

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o
texto completo desta tese será
disponibilizado somente a partir de
07/08/2025.



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



Camilla Olga Tasso

**Influência de substâncias antimicrobianas sobre biofilmes simples e misto
formados em resinas acrílicas para base e reembasamento de prótese**

Araraquara

2023



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



Camilla Olga Tasso

**Influência de substâncias antimicrobianas sobre biofilmes simples e misto
formados em resinas acrílicas para base e reembasamento de prótese**

Tese apresentada ao programa de Odontologia,
área de Reabilitação Oral da Universidade
Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de
Odontologia de Araraquara, para a obtenção do
título de Doutor em Odontologia, área de
Reabilitação Oral.

Orientadora: Janaina Habib Jorge

Araraquara

2023

T214i Tasso, Camilla Olga
Influência de substâncias antimicrobianas sobre biofilmes simples e misto formados em resinas acrílicas para base e reembasamento de prótese / Camilla Olga Tasso. -- Araraquara, 2023
89 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara
Orientadora: Janaina Habib Jorge

1. Biofilmes. 2. Estomatite sob prótese. 3. Resinas acrílicas. 4. Candida albicans. 5. Streptococcus mutans. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Odontologia, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Camilla Olga Tasso

Influência de substâncias antimicrobianas sobre biofilmes simples e misto formados em resinas acrílicas para base e reembasamento de prótese

Comissão Julgadora

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

Presidente e orientadora: Profa. Dra. Janaina Habib Jorge

2º Examinador: Prof. Dr. Gelson Luis Adabo

3º Examinador: Profa. Dra. Renata Cunha Matheus Rodrigues Garcia

4º Examinador: Prof. Dr. Maurício Malheiros Badaró

5º Examinador: Profa. Dra. Ana Carolina Pero

Araraquara, 7 de agosto de 2023

DADOS CURRICULARES

CAMILLA OLGA TASSO

NASCIMENTO: 06/02/1991 – São Carlos – São Paulo

FILIAÇÃO: Luis Carlos Tasso
Luzia Pereira Candido Tasso

2011 a 2016 Graduação em Odontologia.
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.

2012 a 2013 Estágio de Iniciação Científica na Disciplina de Dentística, do Departamento de Odontologia Restauradora, da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

2013 a 2014 Estágio de Iniciação Científica na Disciplina de Periodontia, do Departamento de Diagnóstico e Cirurgia, da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

2014 a 2015 Estágio de Iniciação Científica na Disciplina de Prótese Parcial Removível, do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese, da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

2015 a 2016 Estágio de Iniciação Científica na Disciplina de Prótese Parcial Removível, do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese, da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

2017 a 2019 Curso de Pós-graduação em Reabilitação Oral, Área de concentração em Prótese, nível Mestrado, pela Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

2017 a 2018 Estágio docência na Disciplina de Prótese Parcial Removível II, do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese, da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

2019 a 2023 Curso de Pós-graduação em Reabilitação Oral, Área de concentração em Prótese, nível Doutorado, pela Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP.

2021 a 2022 Estágio docência na Disciplina de Prótese Parcial Removível II, do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese, da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

2022 a 2023 Estágio docência na Disciplina de Prótese Parcial Removível II, do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese, da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

Dedico este trabalho à Deus por seu olhar generoso sobre a minha vida, sempre me guardando, me guiando e amparando em todos os meus momentos, sejam eles de aflições ou alegrias.

Agradeço por todas as pessoas queridas que me acompanham nesse caminho, segurando em minha mão, e que de alguma forma tornaram possível a realização deste sonho. Principalmente aos meus pais Luis e Luzia, pelo apoio imensurável, confiança e amor que depositam em mim, vocês são minha motivação de vida, e força para lutar pelos meus objetivos, são a verdadeira fonte do meu amor eterno.

Ao meu irmão Pedro, que está ao meu lado por toda a minha vida, alegria dos meus dias, mesmo sendo o mais novo, me ajuda a encontrar quase todas as respostas e caminhos. Ao meu namorado Gabriel por ser tão cuidadoso, amoroso, por toda a paciência em me ajudar a ser uma pessoa melhor, você é um exemplo de amor e dedicação por onde passa, você é luz na minha vida!

Amo muito cada um de vocês.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus pelo dom de minha vida, pelas inúmeras vezes que me amparou, me iluminou e me fez encontrar meu verdadeiro caminho quando parecia que não havia luz. Minha vida é, e sempre será dedicada ao Senhor.

Aos meus pais Luis e Luzia por serem pessoas incríveis, bondosas, generosas, e que apesar de todas as dificuldades sempre lutaram pelo nosso futuro, por nos dar ótimos exemplos, tanto pessoais como profissionais. Eu sempre vou buscar ser justa, honesta, humilde, pois meus passos são guiados por vocês. Tudo que eu faço dedico a nossa família.

Ao meu irmão Pedro por ter se tornado uma pessoa tão admirável, dedicado e amoroso. Você é brilhante e eu morro de orgulho de ser sua irmã, que sua inteligência e carisma te faça conquistar o mundo.

Ao meu namorado Gabriel por todos esses anos ao meu lado, sempre me apoiando, me ajudando, e preenchendo os meus dias de amor e carinho. Minha vida sem você com certeza seria vazia.

Aos meus familiares que são tão presentes, que vibram a cada conquista, que param o mundo para lutarem por mim, meus sinceros agradecimentos por vocês significarem tanto. Agradeço a todos que já são estrelinhas no céu, pois sempre me amaram incondicionalmente, e torceram tanto por minhas conquistas!

A minha avó Maria (in memoriam) que esteve sempre presente em minha vida, e eu na dela. Sei o quanto você sempre se orgulhava de mim, e eu de você, por ter sido uma mulher forte, guerreira e determinada. Sempre vou me lembrar da senhora, e sinto você viva nos meus dias.

Agradeço principalmente à minha querida orientadora, Janaina Habib Jorge, por simplesmente ter se tornado mais que uma professora em minha vida. Não só pra mim, mas pra todos os seus agregados. Você é uma pessoa de luz que transfere amor

em tudo que faz. Eu admiro sua força, dedicação, honestidade e resiliência em ser o que é. Obrigada por sempre acreditar em meu potencial, por toda a paciência e zelo que sempre teve comigo ao longo desses anos. A minha trajetória acadêmica foi muito importante, e muito especial pois sempre estive ao meu lado. Espero que o encerramento desse ciclo seja apenas mais uma etapa na nossa parceria. Que nosso caminho continue entrelaçado e que a nossa amizade perdure pelo tempo. Obrigada por todo o aprendizado! Amo você.

Agradeço as minhas amigas de infância, Renata, Érica, Marcela, Sthefany e Taína que estão em meu coração por toda a minha vida, fazendo dos meus dias mais leves. Amo vocês!

Agradeço a todas as minhas queridas “migas” que a graduação me deu, Alice, Giovanna, Jaqueline, minha eterna duplinha Débora, foram tantos momentos e histórias que vivemos juntas, tenho certeza nossa amizade vai muito além da faculdade. Obrigada por tudo meninas!

