	10	0	15
	15 dias	10	5	1	14	10	5	3	12
	30 dias	10	5	2	13	10	5	2	13

Sim=presença; não=ausência

Sem a necessidade de se recorrer a procedimentos estatísticos, é possível observar, pela Tabela 1, tanto para o palato quanto para a superfície interna da prótese, que:

a) todos os pacientes do G0 (controle) não apresentaram, após 30 dias de tratamento, nenhuma alteração nas condições (formas miceliais e colônias de *Candida* spp.) observadas inicialmente (0 dia);

b) todos os pacientes dos Grupos G1 e G2 apresentaram, nos períodos durante (15 dias) e após (30 dias) o tratamento, ausência de formas miceliais e colônias de *Candida* spp.;

c) comparado à avaliação inicial (0 dia), somente dois pacientes do G3 não apresentaram de formas miceliais de *Candida* spp. no palato e na prótese ao final do tratamento (30 dias) e, além disso, foram observadas colônias viáveis de *Candida* spp. no palato e na prótese de 5 e 13 pacientes, respectivamente.

Pelos critérios determinados, o tratamento, para ser considerado efetivo, deveria, ao final de 30 dias e para a maioria dos pacientes, eliminar as formas miceliais e reduzir significativamente o número de colônias viáveis de *Candida* spp. tanto na mucosa palatina quanto na superfície interna da prótese total superior. Considerando esses critérios, os resultados apresentados na Tabela 1 demonstram que os cuidados com a higienização das próteses e sua remoção no período noturno, quando utilizados isoladamente (G0), não foram efetivos para o tratamento da estomatite protética dos pacientes. Pelos mesmos critérios, essa patologia foi efetivamente tratada quando as próteses dos pacientes foram irradiadas por microondas, independentemente da associação com a terapia antifúngica tópica (G1 e G2). O antifúngico tópico, quando utilizado isoladamente (G3), não foi efetivo para o tratamento da estomatite protética, uma vez que não eliminou as formas miceliais de *Candida* spp. das superfícies avaliadas (palato e prótese), exceto para dois pacientes, bem como não reduziu significativamente as colônias viáveis de *Candida* spp. na maioria dos casos.

5.1.2 Avaliação das fotografias intrabucais

As fotografias intrabucais das mucosas palatinas dos pacientes do G0 (controle) não evidenciaram, de um modo geral, melhora dos sinais clínicos de estomatite protética (Tipo I). As áreas eritematosas observadas na mucosa palatina dos pacientes antes do tratamento não apresentaram alteração clínica visível nas fotografias obtidas nos demais períodos avaliados. A Figura 14 ilustra fotografias intrabucais de um paciente do G0 obtidas nos períodos antes (0 dia), durante (15 dias), ao final do tratamento (30 dias) e 60 dias após sua suspensão.

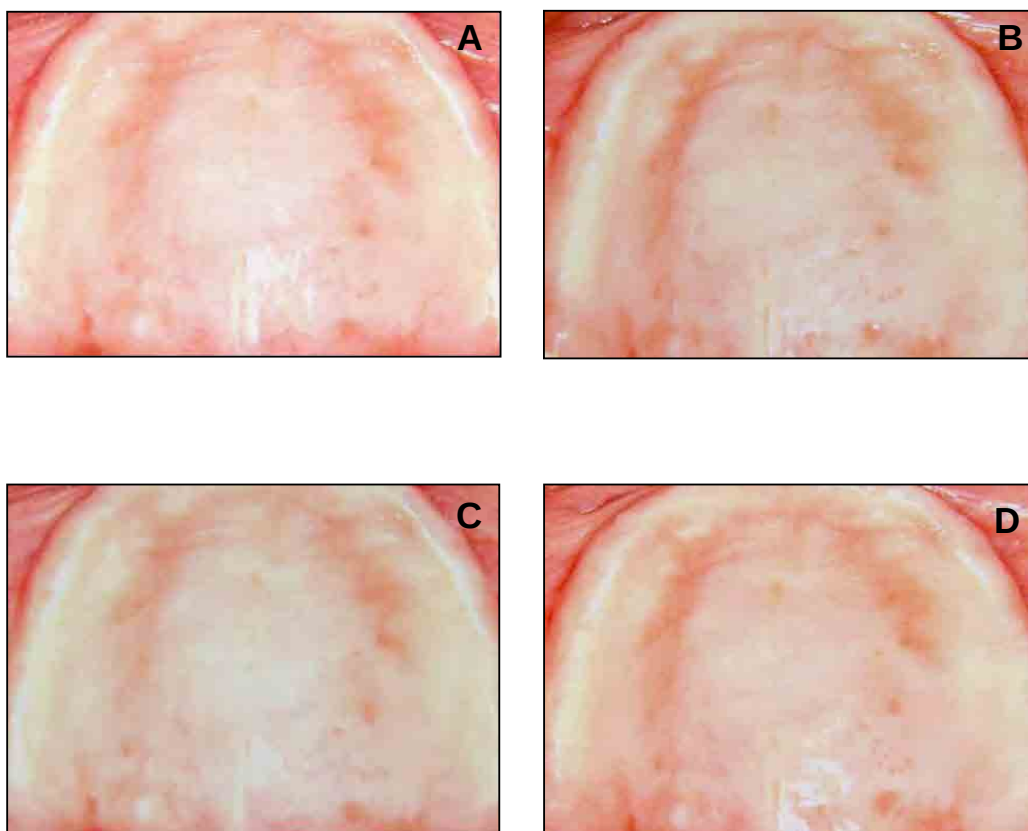


FIGURA 14- Mucosa palatina de um paciente do G0. A : antes do início do tratamento; B: durante o tratamento (15 dias); C: ao final do tratamento (30 dias); D: após 60 dias da suspensão do tratamento

Em comparação à avaliação inicial, as fotografias intrabuciais do G1 obtidas após 15 dias do início do tratamento evidenciaram, em todos os casos, ausência dos sinais clínicos de inflamação na mucosa palatina dos pacientes. Ao final do tratamento, as áreas eritematosas na mucosa palatina dos pacientes apresentaram-se muito claras ou não puderam ser mais observadas visualmente. Esse resultado foi mantido após 30 e 60 dias da suspensão do tratamento. A Figura 15 ilustra fotografias intrabuciais de um paciente do G1 obtidas nos períodos antes (0 dia), durante (15 dias), ao final do tratamento (30 dias) e 60 dias após sua suspensão.

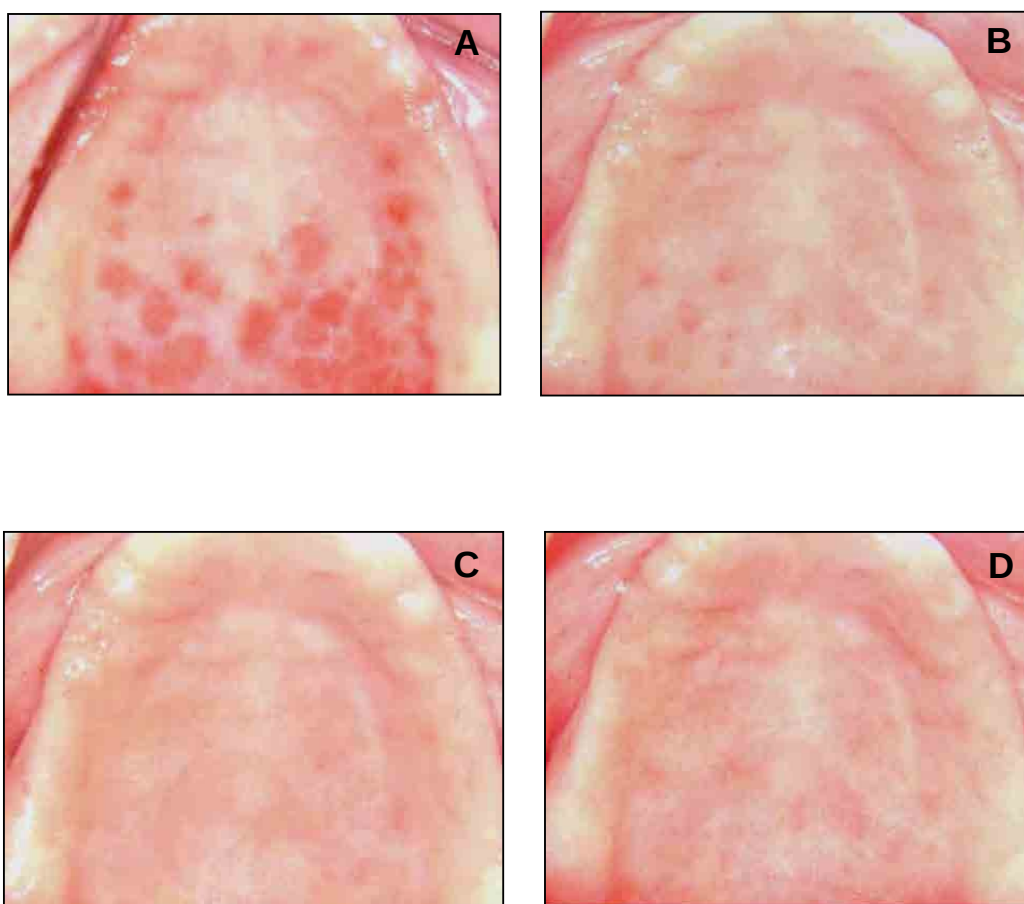


FIGURA 15- Mucosa palatina de um paciente do G1. A : antes do início do tratamento; B: durante o tratamento (15 dias); C: ao final do tratamento (30 dias); D: após 60 dias da suspensão do tratamento

De forma semelhante ao observado para o G1, a avaliação clínica do G2 demonstrou que todos os pacientes não apresentaram mais sinais clínicos de inflamação após 15 dias do início do tratamento. Ao final do tratamento, as áreas eritematosas se tornaram muito suaves ou não puderam ser mais observadas visualmente. Esse mesmo resultado foi observado após 30 e 60 dias da suspensão do tratamento. A Figura 16 ilustra fotografias intrabucais de um paciente do G2 obtidas nos períodos antes (0 dia), durante (15 dias), ao final do tratamento (30 dias) e 60 dias após sua suspensão.

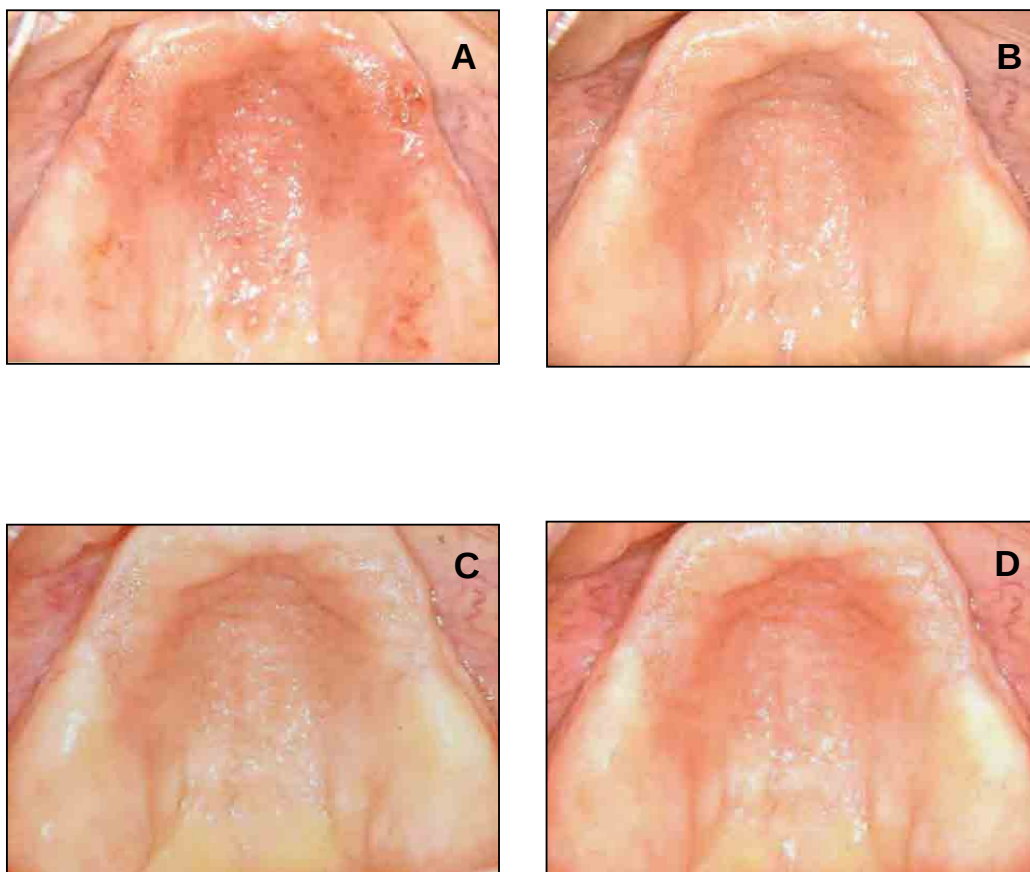


FIGURA 16- Mucosa palatina de um paciente do G2. A : antes do início do tratamento; B: durante o tratamento (15 dias); C: ao final do tratamento (30 dias); D: após 60 dias da suspensão do tratamento

As fotografias das mucosas palatinas dos pacientes do G3 evidenciaram, de um modo geral, melhora considerável dos sinais clínicos de estomatite protética. As áreas palatinas eritematosas observadas antes do tratamento apresentaram-se um pouco menos intensas após 15 dias de seu início. Ao final do tratamento, os eritemas apresentaram-se ainda mais claros, mas visualmente perceptíveis. Após a suspensão do tratamento (30 e 60 dias), os sinais clínicos de inflamação se acentuaram, uma vez que as áreas eritematosas se tornaram mais avermelhadas. A Figura 17 ilustra fotografias intrabucais de um paciente do G3 obtidas nos períodos antes (0 dia), durante (15 dias), ao final do tratamento (30 dias) e 60 dias após sua suspensão.

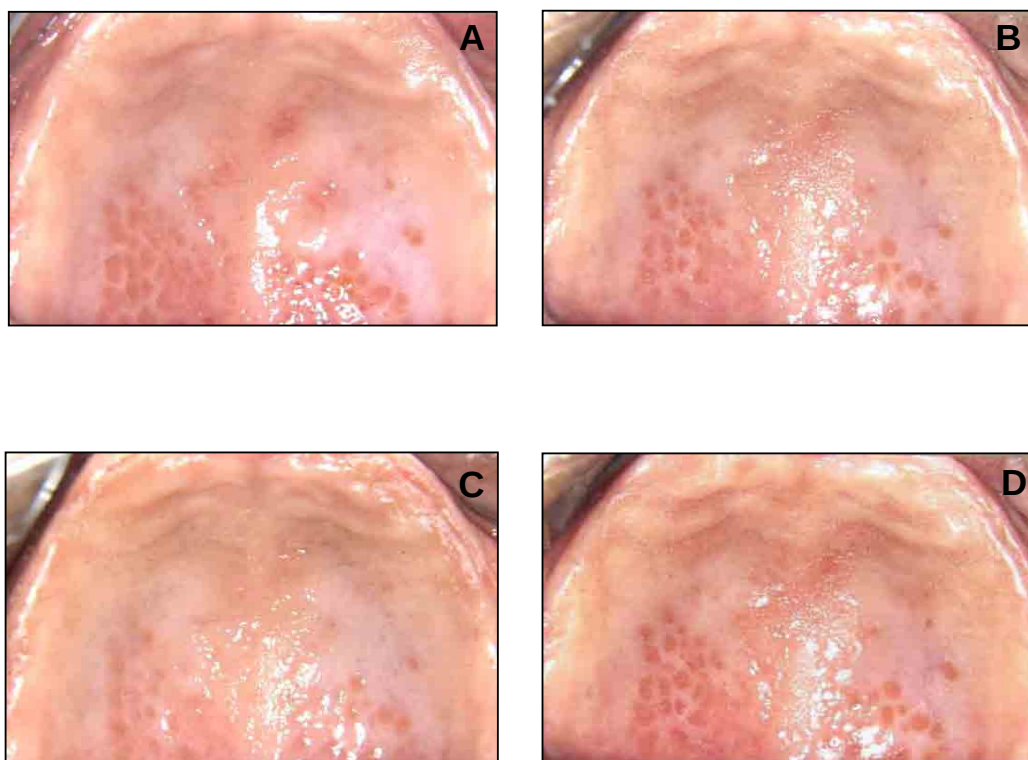


FIGURA 17- Mucosa palatina de um paciente do G3. A : antes do início do tratamento; B: durante o tratamento (15 dias); C: ao final do tratamento (30 dias); D: após 60 dias da suspensão do tratamento

É importante ressaltar que, antes do início do tratamento, apenas quatro pacientes apresentaram sintomatologia dolorosa relacionada à estomatite protética. Desses pacientes, dois eram do G1, um do G2 e um do G3. Esses quatro pacientes relataram desaparecimento dos sintomas após 15 dias do início do tratamento.

5.2 Efetividade dos tratamentos a longo prazo

Pelos resultados anteriores, somente foram considerados efetivos os tratamentos em que as próteses dos pacientes foram irradiadas por microondas, independentemente da aplicação tópica do antifúngico (G1 e G2). Assim, como a efetividade a longo prazo é avaliada de acordo com a recorrência da estomatite protética, a análise estatística para comparar os resultados obtidos nos períodos subseqüentes ao final do tratamento somente foi realizada para os Grupos 1 e 2.

Os resultados dos exames de esfregaço (presença ou ausência de forma miceliais) e culturas quantitativas (valores de ufc/mL) de *Candida* spp. referentes à mucosa palatina e à superfície interna da prótese total superior dos pacientes dos Grupos 1 e 2 nos períodos subseqüentes ao final dos tratamentos (30 e 60 dias) podem ser observados, respectivamente, nas Tabelas A1 e A4 do Apêndice 3. Para facilitar a interpretação desses resultados, foi construída a Tabela 2. Nessa tabela estão apresentados os números e as porcentagens de pacientes dos Grupos 1 e 2 que apresentaram, na mucosa palatina e na superfície interna da prótese total superior, recorrência de estomatite protética (presença de formas miceliais e/ou colônias viáveis de *Candida* spp., nos períodos subseqüentes à suspensão dos tratamentos (30 e 60 dias).