Não posso deixar de agradecer as pessoas maravilhosas que a pós-graduação me presenteou. Marlon, Jhonny, Amanda, Jacqueline, Maria Isabel. Muito obrigada por todo apoio, ensinamentos, ajuda em todos os momentos de leve desespero que a gente sabe que eu sempre tenho! Jacqueline, minha querida amiga e companheira de orientadora, que é muito mais que uma simples amiga e confidente, obrigada por todos os momentos que vivemos juntas até aqui. Bel, miga muito obrigada por ter respondido todas as minhas mensagens de socorro! Muitas das coisas que aprendi nessa vida de pesquisa, foi graças a sua paciência e maestria de ensinar, com toda certeza você está no caminho certo.

Aos meus amigos e companheiros da turma de Doutorado, Bruna, Carlos, Monica, Marcela, Thais, Claudia, Sabrina, Lais, e Camila Jabr, por esse tempo de convívio na sala de aula, nas clínicas e nos labs da vida, nossa turma sempre foi muito unida, e espero que continuemos juntos por muitos anos!

A minha amiga Analú, minha querida bff., por estar sempre comigo, em todos os momentos da minha vida, por me amar, e sempre ajudar. Obrigada por ser minha irmã

de pais diferentes, por ser luz e bondade por onde passa. Tenho muito orgulho da pessoa que você se torna a cada dia. O seu cuidado e amor em tudo que faz, com o seu jeito único de ser, te faz esse ser tão especial. Amo o quanto somos parecidas, você é uma parte essencial no meu mundo. Te amo!

A minha amiga Vivi, obrigada por sempre ser serenidade e plenitude nos meus dias. Minha vida se tornou melhor depois da sua amizade. Você é uma inspiração de profissional que eu sempre vou me inspirar. Amo você.

A minha amiga Bia, minha amiga de todas as horas. Quero sempre alguém como você do meu lado. Tão inteligente e bondosa. O mundo precisa de mais Bias para ser um lugar melhor. Eu amo o jeito que a gente se entende e se completa, você foi uma das mais lindas amizades que fiz na pós-graduação. Tenho muita sorte que nossos caminhos foram cruzados, como a gente sempre fala, nosso encontro foi de almas. Amo você!

A minha amiga Claudia, obrigada por todos esses anos ao meu lado. Agradeço ao papai do céu por ter te colado em minha vida, uma pessoa que tem o melhor carisma, energia e é luz por onde passa, você realmente é diferenciada. Espero que nosso laço que foi construído seja eterno. Amo que você é nossa rainha da biologia molecular, que Deus continue te guiando e abençoando para sempre realizar os seus sonhos. Amo você!

Ao meu amigo e professor Túlio (Tulião), por sempre esclarecer minhas dúvidas, por ter realizado minha estatística, e por nunca negar seu conhecimento. Todos os alunos que tiverem a honra de ter aula com você terão muita sorte. Você realmente ama o que faz! Te amo!

Aos meus amigos que a Odontologia me presenteou, Marcela, Sarah, Maitê, Marina, Gabi, Jussara, Vera, Bruna, Paulo, Letícia. Sou muito grata por meu caminho ter cruzado com o de vocês.

Agradeço aos Professores do Curso de Pós-Graduação em Odontologia com ênfase em Reabilitação Oral, do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese desta

Faculdade, pelo amor a profissão, por serem mais que professores, por todos os ensinamentos e serem pessoas admiráveis.

Aos Funcionários do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese desta Faculdade, em especial à chiquetosa Miriam, Martinha e Tânia, por fazerem de nosso departamento um lugar melhor, por toda a disposição por me ajudarem.

Agradeço a todos os funcionários desta Faculdade, as meninas da limpeza, secretárias, porteiros, seguranças, que se esforçam ao máximo para fazer desse lugar, um ambiente tão agradável. Agradeço as funcionárias da biblioteca, por todo carinho e paciência que realizam seu trabalho.

Agradeço aos amigos de Laboratório, Paula, Geisiane, Bruna e Lígia, muito obrigada por toda ajuda, e troca de conhecimentos!

Aos Professores Membros da Banca Examinadora, por terem aceitado tão prontamente meu convite para participar da avaliação deste trabalho. Ao tão especial professor Gelson, um grande exemplo desde as aulas da graduação, o admiro muito por toda humanidade e excelência ao transmitir o conhecimento. À professora Renata, por ter aceitado esse convite, e por toda dedicação e sabedoria que passa por todas as vezes que nos encontramos. Ao professor Maurício por ser essa inspiração a nós da pós-graduação, por ser tão dedicado e competente trilhando seu caminho acadêmico. À Professora Ana Carolina, por ser amiga e exemplo de profissional. O meu muito obrigada!

À CAPES: o presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001.

À Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP e a Prof. Dr. Edson Alves de Campos, diretor dessa instituição.

“Todo mundo tem dentro de si um fragmento de boas notícias. A boa notícia é que você não sabe quão extraordinário você pode ser! O quanto você pode amar! O que você pode executar! E qual é o seu potencial!

Anne Frank*

* Frank A. Diário de Anne Frank. Tradução Alves Calado. Rio de Janeiro: Record; 1995.

Tasso CO. Influência de substâncias antimicrobianas sobre biofilmes simples e misto formados em resinas acrílicas para base e reembasamento de prótese [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2023.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência de substâncias antimicrobianas sobre biofilmes simples e misto (*C. albicans* e *S. mutans*) formados em resinas acrílicas para base e reembasamento de prótese. Amostras das resinas foram confeccionadas (14 mm de diâmetro e 1,2 mm de espessura) e divididas em grupos: G1: imersão em solução de sabonete líquido desinfetante por 7, 14 e 28 dias (por 8 horas a temperatura ambiente, seguido de imersão em PBS (phosphate buffered saline) por mais 16 horas à 37 °C, simulando a desinfecção noturna das próteses, sendo a solução desinfetante e o PBS trocados diariamente) antes da formação dos biofilmes simples e misto; G2: imersão em solução de hipoclorito de sódio 0,5% (controle positivo) por 7, 14 e 28 dias (por 8 horas a temperatura ambiente, seguido de imersão em PBS por mais 16 horas à 37 °C, simulando a desinfecção noturna das próteses, sendo a solução desinfetante e o PBS trocados diariamente) antes da formação dos biofilmes simples e misto; G3: imersão em PBS (controle negativo) por 7, 14 e 28 dias (por 8 horas a temperatura ambiente, seguido da troca após 16 horas, à 37 °C) antes da formação dos biofilmes simples e misto; G4: imersão em solução de sabonete líquido desinfetante por 8 horas depois da formação dos biofilmes simples e misto; G5: imersão em solução de hipoclorito de sódio 0,5% (controle positivo) por 8 horas depois da formação dos biofilmes simples e misto; G6: imersão em PBS (controle negativo) por 8 horas a temperatura ambiente, após a formação dos biofilmes simples e misto; G7: tratamento superficial com solução de extrato de *Cryptocarya moschatta* depois da formação do biofilme, por 2 horas; G8: tratamento com solução de Nistatina a 100.000 IU/mL (controle positivo) depois da formação do biofilme, por 2 horas; G9: tratamento com solução de antibiótico (controle positivo) depois da formação do biofilme, por 2 horas; G10: tratamento PBS (controle negativo) depois da formação do biofilme, por 2 horas. Biofilmes simples e mistos de *C. albicans* e *S. mutans* foram formados sobre as amostras em todos os grupos. Para a análise da atividade antimicrobiana, os seguintes testes foram realizados: contagem de colônias, avaliação do metabolismo celular, análise quantitativa e qualitativa por microscopia de varredura confocal a laser. Os ensaios foram realizados em triplicata (3 amostras de cada resina e para cada teste), em 3 ocasiões diferentes (n=9). Os dados foram submetidos ao método estatístico mais adequado para cada teste e o nível de significância de 5% foi selecionado ($\alpha=0.05$). Os resultados mostraram que a solução de sabonete Lifebuoy® foi capaz de reduzir o número de unidades formadoras de colônias e o metabolismo celular dos biofilmes simples e misto de *C. albicans*, *S. mutans* formados sobre amostras de ambas as resinas, comprovando seu efeito antimicrobiano, tanto para o protocolo de prevenção como também para o protocolo de desinfecção. Em relação à eficácia do extrato de *C. moschata*, houve redução do número de unidades formadoras de colônias e do metabolismo celular, para biofilmes simples e misto formados sobre as amostras de resinas para base e reembasamento de próteses. Concluiu-se que a solução de Lifebuoy® e o tratamento com extrato de *C. moschata* foram eficazes na redução dos biofilmes simples e misto de *C. albicans* e *S. mutans* formados sobre amostras de resina acrílica para base e reembasador de próteses.