Tabela 2 – Número (n) e porcentagem (%) de pacientes dos grupos G1 e G2 com recorrência de estomatite protética (presença de formas miceliais e/ou colônias viáveis de *Candida* spp.) na mucosa palatina e superfície interna da prótese total superior, nos períodos subseqüentes à suspensão dos tratamentos (30 e 60 dias)

Grupo	Período	Presença de formas micelias de <i>Candida</i> spp.				Presença de colônias viáveis de <i>Candida</i> spp.			
		Palato		Prótese		Palato		Prótese	
		n	%	n.	%	n	%	n	%
G1	30 dias	0	0,0	5	33,3	0	0,0	2	13,3
	60 dias	0	0,0	0	0,0	2	13,3	3	23,1
	Total	0	0,0	5	33,3	2	13,3	5	33,3
G2	30 dias	0	0,0	6	40,0	1	6,7	4	26,7
	60 dias	0	0,0	0	0,0	1	7,1	2	18,2
	Total	0	0,0	6	40,0	2	13,3	6	40,0

Pela Tabela 2, é possível observar que cinco pacientes do G1 (33,3%) e seis pacientes do G2 (40%) apresentaram recorrência da presença de formas miceliais (pseudohifas e/ou hifas) de *Candida* spp. nas próteses em até 60 dias após o final do tratamento. Nenhum desses pacientes apresentou recorrência de formas miceliais na mucosa palatina. Para os dois grupos, a recorrência da presença de formas miceliais de *Candida* spp. na superfície interna da prótese total superior ocorreu em até 30 dias após o final do tratamento. A efetividades dos tratamentos dos Grupos 1 e 2, em relação à recorrência de formas miceliais de *Candida* spp, foram comparadas pelo teste de qui-quadrado (χ^2). Em até 60 dias após o final dos tratamentos, não houve diferença significativa ($p= 0,910$) entre a

efetividade dos tratamentos dos dois grupos em relação à recorrência da presença de formas miceliais de *Candida* spp.

Pela Tabela 2, ainda é possível observar que os mesmos 11 pacientes (36,6%) que apresentaram recorrência de formas miceliais também demonstraram recorrência da presença de colônias viáveis de *Candida* spp. Os resultados do teste de qui-quadrado (χ^2) demonstraram que não houve evidência de diferença significativa entre a efetividade dos tratamentos dos Grupos 1 e 2 em relação à recorrência da presença de colônias viáveis de *Candida* spp. em até 60 dias da suspensão dos mesmos.

É importante comentar que, no presente estudo, apesar de não ter sido proposto avaliar a presença de bactérias, quantidade considerável desses microrganismos foi observada nas superfícies internas das próteses de todos os pacientes avaliados antes do início dos tratamentos. Os esfregaços da mucosa palatina de 12 pacientes também revelaram a presença de pequena quantidade de bactérias. A desinfecção das próteses por microondas, associada ou não ao antifúngico tópico (G1 e G2), reduziu consideravelmente a quantidade de bactérias presentes nas próteses de todos os pacientes. Isso também foi observado para os pacientes que, inicialmente (0 dia), apresentaram bactérias na mucosa palatina. Esses resultados foram mantidos após a suspensão do tratamento com a irradiação por microondas (30 e 60 dias). Os outros tratamentos (G0 e G3) não promoveram alteração na presença das células bacterianas nas superfícies avaliadas (palato e/ou prótese).

As Figuras 18, 19 e 20 ilustram as análises microscópicas (400X) de esfregaços obtidos da mucosa palatina de um paciente do G2 nos períodos antes (0 dia), ao final do tratamento (30 dias) e 60 dias após sua suspensão, respectivamente. As Figuras 21, 22 e 23 ilustram as análises microscópicas (400X) de esfregaços obtidos da superfície interna da prótese

total de paciente do G1, nos períodos, antes (0 dia), ao final do tratamento (30 dias) e 60 dias após sua suspensão, respectivamente.

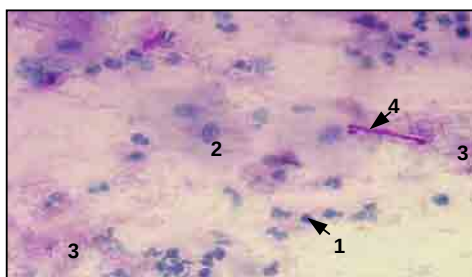


FIGURA 18: Esfregaço citológico da mucosa palatina de um paciente do G2 antes do tratamento. 1- blastoporo; 2- célula epitelial; 3- bactérias; 4- forma micelial

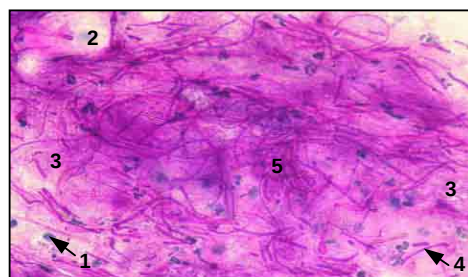


FIGURA 21: Esfregaço citológico da prótese total de um paciente do G1 antes do tratamento. 1- blastoporo; 2- célula epitelial; 3- bactérias; 4- forma micelial; 5- micélio

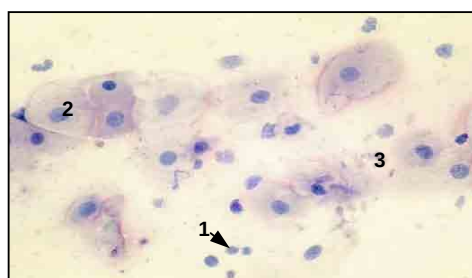


FIGURA 19: Esfregaço citológico da mucosa palatina do mesmo paciente do G2 ao final do tratamento (30 dias). 1- blastoporo; 2- célula epitelial; 3- bactérias

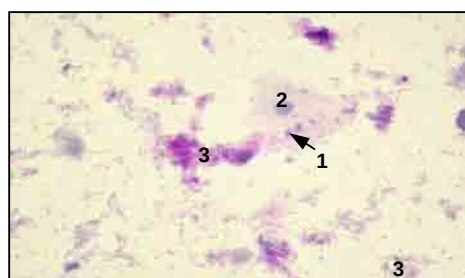


FIGURA 22: Esfregaço citológico da prótese total do mesmo paciente do G1 ao final do tratamento (30 dias). 1- blastoporo; 2- célula epitelial; 3- bactérias

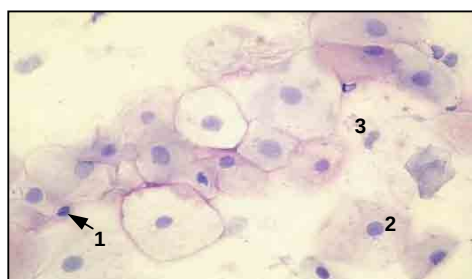


FIGURA 20: Esfregaço citológico da mucosa palatina do mesmo paciente do G2 após 60 dias da suspensão do tratamento. 1- blastoporo; 2- célula epitelial; 3- bactérias

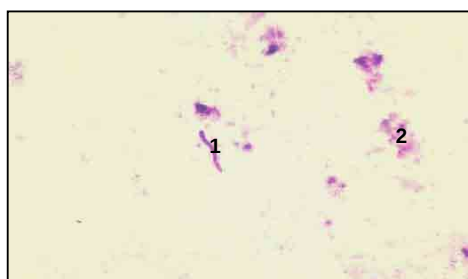


FIGURA 23: Esfregaço citológico da prótese total do mesmo paciente do G2 após 60 dias da suspensão do tratamento. 1- forma micelial; 2- bactérias

Antes do tratamento (Figura 18) é possível observar na mucosa palatina de um paciente do G2 presença de células leveduriformes (blastóporos) de *Candida* spp., células epiteliais descamativas e bactérias. Nota-se, também, a presença de uma única estrutura micelial de *Candida* spp. Após o tratamento (Figura 19), as células epiteliais descamativas e células leveduriformes de *Candida* spp. continuam presentes, mas há ausência de formas miceliais do microrganismo. Algumas escassas células bacterianas são também visíveis. Esse padrão é mantido após 30 e 60 dias (Figura 20) da suspensão do tratamento do G2.

Antes do tratamento (Figura 21), é possível observar na superfície interna da prótese de um paciente do G1 emaranhados de estruturas miceliais (micélios) de *Candida* spp., além da presença de grande quantidade de bactérias. Nota-se, também, a presença de blastóporos de *Candida* spp. e escassas células epiteliais descamativas. Após o tratamento (Figura 21), não são mais observadas as formas miceliais de *Candida* spp., alguns blastóporos são visíveis e as células bacterianas estão presentes em pequena quantidade. A Figura 23 ilustra a recorrência de formas miceliais de *Candida* spp. na prótese. Nesta figura, observa-se uma única estrutura micelial do microrganismo, além da presença de poucas células bacterianas.

5.3 Avaliação dos fatores predisponentes

Nas Tabelas A5, A6, A7 a A8 do Apêndice 3, estão apresentados os dados obtidos por meio da anamnese e exame clínico dos pacientes para os Grupos 0, 1, 2 e 3, respectivamente. Esses dados são

referentes aos fatores predisponentes avaliados neste estudo: gênero do paciente, uso de medicamentos indutores de xerostomia, uso de tabaco, grau de inflamação antes do início do tratamento (tipo de estomatite protética segundo a classificação de Newton), idade do paciente e tempo de uso da prótese total superior. Os dados referentes à frequência de utilização da prótese total superior não foram incluídos nas tabelas nem na análise estatística, uma vez que todos os pacientes (n=60), antes do tratamento, faziam uso contínuo de suas próteses, incluindo o período noturno.

Para facilitar a visualização desses resultados, foi construída a Tabela 3. Nessa tabela, estão apresentadas as medidas descritivas dos fatores predisponentes correspondentes às variáveis numéricas (idade do paciente e tempo de uso da prótese total superior), bem como o número de pacientes por grupo para o fator correspondente à variável ordinal (grau de inflamação) e para os fatores correspondentes às variáveis nominais (gênero do paciente, uso de medicamentos indutores de xerostomia e uso de tabaco).

Tabela 3 – Medidas descritivas (mínimo, máximo, média e desvio padrão) e número de pacientes dos grupos de estudo em relação aos fatores predisponentes avaliados

Variáveis	Medidas descritivas	G0	G1	G2	G3
Idade do paciente (anos)	Mínimo	42	42	40	53
	Máximo	77	79	76	88
	Média	59	65	60	61 *
	Desvio padrão	11	10	11	9
Tempo de uso da prótese (anos)	Mínimo	5	2	4	10
	Máximo	35	50	50	32
	Média	22	25	23	19 **
	Desvio padrão	8	14	16	8
Grau de inflamação	Tipo I	15	3	3	4
	Tipo II	0	8	9	8
	Tipo III	0	4	3	3
	Posto médio	-	24,2	23,0	21,8 ***
Gênero do paciente⁺	Número de pacientes				
	Feminino	12	12	13	11
	Masculino	3	3	2	4
Medicamentos					
Anti-hipertensivos	Não	9	6	6	7
	Sim	6	9	9	8
Hipoglicemiantes ⁺	Não	14	13	15	14
	Sim	1	2	0	1
Ansiolíticos ⁺	Não	9	13	13	15
	Sim	6	2	2	0
Uso de tabaco⁺	Não	14	14	14	12
	Sim	1	1	1	3

⁺ não submetidos à análise estatística

* as médias entre os grupos não diferem significativamente (p= 0,489) entre si

** as médias entre os grupos não diferem significativamente (p= 0,660) entre si

*** G1, G2 e G3 não diferem significativamente (p= 0,864) entre si

Pela Tabela 3, é possível observar que a idade dos pacientes selecionados para os quatro grupos de estudo variou de 40 a 88 anos. A média de idade do número total de pacientes (n=60) foi de 64 anos. O tempo de uso da prótese total superior para os quatro grupos avaliados variou de 2 a 50 anos, sendo a média equivalente a 26 anos.

Como foi previamente explicado, no G0 foram incluídos apenas pacientes com estomatite protética tipo I de Newton. Assim, a prevalência e a homogeneidade dos diferentes tipos de estomatite protética foram avaliadas somente entre os Grupos 1, 2 e 3. Do total de pacientes (n=45) pertencentes a estes grupos, foi observado que 10 (22,2%) apresentaram estomatite protética Tipo I, 25 (55,5%) Tipo II e 10 (22,2%) Tipo III.

A Tabela 3 também evidencia que, para todos os grupos avaliados, houve predominância do gênero feminino em relação ao masculino. Considerando o número total de pacientes avaliados neste estudo (n=60), foi possível observar que 48 (80%) eram mulheres e 12 (20%) eram homens.

Em relação ao uso de medicamentos, é possível observar, pela Tabela 3, que a terapia com anti-hipertensivos foi a mais freqüentemente utilizada pelos pacientes, independentemente do grupo de estudo. Considerando os 60 pacientes avaliados, foi observado que 32 pacientes (53,3%) utilizavam medicamentos anti-hipertensivos, 10 faziam uso de hipoglicemiantes (16,6%) e 4 (6,6%) estavam sob terapia com ansiolíticos.

Nas Tabelas A9 e A10 do Apêndice 3, estão apresentados os sumários das análises de variância realizadas para avaliar a homogeneidade da distribuição dos fatores predisponentes correspondentes às variáveis numéricas (idade do paciente e tempo de uso da prótese total superior) entre os grupos de estudo. As análises de variância não demonstraram, em média, diferença significativa entre os quatro grupos de

estudo em relação à idade dos pacientes ($p= 0,489$) e ao tempo de uso das próteses ($p= 0,660$). Essas tabelas incluem os valores p para comprovar, ao menos aproximadamente, a homogeneidade de variâncias (teste de Levene) e a normalidade dos resíduos (teste de Shapiro-Wilk) exigidas pela análise de variância. Esses resultados evidenciaram que a distribuição dos pacientes entre os diversos grupos de estudo foi homogênea em relação à idade e ao tempo de uso da prótese total superior.

Quanto ao grau de inflamação, foi comprovado estatisticamente, pelo teste de Kruskal-Wallis, que não houve diferença significativa ($p= 0,864$) para a prevalência dos tipos de estomatite protética entre os Grupos 1, 2 e 3. Esse resultado demonstrou a homogeneidade da distribuição dos pacientes entre os três grupos em relação ao grau de inflamação da mucosa palatina antes do início do tratamento (tipo de estomatite protética segundo a classificação de Newton).

Para os fatores correspondentes a variáveis nominais, julgou-se não haver número suficiente de pacientes em relação a gênero, uso de medicamentos hipoglicemiantes e ansiolíticos e uso de tabaco para se proceder a qualquer análise estatística entre os grupos de estudo. As porcentagens de pacientes do gênero masculino e de fumantes observadas neste estudo foram muito restritas para o total amostral de pacientes ($n=60$). Da mesma forma, o número de pacientes que faziam uso de medicamentos hipoglicemiantes e ansiolíticos foi muito limitado em relação ao total amostral. Assim, a análise estatística foi realizada apenas para os medicamentos anti-hipertensivos, utilizados pela maioria dos pacientes (53,3%) selecionados para este estudo. A comparação de proporções pelo teste do qui-quadrado (χ^2) demonstrou que não houve diferença significativa ($p=0,658$) entre o número de paciente que faziam uso de medicamentos anti-hipertensivos nos quatro grupos de estudo.

Tendo em vista a igualdade estatística dos resultados obtidos nos períodos subseqüentes ao final de cada tratamento, os Grupos 1 e 2 foram considerados em conjunto para a avaliação da influência dos fatores predisponentes na efetividade desses tratamentos a longo prazo (30 e 60 dias após sua suspensão). Dessa forma, as análises estatísticas foram realizadas para avaliar a possível influência dos fatores na recorrência de estomatite protética dos pacientes que tiveram suas próteses submetidas à desinfecção por microondas (G1 e G2). Foram avaliados apenas os fatores predisponentes considerados nas análises estatísticas previamente realizadas para prevalência e homogeneidade de distribuição entre os grupos. Esses fatores foram: idade do paciente, tempo de uso da prótese total superior, grau de inflamação (tipo de estomatite protética segundo a classificação de Newton) e uso de medicamentos anti-hipertensivos. Aplicou-se o teste t de Student para a avaliação das médias de idade dos pacientes ou do tempo de uso das próteses. Para avaliar o grau de inflamação, foi utilizado o teste não-paramétrico de Mann-Whitney. Os resultados desses testes estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Avaliação da influência dos fatores na efetividade a longo prazo do tratamento da estomatite protética pela desinfecção das próteses por microondas (G1 e G2).

Variáveis	Medidas descritivas	Recorrência	
		Não	Sim
Idade do paciente (anos)	Mínimo	42	40
	Máximo	73	79
	Média	62,4	62,1
	Desvio padrão	9,5	12,6
Tempo de uso da prótese total superior (anos)	Mínimo	2	25
	Máximo	32	50
	Média	15,1	39,4
	Desvio padrão	8,2	10,0
Grau de inflamação	Mínimo	1	1
	Máximo	1	3
	Média	2,0	2,1
	Posto médio	16,2	15,1
Uso de anti-hipertensivos	Número de pacientes		
	Não	6	6
	Sim	13	5

* não diferem significativamente entre si ($p= 0,946$; teste t de Student)

** diferem significativamente entre si ($p<0,001$; teste t de Student)

*** não diferem significativamente entre si ($p= 0,747$; teste de Mann-Whitney)

**** não diferem significativamente entre si ($p= 0,216$; teste do qui-quadrado)

De acordo com os resultados obtidos com as análises estatísticas, somente há evidência estatística ($p<0,001$) de que o tempo de uso da prótese total superior apresentou influência na efetividade da desinfecção das próteses por microondas (G1 e G2) nos períodos 30 e 60 dias após a suspensão do tratamento. Pela Tabela 4, é possível observar

que a média do tempo de uso das próteses foi de 15,1 anos para os pacientes sem recorrência da estomatite protética e de 39, 4 anos para os pacientes com recorrência dessa patologia. A análise estatística demonstrou que a recorrência de estomatite protética foi significativamente associada aos pacientes que utilizavam a prótese total superior há mais tempo. Não se comprovou diferença estatisticamente significativa para a influência dos fatores idade do paciente ($p= 0,946$), grau de inflamação ($p= 0,747$) e uso de medicamentos anti-hipertensivos ($p= 0,216$) na efetividade dos tratamentos dos Grupos 1 e 2. Os valores de probabilidade (p) dessas comparações e os utilizados para avaliar as condições de homogeneidade de variância (Levene) e de normalidade dos erros experimentais (Shapiro-Wilk) exigidas pelo teste t de Student estão apresentados na Tabela A11 do Apêndice 3.