Palavras – chave: Biofilmes. Estomatite sob prótese. Resinas acrílicas. *Candida albicans*. *Streptococcus mutans*.

Tasso CO. Influence of antimicrobial substances on single and mixed biofilms formed in denture base and reline acrylic resin [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2023.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the influence of antimicrobial substances on single and mixed biofilms of *C. albicans* and *S. mutans* formed on denture base and reline acrylic resins. Samples were prepared (14 mm in diameter and 1.2 mm thick) and divided into groups: G1: immersion in disinfectant liquid soap Lifebuoy solution for 7, 14 and 28 days (for 8 hours at room temperature, followed by immersion in PBS (phosphate buffered saline) for another 16 hours at 37 °C, simulating the nocturnal disinfection of the prostheses, with the disinfectant solution and PBS changed daily) before the formation of single and mixed biofilms; G2: immersion in 0.5% sodium hypochlorite solution (positive control) for 7, 14 and 28 days (for 8 hours at room temperature, followed by immersion in PBS for another 16 hours at 37 °C, simulating the nocturnal disinfection of the prostheses, with the disinfectant solution and PBS changed daily) before the formation of single and mixed biofilms; G3: immersion in PBS (negative control) for 7, 14 and 28 days (for 8 hours at room temperature, followed by the change after 16 hours, at 37 °C) before the formation of single and mixed biofilms; G4: immersion in disinfectant liquid soap solution for 8 hours after the formation of single and mixed biofilms; G5: immersion in 0.5% sodium hypochlorite solution (positive control) for 8 hours after the formation of single and mixed biofilms; G6: immersion in PBS (negative control) for 8 hours at room temperature, after the formation of single and mixed biofilms; G7: surface treatment with *Cryptocarya moschatta* extract solution after biofilm formation, for 2 hours; G8: treatment with Nistatina at 100.000 IU/mL (positive control) after biofilm formation, for 2 hours; G9: treatment with antibiotic solution (positive control) after biofilm formation, for 2 hours; G10: treatment with PBS (negative control) after biofilm formation, for 2 hours; Single and mixed biofilms of *C. albicans* and *S. mutans* were formed on samples in all groups. For the analysis of antimicrobial activity, the following tests were performed: colony forming units count, evaluation of cell metabolism, quantitative and qualitative analysis by confocal laser scanning microscopy. The tests were performed in triplicate (3 samples of each resin and for each test), on 3 different occasions (n=9). The data were submitted to the most appropriate statistical method for each test and the significance level of 5% ($\alpha=0.05$) was selected. The results showed that the Lifebuoy® soap solution was able to reduce the number of colonies forming units and the cellular metabolism of single and mixed biofilms of *C. albicans* and *S. mutans* formed on samples of both resins, proving its antimicrobial effect, both for the prevention protocol and for the disinfection protocol. Regarding the effectiveness of the *C. moschata* extract, there was a reduction on the number of colony formation units and on cellular metabolism, for both simple and mixed biofilms formed over the samples for denture base and reline acrylic resins. It was concluded that the Lifebuoy® solution was effective in reducing single and mixed biofilms of *C. albicans* and *S. mutans* formed on samples of denture base and reline acrylic resin.

Keywords: Biofilms. Stomatitis denture. Acrylic resins. *Candida albicans*. *Streptococcus mutans*.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 PROPOSIÇÃO	15
2.1 Objetivos Específicos	15
3 REVISÃO DA LITERATURA	16
4 MATERIAL E MÉTODO	25
4.1 Estudo I	25
4.1.1 Diluição do sabonete Lifebuoy® para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)	26
4.1.2 Determinação da Concentração Inibitória Mínima da solução de Lifebuoy®	26
4.1.3 Confecção das amostras	29
4.1.4 Medida da rugosidade superficial para padronização das amostras	30
4.1.5 Grupos experimentais	30
4.1.6 Solução de sabonete líquido desinfetante	31
4.1.7 Capacidade de formação de biofilme (método de prevenção)	32
4.1.8 Capacidade de redução de biofilme (método de desinfecção)	32
4.1.9 Contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFC)	33
4.1.10 Avaliação do metabolismo celular por meio do teste Alamar Blue®	34
4.2 Estudo II	35
4.2.1 Confecção das amostras	35
4.2.2 Grupos experimentais	35
4.2.3 Preparo das soluções	35
4.2.4 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) para as células planctônicas	36
4.2.5 Determinação da Concentração Fungicida Mínima das células em biofilme (CFMb)	36
4.2.6 Efeito do protocolo de tratamento sobre os biofilmes	37
4.2.7 Contagem do número de colônias viáveis (UFC)	37
4.2.8 Avaliação do metabolismo celular por meio do teste AlamarBlue®	38
4.2.9 Avaliação dos componentes proteicos da matriz do biofilme por meio de Microscopia de Fluorescência Confocal	38
4.2.10 Avaliação da viabilidade celular por meio de Microscopia de Varredura Confocal a Laser (MVCL)	39
4.2.11 Análise estatística	39

5 RESULTADO	40
5.1 Estudo I	40
5.1.1 Determinação da Concentração Inibitória Mínima da solução de Lifebuoy®.....	40
5.1.2 Capacidade de formação dos biofilmes simples e misto sobre resinas para base e reembasamento de próteses após imersão em soluções desinfetantes, como método de prevenção.....	41
5.1.3 Capacidade de remoção dos biofilmes simples e misto sobre resinas acrílicas para base e reembasamento de próteses após imersão em solução de sabonete líquido desinfetante, como método de desinfecção.....	47
5.2 Estudo II	54
5.2.1 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) para as células planctônicas.....	54
5.2.2 Determinação da Concentração Fungicida Mínima das células em biofilme (CFMb).....	54
5.2.3 Contagem do número de Unidade Formadoras de Colônias (UFC/mL).....	54
5.2.4 Avaliação dos componentes proteicos da matriz do biofilme por meio de Microscopia de Fluorescência Confocal	61
5.2.5 Avaliação da viabilidade celular por meio de Microscopia de Varredura Confocal a Laser (MVCL)	64
6 DISCUSSÃO	68
7 CONCLUSÃO	75
REFERÊNCIAS.....	76
ANEXOS	88

1 INTRODUÇÃO

Considerando os avanços na tecnologia médica que permitem o tratamento de várias doenças, e a maior preocupação sobre ter hábitos saudáveis, estudos atuais têm mostrado que a expectativa de vida global vem aumentando^{1,2}. Com o aumento da expectativa de vida, é provável que a demanda por próteses removíveis também continue necessária, apesar da constante conscientização sobre saúde bucal em pacientes idosos³. No último resultado do SBBrasil de 2010 foi demonstrado que na faixa etária de 65 a 74 anos, apenas 23,5% de idosos não usavam algum tipo de prótese dentária superior, sendo o maior percentual (31,4%) na Região Nordeste, e o menor (16,5%), na Região Sul. A porcentagem de usuários de prótese total foi de 63,1% para o Brasil, variando de 65,3% na Região Sul a 56,1% na Região Nordeste⁴.