6 Discussão

A estomatite protética é considerada a lesão bucal mais freqüentemente encontrada nos usuários de próteses totais^{3,31,50}. Apesar de apresentar etiologia multifatorial, essa patologia é primariamente associada à infecção pelas espécies de *Candida*^{3,10,36,57}. Tem sido relatado que aproximadamente 93% dos indivíduos com estomatite protética apresentam infecção por *Candida* spp.¹⁹, sendo a *C. albicans* a espécie encontrada na maioria dos casos^{11,67,69,82,96}. As interações não-específicas de afinidade entre as espécies de *Candida* e as resinas acrílicas permitem a adesão e a colonização das superfícies das próteses por esses microrganismos¹⁷. Na região interna das próteses, onde existe maior rugosidade superficial, a colonização fúngica é ainda mais favorecida, o que levar à infecção da mucosa de suporte⁹⁷. Os processos de adesão, proliferação microbiana e invasão tecidual envolvidos na infecção da mucosa bucal são resultantes de interações específicas entre as espécies de *Candida* e as células epiteliais do hospedeiro¹⁷. Essas interações são associadas aos fatores de virulência desses microrganismos, tais como moléculas de adesão, dimorfismo (formação de micélio), produção de toxinas e enzimas extracelulares^{17,19}. A adesão de *Candida* spp. às superfícies se deve a características químicas e estruturais de sua parede celular. O composto químico que permite a união é uma manoproteína, enquanto a estrutura é uma capa fibrilar que recobre a parede celular¹⁷. O processo de adesão também está associado a outras moléculas, como as adesinas (lectinas e glicoproteínas de superfície) do agente infectante, e a receptores protéicos (laminina, fibronectina e fibrina) presentes na superfície celular das mucosas¹⁷. A formação de pseudohifas e hifas e a rapidez com que as espécies de *Candida* podem variar sua morfologia (dimorfismo) são outras

características de infecciosidade^{17,59,79}. O desenvolvimento de formas miceliais também favorece as infecções fúngicas devido à variabilidade antigênica da superfície e do formato micelial que propicia maior aderência, dificultando a ação fagocitária pelo sistema imune⁵⁰. A liberação de toxinas (toxicoglicoproteínas e candidoxina) ocorre no processo infeccioso e agrava as lesões decorrentes da estomatite protética¹⁹. A degradação da superfície epitelial pela ação de exoenzimas hidrolíticas e o desenvolvimento de resposta hipersensitiva tardia são outros fatores importantes relacionados aos efeitos patogênicos das espécies de *Candida*^{17,67}. As exoenzimas do tipo aspartil proteinases são responsáveis por clivar anticorpos, hemoglobina, colágeno e mucina do hospedeiro⁶⁷. Já as fosfolipases apresentam dupla importância na ação infecciosa por *Candida* spp., uma vez que podem atuar no controle do crescimento fúngico e, ao mesmo tempo, causar danos aos constituintes lipídicos da estrutura celular das superfícies da mucosa infectada¹⁷. Os mecanismos envolvidos nos processos de adesão, proliferação e invasão tecidual são favorecidos, durante as situações de debilidade imunológica do indivíduo, por doenças sistêmicas ou condições locais^{3,19,50}. Todos os aspectos anteriormente mencionados demonstram os mecanismos de infecciosidade das espécies de *Candida* e a sua importância no desenvolvimento da estomatite protética. Por isso, no presente estudo, a efetividade da irradiação por microondas no tratamento de estomatite protética foi avaliada segundo a presença *Candida* spp. na mucosa palatina e na superfície interna das próteses totais.

Neste estudo, os pacientes com estomatite protética foram avaliados de acordo com parâmetros clínicos e micológicos. A avaliação micológica foi realizada por exames citológicos por esfregaço e culturas micológicas quantitativas. A associação desses dois métodos é considerada satisfatória para o estabelecimento do diagnóstico e da avaliação da efetividade do tratamento para estomatite protética associada à

Candida spp.^{10,17,50,79}. O exame citológico por esfregaço foi selecionado para este estudo uma vez que a presença de formas miceliais (pseudohifas/hifas) de *Candida* spp. nos esfregaços obtidos da mucosa palatina e da superfície interna das próteses é considerada a característica mais marcante da infecção por esse microrganismo^{10,36,79}. A cultura micológica obtida com coletas por *swab* oral foi utilizada para complementar a técnica de esfregaço. Como as culturas nas placas de Petri são avaliadas macroscopicamente quanto ao número de colônias viáveis de *Candida* spp., não é possível distinguir as formas miceliais (invasivas) das leveduriformes (comensais)⁵⁹. No entanto, os resultados obtidos com as culturas micológicas por *swab* possibilitaram comparar a quantidade de *Candida* spp. da mucosa bucal com a da prótese, o que não foi possível avaliar em outros estudos^{55,57,83}, nos quais apenas uma das superfícies (palato ou prótese) foi analisada. A avaliação clínica também foi incluída neste estudo visto que tanto o diagnóstico quanto a avaliação da efetividade do tratamento devem estar embasados nos achados micológicos associados aos sinais e sintomas clínicos e não isoladamente em um desses parâmetros¹¹. Além disso, é possível analisar se há correlação entre os resultados clínicos e os micológicos em relação à efetividade do tratamento¹¹. Não foram realizados exames sorológicos para *Candida* spp., uma vez que a aglutinação, a hemaglutinação, a precipitação e a imunofluorescência de anticorpos são também encontradas em indivíduos saudáveis²⁰. A cultura quantitativa de *Candida* spp. na saliva também não foi realizada pois os resultados poderiam estar ocultos em pacientes portadores de outras alterações patológicas²⁰. Neste estudo, também não foram obtidas biópsias para a análise histológica da mucosa bucal acometida pela estomatite protética porque a presença de formas invasivas de *Candida* spp. não é observada nas camadas do tecido inflamado^{20,50,79}. Além da necessidade de várias secções das amostras para o exame histológico, a biópsia abrange uma área restrita da cavidade bucal,

ao contrário dos esfregaços e das culturas por *swab* oral, que podem ser obtidos de diferentes regiões da cavidade bucal.⁷⁹ Pelos resultados obtidos a partir dos parâmetros clínicos e micológicos adotados pelo presente estudo, foi possível avaliar a efetividade da desinfecção das próteses por microondas, comparando-a com outros tratamentos, e, ao mesmo tempo, determinar a importância de fatores predisponentes dos pacientes avaliados no desenvolvimento e na recorrência da estomatite protética associada a *Candida* spp.

Os resultados demonstraram que, antes do início dos tratamentos propostos para os grupos de estudo, os esfregaços iniciais (0 dia) obtidos das próteses totais superiores de todos os pacientes avaliados apresentavam formas miceliais de *Candida* spp. Por outro lado, as mucosas palatinas apresentavam ausência de formas miceliais de *Candida* spp. para metade dos pacientes avaliados (n=30). Apesar de não terem sido avaliadas quantitativamente, as análises microscópicas dos esfregaços da mucosa palatina considerados positivos revelaram claramente menos formas miceliais de *Candida* spp. (Figura 10) em relação às obtidas da superfície interna das próteses (Figura 11). Resultados semelhantes foram observados por outros autores^{3,10,36,57}, que sugeriram ser a infecção da mucosa bucal na estomatite protética associada principalmente à proliferação de formas miceliais de *Candida* na superfície interna das próteses removíveis. Os resultados das culturas micológicas quantitativas avaliadas no presente estudo também sugerem a importância da colonização das próteses por *Candida* spp. na etiologia da estomatite protética. As culturas iniciais (0 dia) demonstraram viabilidade de colônias de *Candida* spp. nas próteses de todos os pacientes avaliados (Tabelas A1 a A4). Antes do início dos tratamentos, não houve crescimento fúngico visível nas placas de Petri referentes às mucosas palatinas de 21 pacientes (Tabela A1 a A4). Para os outros pacientes, as culturas quantitativas da mucosa palatina evidenciaram,

em todas as condições avaliadas, menores valores de ufc/mL que as culturas da superfície interna das próteses (Tabelas A1 a A4 e Figuras 12 e 13). As análises dos esfregaços e das culturas quantitativas obtidos antes do início dos tratamentos sugerem que as próteses removíveis poderiam ser consideradas como reservatórios de microrganismos, principalmente *Candida* spp³⁶. Esses resultados reforçam a necessidade de remoção desses microrganismos para a prevenção e o tratamento da estomatite protética.

Apesar de a infecção por *Candida* spp. ser considerada o principal fator etiológico da estomatite protética, a presença de outros microrganismos também pode estar secundariamente envolvida com a patogenia dessa lesão^{55,58,69,91}. A placa microbiana presente nas próteses com base de resina acrílica é considerada um biofilme complexo, formado por leveduras, bactérias e células epiteliais descamativas⁹¹. As formas mais comuns de bactérias isoladas de biofilmes presentes nas próteses são os bacilos e os cocos, especialmente as espécies de *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Neisseria*, *Lactobacillus* e *Actinomyces*^{69,91}. Tem sido sugerido que, na estomatite protética, as bactérias possivelmente favorecem a adesão de blastóporos (comensais) às superfícies internas das próteses por coagregação⁹¹, o que é ainda mais significativo na presença de dieta rica em carboidratos⁷⁶. Com a adesão fúngica, ocorre aumento da virulência da microflora por interação sinérgica e os blastóporos alteram sua morfologia para micelial, o que resulta em dano às células epiteliais e, conseqüentemente, invasão dos tecidos bucais⁹¹. Kulak et al.⁵⁵ observaram que as culturas obtidas das mucosas palatinas de indivíduos sem estomatite protética demonstraram quantidades consideráveis de *Streptococcus* alfa-hemolítico e *Neisseria*. Para os indivíduos com estomatite protética, foram observadas quantidades significativas de *Candida*, *Streptococcus* alfa-hemolítico e *Neisseria*. Como números significativos de bactérias também

têm sido observados nas culturas da cavidade bucal^{55,58,69} e das próteses^{58,69} de indivíduos saudáveis, não é possível determinar precisamente a relação desses microrganismos com patogenia da estomatite protética⁵⁵. Considerando esses aspectos e tendo em vista a importância da infecção por *Candida* spp. nessa patologia, o presente estudo utilizou métodos para avaliação da presença desse microrganismo. No entanto, os exames citológicos por esfregaços evidenciaram a presença de bactérias nas superfícies internas das próteses de todos os pacientes antes do início dos tratamentos (Figura 21). Pequenas quantidades de bactérias foram também observadas nos esfregaços obtidos das mucosas palatinas de 12 pacientes (Figura 18). Possivelmente, houve coagregação das espécies de *Candida* às bactérias presentes nas superfícies internas das próteses, o que pode ter favorecido ainda mais a adesão e a proliferação fúngica. Essas condições podem ter contribuído para a degradação epitelial da mucosa palatina pelas espécies de *Candida*, resultando em invasão tecidual e desenvolvimento de estomatite protética nos pacientes avaliados no presente estudo^{17,69,91}. Tendo em vista que certas espécies de bactérias podem estar envolvidas na patogenia da estomatite protética, tem sido sugerido que o tratamento dessa patologia deve, ao mesmo tempo, eliminar as formas miceliais de *Candida* spp. e inibir o crescimento bacteriano nas superfícies internas das próteses^{55,91}.

A irradiação por microondas tem sido considerada efetiva para a redução e/ou a eliminação de microrganismos presentes em alimentos^{26,35,78}, instrumentos médicos e laboratoriais^{15,60,86,89,104}, lentes de contato^{47,85}, objetos de uso doméstico⁵¹ e roupas íntimas⁴⁵. Em odontologia, esse procedimento tem sido utilizado como método alternativo para a desinfecção de fresas⁸⁴, peças de mão⁴⁹, modelos de gesso³⁸, próteses removíveis parciais⁸⁴ e totais^{10,94,98}, materiais reembasadores temporários^{13,39}, resinas autopolimerizáveis para reembasamento

imediatos^{73,74} e resinas termopolimerizáveis para bases de próteses^{39,74}. Com o objetivo de obter maior efetividade da desinfecção por microondas, Dixon et al.³⁹ recomendaram a imersão das resinas acrílicas em água. Utilizando esse procedimento, Neppelenbroek et al.^{73,74} avaliaram a efetividade da irradiação por microondas na desinfecção de resinas acrílicas contaminadas com quatro patógenos comumente presentes na microbiota bucal. Os microrganismos *S. aureus* (gram-positivo), *P. aeruginosa* (gram-negativo), *C. albicans* (fungo) e *B. subtilis* (aeróbico esporulado) foram selecionados por serem considerados indicadores na avaliação da efetividade de um método de desinfecção ou esterilização^{32,102}. Os autores observaram que, para os quatro microrganismos, a irradiação por microondas a 650 W por 6 minutos promoveu esterilização dos corpos-de-prova de cinco resinas reembasadoras rígidas e uma resina para base de prótese. A partir desses resultados, Silva et al.⁹⁴ avaliaram a efetividade do mesmo protocolo na desinfecção de próteses totais imersas em água durante a irradiação. Os autores observaram que, após 6 minutos de irradiação a 650 W, as próteses contaminadas com *S. aureus* e *C. albicans* foram esterilizadas e aquelas contaminadas com *P. aeruginosa* e *B. subtilis* foram efetivamente desinfetadas. Os resultados obtidos com os estudos prévios^{73,74,94} sugerem que a irradiação por microondas, do ponto de vista microbiológico, poderia ser considerada efetiva para a redução ou eliminação de microrganismos presentes nas próteses totais. Por isso, o presente estudo avaliou a efetividade da desinfecção de próteses totais superiores por microondas no tratamento de estomatite protética.

A desinfecção das próteses imersas em água por 6 minutos a 650 W, realizada três vezes por semana, por um período de 30 dias, foi efetiva para o tratamento da estomatite protética. Foi demonstrado que, para todos os pacientes dos Grupos 1 e 2, a desinfecção por microondas, independentemente da associação à terapia antifúngica tópica à base de

miconazol (Daktarin), eliminou as formas miceliais e as colônias viáveis de *Candida* spp. tanto nas mucosas palatinas quanto nas superfícies internas das próteses totais superiores. Esses resultados foram observados durante (15 dias) e ao final do tratamento (30 dias). Além disso, a desinfecção das próteses por microondas reduziu consideravelmente a presença de bactérias nas próteses (Figuras 22 e 23) e/ou mucosas palatinas (Figuras 19 e 20) de todos os pacientes. Esses resultados foram mantidos após a suspensão dos tratamentos (30 e 60 dias). As fotografias intrabucais das mucosas palatinas dos pacientes que tiveram suas próteses irradiadas evidenciaram, em todos os casos, ausência dos sinais clínicos de estomatite protética após 15 dias do início dos tratamentos (G1 e G2). Ao final do tratamento, as áreas eritematosas das mucosas palatinas dos pacientes apresentaram-se muito claras ou não puderam ser visualmente observadas. Os resultados do presente estudo podem ser comparados aos observados por Banting e Hill¹⁰, que avaliaram, in vivo, a desinfecção de próteses totais por imersão em clorexidina ou irradiação em microondas como métodos adjuntos no tratamento de estomatite protética. Todos os pacientes receberam terapia antifúngica tópica à base de nistatina por 14 dias e tiveram, nesse período, suas próteses totais superiores submetidas a um dos seguintes tratamentos: irradiação a seco por 1 minuto a 850 W em 3 dias diferentes ou imersão em solução de clorexidina a 0,2% durante a noite. Após 14 dias, os autores observaram a presença de formas miceliais de *C. albicans* em 53% das próteses irradiadas por microondas e em 84% das imersas em clorexidina. Após esse mesmo período, os pacientes cujas próteses foram irradiadas apresentaram uma probabilidade quatro vezes menor de apresentar infecção por *C. albicans* na mucosa palatina que aqueles que tiveram suas próteses imersas em clorexidina. Os resultados obtidos no estudo de Banting e Hill¹⁰ demonstraram que a desinfecção a seco das próteses por microondas associada à terapia tópica com nistatina eliminou a presença de formas

miceliais de *C. albicans* nas superfícies avaliadas (palato e prótese) para um número considerável de pacientes. No presente estudo, a desinfecção das próteses imersas em água por microondas realizada como único tratamento (G1) ou associada à terapia tópica com miconazol (G2) foi igualmente efetiva em eliminar as formas miceliais e as colônias viáveis de *Candida* spp. nas superfícies avaliadas (palato e prótese) para todos os pacientes. As diferenças entre os resultados deste estudo e os obtidos por Banting e Hill¹⁰ podem ser atribuídas aos distintos protocolos utilizados para a desinfecção das próteses. A efetividade da irradiação por microondas no tratamento da estomatite protética observada no presente estudo pode ser atribuída à imersão das próteses durante a irradiação, ao número de desinfecções realizadas e à combinação de tempo e potência adotada. Tem sido sugerido que os materiais imersos em água³⁹ ou umedecidos^{45,51} durante a desinfecção por microondas são aquecidos de forma uniforme, o que aumenta a efetividade do procedimento. A imersão das resinas acrílicas é considerada adequada para eliminar microrganismos, inclusive aqueles localizados no interior dos poros³⁹. Além disso, neste estudo, a prótese total de cada paciente foi submetida a 12 irradiações por microondas, que foram realizadas de acordo com um ciclo de desinfecção previamente definido (650 W/6 minutos)^{73,74,94}. Provavelmente, com a redução da quantidade de bactérias e a eliminação das formas miceliais de *Candida* spp. pela desinfecção por microondas, a adesão de blastóporos às superfícies internas das próteses foi significativamente reduzida, permitindo a recuperação epitelial da mucosa palatina.

O mecanismo pelo qual a energia de microondas atua sobre os microrganismos ainda não foi completamente esclarecido. Alguns autores acreditam que a inativação de microrganismos pela irradiação por microondas é explicada por um efeito térmico^{42,53,103}. No entanto, vários estudos sugerem que, além do calor gerado ao redor dos microrganismos,

existem outros mecanismos resultantes diretamente da interação do campo eletromagnético^{26,35,78,85}. Diversos mecanismos têm sido sugeridos para explicar a natureza da chamada teoria não-térmica. Dependendo da composição química dos microrganismos e de seu meio circundante, as células microbianas podem ser aquecidas seletivamente pelas microondas^{7,26,47,103}. Dessa forma, determinada frequência de energia de microondas pode ser absorvida por certas moléculas biológicas fundamentais, como os ácidos nucleicos⁸⁵. Além disso, o nível de resposta molecular do sistema biológico à quantidade de energia térmica pode também explicar o efeito não-térmico das microondas²⁶. As mudanças estruturais na camada mais periférica ao redor das macromoléculas biológicas podem alterar sua estabilidade e função e, conseqüentemente, essas moléculas podem ser desnaturadas de forma irreversível³⁵. Outras possíveis explicações incluem fenômenos na parede da membrana celular que podem envolver alteração na permeabilidade seletiva e ressonância molecular, o que resulta em clivagem^{24,26,35,78}. Não existe consenso na literatura com relação à presença ou não de efeitos não-térmicos, entretanto há forte indicação de que a presença de água tanto no meio circundante quanto no interior das células influencia as alterações celulares produzidas pelas microondas^{7,24,47,72}. São necessários estudos futuros para avaliar as alterações provocadas pelas microondas em microrganismos, incluindo os aderidos às próteses.