O polimetilmetacrilato (PMMA) é o polímero mais comumente usado em laboratórios odontológicos para confecção de próteses dentárias e para realização de reparos. Em clínicas odontológicas também é o mais utilizado para o reembasamentos das próteses^{4,5}. Essas resinas são convencionalmente apresentadas na forma de pó-líquido. O pó contém um polímero transparente (PMMA), no entanto aditivos como pigmentos e fibras sintéticas de nylon, ou acrílico são adicionados para melhorar as propriedades físicas e estéticas. O componente líquido contém um monômero de metacrilato de metila, que é combinado com agentes de reticulação e inibidores^{4,6}.

Em função da reabsorção óssea, que é um processo contínuo, muitas vezes o reembasamento dessas próteses dentárias se faz necessário. Pode-se realizar o reembasamento direto ou indireto. O reembasamento direto é realizado em consultório utilizando-se resinas acrílicas autopolimerizáveis especialmente formuladas para essa finalidade. Esse método, também denominado reembasamento imediato, pode ser realizado pela utilização de materiais rígidos ou resilientes e elimina as fases de inclusão e prensagem necessárias à realização do reembasamento do tipo mediato (ou indireto), sendo, por esse motivo, mais fácil, rápido e de custo acessível. O reembasamento direto das próteses é um processo relativamente simples, barato e melhora significativamente a satisfação dos pacientes⁷. Porém, estudos comprovam que os reembasadores possuem maior rugosidade superficial em comparação às resinas de base, fato que pode contribuir para o acúmulo de biofilme⁸.

¹⁰. Além disso, com o uso diário, os materiais resinosos são expostos aos ingredientes da saliva e mudanças de temperatura na cavidade bucal. Esses fatores, associados aos hábitos inadequados de higiene, também podem favorecer o acúmulo de biofilme na superfície desses materiais, ocasionando a estomatite protética^{11,12}.

A etiologia da estomatite protética mostra-se extremamente variável, sendo considerada multifatorial. O uso prolongado de próteses dentárias, a má higiene e o trauma da mucosa são fatores locais importantes que contribuem para o desenvolvimento e manutenção da doença¹¹. Outro importante fator para o seu desenvolvimento é o ambiente favorável para o crescimento de *Candida* que é criado sob as próteses dentárias. O microambiente da mucosa palatina portadora da prótese é de baixo oxigênio, em grande parte desprovido de saliva, e é de pH ácido, o que promove a atividade e secreção de enzimas hidrolíticas, aspartil proteinases (SAPs) secretadas, fosfolipases e lipases que causam a degradação tecidual¹³⁻¹⁹. Além disso, a adesão de microrganismos na superfície interna das próteses ou dos reembasadores e posterior formação do biofilme, principalmente de espécies de *Candida*, são fatores primordiais para o surgimento da estomatite protética.

A cavidade bucal é um habitat excepcionalmente complexo que abriga comunidades microbianas únicas e diversas que coexistem em um equilíbrio. Qualquer distúrbio neste ecossistema que resulte no domínio de uma espécie patogênica (disbiose), pode levar ao desenvolvimento de doenças bucais^{20,21}. Na cavidade oral, a co-adesão de *C. albicans* com bactérias é essencial para a persistência e sobrevivência de *C. albicans* e, portanto, essas interações podem aumentar a colonização no hospedeiro^{22,23}.

A virulência de *C. albicans* é atribuída à sua capacidade de crescer em diversas formas morfológicas: levedura, pseudo-hifas e hifas verdadeiras. As hifas alongadas evadem ou escapam das células fagocíticas e conseguem fazer com que as células de levedura se disseminem no tecido e na corrente sanguínea, contribuindo como um fator importante na sobrevivência de *C. albicans* em vários locais ou condições. Além dessa capacidade morfológica, outro fator que pode aumentar a virulência de *C. albicans* são as interações com microrganismos orais como *S. mutans*, isso justifica a importância em estudar os biofilmes multiespécies em superfícies²⁴.

As interações fúngico-bacterianas e seu papel na saúde e na doença estão ganhando notoriedade²⁵. Essa interação pode ser do tipo comensalismo cooperativo,

quando os microrganismos podem fornecer substratos e/ou metabólitos estimulando assim o crescimento de ambas as espécies. Isso ocorre entre *C. albicans* e *S. mutans*. O fungo metaboliza a sacarose de forma ineficiente, mas é beneficiado por produtos da hidrólise de sacarose (glicose e frutose) realizada por *S. mutans*. A presença de *C. albicans* no biofilme aumenta a formação de exopolissacarídeos (EPS), e dos glucanos, aumentando a adesão e a coesão bacteriana. Também forma uma matriz limitadora da difusão que protege as bactérias e ajuda a acidificar o microambiente local. Dessa forma, o acúmulo e formação de microcolônias de *S. mutans* se torna maior^{26,27}.

A estomatite pode ser tratada usualmente por meio da utilização de medicamentos antifúngicos, da orientação ao paciente quanto à higienização da prótese e verificação da necessidade da troca. Agentes antifúngicos usados em excesso pode resultar em espécies resistentes às drogas²⁸. A prescrição de antifúngicas deve ser vista com cautela. Alguns podem ser tóxicos, ter baixa efetividade e, como já mencionado, podem induzir a resistência fúngica²⁸. Assim, novas pesquisas buscam terapias alternativas para o tratamento de infecções, sendo a fitoterapia uma alternativa viável para atingir este objetivo^{29,30}.

O gênero *Cryptocarya* pertence à família Pantropical *Lauraceae*, da qual várias espécies crescem nas florestas tropicais dos países da orla do Pacífico. Diferentes tipos de produtos naturais, apresentando considerável diversidade estrutural, têm sido isolados de espécies desse gênero, incluindo flavonóides e pironas³¹. Várias espécies de *Cryptocarya* foram estudadas com foco em sua fitoquímica e farmacologia³²⁻³⁴. Estudos prévios observaram atividade antifúngica de *C. moschata* e *C. mandioccana*³⁵⁻³⁷. Recentemente, um estudo desenvolvido por Zoccolotti et al.²⁹ (2021), mostrou que os extratos de *C. moschata* e *C. mandioccana* foram capazes de reduzir o metabolismo celular e o número de unidades formadoras de colônias do biofilme de *C. albicans* formado sobre resina acrílica para base de próteses. Além disso, em estudo in vivo, observou-se que, histologicamente, o extrato de *C. moschata* não causou dano celular na língua dos camundongos, além de diminuir o biofilme de *C. albicans*, semelhante ao grupo tratado com nistatina, usado como controle positivo³⁸.

Apesar dos resultados promissores em relação a fitoquímica e farmacologia de várias espécies de *Cryptocarya*, nenhum estudo foi encontrado na literatura a respeito

de seu efeito sobre biofilme misto de *Candida albicans* e *Streptococcus mutans* formados sobre amostras de resinas acrílicas para base e reembasamento de próteses. Os fatores supracitados demonstram a importância do presente estudo na elaboração de um tratamento natural e de baixo custo para a estomatite protética.

Dentre os métodos de prevenção, a eliminação e/ou redução do biofilme é fator primordial. Biofilmes são comunidades microbianas altamente organizadas, aderidas a uma superfície biótica (mucosa oral) ou abiótica (superfície das próteses), e protegidas por uma matriz polimérica extracelular^{39,40}. Devido à interação das células microbianas e a presença da matriz polimérica extracelular, o biofilme possui propriedades diferentes dos microrganismos que se encontram em forma livre. Na forma de biofilme, as células apresentam benefícios, tais como: retenção de água e resistência a dessecação, captação e armazenamento de nutrientes, adesão ao sítio de infecção, proteção física contra o sistema de defesa do hospedeiro e antimicrobianos⁴¹. A eliminação e/ou redução do biofilme pode ser realizada mecanicamente, quimicamente ou pela combinação de ambas⁴².

Estratégias de desinfecção por soluções químicas têm sido frequentemente recomendadas devido a sua efetividade em reduzir ou eliminar diferentes microrganismos⁴³. Um limpador químico ideal para próteses dentárias deve inibir ou reduzir o acúmulo de biofilmes, possuir atividade antifúngica e antibacteriana, ter um odor agradável, ser de baixo custo, fácil manipulação e não tóxico^{44,45}. Existem alguns tipos de produtos químicos utilizados para a desinfecção das próteses, como digluconato de clorexidina, hipoclorito de sódio, vinagre e álcool⁴⁶⁻⁴⁹. Porém, esses agentes possuem algumas desvantagens e restrições de uso como manchamento e branqueamento das resinas, efeitos citotóxicos e corrosão da estrutura metálica em próteses parciais removíveis⁵⁰⁻⁵³.

Como alternativa, estudos foram realizados com o objetivo de avaliar os efeitos da imersão em sabonetes líquidos desinfetantes sobre as propriedades físicas, mecânicas e biológicas de resinas acrílicas para base e reembasamento de prótese, bem como sobre dentes artificiais⁵⁴⁻⁵⁷. Zoccolotti et al.⁵⁴ (2018) observaram que alguns sabonetes líquidos desinfetantes (Dettol, Lifebuoy®, Protex) foram eficazes na redução do biofilme simples formado na superfície de amostras de resina acrílica. Além disso, o mesmo estudo concluiu que os sabonetes testados não foram tóxicos e não promoveram alteração na rugosidade das amostras. Em 2019, Zoccolotti et al.⁵⁵

concluíram que os sabonetes líquidos desinfetantes não alteraram significativamente a dureza, a rugosidade e a estabilidade da cor de dentes artificiais testados, tornando-se uma alternativa para a desinfecção de próteses removíveis parciais ou totais. Diante dos resultados laboratoriais promissores, Tasso et al.⁵⁶ (2020) realizaram um estudo clínico controlado com o objetivo de avaliar a efetividade das soluções de dois sabonetes líquidos desinfetantes (Dettol e Lifebuoy®) no controle do biofilme presente em próteses totais superiores removíveis. Os autores concluíram que as soluções do sabonete Lifebuoy® e do sabonete Dettol tiveram resultados semelhantes e foram eficazes na redução do biofilme. Em outro estudo, observou-se que a imersão de um reembasador de próteses no sabonete líquido Lifebuoy® reduziu o biofilme formado nas amostras e a imersão não afetou a citotoxicidade do material⁵⁷. Esses estudos avaliaram as propriedades biológicas em relação às cepas de *C. albicans* e isolados clínicos das espécies de *Candida*. Nenhum estudo foi encontrado na literatura avaliando o efeito dos sabonetes desinfetantes sobre biofilme misto de *Candida albicans* e *Streptococcus mutans*, o que demonstra a importância do presente estudo na elaboração de um protocolo de desinfecção acessível e de baixo custo para usuários de próteses removíveis parciais ou totais.

7 CONCLUSÃO

Levando-se em consideração os resultados obtidos e as limitações do presente estudo, pôde-se concluir que:

Estudo I: A solução de sabonete Lifebuoy® foi capaz de reduzir o número de unidades formadoras de colônias e o metabolismo celular dos biofilmes simples e misto de *C. albicans* e *S. mutans* formados sobre amostras de resina acrílica para base e reembasador de próteses, tanto para o protocolo de prevenção, como para o de desinfecção.

Estudo II: O protocolo de tratamento utilizando-se o extrato de *C. moschata* foi capaz de reduzir o número de unidades formadoras de colônias dos biofilmes simples e misto de *C. albicans* e *S. mutans* formados sobre amostras de resina acrílica para base e reembasador de próteses. Além disso, o tratamento causou danos aos componentes da matriz extracelular.

REFERÊNCIAS*

1. Gulland A. Global life expectancy increases by five years. *BMJ*. 2016; 353: i2883.
2. Kontis V, Bennett JE, Mathers CD, Li G, Foreman K, Ezzati M. Future life expectancy in 35 industrialised countries: projections with a Bayesian model ensemble. *Lancet*. 2017; 389(10076): 1323-35.
3. Carlsson GE, Omar R. The future of complete dentures in oral rehabilitation. A critical review. *J Oral Rehabil*. 2010; 37(2): 143-56.
4. Hassan M, Asghar M, Din SU, Zafar MS. Thermoset polymethacrylate-based materials for dental applications. *In: Grumezescu V, Grumezescu AM, editors. Materials for biomedical engineering. Amsterdam: Elsevier; 2019; p. 273-308.*
5. Nejatian T, Pezeshki S, Yaqin Syed AU. Acrylic denture base materials. *In: Khurshid Z, Najeeb S, Zafar MS, Sefat F, editors. Advanced dental biomaterials. Cambridge: Woodhead Publishing; 2019. p. 79-104.*
6. Zafar MS. Prosthodontic Applications of Polymethyl Methacrylate (PMMA): an update. *Polymers (Basel)*. 2020; 12(10): 2299.
7. Pisani MX, Malheiros-Segundo Ade L, Balbino KL, de Souza RF, Paranhos Hde F, da Silva CH. Oral health related quality of life of edentulous patients after denture relining with a silicone-based soft liner. *Gerodontology*. 2012; 29(2): 474-80.
8. Murata H, Chimori H, Hong G, Hamada T, Nikawa H. Compatibility of tissue conditioners and denture cleansers: influence on surface conditions. *Dent Mater J*. 2010; 29(4): 446-53.
9. Nikawa H, Jin C, Makhira S, Egusa H, Hamada T, Kumagai H. Biofilm formation of *Candida albicans* on the surface of deteriorated soft denture lining materials caused by denture cleansers in vitro. *J Oral Rehabil*. 2003; 30: 243-250.
10. Pereira-Cenci T, Cury AA, Cenci MS, Rodrigues-Garcia RC. In vitro *Candida* colonization on acrylic resins and denture liners: influence of surface free energy, roughness, saliva, and adhering bacteria. *Int J Prosthodont*. 2007; 20: 308-310.
11. Salvatori O, Puri S, Tati S, Edgerton M. Innate Immunity and Saliva in *Candida albicans*-mediated Oral Diseases. *J Dent Res*. 2016; 95(4): 365-71.