A avaliação da efetividade da desinfecção das próteses por microondas a longo prazo demonstrou que 11 pacientes (36,6%), dos 30 selecionados para os Grupos 1 e 2, apresentaram recorrência da presença de formas miceliais (pseudohifas e/ou hifas) e colônias viáveis de *Candida* spp. nas próteses em até 60 dias após o final do tratamento. Nenhum desses pacientes apresentou recorrência de formas miceliais na mucosa palatina. Não houve diferença significativa entre a efetividade dos tratamentos a longo

prazo para os dois grupos. Esses resultados são comparáveis aos obtidos por Banting e Hill¹⁰ três meses após o tratamento com desinfecção das próteses por microondas. No entanto, é válido ressaltar que esses autores utilizaram a desinfecção por microondas como método adjunto à terapia tópica com nistatina. Assim, não é possível saber o efeito que esse medicamento apresentou no tratamento da estomatite protética dos pacientes. No presente estudo, a associação da desinfecção das próteses por microondas à terapia antifúngica não aumentou a efetividade do tratamento a longo prazo em até 60 dias de avaliação. É importante enfatizar que a recorrência da estomatite protética não foi observada clinicamente, uma vez que as fotografias intrabucais dos pacientes dos Grupos 1 e 2 obtidas ao final dos tratamentos (30 dias) não foram diferentes das obtidas após sua suspensão (30 e 60 dias). A análise estatística dos fatores predisponentes demonstrou que a recorrência da presença de formas miceliais de *Candida* spp. foi observada nas próteses com mais tempo de uso (média de 39,4 anos). Como não houve presença de formas miceliais nas mucosas palatinas em até 60 dias de avaliação, é possível sugerir que a utilização de próteses antigas tenha reduzido a efetividade da desinfecção por microondas a longo prazo. Tem sido relatado que o tempo de uso de próteses removíveis é proporcionalmente maior à medida que o indivíduo envelhece³¹. Em geral, os idosos apresentam certa resistência para restaurar ou substituir suas próteses antigas, o que freqüentemente leva ao desenvolvimento de lesões bucais tais como queilite angular e estomatite protética³¹. Os resultados do presente estudo estão de acordo com os observados por Coelho et al.³¹, que avaliaram a freqüência de lesões bucais associadas ao uso de próteses em 305 pacientes. Os autores verificaram que a estomatite protética foi a lesão mais comum entre as avaliadas e uma maior freqüência dessa patologia nos pacientes com tempo de uso das próteses totais superiores entre 16 e 20 anos. No presente estudo, a maioria

dos pacientes usava a mesma prótese superior por mais de 20 anos. A reabsorção fisiológica do rebordo causa a perda de adaptação das bases de resina acrílica das próteses à mucosa de suporte.⁶² Essa desadaptação possibilita movimentos de fricção das próteses sobre o rebordo, resultando em traumas à mucosa de suporte e reabsorção óssea acelerada^{17,83}. A presença de trauma contínuo pelo uso de próteses inadequadas favorece o desenvolvimento de um processo inflamatório na mucosa de suporte, que se torna menos resistente às infecções⁸³. Por isso, as próteses devem ser periodicamente avaliadas quanto à necessidade de reembasamento e/ou substituição⁸². Além disso, após um período de cinco anos, as próteses geralmente apresentam deterioração das superfícies de resina acrílica (desgastes, manchamento, porosidades e trincas), o que favorece o acúmulo de placa microbiana e subsequente infecção^{62,83}. Assim, é possível sugerir que o tempo de uso das próteses tenha contribuído para o desenvolvimento da estomatite protética uma vez que a maioria dos pacientes utilizava a mesma prótese há pelo menos 20 anos. Mesmo após a instituição dos tratamentos, as próteses mais antigas podem ter favorecido o acúmulo de microrganismos, além de provavelmente causarem microtraumas aos tecidos de suporte. Esses fatores podem justificar a recorrência de formas miceliais de *Candida* spp. nas próteses com mais tempo de uso após o tratamento com microondas. O fato de a recorrência ter sido observada apenas nas próteses reforça a importância da fase de controle para a avaliação da necessidade de reembasamento e/ou substituição das mesmas. Como a adesão de *Candida* spp. às resinas acrílicas é também favorecida pela presença de carboidratos⁷⁶, esse fator deveria ser considerado na recorrência do microrganismo. Devido à redução da força e da capacidade mastigatórias, os indivíduos idosos usuários de próteses removíveis parciais e totais freqüentemente adotam dieta pastosa à base de carboidratos⁷⁶. Esse tipo de dieta promove redução do pH da saliva e favorece a formação de

placa microbiana nos substratos (superfícies das próteses), desenvolvendo um ambiente propício para a adesão e a proliferação de microrganismos patogênicos, incluindo as espécies de *Candida*⁷⁶. No presente estudo, os pacientes eram, na sua maioria, idosos que relataram ingerir diariamente alimentos ricos em carboidratos, tais como pães e bolos. Assim, a dieta poderia ter contribuído, ao menos em parte, para a recorrência de formas miceliais de *Candida* nas próteses desses pacientes.

As análises dos esfregaços dos Grupos 1 e 2 demonstraram a presença de pequenas quantidades de células leveduriformes (blastóporos) na mucosa palatina e na superfície interna das próteses dos pacientes ao final do tratamento com desinfecção por microondas (Figuras 19 e 22) e após 30 e 60 dias (Figuras 20 e 23) da suspensão dos mesmos. Esse resultado era esperado visto ter sido relatado que os usuários de próteses totais sem estomatite protética apresentam quantidades superiores de blastóporos de *Candida* spp. em relação aos não-usuários^{3,21,50,83}. Além disso, após o tratamento com a irradiação por microondas, os esfregaços das mucosas palatinas demonstraram presença de consideráveis quantidades de células epiteliais descamativas. É possível que a eliminação das formas miceliais de *Candida* pela desinfecção das próteses por microondas tenha contribuído para o aumento da resposta de defesa do hospedeiro, resultando em processos de confinamento e proliferação epitelial com posterior descamação⁵⁰.

Neste estudo, utilizou-se um antifúngico tópico tendo em vista que as formas de candidose bucal devem ser apenas tratadas com agentes sistêmicos (cetoconazol e fluconazol) no caso de pacientes com imunodeficiências^{19,62}. Por ser comercializado na forma de gel, o miconazol pode ser aplicado tanto na mucosa palatina quanto na superfície interna da prótese. Isso permitiu sua comparação com a irradiação por microondas, a qual age diretamente na superfície da prótese. O mecanismo de ação do

miconazol consiste principalmente do bloqueio simultâneo da síntese de esteróides e proteínas das membranas das células microbianas gram-positivas, sobretudo fungos e algumas bactérias⁶². A nistatina não foi selecionada para o presente estudo porque é comercializada em forma de solução (Micostatin), sendo aplicada apenas na cavidade bucal (bochecho). Outro aspecto relacionado ao uso da nistatina é a dificuldade de aceitação desse tratamento pelos pacientes devido ao gosto amargo e às reações adversas, como náuseas e vômitos^{50,62}. Essas reações também são comumente observadas na administração tópica de anfotericina B⁶². Um método que poderia ter sido comparado à desinfecção por microondas é a imersão das próteses em solução de digluconato de clorexidina. No entanto, tem sido demonstrado que a clorexidina associada ou não a outros métodos não foi efetiva para o tratamento da estomatite protética^{10,21,57}, além de promover manchamento da resina acrílica das bases das próteses^{10,21} e alteração de cor do epitélio da língua⁵⁷. Outro aspecto a ser considerado na terapia com antifúngicos é a resistência que as espécies de *Candida*, particularmente a *C. albicans*, podem desenvolver na presença desses agentes^{29,58}. Chandra et al.²⁹ observaram que as células de *C. albicans* associadas ao modelo de biofilme em prótese foram resistentes a quatro antifúngicos freqüentemente utilizados para o tratamento da estomatite protética (nistatina, anfotericina B, clorexidina e fluconazol). Todos os fatores anteriormente mencionados foram considerados para determinar a escolha do miconazol (Daktarin) como agente antifúngico tópico utilizado no presente estudo. Entretanto, os resultados demonstraram que o miconazol, quando utilizado isoladamente (G3), não foi efetivo para o tratamento da estomatite protética visto não ter eliminado as formas miceliais nem reduzido significativamente as colônias viáveis de *Candida* spp. das superfícies avaliadas (palato e prótese), exceto para dois pacientes. A falha na terapia com antifúngicos tópicos tem sido, em parte, atribuída aos efeitos diluentes

da saliva e aos movimentos da língua, o que resulta em redução da ação dos agentes em concentrações subterapêuticas^{9,10}. Além disso, tem sido demonstrado que, quando testadas em modelos de biofilmes mistos (bactéria e fungos) produzidos sobre superfícies de resina acrílica, as espécies de *Candida*, sobretudo a *C. albicans*, podem desenvolver resistência aos antifúngicos, reduzindo significativamente os efeitos terapêuticos dos mesmos⁵⁸. Isso possivelmente ocorre porque as espécies de *Candida* podem modular a ação de antibióticos enquanto as bactérias podem afetar a atividade antifúngica dos agentes, resultando em aumento da resistência do biofilme⁵⁸. Neste estudo, com o objetivo de obter maior ação do agente antifúngico, os pacientes foram instruídos a aplicar o gel na mucosa palatina previamente seca com gaze e na prótese limpa e seca que, em seguida, deveria ser colocada novamente em posição na cavidade bucal. Esses procedimentos foram indicados para prevenir os efeitos diluentes da saliva e dos movimentos da língua. Isso sugere que a falha na terapia com miconazol observada no presente estudo poderia estar relacionada a mecanismos de resistência das espécies de *Candida*. São necessários estudos futuros in vivo para confirmar essa hipótese. No entanto, todos os pacientes tratados apenas com miconazol (G3) apresentaram considerável melhora dos sinais clínicos de estomatite protética. Após o tratamento (30 dias) e nos períodos subsequentes à sua suspensão (30 e 60 dias), as áreas eritematosas observadas nas mucosas palatinas dos pacientes do G3 apresentaram-se mais claras, apesar de ainda visualmente perceptíveis. Esses resultados sugerem que a efetividade do tratamento para estomatite protética não deve ser avaliada apenas de acordo com parâmetros clínicos, os quais devem ser sempre relacionados aos resultados obtidos com parâmetros micológicos¹¹.

Tem sido relatado que a sintomatologia na estomatite protética é rara^{19,50}. Neste estudo, inicialmente (0 dia) apenas quatro pacientes, dois do G1, um do G2 e um do G3, apresentaram sintomatologia.

Esses pacientes relataram desaparecimento dos sintomas após 15 dias do início dos tratamentos. Fatores predisponentes locais e sistêmicos associados à infecção crônica causada por *Candida* spp. podem levar à redução da resposta imunológica induzida por células mediadoras, principalmente células T da circulação linfática periférica^{17,19}. A redução da atividade de importantes mediadores do processo inflamatório pode diminuir significativamente o nível de resposta do hospedeiro, incluindo a indução de sintomatologia.¹⁷ Esses fatores poderiam explicar, ao menos parcialmente, a freqüente ausência de sintomas associados à estomatite protética.

A escovação com sabão e/ou dentífrício é o método mais utilizado pelos pacientes para a limpeza das próteses removíveis parciais e totais³¹. O sabão de coco (óleo de coco, hidróxido de sódio, carbonato de sódio, cloreto de sódio e água) é um produto natural e biodegradável que pode ser utilizado na escovação das próteses. Além da ação antimicrobiana, o sabão de coco atua desengordurando as superfícies das próteses, o que facilita a remoção da placa pela escovação com dentífrício¹². No presente estudo, os pacientes do G0 (controle) foram instruídos a escovarem suas próteses com sabão de coco e dentífrício e a não utilizá-las no período noturno. Os resultados demonstraram que todos os pacientes do G0 não apresentaram melhora dos sinais clínicos da estomatite protética nos períodos avaliados. Foi também observado que esse tratamento não eliminou as formas miceliais nem reduziu o número de colônias de *Candida* spp. nas superfícies avaliadas (palato e prótese). Esses resultados estão de acordo com os obtidos por Barnabé et al.¹², que observaram que os números de colônias viáveis de *S. mutans* e *C. albicans* presentes nas próteses totais superiores de 60 pacientes não foram significativamente reduzidos após 15 dias de escovação com sabão de coco, independentemente da associação desse método à imersão em hipoclorito de sódio a 0,5%. Embora não quantificada no presente estudo, a placa microbiana foi visualmente

perceptível antes do início dos tratamentos nas próteses de 57 pacientes. A presença de cálculo também foi observada nas próteses com mais de 20 anos de uso. A remoção efetiva da placa microbiana presente nas próteses pela escovação requer certo grau de destreza manual, que é comumente comprometida em idosos¹⁷. Outro fator que interfere na efetividade da escovação com sabão e/ou dentífrico é a formação de biofilmes nas superfícies das próteses, uma vez que os microrganismos inseridos nesse sistema tornam-se parcialmente protegidos das forças de cisalhamento e da ação de substâncias antimicrobianas⁶⁹. Além disso, as irregularidades e porosidades presentes na superfície da resina acrílica também podem favorecer a penetração de microrganismos nas próteses, dificultando a limpeza pela escovação^{30,37,56}. Sem remoção efetiva da placa microbiana, a mucosa de suporte é sempre reinfectada via prótese^{36,37}. Todos esses aspectos podem ter contribuído para o fato de a escovação com sabão de coco e dentífrico não ter eliminado as formas miceliais nem reduzido as colônias viáveis de *Candida* spp. nas superfícies avaliadas (palato e prótese). No entanto, é importante ressaltar que os profissionais devem orientar seus pacientes a escovarem adequadamente as próteses tendo em vista que esse procedimento reduz consideravelmente a placa microbiana e previne a aderência de microrganismos por meio da remoção de detritos alimentares^{12,82}. Todos os pacientes devem ser também orientados a remover suas próteses no período noturno. Esses cuidados são importantes para a prevenção da estomatite protética, embora não suficientes para seu tratamento.

Entre os fatores predisponentes avaliados, o uso contínuo das próteses totais superiores foi o único presente em todos os pacientes avaliados antes do início dos tratamentos propostos. Tem sido sugerido que o uso contínuo das próteses, principalmente das totais superiores, pode promover traumas aos tecidos de suporte^{3,11,17,19,62,83}. A pressão negativa

que se desenvolve sob uma prótese total superior bem adaptada e com efetivo selado periférico pode traumatizar a mucosa de suporte mesmo sem a presença de outro fator predisponente¹⁷. Além disso, os ductos das glândulas salivares palatinas menores podem ser parcial ou totalmente ocluídos por esse tipo de prótese, o que facilita a colonização por microrganismos patogênicos, sobretudo no período noturno, com a redução fisiológica da salivação⁹³. Outros fatores, como a falta de adaptação das próteses aos tecidos de suporte e a presença de placa microbiana, podem acentuar ainda mais a intensidade do trauma^{11,19}. A mucosa traumatizada se torna inflamada e, portanto, mais susceptível às infecções microbianas, incluindo a estomatite protética associada à *Candida* spp.⁸³. No presente estudo, as próteses totais de todos os pacientes avaliados apresentavam-se insatisfatórias em relação a suporte, retenção, estabilidade, adaptação e/ou desgaste dos dentes artificiais. Assim, o uso contínuo das próteses inadequadas associado à presença de placa microbiana provavelmente favoreceu o desenvolvimento da estomatite protética nos pacientes avaliados. Para minimizar esses problemas, os pacientes de todos os grupos de estudo foram instruídos a higienizar adequadamente suas próteses e a não utilizá-las no período noturno.

Os resultados demonstraram que houve homogeneidade de distribuição dos pacientes entre os grupos de estudo de acordo com os fatores predisponentes avaliados. Assim, a prevalência dos fatores predisponentes pôde ser avaliada entre os pacientes, independentemente do grupo. Para os pacientes avaliados, houve prevalência do gênero feminino, idade superior a 60 anos, estomatite protética Tipo II de Newton⁷⁵, tempo de uso da prótese superior a 20 anos e uso de medicamentos anti-hipertensivos.

A média de idade dos pacientes avaliados neste estudo foi de 64 anos. Esse resultado está de acordo com estudos prévios^{3,11,55,67}, que

sugerem maior prevalência de estomatite protética entre idosos, sobretudo em mulheres entre as 6^a e 7^a décadas de vida. A alta prevalência de estomatite protética em idosos é diretamente associada ao elevado número de usuários de próteses removíveis parciais e totais que pertencem à faixa etária entre 60 e 80 anos^{31,67}. Tem sido relatado que a proporção de indivíduos usuários de próteses totais é significativamente maior na 6^a década de vida em relação à proporção dos usuários de próteses parciais removíveis, que é maior na 5^a década de vida³¹. Isso se deve ao aumento da perda dental com a idade e à conseqüente substituição por próteses totais³¹. A estomatite protética é predominantemente observada na mucosa palatina de usuários de próteses totais superiores. Essa prevalência tem sido atribuída ao fato de a prótese total superior recobrir uma maior área de mucosa quando comparada à prótese total inferior ou prótese parcial removível^{31,36,50}. Dessa forma, a superfície palatina sob as próteses totais é consideravelmente afetada pelo bloqueio do fluxo de anticorpos e agentes antimicrobianos da saliva e da ação mecânica de limpeza da língua⁶². Além disso, como a função mastigatória é significativamente reduzida pelo uso de próteses totais, os idosos freqüentemente apresentam deficiências de importantes nutrientes como ferro, vitamina B e ácido fólico¹⁹. As deficiências nutricionais podem levar à redução da capacidade imunológica do indivíduo, favorecendo o desenvolvimento de infecção por microrganismos oportunistas, tais como as espécies de *Candida*^{19,50}. Outro fator que favorece o desenvolvimento das infecções bucais em idosos, sobretudo os usuários de próteses totais, está relacionado à dieta rica em carboidratos⁷⁶. A maior prevalência de estomatite protética entre idosos têm sido associada também à presença de xerostomia^{19,50,93,96}. Apesar de a função das glândulas salivares ser menor com a idade, essa redução não é considerada clinicamente significativa em indivíduos saudáveis. No entanto, a xerostomia em idosos é freqüentemente observada em decorrência de doenças auto-

imunes (Síndrome de Sjögren), alterações endócrinas, uso de medicamentos indutores de hipossalivação (antihipertensivos, ansiolíticos e hipoglicemiantes) e terapias antineoplásicas de cabeça e pescoço^{93,96}. Além da ação imunológica, a saliva ainda protege os tecidos de traumas mecânicos, sendo considerada fundamental para a manutenção e preservação da saúde e das funções da cavidade bucal⁹³. A xerostomia pode dificultar a retenção das próteses totais causando traumas nos tecidos de suporte e prejuízos à mastigação, fonação e deglutição⁹³. Tem sido sugerido que os componentes da saliva, tais como mucina, fibrinogênio e anticorpos, podem dificultar a adesão de blastóporos e formas miceliais das espécies de *Candida*⁹⁶. Foi demonstrado que existe uma relação inversa entre os elevados valores de ufc/mL de *Candida* spp. e o baixo fluxo de saliva, o que é favorável ao desenvolvimento de estomatite protética e outros tipos de candidoses bucais⁹⁶. No presente estudo, a maioria dos pacientes avaliados (n=49) relatou na anamnese a sensação de “boca seca”, e esse sintoma esteve presente em todos os pacientes com mais de 60 anos. Os pacientes avaliados não apresentavam doenças auto-imunes, diabetes não-controlado e nem estavam sob terapias antineoplásicas (fatores de exclusão). No entanto, 32 pacientes (53,3%) faziam uso de medicação anti-hipertensiva, a maioria com idade acima de 60 anos. Considerando todos os aspectos anteriormente mencionados, é possível que a prevalência de estomatite protética nos indivíduos com mais de 60 anos tenha sido relacionada ao uso de próteses totais superiores, à xerostomia, ao uso de anti-hipertensivos e à dieta rica em carboidratos.

No presente estudo, 80% dos pacientes com estomatite protética eram mulheres e 20% eram homens. Esse resultado está de acordo com os observados em estudos prévios^{31,36} e representa a elevada prevalência de estomatite protética para o gênero feminino^{69,82}. Não há ainda um consenso para explicar porque várias lesões bucais, incluindo a

estomatite protética, são mais freqüentes em mulheres do que em homens. Essa diferença tem sido atribuída ao fato de as mulheres recorrerem mais freqüentemente a tratamento médicos e odontológicos que os homens⁸². Em relação à estomatite protética, tem sido sugerido que as mulheres, por razões estéticas, utilizam suas próteses removíveis por períodos mais longos que os homens. Muitas mulheres utilizam suas próteses continuamente, removendo apenas para higienização³¹. Outro fator que pode contribuir para a alta prevalência de estomatite protética em mulheres está associado às alterações hormonais, principalmente no período após a menopausa⁸³. Tem sido sugerido que, com a menopausa, ocorre atrofia da mucosa bucal concomitantemente à redução da secreção hormonal ovariana⁸³. Com a atrofia, o epitélio bucal se torna menos resistente aos fatores irritantes, como a perda de adaptação das próteses, favorecendo o desenvolvimento de reações inflamatórias e processos infecciosos³¹. Do total de mulheres avaliadas (n=48) no presente estudo, 41 se encontravam no período pós-menopausa. Dessa forma, a prevalência de mulheres entre os pacientes com estomatite protética avaliados neste estudo pode ser atribuída à presença dos seguintes fatores: maior interesse pelo tratamento reabilitador, uso contínuo das próteses e alterações hormonais associadas à menopausa.

Foi demonstrado que, para os pacientes (n=45) pertencentes aos Grupos 1, 2 e 3, houve prevalência de estomatite protética Tipo II de Newton⁷⁵ em relação aos Tipos I e III, que não apresentaram diferenças entre si. Apesar de resultados semelhantes terem sido observados previamente⁸³, não há estudos na literatura disponível que expliquem esse achado clínico.

Mesmo em indivíduos saudáveis, a estomatite protética pode causar danos sérios ao paciente uma vez que a mucosa inflamada é considerada suporte deficiente para a prótese, contribuindo para a reabsorção óssea subjacente¹⁹. Em pacientes imunocomprometidos,

principalmente sob terapias prolongadas com antibióticos, corticosteróides ou medicamentos imunossupressores, a infecção bucal por *Candida* spp. pode se estender para o trato gastrointestinal superior ou para a corrente sanguínea, podendo levar até mesmo à morte^{17,59,62}. Assim, a estomatite protética deve ser sempre prevenida, e, uma vez detectada, seu tratamento deve ser imediato. O presente estudo demonstrou que a desinfecção das próteses totais por microondas foi efetiva para o tratamento da estomatite protética. Esse procedimento também reduziu significativamente a probabilidade de recorrência de formas miceliais de *Candida* spp. nas próteses em até 60 dias após a suspensão do tratamento. Nenhuma alteração estrutural perceptível foi relatada pelos pacientes que tiveram suas próteses irradiadas por microondas. Estudos prévios avaliaram o efeito do ciclo de desinfecção por microondas (650 W/6 minutos) utilizado nesta pesquisa sobre algumas propriedades das resinas acrílicas^{77,81} e dos dentes artificiais²⁵. Foi demonstrado que dois ciclos de desinfecção por microondas não alteraram adversamente a resistência à flexão de quatro materiais para reembasamento definitivo e uma resina para base de prótese⁸¹. Além disso, dois ou sete ciclos de desinfecção por microondas não promoveram efeitos deletérios à porosidade superficial de três materiais para reembasamento imediato e uma resina para base de prótese⁷⁷. Esse procedimento também não promoveu alteração significativa na dureza Vickers de cinco marcas de dentes artificiais de resina acrílica previamente imersos em água por 90 dias²⁵. No entanto, outras propriedades estruturais precisam ser avaliadas para que a desinfecção das próteses por microondas possa ser recomendada como um método seguro para o tratamento de estomatite protética. Estudos futuros são necessários para avaliar o efeito de sucessivos ciclos de desinfecção por microondas (650 W/6 minutos) na resistência de união entre resinas acrílicas e dentes artificiais e na estabilidade dimensional de bases de próteses intactas e reembasadas.

7 Conclusão

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

- independentemente da associação à terapia antifúngica tópica à base de miconazol, a desinfecção das próteses por microondas por 30 dias foi efetiva micológica e clinicamente para o tratamento da estomatite protética dos pacientes avaliados;
- a avaliação da efetividade da desinfecção das próteses por microondas a longo prazo demonstrou, em até 60 dias após a suspensão do tratamento, recorrência de formas miceliais e colônias viáveis de *Candida* spp. nas próteses totais superiores de 36,6% dos pacientes, não sendo, entretanto, observada recorrência de formas miceliais desses microrganismos na mucosa palatina de nenhum deles;
- a recorrência de estomatite protética nos pacientes que tiveram suas próteses irradiadas foi significativamente influenciada pelo maior tempo de uso da mesma prótese total superior;
- apesar de ter resultado em melhora dos sinais clínicos associados à estomatite protética, a terapia antifúngica tópica à base de miconazol, quando utilizada isoladamente, não eliminou as formas miceliais nem

reduziu significativamente as colônias viáveis de *Candida* spp. das superfícies avaliadas (palato e prótese), exceto para dois pacientes;

- quando não associados à desinfecção por microondas, os procedimentos de limpeza das próteses por escovação e de remoção das mesmas no período noturno não foram efetivos no tratamento da estomatite protética dos pacientes avaliados.

8 Referências*

1. ABELSON, D.C. Denture plaque and denture cleansers. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v. 45, n. 4, p. 376-379, Apr. 1981.
2. AKPAN, A.; MORGAN, R. Oral candidiasis. **Postgrad. Med. J.**, London, v. 78, n. 922, p. 455-459, Aug. 2002.
3. ARENDORF, T.M.; WALKER, D.M. Oral candidal populations in health and disease. **Br. Dent. J.**, London, v. 147, n.10, p. 267-272, Nov. 1979.
4. ASAD, T.; WATKINSON, A.C.; HUGGETT, R. The effect of disinfection procedures on flexural properties of denture base acrylic resins. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v. 68. n. 1, p. 191-195, July 1992.
5. ASAD, T.; WATKINSON, A.C.; HUGGETT, R. The effects of various disinfectant solutions on the surface hardness of an acrylic resin denture base material. **Int. J. Prosthodont.**, Lombard, v. 6, n. 1, p. 9-12, Jan./Feb. 1993.
6. ASSERY, M. et al. Control of microbial contamination with commercially available cleaning solutions. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v. 67, p. 275-277, Feb. 1992.
7. ATMACA, S. et al. Effect of microwaves on survival of some bacterial strains. **Acta Microbiol. Immunol. Hung.**, Budapest, v. 43, n. 4, p. 371-378, 1996.
8. ÁXELL, T. et al. A proposal for reclassification of oral candidosis. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 84, n. 2, p. 111-112, Aug. 1997.

* ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação – referências – elaboração. Rio de Janeiro: ABNT, 2002. 24p.

9. BANTING, D.W.; GREENHORN, P.A.; MCMINN, J.G. Effectiveness of a topical antifungal regimen for the treatment of oral candidiasis in older, chronically ill, institutionalized, adults. **J. Can. Dent. Assoc.**, Sacramento, v. 61, n. 3, p. 199-200, 203-205, Mar. 1995.
10. BANTING, D.W.; HILL, S.A. Microwave disinfection of dentures for the treatment of oral candidiasis. **Spec. Care Dentist.**, Chicago, v. 21, n. 1, p. 4-8, 2001.
11. BARBEAU, J. et al. Reassessing the presence of *Candida albicans* in denture-related stomatitis. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 95, n. 1, p. 51-59, Jan. 2003.
12. BARNABÉ, W. et al. Efficacy of sodium hypochlorite and coconut soap used as disinfecting agents in the reduction of denture stomatitis, *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. **J. Oral Rehabil.**, Oxford, v. 31, n. 5, p. 453-459, May 2004.
13. BAYSAN, A.; WHILEY, R.; WRIGHT, P.S. Use of microwave energy to disinfect a long-term soft lining material contaminated with *Candida albicans* or *Staphylococcus aureus*. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v. 79, n. 4, p. 454-458, Apr. 1998.
14. BELL, J.A. The effectiveness of two disinfectants on denture base acrylic resin with an organic load. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v. 61, n. 5, p. 580-583, May. 1989.
15. BORDER, B.G.; RICE-SPEARMAN, L. Microwaves in the laboratory: effective decontamination. **Clin. Lab. Sci.**, Bethesda, v. 12, n. 3, p. 156-160, May/Jun. 1999.
16. BRACE, M.L.; PLUMMER, K.D. Practical denture disinfection. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v. 70, n. 6, p. 538-540, Dec. 1993.
17. BUDTZ-JÖRGENSEN, E. The significance of *Candida albicans* in denture stomatitis. **Scand. J. Dent. Res.**, Copenhagen, v. 82, n. 2, p. 151-190, 1974.

18. BUDTZ-JÖRGENSEN, E. Oral mucosal lesions associated with the wearing of removable dentures. **J. Oral Pathol.**, Copenhagen, v. 10, n. 2, p. 65-80, Apr. 1981.
19. BUDTZ-JÖRGENSEN, E. Etiology, pathogenesis, therapy, and prophylaxis of oral yeast infections. **Acta Odontol. Scand.**, Oslo, v. 48, n.1, p. 61-69, Feb. 1990.
20. BUDTZ-JÖRGENSEN, E. Histopathology, immunology, and serology of oral yeast infections. Diagnosis of oral candidosis. **Acta Odontol. Scand.**, Oslo, v. 48, n. 1, p. 37-43, Feb. 1990.
21. BUDTZ-JÖRGENSEN, E.; LÖE, H. Chlorhexidine as a denture disinfectant in the treatment of denture stomatitis. **Scand. J. Dent. Res.**, Copenhagen, v. 80, n. 6, p. 457-464, 1972.
22. BUTDZ-JÖRGENSEN, E. et al. Fluconazole in the treatment of Candida-associated denture stomatitis. **Antimicrob. Agents Chemother.**, Washington, v. 32, n. 12, p. 1859-1863, Dec. 1988.
23. CALDERONE, R.A.; FONZI, W.A. Virulence factors of *Candida albicans*. **Trends Microbiol.**, London, v. 9, n. 7, p. 327-335, July 2001.
24. CAMPANHA, N.H. **Efeito da irradiação com microondas sobre células de *Candida albicans***. Araraquara, 2005. 156 f. Tese (Doutorado em Reabilitação Oral – Área de Prótese) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2005.
25. CAMPANHA, N.H. et al. Effect of microwave sterilization and water storage on the Vickers hardness of acrylic resin denture teeth. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v. 93, n. 5, p. 483-487, May 2005.
26. CARROL, D.E.; LOPEZ, A. Lethality of radio-frequency energy upon microorganisms in liquid, buffered, and alcoholic food systems. **J. Food. Sci.**, Champaign, v. 34, p. 320-324, 1969.

27. CHAFFIN, W.L. et al. Cell wall and secreted proteins of *Candida albicans*: identification, function, and expression. **Microbiol. Mol. Biol. Rev.**, Washington, v. 62, n. 1, p. 130-180, Mar. 1998.
28. CHAN, E.C. et al. Comparison of two popular methods for removal and killing of bacteria from dentures. **J. Calif. Dent. Assoc.**, San Francisco, v. 57, n. 12, p. 937-939, Dec. 1991.
29. CHANDRA, J. et al. Antifungal resistance of candidal biofilms formed on denture acrylic in vitro. **J. Dent. Res.**, Chicago, v. 80, n. 3, p. 903-908, Mar. 2001.
30. CHAU, V.B. et al. In depth disinfection of acrylic resins. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v. 74, n. 3, p. 309-313, Sep. 1995.
31. COELHO, C.M.; SOUSA, Y.T.; DARE, A.M. Denture-related oral mucosal lesions in a Brazilian school of dentistry. **J. Oral Rehabil.**, Oxford, v. 31, n. 2, p. 135-139, Feb. 2004.
32. COLE, E.C.; ROBISON, R. Test methodology for evaluation of germicides. In: ASCENZI, J.M. **Handbook of disinfectants and antiseptics**. New York: Marcel Dekker Inc, 1996. p. 1-13.
33. COUNCIL ON DENTAL MATERIALS, INSTRUMENTS, AND EQUIPMENT. Denture cleansers. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v. 106, n. 1, p. 77-79, Jan. 1983.
34. CROSS, L.J. et al. Evaluation of the recurrence of denture stomatitis and *Candida* colonization in a small group of patients who received itraconazole. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 97, n. 3, p. 351-358, Mar. 2004.
35. CULKIN, K. A.; FUNG, D.Y.C. Destruction of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* in microwave-cooked soups. **J. Milk Food Technol.**, v. 38, n. 1, p. 8-15, Jan. 1975.
36. DAVENPORT, J.C. The oral distribution of *Candida* in denture stomatitis. **Br. Dent. J.**, London, v. 129, n. 4, p.151-156, Aug. 1970.

- 37.DAVENPORT, J.C. The denture surface. **Br. Dent. J.**, London, v. 133, n. 3, p. 101-105, Aug. 1972.
- 38.DAVIS, D.R.; CURTIS, D.A.; WHITE; J.M. Microwave irradiation of contaminated dental casts. **Quintessence Int.**, Carol Stream, v. 20, n. 8, p. 583-585, Aug. 1989.
- 39.DIXON, D.L.; BREEDING, L.C.; FALER, T.A. Microwave disinfection of denture base materials colonized with *Candida albicans*. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v. 81, n. 2, p. 207-214, Feb. 1999.
- 40.DORKO, E. et al. *Candida*-associated denture stomatitis. **Folia Microbiol**, Praha, v. 46, n. 5, p. 443-446, 2001.
- 41.DREIZEN, S. Oral candidiasis. **Am. J. Med.**, v. 30, v. 77, n. 4D, p. 28-33, Oct. 1984.
- 42.FITZPATRICK, J.A.; KWAO-PAUL, J.; MASSEY, J. Sterilization of bacteria by means of microwave heating. **J. Clin. Eng.**, Frederick , v.3, n. 1, p. 44-47, Jan./Mar. 1978.
- 43.FOTOS, P.G.; VINCENT, S.D.; HELLSTEIN, J.W. Oral candidosis. Clinical, historical, and therapeutic features of 100 cases. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v. 74, n. 1, p. 41-49, July 1992.
- 44.FRASER, V.J. et al. Candidemia in a tertiary care hospital: epidemiology, risk factors, and predictors of mortality. **Clin. Infect. Dis.**, v. 15, n. 3, p. 414-421, Sept. 1992.
- 45.FRIEDRICH Jr., E.G.; PHILLIPS, L.E. Microwave sterilization of *Candida* on underwear fabric. A preliminary report. **J. Reprod. Med.**, St. Louis, v. 33, n. 5, p. 421-422, May 1988.
- 46.HENDERSON, C.V. et al. Evaluation of the barrier system, an infection control system for the dental laboratory. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v. 58, n. 4, p. 517-521, Oct. 1987.

47. HITI, K. et al. Microwave treatment of contact lens cases contaminated with *Acanthamoeba*. **Cornea**, New York, v. 20, n. 5, p. 467-470, July 2001.
48. HOAD-REDDICK, G.; GRANT, A.; GRIFFITHS, C.S. Investigation into the cleanliness of dentures in an elderly population. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v. 64, n. 1, p. 48-52, Mar. 1990.
49. HUME, W.R.; MAKINSON, O.F. Sterilizing dental instruments: evaluation of lubricating oils and microwave radiation. **Oper. Dent.**, Seattle, v. 3, n. 3, p. 93-96, 1978.
50. IACOPINO, A.M.; WATHEN, W.F. Oral candidal infection and denture stomatitis: a comprehensive review. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v. 123, n. 1, p. 46-51, Jan. 1992.
51. IKAWA, J.Y.; ROSSEN, J.S. Reducing bacteria in household sponges. **J. Environ. Health.**, Denver, v. 62, n. 1, p. 1-5, July/Aug. 1999.
52. JAGANATHAN, S.; LIN, C.C. Denture stomatitis: a review of aetiology, diagnosis and management. **Aust. Dent. J.**, Sydney, v. 37, n. 2, p. 107-114, Apr. 1992.
53. JENG, D.K.H. et al. Mechanism of microwave sterilization in the dry state. **Appl. Environ. Microbiol.**, Washington, v. 53, n. 9, p. 2133-2137, Sept. 1987.
54. KÖNSBERG, R., ÅXELL, T. Treatment of *Candida* infected denture stomatitis with a miconazole lacquer. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v. 78, n. 3, p. 306-311, Sept. 1994.
55. KULAK, Y. et al. Scanning electron microscopic examination of different cleaners: surface contaminant removal from dentures. **J. Oral Rehabil.**, Oxford, v. 24, n. 3, p. 209-215, Mar. 1997.
56. KULAK, Y.; ARIKAN, A.; KAZAZOGLU, E. Existence of *Candida albicans* and microorganisms in denture stomatitis patients. **J. Oral Rehabil.**, Oxford, v. 24, n. 10, 788-790, Oct. 1997.