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

12. Vila T, Rizk AM, Sultan AS, Jabra-Rizk MA. The power of saliva: Antimicrobial and beyond. *PLoS Pathog*. 2019 Nov 14;15(11): 1008058.
13. Vila T, Sultan AS, Montelongo-Jauregui D, Jabra-Rizk MA. Oral Candidiasis: A Disease of Opportunity. *J Fungi (Basel)*. 2020; 6(1): 15.
14. Dorocka-Bobkowska B, Budtz-Jørgensen E, W?och S. Non-insulin-dependent diabetes mellitus as a risk factor for denture stomatitis. *J Oral Pathol Med*. 1996; 25(8): 411-5.
15. Budtz-Jørgensen E, Mojon P, Rentsch A, Deslauriers N. Effects of an oral health program on the occurrence of oral candidosis in a long-term care facility. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2000; 28(2): 141-9.
16. Feltrin PP, Tortamano N, Jaeger RG, Araújo VC. Estomatite protética: estudo da superfície interna da prótese total em microscopia eletrônica de varredura e da mucosa de suporte através de exame citológico, histopatológico imunohistoquímico. *Rev Assoc Bras Odontol*. 1993; 1(1): 31-8.
17. Webb BC, Thomas CJ, Willcox MD, Harty DW, Knox KW. Candida-associated denture stomatitis. Aetiology and management: a review. Part 1. Factors influencing distribution of Candida species in the oral cavity. *Aust Dent J*. 1998; 43(1): 45-50.
18. Webb BC, Thomas CJ, Willcox MD, Harty DW, Knox KW. Candida-associated denture stomatitis. Aetiology and management: a review. Part 2. Oral diseases caused by Candida species. *Aust Dent J*. 1998; 43(3): 160-6.
19. Webb BC, Thomas CJ, Willcox MD, Harty DW, Knox KW. Candida-associated denture stomatitis. Aetiology and management: a review. Part 3. Treatment of oral candidosis. *Aust Dent J*. 1998; 43(4): 244-9.
20. Sultan AS, Kong EF, Rizk AM, Jabra-Rizk MA. The oral microbiome: A Lesson in coexistence. *PLoS Pathog*. 2018 Jan 25;14(1): 1006719.
21. Zaura E, Nicu EA, Krom BP, Keijser BJ. Acquiring and maintaining a normal oral microbiome: current perspective. *Front Cell Infect Microbiol*. 2014; 26(4): 85.
22. Van Dijck P, Brown NA, Goldman GH, Rutherford J, Xue C, Van Zeebroeck G. Nutrient Sensing at the Plasma Membrane of Fungal Cells. *Microbiol Spectr*. 2017;5(2).
23. Nobbs AH, Jenkinson HF, Everett DB. Generic determinants of Streptococcus colonization and infection. *Infect Genet Evol*. 2015; 33: 361-70.
24. Thein ZM, Samaranayake YH, Samaranayake LP. Effect of oral bacteria on growth and survival of Candida albicans biofilms. *Arch Oral Biol*. 2006; 51(8): 672-80.

25. Diaz PI, Xie Z, Sobue T, Thompson A, Biyikoglu B, Ricker A, Ikonomou L, Dongari-Bagtzoglou A. Synergistic interaction between *Candida albicans* and commensal oral streptococci in a novel in vitro mucosal model. *Infect Immun*. 2012; 80(2): 620-32.
26. Falsetta ML, Klein MI, Colonne PM, Scott-Anne K, Gregoire S, Pai CH, Gonzalez-Begne M, Watson G, Krysan DJ, Bowen WH, Koo H. Symbiotic relationship between *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* synergizes virulence of plaque biofilms in vivo. *Infect Immun*. 2014; 82(5): 1968-81.
27. Kim D, Sengupta A, Niepa TH, Lee BH, Weljie A, Freitas-Blanco VS, Murata RM, Stebe KJ, Lee D, Koo H. *Candida albicans* stimulates *Streptococcus mutans* microcolony development via cross-kingdom biofilm-derived metabolites. *Sci Rep*. 2017; 7: 41332.
28. Kathiravan MK, Salake AB, Chothe AS, Dudhe PB, Watode RP, Mukta MS, Gadhwe S. The biology and chemistry of antifungal agents: a review. *Bioorg Med Chem*. 2012; 20(19): 5678-98.
29. Zoccolotti JO, Cavaleiro AJ, Tasso CO, Ribas BR, Ferrisse TM, Jorge JH. Antimicrobial efficacy and biocompatibility of extracts from *Cryptocarya* species. *PLoS One*. 2021 Dec 31;16(12): 0261884.
30. Ribeiro SM, Fratucelli ÉDO, Fernandes JM, Bueno PCP, Cavaleiro AJ, Klein MI. Systematic Approach to Identify Novel Antimicrobial and Antibiofilm Molecules from Plants' Extracts and Fractions to Prevent Dental Caries. *J Vis Exp*. 2021; (169).
31. Drumond MRS, Castro RD, Almeida RVD, Pereira MSV, Padilha WWN. Estudo comparativo in vitro da atividade antibacteriana de produtos fitoterápicos sobre bactérias cariogênicas. *Pesq Bras Odontoped Clin Integr*. 2004; 4: 33-8.
32. Cavaleiro AJ, Yoshida M. 6-[omega-arylalkenyl]-5,6-dihydro-alpha-pyrone from *Cryptocarya moschata* (Lauraceae). *Phytochemistry*. 2000; 53(7): 811-9.
33. Nehme CJ, Moraes PLR, Tininis AG, Cavaleiro AJ. Intraspecific variability of flavonoid glycosides and styrylpyrones from leaves of *Cryptocarya mandioccana* Meisner (Lauraceae). *Bioch Syst Ecol*. 2008. 36: 602-11.
34. Bandeira KF, Cavaleiro AJ. An LC-DAD Fingerprinting Method for Alkaloids, Flavonoids and Styrylpyrones from *Cryptocarya mandioccana*. *Chromatographia*. 2009; 70:1455-60.
35. Ricardo MAG, Andreco MA, Cavaleiro AJ, Castro-gamboa IC, Bolzani VS, Silva DHS. Bioactive pyrones and flavonoids from *Cryptocarya aschersoniana* seedlings. *Arkivoc*. 2004. 6: 127-136.