57. LAL, K. et al. Assessment of antimicrobial treatment of denture stomatitis using an in vivo replica model system: therapeutic efficacy of an oral rinse. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v. 67, n. 1, p. 72-77, Jan. 1992.
58. LAMFON, H. et al. Composition of in vitro denture plaque biofilms and susceptibility to antifungals. **FEMS Microbiol. Lett.**, Amsterdam, v. 242, n. 2, p. 345-351, Jan. 2005.
59. LARONE, D.H. **Medically important fungi. A guide to identification.** 3rd ed. Washington: ASM Press, 1995.
60. LATIMER, J.M.; MATSEN, J.M. Microwave oven irradiation as a method for bacterial decontamination in a clinical microbiology laboratory. **J. Clin. Microbiol.**, Washington, v. 6, n. 4, p. 340-342, Oct. 1977.
61. LIN, J.J. et al. Disinfection of denture base acrylic resin. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v. 81, n. 2, p. 202-206, Feb. 1999.
62. LOMBARDI T.; BUDTZ-JÖRGENSEN, E. Treatment of denture-induced stomatitis: a review. **Eur. J. Prosthodont. Restor. Dent.**, Larkfield, v. 2, n. 1, p. 17-22. Sept. 1993.
63. LOVE, W.D. et al. The etiology of mucosal inflammation associated with dentures. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v. 18, n. 6, p. 515-527. Dec. 1967.
64. MAHONEN, K.; VIRTANEN, K.; LARMAS, M. The effect of prosthesis disinfection on salivary microbial levels. **J. Oral Rehabil.**, Oxford, v. 25, n. 4, p. 304-310, Apr. 1998.
65. MARSH, P.D.; PERCIVAL, R.S.; CHALLACOMBE, S.J. The influence of denture-wearing and age on the oral microflora. **J. Dent. Res.**, Chicago, v. 71, n. 7, p. 1374-1381, July 1992.
66. MATHABA, L.T.; DAVIES, G.; WARMINGTON, J.R. The genotypic relationship of *Candida albicans* strains isolated from the oral cavity of

- patients with denture stomatitis. **J. Med. Microbiol.**, v. 42, n. 5, p. 372-379, May. 1995.
67. MCMULLAN-VOGEL, C.G. et al. Serotype distribution and secretory acid proteinase activity of *Candida albicans* isolated from the oral mucosa of patients with denture stomatitis. **Oral Microbiol. Immunol.**, Copenhagen, v. 14, n. 3, p. 183-189, June 1999.
68. MOLINARI, J.A.; RUNNELLS, R.R. Role of disinfectants in infection control. **Dent. Clin. North Am.**, Philadelphia, v. 35, n. 2, p. 323-371, Apr. 1991.
69. MONROY, B.T. et al. *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus mutans* colonization in patients wearing dental prosthesis. **Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal.**, Valencia, v. 10, n.1, p. 27-39, Apr. 2005.
70. MONSENEGO, P. Presence of microorganisms on the fitting denture complete surface: study "in vivo". **J. Oral Rehabil.**, Oxford, v. 27, n. 8, p. 708-713, Aug. 2000.
71. MOSCA, C.O. et al. Isolation of *Candida dubliniensis* in a teenager with denture stomatitis. **Med Oral. Patol. Oral. Cir. Bucal**, Valencia, v. 10, n. 1, p. 28-31, Jan./Feb. 2005.
72. NAJDOVSKI, L.; DRAGAS, A.Z.; KOTNIK, V. The killing activity of microwaves on some non-sporogenic and sporogenic medically important bacterial strains. **J. Hosp. Infect.**, San Diego, v.19, n.4, p. 239-247, Dec. 1991.
73. NEPPELENBROEK, K.H. et al. Effectiveness of microwave sterilization on three hard chairside reline resins. **Int. J. Prosthodont.**, Lombard, v. 16, n. 6, p. 616-620, Nov./Dec. 2003.
74. NEPPELENBROEK, K.H. et al. Microwave sterilization of hard reline resins and denture base resin. Disponível em

http://iadr.confex.com/iadr/brazil04/preliminaryprogram/abstract_56053.htm. Acesso em 05 July 2005.

75. NEWTON, A.V. Denture sore mouth as possible etiology. **Br. Dental J.**, London, v. 112, p. 357-360, 1962.
76. NIKAWA, H. et al. Effects of dietary sugars and, saliva and serum on *Candida* biofilm formation on acrylic surfaces. **Mycopathologia**, Dordrecht, v. 139, n. 2, p. 87-91, 1997.
77. NOVAIS, P.M.R. **Análise da porosidade superficial em materiais reembasadores rígidos. Efeitos de sucessivas irradiações por energia de microondas.** 2005. 171 f. Tese (Doutorado em Reabilitação Oral – Área de Prótese) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2005.
78. OLSEN, C.M. Microwaves inhibit bread mold. **Food. Eng.**, v.37, p. 51-53, 1965.
79. OLSEN, I., STENDERUP, A. Clinical-mycologic diagnosis of oral yeast infections. **Acta Odontol. Scand.**, Oslo, v. 48, n. 1, p. 11-18, Feb. 1990.
80. PAVARINA, A. C. et al. An infection control protocol: effectiveness of immersion solutions to reduce the microbial growth on dental prostheses. **J. Oral Rehabil.**, Oxford, v. 30, n. 5, p. 532-536, May, 2003.
81. PAVARINA, A. C. et al. Effect of microwave disinfection on the flexural strength of hard chairside reline resins. **J. Dent.**, Kidlington, v. 33, p. 741–748, Oct. 2005.
82. PIRES, F.R. et al. Denture stomatitis and salivary *Candida* in Brazilian edentulous patients. **J. Oral Rehabil.**, Oxford, v. 29, n. 11, p. 1115-1119, Nov. 2002.

83. RITCHIE, G.M. et al. The etiology, exfoliative cytology, and treatment of denture stomatitis. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v. 22, n. 2, p. 185-200, Aug. 1969.
84. ROHRER, M.D.; BULARD, R.A. Microwave sterilization. **J. Am. Dent. Assoc.** Chicago, v. 110, n. 2, p. 194-198, Feb. 1985.
85. ROHRER, M.D. et al. Microwave sterilization of hydrophilic contact lenses. **Am. J. Ophthalmol.**, New York, v. 101, n. 1, p. 49-57. Jan. 1986.
86. ROSASPINA, S. et al. Effect of microwave radiation on *Candida albicans*. **Microbios**, Cambridge, v. 78, n. 314, p. 55-59, 1994.
87. RUDD, R.W. et al. Sterilization of complete dentures with sodium hypochlorite. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v. 51, n. 3, p. 318-321, Mar. 1984.
88. SAGRIPANTI, J.L.; BONIFACINO, A. Cytotoxicity of liquid disinfectants. **Surg. Infect.**, Larchmt, v. 1, n. 1, p. 3-14, 2000.
89. SANBORN, M.R.; WAN, S.K.; BULARD, R. Microwave sterilization of plastic tissue culture vessels for reuse. **Appl. Environ. Microbiol.** Washington, v. 44, n. 4, p. 960-964, Oct. 1982.
90. SANTARPIA, R.P. et al. An in vivo replica method for the site-specific detection of *Candida albicans* on the denture surface in denture stomatitis patients: correlation with clinical disease. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v. 63, n. 4, p. 437-443, Apr. 1990.
91. SATO, M. et al. Growth inhibition of oral bacteria related to denture stomatitis by anti-candidal chalcones. **Aust. Dent. J.**, Sydney, v. 42, n. 5, p. 343-346, Oct. 1997.
92. SHEN, C.; JAVID, N.S.; COLAIZZI, F.A. The effect of glutaraldehyde base disinfectants on denture base resins. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v. 61, n. 5, p. 583-589, May 1989.

93. SHIP, J.A.; PILLEMER, S.R.; BAUM, B.J. Xerostomia and the geriatric patient. **J. Am. Geriatr. Soc.**, Malden, v. 50, n. 3, p. 535-543, Mar. 2002.
94. SILVA, M.M. Efetividade da irradiação por microondas na desinfecção de próteses totais. **2005. 140 f. Dissertação (Mestrado em Reabilitação Oral) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2005.**
95. SOLL, D.R. *Candida* commensalism and virulence: the evolution of phenotypic plasticity. **Acta Trop.**, Amsterdam, v. 81, n. 2, p. 101-110, Feb. 2002.
96. TORRES, S.R. et al. Relationship between salivary flow rates and *Candida* counts in subjects with xerostomia. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 93, n. 2, p. 149-154, Feb. 2002.
97. VERRAN, J.; MARYAN, C.J. Retention of *Candida albicans* on acrylic resin and silicone of different surface topography. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v. 77, n. 5, p. 535-539, May 1997.
98. WEBB, B.C. et al. Effectiveness of two methods of denture sterilization. **J. Oral Rehabil.**, Oxford, v. 25, n. 6, p. 416-423, June 1998.
99. WEBB, B. C. et al. *Candida*-associated denture stomatitis. Aetiology and management: a review. Part.3. Treatment of oral candidosis. **Aust. Dent. J.**, Sydney, v. 43, n. 4, p. 244-249, Aug. 1998.
100. WILLIS, A.M. The influence of antifungal drugs on virulence properties of *Candida albicans* in patients with diabetes mellitus. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 91, n. 3, p. 317-321, Mar. 2001.
101. WILSON, J. The etiology, diagnosis and management of denture stomatitis. **Br. Dent. J.**, London, v. 185, n. 8, p. 380-384, Oct. 1998.

102. WU, Q. Effect of high-power microwave on indicator bacteria for sterilization. **IEEE Trans. Biomed. Eng.**, New York, v. 43, n. 7, p. 752-754, July 1996.
103. YEO, C.B. et al. Heat transfer analysis of *Staphylococcus aureus* on stainless steel with microwave radiation. **J. Appl. Microbiol.**, Melbourne, v. 87, n. 3, p. 396-401, Sept. 1999.
104. YOUNG, S.K. et al. Microwave sterilization of nitrous oxide nasal hoods contaminated with virus. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v. 60, n. 6, p.581-585, Dec. 1985.

9 Apêndice

9.1 Apêndice 1

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
(Grupo 0)

Por esse instrumento particular declaro, para os fins éticos e legais, que eu, (nome) _____, (nacionalidade) _____, portador do R.G. n. _____, C.P.F.n. _____ residente à _____, na cidade de _____, Estado de _____, concordo

voluntariamente em participar da pesquisa **“EFETIVIDADE DA DESINFECÇÃO DE PRÓTESES TOTAIS POR ENERGIA DE MICROONDAS NO TRATAMENTO DE ESTOMATITE PROTÉTICA ASSOCIADA À CANDIDA SPP.”**, sob responsabilidade da cirurgiã-dentista Karin Hermana Neppelenbroek e, declaro que tomei ciência e que fui esclarecido de maneira a não restarem quaisquer dúvidas sobre a minha participação no estudo, de acordo com os termos abaixo relacionados:

1 – Fui devidamente esclarecido sobre os conceitos de estomatite protética e, portanto conscientizado que sou portador dessa doença. Fui esclarecido que a referida pesquisa tem por objetivo avaliar os efeitos de vários métodos para o tratamento de estomatite protética. Para tanto, serei submetido a exames clínicos e laboratoriais que possibilitarão constatar o estado atual de minha doença;

2- Declaro que não receberei qualquer tratamento odontológico durante a pesquisa, a menos que minha prótese seja danificada por qualquer procedimento decorrente do tratamento proposto. Após o tratamento, serei encaminhado à Clínica de Prótese Total da Faculdade de Odontologia de Araraquara, onde receberei o atendimento necessário para que novas próteses possam ser confeccionadas;

3- Fui orientado quanto à importância dos meus retornos para avaliação do tratamento. Fui também instruído a respeito da necessidade de colaborar com a limpeza das minhas próteses com escova de dente, sabão de coco e creme dental e de não utilizá-las para dormir. Receberei informações e orientações caso não ocorra melhora da doença após um mês do tratamento;

4- Declaro ter sido esclarecido que estou sujeito aos riscos de adquirir doenças contagiosas durante os procedimentos odontológicos. No entanto, estou ciente que, durante qualquer procedimento da pesquisa, serão seguidos todos os princípios de biossegurança durante os exames, ou seja, o operador estará utilizando óculos de proteção assim como luvas, máscaras e gorros descartáveis e, também, todo o instrumental clínico será esterilizado;

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

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

7- Caso haja qualquer intercorrência odontológica durante minha participação na pesquisa, terei plena liberdade de contatar o pesquisador responsável, Karin Hermana Neppelenbroek, pelo telefone e/ou endereço residenciais - (16) 3335-7698 – Rua Itália, 2111 – Apto 10 – Araraquara – S.P., ou pelo telefone e/ou endereço profissionais - (16) 3301-6410 – Rua Humaitá, 1680 – 4º andar – Araraquara – S.P.;

6- Além disso, estou ciente que possuo plena liberdade de consultar o Comitê de Ética em Pesquisa para qualquer informação adicional em relação a pesquisa da qual participo, pelos seguintes telefones (16) 3301-6432/6434;

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

Araraquara, ... de de 200...

Assinatura do paciente

Karin Hermana Neppelenbroek
Pesquisador responsável

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
(Grupo 1)

Por esse instrumento particular declaro, para os fins éticos e legais, que eu, (nome) _____, (nacionalidade) _____, portador do R.G. n. _____, C.P.F.n. _____ residente à _____

_____, na cidade de _____, Estado de _____, concordo

voluntariamente em participar da pesquisa **“EFETIVIDADE DA DESINFECÇÃO DE PRÓTESES TOTAIS POR ENERGIA DE MICROONDAS NO TRATAMENTO DE ESTOMATITE PROTÉTICA ASSOCIADA À *CANDIDA SPP.*”**, sob responsabilidade da cirurgiã-dentista Karin Hermana Neppelenbroek e, declaro que tomei ciência e que fui esclarecido de maneira a não restarem quaisquer dúvidas sobre a minha participação no estudo, de acordo com os termos abaixo relacionados:

1- Fui devidamente esclarecido sobre os conceitos de estomatite protética e, portanto, conscientizado que sou portador dessa doença. Declaro ter sido esclarecido que a referida pesquisa tem por objetivo avaliar os efeitos de vários métodos no tratamento de estomatite protética. Para tanto, serei submetido a exames clínicos e laboratoriais que possibilitarão constatar o estado atual de minha patologia bem como conhecer os procedimentos do tratamento ao qual me submeterei;

2- Fui esclarecido que minha prótese será submetida ao tratamento com a irradiação em forno de microondas caseiro nos períodos a serem determinados pelo pesquisador responsável. Fui conscientizado que a irradiação por microondas vai ser realizada apenas em minha prótese superior, não havendo atuação direta à minha pessoa. Declaro que não receberei qualquer tratamento odontológico durante a pesquisa, a menos

que minha prótese seja danificada por qualquer procedimento decorrente do tratamento proposto. Após o tratamento, serei encaminhado à Clínica de Prótese Total da Faculdade de Odontologia de Araraquara, onde receberei o atendimento necessário para que novas próteses possam ser confeccionadas;

3- Fui orientado quanto à importância dos meus retornos para avaliação do tratamento e irradiação das próteses. Fui também instruído a respeito da necessidade de colaborar com a limpeza das minhas próteses com escova de dente, sabão de coco e creme dental e de não utilizá-las para dormir. Receberei informações, orientações e tratamento caso não ocorra melhora da doença após um mês de tratamento;

4- Declaro ter sido esclarecido que estou sujeito aos riscos de adquirir doenças contagiosas durante os procedimentos odontológicos. No entanto, estou ciente que, durante qualquer procedimento da pesquisa, serão seguidos todos os princípios de biossegurança durante os exames, ou seja, o operador estará utilizando óculos de proteção assim como luvas, máscaras e gorros descartáveis e, também, todo o instrumental clínico será esterilizado;

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

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

7- Caso haja qualquer intercorrência odontológica durante minha participação na pesquisa, terei plena liberdade de contatar o pesquisador responsável, Karin Hermana Neppelenbroek, pelo telefone e/ou endereço

residenciais - (16) 3335-7698 – Rua Itália, 2111 – Apto 10 – Araraquara – S.P., ou pelo telefone e/ou endereço profissionais - (16) 3301-6410 – Rua Humaitá, 1680 – 4º andar – Araraquara – S.P.;

6- Além disso, estou ciente que possuo plena liberdade de consultar o Comitê de Ética em Pesquisa para qualquer informação adicional em relação a pesquisa da qual participo, pelos seguintes telefones (16) 3301-6432/6434;

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

Araraquara, ... de de 200...

Assinatura do paciente

Karin Hermana Neppelenbroek
Pesquisador responsável

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
(Grupo 2)

Por esse instrumento particular declaro, para os fins éticos e legais, que eu, (nome) _____, (nacionalidade) _____, portador do R.G. n. _____, C.P.F.n. _____ residente à _____, na cidade de _____, Estado de _____, concordo

voluntariamente em participar da pesquisa **“EFETIVIDADE DA DESINFECÇÃO DE PRÓTESES TOTAIS POR ENERGIA DE MICROONDAS NO TRATAMENTO DE ESTOMATITE PROTÉTICA ASSOCIADA À CANDIDA SPP.”**, sob responsabilidade da cirurgiã-dentista Karin Hermana Neppelenbroek e, declaro que tomei ciência e que fui esclarecido de maneira a não restarem quaisquer dúvidas sobre a minha participação no estudo, de acordo com os termos abaixo relacionados:

1- Fui devidamente esclarecido sobre os conceitos de estomatite protética e, portanto, conscientizado que sou portador dessa doença. Declaro ter sido esclarecido que a referida pesquisa tem por objetivo avaliar os efeitos de vários métodos no tratamento de estomatite protética. Para tanto, serei submetido a exames clínicos e laboratoriais que possibilitarão constatar o estado atual de minha patologia bem como conhecer os efeitos do tratamento ao qual me submeterei;

2- Fui esclarecido que minha prótese será submetida ao tratamento com a irradiação em forno de microondas caseiro nos períodos a serem determinados pelo pesquisador. Fui conscientizado que a irradiação por microondas vai ser realizada apenas em minha prótese superior, não havendo atuação direta à minha pessoa. Estou também ciente que serei medicado com uma pomada antifúngica tópica que é utilizada no tratamento

de estomatite protética (Daktarin gel Oral) bem como fui esclarecido quanto à forma e período de utilização desse medicamento. Fui orientado que essa pomada pode provocar reações adversas como náusea, vômito ou diarreia e, ainda, alergias. Caso eu apresente alguma das reações adversas mencionadas, receberei outro tipo de tratamento. Declaro que não receberei qualquer tratamento odontológico durante a pesquisa, a menos que minha prótese seja danificada por qualquer procedimento decorrente do tratamento proposto. Após o tratamento, serei encaminhado à Clínica de Prótese Total da Faculdade de Odontologia de Araraquara, onde receberei o atendimento necessário para que novas próteses possam ser confeccionadas;

3- Fui orientado quanto à importância dos meus retornos para avaliação do tratamento e irradiação das próteses e da correta utilização do medicamento. Fui também instruído a respeito da necessidade de colaborar com a limpeza das minhas próteses com escova de dente, sabão de coco e creme dental e de não utilizá-las para dormir. Receberei informações, orientações e tratamento caso não ocorra melhora da doença após um mês do tratamento;

4- Declaro ter sido esclarecido que estou sujeito aos riscos de adquirir doenças contagiosas durante os procedimentos odontológicos. No entanto, estou ciente que, durante qualquer procedimento da pesquisa, serão seguidos todos os princípios de biossegurança durante os exames, ou seja, o operador estará utilizando óculos de proteção assim como luvas, máscaras e gorros descartáveis e, também, todo o instrumental clínico será esterilizado;

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

6 – Autorizo, para os devidos fins, o uso, a divulgação e publicação dos dados obtidos com a pesquisa em revistas científicas brasileiras ou

estrangeiras. Recebi a garantia do sigilo de minha identidade, assegurando a minha privacidade;

7- Caso haja qualquer intercorrência odontológica durante minha participação na pesquisa, terei plena liberdade de contatar o pesquisador responsável, Karin Hermana Neppelenbroek, pelo telefone e/ou endereço residenciais - (16) 3335-7698 – Rua Itália, 2111 – Apto 10 – Araraquara – S.P., ou pelo telefone e/ou endereço profissionais - (16) 3301-6410 – Rua Humaitá, 1680 – 4º andar – Araraquara – S.P.;

6- Além disso, estou ciente que possuo plena liberdade de consultar o Comitê de Ética em Pesquisa para qualquer informação adicional em relação a pesquisa da qual participo, pelos seguintes telefones (16) 3301-6432/6434;

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

Araraquara, ... de de 200...