36. Telascrea M, Araújo CC, Cavaleiro AJ, Marques MOM, Facanali R, Moraes PLR. Essential oils from leaves of *Cryptocarya* spp. from the atlantic rain forest. *Quim Nova* 31. 2008: 503-507.
37. Giocondo MP, Bassi CL, Telascrea M, Cavaleiro AJ, Bolzani VS, Silva DHS, Agustoni D, Melo ER, Soares CP. Cryptomoschatone D2 from *Cryptocarya mandioccana*: cytotoxicity against human cervical carcinoma cell lines. *Rev Ciênc Farm Básica Apl.* 2009; 30: 315-22.
38. de Oliveira Zoccolotti J, Cavaleiro AJ, Tasso CO, de Oliveira CC, Ribas BR, Ferrisse TM, de Souza Costa CA, Jorge JH. In vivo antifungal activity and biocompatibility of *Cryptocarya moschata*. *Arch Microbiol.* 2022; 204(9): 569.
39. Fimble A, Lynch S, Robertson GT. Bacterial and fungal biofilm infections. *Annu Rev Med.* 2008; 59: 415-28.
40. Flemming HC, Wingender J, Szewzyk U, Steinberg P, Rice SA, Kjelleberg S. Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nat Rev Microbiol.* 2016; 14(9): 563-75.
41. Fleming D, Rumbaugh KP. Approaches to dispersing medical biofilms. *Microorganisms.* 2017; 5(2): pp E15.
42. Nikawa H, Hamada T, Yamashiro H, Kumagai H. A review of in vitro and in vivo methods to evaluate the efficacy of denture cleansers. *Int J Prosthodont.* 1999; 12(2): 153-9.
43. Altieri KT, Sanitá PV, Machado AL, Giampaolo ET, Pavarina AC, Jorge JH, Vergani CE. Eradication of a mature methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) biofilm from acrylic surfaces. *Braz Dent J.* 2013; 24(5): 487-91.
44. Karakis D, Akay C, Oncul B, Rad AY, Dogan A. Effectiveness of disinfectants on the adherence of *Candida albicans* to denture base resins with different surface textures. *J Oral Sci.* 2016; 58(3): 431-7.
45. Hayran Y, Sarikaya I, Aydin A, Tekin YH. Determination of the effective anticandidal concentration of denture cleanser tablets on some denture base resins. *J Appl Oral Sci.* 2018; 18(26): 20170077
46. Amaya Arbeláez MI, Vergani CE, Barbugli PA, Pavarina AC, Sanitá PV, Jorge JH. Long-Term Effect of Daily Chemical Disinfection on Surface Topography and *Candida Albicans* Biofilm Formation on Denture Base and Reline Acrylic Resins. *Oral Health Prev Dent.* 2020; 18(1): 999-1010.
47. Bell JA, Brockmann SL, Feil P, Sackuvich DA. The effectiveness of two disinfectants on denture base acrylic resin with an organic load. *J Prosthet Dent.* 1989; 61(5): 580- 583.

48. da Silva FC, Kimpara ET, Mancini MN, Balducci I, Jorge AO, Koga-Ho CY. Effectiveness of six different disinfectants on removing five microbial species and effects on the topographic characteristics of acrylic resin. *J Prosthodont* 2008;17(8): 627-633.
49. Smith K, Hunter IS. Efficacy of common hospital biocides with biofilms of multi-drug resistant clinical isolates. *J Med Microbiol.* 2008; 57(pt 8): 966-973.
50. Sagripanti JL, Bonifacino A. Cytotoxicity of liquid disinfectants. *Surg Infect.* 2000; 1:3- 14.
51. Molinari JA, Runnells RR. Role of disinfectants in infection control. *Dent Clin North Am.* 1991; 35(2): 323-37.
52. Asad T, Watkinson AC, Huggett R. The effects of various disinfectant solutions on the surface hardness of an acrylic resin denture base material. *Int J Prosthodont.* 1993; 6(1):9-12.
53. Pavarina AC, Pizzolitto AC, Machado AL, Vergani CE, Giampaolo ET. An infection control protocol: effectiveness of immersion solutions to reduce the microbial growth on dental prostheses. *J Oral Rehabil.* 2003; 30: 532-536.
54. Zoccolotti JO, Tasso CO, Arbeláez MIA, Malavolta IF, Pereira ECDS, Esteves CSG, Jorge JH. Properties of an acrylic resin after immersion in antiseptic soaps: Low-cost, easy-access procedure for the prevention of denture stomatitis. *PLoS One.* 2018; 13(8): e0203187.
55. Zoccolotti JO, Suzuki RB, Rinaldi TB, Pellissari CVG, Sanitá PV, Jorge JH. Physical properties of artificial teeth after immersion in liquid disinfectant soaps. *Am J Dent.* 2019; 32(1): 14-20.
56. Tasso CO, de Oliveira Zoccolotti J, Ferrisse TM, Malavolta IF, Jorge JH. Effectiveness of Disinfectant Liquid Soaps in the Reduction of *Candida* spp Present in Complete Dentures: A Crossover Randomized Clinical Trial. *Int J Prosthodont.* 2020; 33(6): 620-628.
57. Malavolta IF, Tasso CO, Ferrise TM, Zoccolotti JD, Amaya Arbeláez MI, Sanitá PV, Jorge JH. Biological and physical properties of a reline acrylic resin after immersion in liquid antiseptic soaps. *Am J Dent.* 2021; 34(3): 150-156.
58. Gendreau L, Loewy ZG. Epidemiology and etiology of denture stomatitis. *J Prosthodont.* 2011; 20(4): 251-60.
59. Reichart PA. Oral mucosal lesions in a representative cross-sectional study of aging Germans. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2000; 28(5): 390-8.
60. Budtz-Jørgensen E. Clinical aspects of *Candida* infection in denture wearers. *J Am Dent Assoc.* 1978; 96(3): 474-9.

61. Arendorf TM, Walker DM. Denture stomatitis: a review. *J Oral Rehabil.* 1987; 14(3): 217-27.
62. Jeganathan S, Lin CC: Denture stomatitis-a review of the aetiology, diagnosis, and management. *Aust Dent J* 1992; 37: 107- 114 management. *Aust Dent J* 1992; 37:107- 114.
63. Budtz-Jorgensen E, Bertram U. Denture stomatitis. I. The etiology in relation to trauma and infection. *Acta Odontol Scand.* 1970; 28(1): 71-92.
64. Emami E, Kabawat M, Rompre PH, Feine JS. Linking evidence to treatment for denture stomatitis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Dent.* 2014; 42: 99-106.
65. Frenkel H, Harvey I, Newcombe RG: Oral health care among nursing home residents in Avon. *Gerodontology.* 2000; 17: 33- 38.
66. Souza JC, Mota RR, Sordi MB, Passoni BB, Benfatti CA, Magini RS. Biofilm Formation on Different Materials Used in Oral Rehabilitation. *Braz Dent J.* 2016; 27(2): 141-7.
67. Coulthwaite L, Verran J. Potential pathogenic aspects of denture plaque. *Br J Biomed Sci.* 2007; 64(4): 180-9.
68. Campos MS, Marchini L, Bernardes LA, Paulino LC, Nobrega FG. Biofilm microbial communities of denture stomatitis. *Oral Microbiol Immunol.* 2008; 23(5): 419-24.
69. Shay K. Denture hygiene: a review and update. *J Contemp Dent Pract.* 2000; 1(2): 28-41.
70. Branting C, Odén A, Wiatr-Adamczak E, Linder LE, Sund ML. Adhesion of *Streptococcus rattus* and *Streptococcus mutans* to metal surfaces. *Scand J Dent Res.* 1988; 96(3): 218-25.
71. Pereira-Cenci T, Del Bel Cury AA, Crielaard W, Ten Cate JM. Development of *Candida*-associated denture stomatitis: new insights. *J Appl Oral Sci.* 2008; 16(2): 86-94.
72. Carlsson J, Söderholm G, Almfeldt I. Prevalence of *Streptococcus sanguis* and *Streptococcus mutans* in the mouth of persons wearing full-dentures. *Arch Oral Biol.* 1969 Mar;14(3):243-9.
73. Gow NA, van de Veerdonk FL, Brown AJ, Netea MG. *Candida albicans* morphogenesis and host defence: discriminating invasion from colonization. *Nat Rev Microbiol.* 2011; 10(2): 112-22.
74. Hoyle BD, Costerton JW. Bacterial resistance to antibiotics: the role of biofilms. *Prog Drug Res.*1991; 37: 91-105.