Assinatura do paciente

Karin Hermana Neppelenbroek
Pesquisador responsável

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
(Grupo 3)

Por esse instrumento particular declaro, para os fins éticos e legais, que eu, (nome) _____, (nacionalidade) _____, portador do R.G. n. _____, C.P.F.n. _____ residente à _____

_____, na cidade de _____, Estado de _____, concordo

voluntariamente em participar da pesquisa **“EFETIVIDADE DA DESINFECÇÃO DE PRÓTESES TOTAIS POR ENERGIA DE MICROONDAS NO TRATAMENTO DE ESTOMATITE PROTÉTICA ASSOCIADA À *CANDIDA SPP.*”**, sob responsabilidade da cirurgiã-dentista Karin Hermana Neppelenbroek e, declaro que tomei ciência e que fui esclarecido de maneira a não restarem quaisquer dúvidas sobre a minha participação no estudo, de acordo com os termos abaixo relacionados:

1- Fui devidamente esclarecido sobre os conceitos de estomatite protética e, portanto, conscientizado que sou portador dessa doença. Declaro ter sido esclarecido que a referida pesquisa tem por objetivo avaliar os efeitos de vários métodos no tratamento de estomatite protética. Para tanto, serei submetido a exames clínicos e laboratoriais que possibilitarão constatar o estado atual de minha patologia bem como conhecer os efeitos do tratamento ao qual me submeterei;

2- Estou ciente que serei medicado com uma pomada antifúngica tópica que é utilizada no tratamento de estomatite protética (Daktarin gel Oral) bem como fui esclarecido quanto à forma e período de utilização desse medicamento. Fui também orientado que essa pomada pode provocar reações adversas como náusea, vômito ou diarreia e, ainda, alergias. Caso eu apresente alguma das reações adversas mencionadas, receberei outro

tipo de tratamento. Declaro que não receberei qualquer tratamento odontológico durante a pesquisa, a menos que minha prótese seja danificada por qualquer procedimento decorrente do tratamento proposto. Após o tratamento, serei encaminhado à Clínica de Prótese Total da Faculdade de Odontologia de Araraquara, onde receberei o atendimento necessário para que novas próteses possam ser confeccionadas;

3- Fui orientado quanto à importância dos meus retornos para avaliação do tratamento e da correta utilização do medicamento. Fui também instruído a respeito da necessidade de colaborar com a limpeza das minhas próteses com escova de dente, sabão de coco e creme dental e de não utilizá-las para dormir. Receberei informações, orientações e tratamento caso não ocorra melhora da doença após um mês do tratamento;

4- Declaro ter sido esclarecido que estou sujeito aos riscos de adquirir doenças contagiosas durante os procedimentos odontológicos. No entanto, estou ciente que, durante qualquer procedimento da pesquisa, serão seguidos todos os princípios de biossegurança durante os exames, ou seja, o operador estará utilizando óculos de proteção assim como luvas, máscaras e gorros descartáveis e, também, todo o instrumental clínico será esterilizado;

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

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

7- Caso haja qualquer intercorrência odontológica durante minha participação na pesquisa, terei plena liberdade de contatar o pesquisador

responsável, Karin Hermana Neppelenbroek, pelo telefone e/ou endereço residenciais - (16) 3335-7698 – Rua Itália, 2111 – Apto 10 – Araraquara – S.P., ou pelo telefone e/ou endereço profissionais - (16) 3301-6410 – Rua Humaitá, 1680 – 4º andar – Araraquara – S.P.;

6- Além disso, estou ciente que possuo plena liberdade de consultar o Comitê de Ética em Pesquisa para qualquer informação adicional em relação a pesquisa da qual participo, pelos seguintes telefones (16) 3301-6432/6434;

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

Araraquara, ... de de 200...

Assinatura do paciente

Karin Hermana Neppelenbroek
Pesquisador responsável

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA
CLÍNICA DE PRÓTESE

Data: ____ / ____ / ____

Nome: _____

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

Naturalidade: _____ Nacionalidade: _____

Estado Civil: _____ Sexo: _____ Raça: _____

Profissão: _____ Fone profissional: (____) _____

Endereço completo: _____

Cidade: _____ Estado: _____ Fone: (____) _____

QUESTIONÁRIO DE SAÚDE GERAL

Está tomando algum medicamento? () sim () não

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

Qual (is)?

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

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

Qual (is)?

Vícios:

1. Tabaco () sim () não

Fuma () Masca () Tipo _____

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

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

2. Álcool () sim () não

Tipo _____

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

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

3. Outras drogas? () sim () não

Qto/dia/semana? _____

QUESTIONÁRIO DE SAÚDE BUCAL

1. Sente a boca seca? () sim () não
2. Usa prótese removível?
 Superior () sim () não Tipo : _____
 Inferior () sim () não Tipo : _____
3. Há quanto usa prótese?
 Superior _____
 Inferior _____
4. Há quanto tempo é desdentado?
 Superior _____
 Inferior _____
5. Há quanto tempo usa a (s) prótese (s) atual (is) ?
 Superior: _____
 Inferior: _____
6. Frequência de uso: Contínuo () Esporádico ()
 Retira pra dormir? () sim () não
7. Condições da (s) prótese (s) atual (is)?
 Suporte Adequado () Inadequado ()
 Retenção Adequada () Inadequada ()
 Estabilidade Adequada () Inadequada ()
 Adaptação Adequada () Inadequada ()
8. Condições de higienização da (s) prótese (s)
 Superior Boa () Satisfatória () Regular () Insatisfatória ()
 Placa () sim () não Cálculo () sim () não
 Inferior Boa () Satisfatória () Regular () Insatisfatória ()
 Placa () sim () não Cálculo () sim () não
9. Condições de higiene bucal

Escovação da língua () sim () não

Higiene Bucal Boa () Satisfatória () Regular () Insatisfatória ()

10. Estomatite protética

Tipo de estomatite protética : I () II () III ()

Sintomatologia dolorosa () sim () não

Glossite rombóide mediana () sim () não

Queilite angular () sim () não

9.2 Apêndice 2

Preparo dos materiais para o cultivo microbiológico

A solução salina utilizada nas diluições seriadas realizadas neste estudo foi preparada pela diluição completa de 8,5 gramas de cloreto de sódio em 1 litro de água destilada. A dissolução do sal na água destilada foi realizada em um béquer, pela manipulação de uma haste de vidro. Após a dissolução, a solução salina resultante, na concentração de 0,15 M, foi distribuída em tubos de ensaio. A seguir, esses tubos foram tampados com algodão e levados em autoclave vertical para esterilização a 121°C por 15 minutos. Após a esterilização, os tubos de ensaio foram deixados ao ar livre até atingirem a temperatura ambiente. Finalmente, os tubos de ensaio contendo solução salina foram armazenados em geladeira a 5°C até a utilização durante os procedimentos experimentais.

O meio de cultura ágar Sabouraud, utilizado nas semeaduras das placas de Petri, é específico para isolamento de colônias de fungos e se torna sólido após o preparo. A adição de um antibiótico à base de cloranfenicol ao meio de ágar Sabouraud reduz a possibilidade de crescimento bacteriano, evitando a inibição do crescimento fúngico por competição entre as espécies.

O meio de cultura foi proporcionado, manipulado e esterilizado segundo a recomendação do fabricante. Para o preparo do ágar Sabouraud, 65 gramas do meio de cultura adicionado de 0,005 grama de cloranfenicol foram dissolvidos em um béquer contendo 1 litro de água destilada. A seguir, o béquer foi levado ao banho-maria até que ocorresse a dissolução completa do meio de cultura. Uma alíquota de 20 mL da solução resultante foi pipetada e dispensada em tubos de ensaio,

ainda na fase líquida (temperatura superior à temperatura de solidificação). A seguir, os tubos de ensaio foram devidamente identificados, datados, tampados com algodão e levados em autoclave vertical para esterilização a 121°C por 15 minutos. Após a esterilização, os meios de cultura, ainda na fase líquida, foram vertidos em placas de Petri estéreis. Para a realização desse procedimento, os tubos de ensaio contendo os meios de cultura foram levados à câmara de fluxo laminar .

Para receber os tubos de ensaio, a câmara de fluxo laminar vertical foi preparada com o intuito de se criar um ambiente asséptico para a manipulação dos tubos de ensaio e das placas de Petri. Para esse procedimento, a porta de vidro da câmara de fluxo laminar foi fechada e a luz ultravioleta foi acionada por 10 minutos. Após esse período, a luz ultravioleta foi desligada e o ventilador da câmara de fluxo laminar foi acionado para aclimatização do ambiente. A porta de vidro da câmara de fluxo laminar foi ligeiramente aberta para que os tubos de ensaio e as placas de Petri estéreis fossem colocados no ambiente asséptico criado. É importante ressaltar que, a esterilização das placas de Petri foi realizada previamente aos procedimentos executados na câmara de fluxo laminar. Para isso, um papel filtro cortado em círculo foi interposto entre as partes superior e inferior de cada delas. A parte superior e a inferior das placas de Petri foram encaixadas e todo o conjunto foi embalado em papel comum. As placas embaladas foram esterilizadas em estufa a 175°C por 2 horas.

Após a esterilização, as placas de Petri embaladas foram deixadas a temperatura ambiente até que atingissem a temperatura ambiente. Após esse procedimento, as placas de Petri foram levadas à câmara de fluxo laminar e removidas das embalagens de papel comum. Após a colocação das placas de Petri e dos tubos de ensaio na câmara de fluxo laminar, foram repetidos os procedimentos previamente descritos para

que a manipulação dos meios de cultura fosse realizada de forma asséptica. Após a aclimatização, o ventilador permaneceu ligado durante todo o procedimento de colocação dos meios de cultura nas placas. Os tubos de ensaio foram individualmente vertidos nas placas de Petri. Cada tubo de ensaio contendo 20 mL do meio de cultura foi aberto e o seu conteúdo vertido na parte inferior da placa de Petri. As placas de Petri foram individualmente fechadas e mantidas na câmara de fluxo laminar até que fosse observada a solidificação do meio de cultura. Em seguida, o ventilador foi desligado e a porta da câmara de fluxo laminar foi aberta. Todas as placas de Petri foram devidamente identificadas, datadas e incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas. Esses procedimentos foram realizados com o objetivo de verificar a esterilização das placas de Petri e dos meios de cultura. Após a incubação, foram descartadas deste estudo todas as placas que apresentavam indício de crescimento microbiano. Finalmente, as placas de Petri foram armazenadas em geladeira a 5°C para serem utilizadas nos procedimentos de semeadura de *Candida* spp.

Os béqueres utilizados para a desinfecção das próteses totais superiores em microondas foram previamente autoclavados. Para esse procedimento, 200 mL de água destilada foram medidos em proveta de 500 mL e transferidos para cada um dos béqueres. Esses béqueres foram tampados com papel alumínio e levados em autoclave vertical a 121°C por 15 minutos.

Fixação e coloração das lâminas de esfregaço

As lâminas de esfregaço examinadas no presente estudo foram fixadas em solução de álcool/éter, que foi preparada pela simples mistura de álcool etílico absoluto e éter etílico na proporção de 1:1. Essa

solução permaneceu armazenada em vidro de âmbar hermeticamente fechado até sua utilização.

As lâminas de esfregaço foram coradas pela técnica do PAS (Periodic Acid-Schiff). Por essa técnica, o ácido periódico oxida os grupamentos 1-2 glicol, produzindo aldeídos. Estes aldeídos reagem com a fucsina descorada, chamada de reativo de Schiff, resultando em um composto de adição, violeta e insolúvel. Através dessa técnica é possível visualizar polissacarídeos simples ou associados a proteínas, sendo muito utilizada nas lâminas de esfregaços (camada de revestimento de mucopolissacarídeos). O corante de hematoxilina foi também utilizado na técnica de PAS com o objetivo de corar os núcleos das células removidas com o esfregaço. A hematoxilina é basófila, ou seja, tem afinidade com substâncias básicas, corando componentes da célula que contém grande quantidade de proteínas (básicas pelo seu grupamento amina) como o núcleo e o Retículo Endoplasmático Rugoso. Pela técnica do PAS utilizada no presente estudo, as lâminas fixadas foram inicialmente posicionadas nas ranhuras do berço de vidro. Em seguida, foram submetidas aos procedimentos de hidratação do esfregaço. Para isso, as lâminas posicionadas no berço de vidro foram seqüencialmente imersas em sete cubas de vidro contendo as seguintes soluções: xilol (primeira imersão), xilol (segunda imersão), álcool/xilol, álcool absoluto, álcool a 90%, álcool a 70% e água destilada. As lâminas permaneceram por 4 minutos em cada solução. Então, foram imersas em solução de ácido periódico a 1% por 15 minutos e, em seguida, imersas em água destilada por 4 minutos. As lâminas foram então removidas do berço de vidro e individualmente secas com papel filtro. Esse procedimento foi cuidadosamente realizado para que o papel filtro não tocasse o material obtido com o esfregaço. As lâminas secas foram novamente posicionadas no berço de vidro, imersas no reativo de Schiff por 30 minutos e, em seguida, submetidas a três banhos de água sulfurosa por 2

minutos cada. As lâminas foram lavadas em água corrente por 25 minutos, imersas em hematoxilina por 2,5 minutos e lavadas novamente em água corrente por 5 minutos para serem submetidas aos procedimentos para desidratação e diafanização do material do esfregaço. Para isso, as lâminas foram inicialmente imersas rapidamente em uma cuba contendo álcool a 95% e, então, imersas seqüencialmente em 5 cubas de vidro contendo as seguintes soluções: álcool absoluto (primeira imersão), álcool absoluto (segunda imersão), álcool/xilol, xilol (primeira imersão), xilol (segunda imersão). Desta última imersão em xilol, as lâminas foram imediatamente removidas do berço de vidro para a montagem com lamínula e Permount.

A solução de álcool/xilol utilizada na técnica de PAS foi preparada pela simples adição de álcool etílico absoluto e xilol na proporção de 1:1. A água sulfurosa era sempre preparada no momento da coloração das lâminas. Cada banho de água sulfurosa consistia de uma solução de 10 mL de ácido clorídrico 1 N (8,3 mL de ácido clorídrico e 91,7 mL de água destilada), 10 mL de bissulfito de sódio a 10% e 200 mL água destilada.

9.3 Apêndice 3

Tabela A1 –Presença (+) ou ausência (-) de formas miceliais e valores originais de ufc/mL de *Candida* spp. para a mucosa palatina e superfície interna da prótese total superior dos pacientes do G0 (controle), para os períodos antes (0 dia), durante (15 dias) e ao final do tratamento (30 dias), e após 30 e 60 dias da sua suspensão

Paciente	0 dia			15 dias			30 dias			30 dias (pós-tratamento)			60 dias (pós-tratamento)		
	Palato	Prótese		Palato	Prótese		Palato	Prótese		Palato	Prótese		Palato	Prótese	
1	8,00E+04 +	2,44E+07 +		2,00E+06 +	1,00E+07 +		2,00E+06 +	2,00E+06 +		1,28E+04 +	1,68E+06 +		2,40E+06 +	4,40E+06 +	
2	4,20E+04 -	1,20E+05 +		5,32E+04 -	1,20E+05 +		1,20E+05 -	1,20E+05 +		1,10E+05 -	1,28E+04 +		4,36E+04 -	1,20E+05 +	
3	0 -	1,20E+05 +		1,00E+03 -	1,20E+05 +		6,00E+02 -	1,20E+05 +		8,00E+02 -	1,20E+05 +		1,80E+03 -	1,20E+05 +	
4	0 -	1,20E+05 +		0 -	1,54E+05 +		0 -	9,74E+05 +		0 -	1,20E+05 +		0 -	1,20E+05 +	
5	6,00E+03 +	5,06E+05 +		8,60E+04 +	6,76E+05 +		1,40E+04 +	1,75E+05 +		2,00E+03 +	1,14E+05 +		2,00E+04 +	4,52E+05 +	
6	3,56E+05 +	1,20E+06 +		1,20E+06 +	1,20E+06 +		1,20E+06 +	1,20E+06 +		1,20E+06 +	1,20E+06 +		1,20E+06 +	1,20E+06 +	
7	1,20E+05 +	1,20E+05 +		6,20E+04 +	4,40E+04 +		1,20E+05 +	1,20E+05 +		1,20E+05 +	1,20E+05 +		1,20E+05 +	1,20E+05 +	
8	9,42E+05 +	1,20E+06 +		9,66E+05 +	1,20E+06 +		1,20E+06 +	1,20E+06 +		1,20E+06 +	1,20E+06 +		1,20E+06 +	1,20E+06 +	
9	2,80E+03 +	4,20E+04 +		2,60E+03 +	2,00E+04 +		6,00E+03 +	3,00E+04 +		1,60E+04 +	1,00E+05 +		1,54E+04 +	1,60E+05 +	
10	1,20E+04 -	1,20E+05 +		6,10E+04 -	1,20E+05 +		1,40E+04 -	1,20E+05 +		2,20E+04 -	1,20E+05 +		1,80E+04 -	1,20E+05 +	
11	0 -	1,17E+04 +		0 -	1,10E+04 +		0 -	1,08E+04 +		0 -	1,48E+04 +		0 -	1,20E+04 +	
12	0 -	2,60E+03 +		0 -	2,97E+03 +		0 -	3,37E+03 +		0 -	3,33E+03 +		0 -	3,55E+03 +	
13	1,20E+03 -	7,42E+05 +		1,20E+03 -	6,12E+05 +		0 -	1,06E+06 +		0 -	8,24E+05 +		1,40E+03 -	1,20E+06 +	
14	7,82E+04 +	1,20E+05 +		4,36E+04 +	6,46E+05 +		1,20E+05 +	1,20E+05 +		1,20E+05 +	1,20E+05 +		1,20E+05 +	1,20E+05 +	
15	0 -	1,33E+03 +		0 -	2,22E+03 +		0 -	1,77E+03 +		0 -	1,77E+03 +		0 -	1,33E+03 +	

Tabela A2 – Presença (+) ou ausência (-) de formas miceliais e valores originais de ufc/mL de *Candida* spp. para a mucosa palatina e superfície interna da prótese total superior dos pacientes do G1, para os períodos antes (0 dia), durante (15 dias) e ao final do tratamento (30 dias), e após 30 e 60 dias da sua suspensão

Paciente	0 dia			15 dias			30 dias			30 dias (pós-tratamento)			60 dias (pós-tratamento)		
	Palato	Prótese		Palato	Prótese		Palato	Prótese		Palato	Prótese		Palato	Prótese	
1	1,36E+04 +	1,20E+05 +		0	0		0	0		0	2,40E+03 +		0	2,8E+03 +	
2	2,00E+03	3,44E+04 +		0	0		0	0		0	0		4,00E+02	1,94E+04 +	
3	0	1,68E+04 +		0	0		0	0		0	7,60E+03 +		0	7,20E+04 +	
4	0	1,38E+04 +		0	0		0	0		0	0		0	0	
5	1,08E+07 +	1,20E+07 +		0	0		0	0		0	0		1,20E+05	3,20E+05 +	
6	1,20E+05 +	1,20E+06 +		0	0		0	0		0	0		0	0	
7	2,84E+05 +	1,02E+06 +		0	0		0	0		0	0		0	0	
8	1,20E+05 +	1,20E+05 +		0	0		0	0		0	0		0	0	
9	0	2,16E+04 +		0	0		0	0		0	0		0	0	
10	1,20E+05 +	1,20E+05 +		0	0		0	0		0	0		0	0	
11	2,66E+04 +	2,66E+06 +		0	0		0	0		0	0		0	0	
12	0	1,95E+05 +		0	0		0	0		0	0		0	0	
13	5,20E+03 -	5,80E+03 +		0	0		0	0		0	0		0	0	
14	6,60E+03 +	8,10E+04 +		0	0		0	0		0	0		0	1,10E+03 +	
15	0	4,04E+06 +		0	0		0	0		0	0		0	0	
	-			-	-		-	-		-	-		-	-	

Tabela A3 – Presença (+) ou ausência (-) de formas miceliais e valores originais de ufc/mL de *Candida* spp. para a mucosa palatina e superfície interna da prótese total superior dos pacientes do G2, para os períodos antes (0 dia), durante (15 dias) e ao final do tratamento (30 dias), e após 30 e 60 dias da sua suspensão

Paciente	0 dia		15 dias		30 dias		30 dias (pós-tratamento)		60 dias (pós-tratamento)	
	Palato	Prótese	Palato	Prótese	Palato	Prótese	Palato	Prótese	Palato	Prótese
1	5,00E+04	1,20E+05	0	0	0	0	8,80E+02	1,68E+04	8,40E+02	4,40E+06
2	4,00E+02	1,20E+06	-	-	-	-	-	+	-	+
3	4,00E+02	3,20E+03	-	-	-	-	-	+	-	+
4	0	1,20E+05	-	-	-	-	-	+	-	+
5	1,16E+04	1,44E+04	0	0	0	0	0	0	0	0
6	5,20E+02	1,20E+06	0	0	0	0	0	4,26E+06	0	1,20E+06
7	0	7,60E+03	-	-	-	-	-	+	-	+
8	0	6,20E+04	0	0	0	0	0	0	0	0
9	0	1,50E+04	-	-	-	-	-	-	-	-
10	0	1,50E+03	0	0	0	0	0	0	0	0
11	1,72E+04	1,20E+05	-	-	-	-	-	-	-	-
12	2,66E+04	2,66E+05	-	-	-	-	-	+	-	+
13	6,22E+03	2,66E+05	0	0	0	0	0	0	0	0
14	0	1,20E+06	-	-	-	-	-	0	0	0
15	1,24E+03	2,60E+06	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabela A4 – Presença (+) ou ausência (-) de formas miceliais e valores originais de ufc/mL de *Candida* spp. para a mucosa palatina e superfície interna da prótese total superior dos pacientes do G3, para os períodos antes (0 dia), durante (15 dias) e ao final do tratamento (30 dias), e após 30 e 60 dias da sua suspensão

Paciente	0 dia			15 dias			30 dias			30 dias (pós-tratamento)			60 dias (pós-tratamento)		
	Palato	Prótese		Palato	Prótese		Palato	Prótese		Palato	Prótese		Palato	Prótese	
1	1,20E+05 +	1,20E+05 +		1,20E+05 +	1,20E+05 +		1,20E+05 +	1,20E+05 +		1,20E+05 +	1,20E+05 +		1,20E+05 +	1,20E+05 +	
2	1,20E+03 -	1,20E+05 +		0 -	7,00E+04 +		0 -	3,13E+05 +		1,00E+03 -	5,56E+05 +		3,40E+03 +	8,34E+05 +	
3	3,20E+04 +	1,20E+05 +		3,28E+04 +	1,20E+05 +		3,12E+04 +	1,20E+05 +		3,36E+04 +	1,20E+05 +		3,20E+04 +	1,20E+05 +	
4	0 -	1,20E+05 +		0 -	8,60E+03 +		0 -	9,40E+03 +		0 -	1,20E+05 +		0 -	1,20E+05 +	
5	1,12E+04 -	1,20E+06 +		0 -	0 -		0 -	2,46E+05 +		4,00E+02 +	4,00E+02 +		4,00E+02 -	4,00E+02 +	
6	0 -	1,20E+05 +		0 -	5,80E+03 +		0 -	8,60E+03 +		0 -	1,12E+04 +		2,00E+02 -	1,44E+04 +	
7	2,00E+02 +	8,20E+03 +		0 -	1,22E+04 +		0 -	0 -		0 -	6,60E+03 +		0 +	8,40E+03 +	
8	2,00E+02 +	3,58E+04 +		0 -	0 +		0 -	2,00E+03 +		2,00E+02 +	1,42E+03 +		2,00E+02 +	5,00E+03 +	
9	1,20E+04 +	4,80E+04 +		1,16E+04 +	2,20E+04 +		6,00E+03 +	2,80E+04 +		6,20E+03 +	6,40E+04 +		1,22E+04 +	9,60E+04 +	
10	5,20E+03 +	5,22E+04 +		8,00E+02 +	6,28E+04 +		1,60E+03 +	1,20E+05 +		1,60E+03 +	1,20E+05 +		1,40E+03 +	1,20E+05 +	
11	0 -	5,80E+04 +		0 -	2,00E+03 +		0 -	0 -		0 -	1,20E+05 +		0 -	1,20E+05 +	
12	1,20E+06 -	1,20E+06 +		1,20E+06 -	1,20E+06 +		1,20E+06 -	1,20E+06 +		1,20E+06 -	1,20E+06 +		1,20E+06 -	1,20E+06 +	
13	0 -	2,60E+04 +		0 -	0 +		0 -	8,00E+02 +		0 -	1,00E+03 +		0 -	1,60E+03 +	
14	0 -	4,00E+02 +		0 -	4,00E+02 +		0 -	4,00E+02 +		0 -	2,00E+02 +		0 -	2,20E+03 +	
15	1,20E+05 +	1,20E+06 +		0 +	1,20E+06 +		0 +	1,20E+06 +		1,72E+04 +	1,20E+06 +		2,12E+04 +	1,20E+06 +	

Tabela A5 – Dados dos pacientes do G0 (controle) para os fatores predisponentes: gênero do paciente, uso de medicamentos indutores de xerostomia (antihipertensivos, antihiperglicemiantes e ansiolíticos), uso de tabaco, grau de inflamação (estomatite protética Tipo I, II e III), idade do paciente e tempo de uso da prótese total superior

Paciente	Gênero	Medicamentos			Uso de tabaco	Grau de inflamação	Idade (anos)	Prótese (anos de uso)
		AHT	HGL	ASL				
1	F	N	S	N	S	I	55	15
2	F	N	N	N	N	I	74	28
3	F	N	S	N	N	I	47	30
4	F	N	N	N	N	I	61	25
5	F	S	N	N	N	I	55	35
6	F	N	N	N	N	I	52	23
7	F	N	N	N	N	I	72	22
8	F	S	N	N	N	I	42	30
9	F	S	S	N	N	I	48	18
10	F	S	N	N	N	I	66	30
11	F	N	S	N	N	I	77	5
12	F	S	S	S	N	I	59	12
13	M	N	S	N	N	I	71	23
14	M	S	N	N	N	I	48	23
15	M	N	N	N	N	I	58	10

Gênero: F= feminino; M= masculino; Medicamentos: AHT= anti-hipertensivos, HGL= hipoglicemiantes, ASL= ansiolíticos; S= sim; N= não.

Tabela A6 – Dados dos pacientes do G1 para os fatores predisponentes: gênero do paciente, uso de medicamentos indutores de xerostomia (antihipertensivos, antihiperglicemiantes e ansiolíticos), uso de tabaco, grau de inflamação (estomatite protética Tipo I, II e III), idade do paciente e tempo de uso da prótese total superior

Paciente	Gênero	Medicamentos			Uso de tabaco	Grau de inflamação	Idade (anos)	Prótese (anos de uso)
		AHT	HGL	ASL				
1	F	N	N	N	N	II	66	50
2	F	N	N	N	N	III	66	39
3	F	S	N	N	N	I	66	50
4	F	N	S	S	S	III	42	20
5	F	N	N	S	N	II	79	35
6	F	N	N	N	N	II	66	10
7	F	S	S	N	N	I	55	25
8	F	S	N	N	N	II	69	13
9	F	S	N	N	N	II	71	10
10	F	S	N	N	N	II	69	2
11	F	S	N	N	N	II	69	32
12	F	S	N	N	N	III	47	26
13	M	N	N	N	N	I	60	15
14	M	S	N	N	N	II	70	27
15	M	S	N	N	N	III	73	18

Gênero: F= feminino; M= masculino; Medicamentos: AHT= anti-hipertensivos, HGL= hipoglicemiantes, ASL= ansiolíticos; S= sim; N= não.

Tabela A7 – Dados dos pacientes do G2 para os fatores predisponentes: gênero do paciente, uso de medicamentos indutores de xerostomia (antihipertensivos, antihiperglicemiantes e ansiolíticos), uso de tabaco, grau de inflamação (estomatite protética Tipo I, II e III), idade do paciente e tempo de uso da prótese total superior

Paciente	Gênero	Medicamentos			Uso de tabaco	Grau de inflamação	Idade (anos)	Prótese (anos de uso)
		AHT	HGL	ASL				
1	F	N	N	N	N	I	49	50
2	F	N	S	N	N	II	48	30
3	F	S	N	N	N	II	53	25
4	F	S	N	N	N	II	42	15
5	F	N	N	N	N	II	59	17
6	F	S	N	N	N	III	70	50
7	F	N	N	N	N	III	40	45
8	F	S	N	N	N	I	68	5
9	F	N	N	N	N	II	66	9
10	F	S	N	N	N	II	65	24
11	F	S	N	N	N	II	76	32
12	F	N	S	N	N	II	68	10
13	F	S	N	N	N	III	70	10
14	M	S	N	N	S	I	66	22
15	M	S	N	N	N	II	60	4

Gênero: F= feminino; M= masculino; Medicamentos: AHT= anti-hipertensivos, AHG= hipoglicemiantes, ASL= ansiolíticos; S= sim; N= não.

Tabela A8 – Dados dos pacientes do G3 para os fatores predisponentes: gênero do paciente, uso de medicamentos indutores de xerostomia (antihipertensivos, antihiperglicemiantes e ansiolíticos), uso de tabaco, grau de inflamação (estomatite protética Tipo I, II e III), idade do paciente e tempo de uso da prótese total superior

Paciente	Gênero	Medicamentos			Uso de tabaco	Grau de inflamação	Idade (anos)	Prótese (anos de uso)
		AHT	HGL	ASL				
1	F	N	N	N	N	I	56	30
2	F	S	N	N	N	I	62	17
3	F	S	N	N	N	II	54	30
4	F	S	N	N	N	III	61	20
5	F	S	N	N	N	II	57	10
6	F	N	N	N	N	II	65	12
7	F	S	N	N	S	I	76	30
8	F	N	N	N	N	III	57	20
9	F	N	N	N	S	II	53	20
10	F	S	N	N	N	II	88	32
11	F	S	N	N	N	II	61	20
12	M	N	N	N	N	I	58	10
13	M	N	N	N	N	II	53	14
14	M	N	N	S	S	III	64	11
15	M	S	N	N	N	III	57	15

Gênero: F= feminino; M= masculino; Medicamentos: AHT= anti-hipertensivos, HGL= hipoglicemiantes, ASL= ansiolíticos; S= sim; N= não.

Tabela A9 – Sumário da análise de variância para a avaliação dos grupos de estudo em relação às médias de idade dos pacientes

Efeito	Graus de Liberdade	Média quadrática	F	p
Grupo	3	87,261	0,818	0,489
Resíduo	56	106,705		

Homogeneidade de variâncias: p= 0,533 (Levene)
Normalidade dos resíduos: p= 0,977 (Shapiro-Wilk)

Tabela A10 – Sumário da análise de variância para a avaliação dos grupos em relação às médias de tempo de uso da prótese total superior

Efeito	Graus de liberdade	Média quadrática	F	p
Grupo	3	78,000	0,536	0,660
Resíduo	56	145,595		

Homogeneidade de variâncias: p= 0,026 (Levene)
Normalidade dos resíduos: p= 0,120 (Shapiro-Wilk)

Tabela A11 – Valores de probabilidade (p) referentes à avaliação da influência dos fatores predisponentes na efetividade do tratamento da estomatite protética pela desinfecção das próteses por microondas

Variável	Estatística	p
Idade (anos)	t de Student	0,946
	Levene	0,204
	Shapiro-Wilk	0,016
Tempo de uso da prótese (anos)	t de Student	<0,001
	Levene	0,210
	Shapiro-Wilk	0,161
Grau de inflamação	Mann-Whitney	0,747
Uso de antihipertensivos	Qui-quadrado	0,216

NEPPELENBROEK, K.H. **Efetividade da desinfecção de próteses totais por energia de microondas no tratamento de estomatite protética associada à *Candida* spp.** Araraquara, 2005. 209 f. Tese (Doutorado em Reabilitação Oral) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2005.

Resumo

O presente estudo avaliou a efetividade da desinfecção de próteses totais no tratamento de estomatite protética associada à *Candida* spp. Sessenta pacientes com estomatite protética foram divididos em quatro grupos de acordo com o tratamento instituído: G0 (controle)- foram orientados a escovarem suas próteses com sabão de coco e dentifrício, deixando-as imersas em água durante a noite; G1- as próteses totais superiores dos pacientes foram irradiadas por microondas (650 W/ 6 minutos), três vezes por semana, durante 30 dias; G2- os pacientes receberam o mesmo tratamento do G1 associado à aplicação tópica de miconazol três vezes ao dia, por 30 dias; G3- apenas receberam terapia antifúngica tópica com miconazol de acordo com a prescrição indicada ao G2. Antes do início do tratamento, exames citológicos por esfregaço e culturas micológicas quantitativas foram obtidos da superfície interna das próteses totais superiores e da mucosa palatina de suporte de todos os pacientes. Os esfregaços e as culturas foram repetidos durante (15 dias), ao final do tratamento (30 dias) e após a sua suspensão (30 e 60 dias). Para a avaliação clínica, foram realizadas fotografias da mucosa palatina dos pacientes em cada consulta. Utilizou-se o teste de qui-quadrado (χ^2) para determinar diferenças entre os tratamentos dos grupos de estudo. A influência de fatores predisponentes na efetividade dos tratamentos também foi avaliada estatisticamente. Nos períodos durante (15 dias) e imediatamente após o tratamento (30 dias), os esfregaços citológicos e culturas quantitativas referentes à mucosa palatina e a superfície interna das próteses dos pacientes dos Grupos 1 e 2 não demonstraram formas miceliais e colônias viáveis de *Candida* spp. Em até 60 dias após a suspensão do tratamento, não foram

observadas formas miceliais na mucosa palatina dos pacientes dos Grupos 1 e 2. No entanto, cinco pacientes do G1 (33,33%) e seis do G2 (40%) demonstraram recorrência de formas miceliais e colônias de *Candida* spp., e essa diferença não foi estatisticamente significativa ($p=0,910$). Para os Grupos 1 e 2, o tempo de uso da mesma prótese total superior foi significativamente ($p<0,001$) superior nos pacientes com recorrência de formas miceliais de *Candida* spp. (39,4 anos) em comparação aos que não apresentaram reinfecção (15,1 anos). As fotografias da mucosa palatina dos pacientes dos Grupos 1 e 2 demonstraram uma evidente e progressiva redução da inflamação ao longo das avaliações clínicas. A aplicação tópica de miconazol (G3) promoveu uma melhora considerável na inflamação palatina, mas não eliminou as formas miceliais e as colônias de *Candida* spp., exceto para dois pacientes. Os exames clínicos e micológicos do G0 não evidenciaram redução da infecção fúngica em até 60 dias de avaliação. A desinfecção das próteses totais superiores por microondas foi efetiva para o tratamento da estomatite protética associada à *Candida* spp. Independentemente da associação à terapia antifúngica tópica, a recorrência de formas miceliais de *Candida* spp. na superfície interna das próteses após a suspensão do tratamento foi significativamente reduzida nos pacientes cujas próteses foram submetidas à desinfecção por microondas.

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

NEPPELENBROEK, K.H. **Effectiveness of microwave disinfection of complete dentures on the treatment of *Candida*-related denture stomatitis.** Araraquara, 2005. 209 f. Tese (Doutorado em Reabilitação Oral) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2005.

Abstract

The present study evaluated the effectiveness of microwave disinfection of complete dentures on the treatment of *Candida*-related denture stomatitis. Sixty patients with denture stomatitis were divided into four treatment groups: G0 (control)- patients were instructed to scrub their dentures with coconut soap and toothpaste and soak them in water overnight; G1- patients had their maxillary denture microwaved (650 W/6 minutes) three times per week for 30 days; G2- patients received the treatment of G1 in conjunction with topical application of miconazole three times per day for 30 days; G3- patients received the same course of topical antifungal therapy with miconazole of G2. Before treatment, cytological smears and quantitative mycological cultures were taken from the tissue side of each maxillary denture and the corresponding palatal mucosa of all patients. Smears and cultures were repeated during (15 days), immediately after (30 days) and follow-up after the treatment (30 and 60 days). At each trial, palatal tissues of patients were photographed for clinical evaluation. Chi-squared statistical test (χ^2) was used to differentiate between the treatment groups. The influence of predisposing factors on treatment effectiveness was also analyzed statically. During (15 days) and immediately after the treatment (30 days), cytological smears and quantitative cultures of palatal mucosa and denture tissue surface of G1 and G2 patients did not exhibit mycelial forms and colonies of *Candida* spp. Following the treatment phase (30 and 60 days), no mycelial forms were found on smears of palatal mucosa of G1 and G2 patients. However, over the 60-day observation period following treatment, five patients in the G1 (33.33%) and six patients of G2 (40%) showed recurrence of mycelial forms of *Candida* spp. on the tissue surfaces of their maxillary dentures and this difference was not statically significant ($P= 0.910$). For G1 and G2 groups, the maxillary denture age was statistically ($P<0.001$) significant higher in patients with recurrence of mycelial forms of *Candida* spp. (39.4 years) in comparison to the denture age of patients without re-infection (15.1 years). Palatal photographs of G1 and G2 patients exhibited an evident and continuous decrease of inflammation throughout the clinical trial. Topical application of miconazole (G3) caused a considerable amelioration of inflamed tissues beneath the dentures but did not eradicate micelial forms and colonies of *Candida* spp., except for two patients. Microbial and clinical analysis of G0

demonstrated no evident decrease in the candidal infection over the 60-day observation period following treatment. The results indicated that microwave disinfection of complete upper dentures was effective for the treatment of denture *Candida*-related denture stomatitis. Regardless of the association with topical antifungal therapy, the recurrence of *Candida* spp. on denture tissue surface follow-up after the treatment was dramatically reduced in patients whose dentures were submitted to microwave disinfection.

Keywords: Denture stomatitis; complete denture; disinfection; microwave; *Candida*