75. Leid JG, Willson CJ, Shirtliff ME, Hassett DJ, Parsek MR, Jeffers AK. The exopolysaccharide alginate protects *Pseudomonas aeruginosa* biofilm bacteria from IFN-gamma-mediated macrophage killing. *J Immunol.* 2005; 175(11): 7512-8.
76. Øilo M, Bakken V. Biofilm and Dental Biomaterials. *Materials (Basel).* 2015; 8(6): 2887-900.
77. Ramage G, Tomsett K, Wickes BL, Lopez-Ribot JL, Redding SW. Denture stomatitis: a role for *Candida* biofilms. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004; 98: 53-59
78. Cannon RD, Chaffin WL. Oral colonization by *Candida albicans*. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1999; 10(3): 359-83.
79. Chandra J, Mukherjee PK, Leidich SD, Faddoul FF, Hoyer LL, Douglas LJ, Ghannoum MA. Antifungal resistance of candidal biofilms formed on denture acrylic in vitro. *J Dent Res.* 2001; 80: 903-908.
80. Thein ZM, Samaranayake YH, Samaranayake LP. Effect of oral bacteria on growth and survival of *Candida albicans* biofilms. *Arch Oral Biol.* 2006; 51(8): 672-80.
81. Bakhshi M, Taheri JB, Shabestari SB, Tanik A, Pahlevan R. Comparison of therapeutic effect of aqueous extract of garlic and nystatin mouthwash in denture stomatitis. *Gerodontology.* 2012; 29(2): 680-4.
82. Maciel AJ, Lacerda CP, Danielli LJ, Bordignon SAL, Fuentefria AM, Apel MA. Antichemotactic and Antifungal Action of the Essential Oils from *Cryptocarya aschersoniana*, *Schinus terebinthifolia*, and *Cinnamomum amomum*. *Chem Biodivers.* 2019; 16(8): e1900204.
83. Marcos-Arias C, Eraso E, Madariaga L, Quindós G. In vitro activities of natural products against oral *Candida* isolates from denture wearers. *BMC Complement Altern Med.* 2011; 11: 119.
84. Alavarce RAS, Saldanha LL, Almeida NLM, Porto VC, Dokkedal AL, Lara VS. The beneficial effect of *Equisetum giganteum* L. against *Candida* biofilm formation: New approaches to denture stomatitis. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2015; 939625.
85. Pinelli LAP, Montandon AAB, Corbi SCT, Moraes TA, Fais LMG. *Ricinus communis* treatment of denture stomatitis in institutionalised elderly. *J Oral Rehabil.* 2013; 40(5): 375-380.

86. Pina GM, Lia EN, Berretta AA, Nascimento AP, Torres EC, Buszinski AF, de Campos TA, Coelho EB, Martins VP. Efficacy of Propolis on the Denture Stomatitis Treatment in Older Adults: A Multicentric Randomized Trial. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2017; 2017: 8971746.
87. Dumontet V, Van Hung N, Adeline MT, Riche C, Chiaroni A, Sévenet T, Guéritte F. Cytotoxic flavonoids and alpha-pyrones from *Cryptocarya obovata*. *J Nat Prod*. 2004; 67(5): 858-62.
88. Moraes PLR. Taxonomy of *Cryptocarya* species of Brazil. In: *Abc Taxa*, 2007. v. 3, p. 1-191.
89. Ricardo, MAG.; Andreco, MA.; Cavaleiro, AJ.; Castro-gamboa, IC.; Bolzani, VS.; Silva, DHS. Bioactive pyrones and flavonoids from *Cryptocarya aschersoniana* seedlings. *Arkivoc*. 2004; 127-136.
90. Giocondo MP, Bassi CL, Telascrea M, Cavaleiro AJ, Bolzani VS, Silva DHS, Agustoni D, Melo ER, Soares CP. Cryptomoschatone D2 from *Cryptocarya mandiocana*: cytotoxicity against human cervical carcinoma cell lines. *Rev Ciênc Farm Básica Apl*. 2009. 30: 315-22.
91. Wright CJ, Burns LH, Jack AA, Back CR, Dutton LC, Nobbs AH, et al. Microbial interactions in building of communities. *Mol Oral Microbiol*. 2013; 28(2): 83-101.
92. Sumi Y, Miura H, Michiwaki Y, Nagaosa S, Nagaya M. Colonização da placa dentária por patógenos respiratórios em idosos dependentes. *Arch Gerontol Geriatr*. 2007; 44: 119 - 124.
93. Apratim A, Shah SS, Sinha M, Agrawal M, Chhaparia N, Abubakkar A. Denture hygiene habits among elderly patients wearing complete dentures. *J Contemp Dent Pract*. 2013; 14(6): 1161-4.
94. Pitt WG, Ross SA. Ultrasound increases the rate of bacterial cell growth. *Biotechnol Prog*. 2003; 19(3): 1038-44.
95. Ribeiro DG, Pavarina AC, Dovigo LN, Palomari Spolidorio DM, Giampaolo ET, Vergani CE. Denture disinfection by microwave irradiation: a randomized clinical study. *J Dent*. 2009; 37(9): 666-72.
96. Basso MF, Giampaolo ET, Vergani CE, Machado AL, Pavarina AC, Compagnoni MA. Influence of microwave disinfection on the linear dimensional stability of complete dentures: a clinical study. *Int J Prosthodont*. 2010; 23: 318-320.
97. Badaró MM, Salles MM, de Arruda CNF, Oliveira VC, de Souza RF, Paranhos HFO, Silva-Lovato CH. In Vitro Analysis of Surface Roughness of Acrylic Resin Exposed to the Combined Hygiene Method of Brushing and Immersion in *Ricinus communis* and Sodium Hypochlorite. *J Prosthodont*. 2017; 26(6):516-21.

98. Nikawa H, Hamada T, Yamashiro H, Kumagai H. A review of in vitro and in vivo methods to evaluate the efficacy of denture cleansers. *Int J Prosthodont.* 1999; 12(2): 153-9.
99. Izumida FE, Jorge JH, Ribeiro RC, Pavarina AC, Moffa EB, Giampaolo ET. Surface roughness and *Candida albicans* biofilm formation on a reline resin after long-term chemical disinfection and toothbrushing. *J ProsthetDent.* 2014; 112(6): 1523-9.
100. Pero AC, Barbosa DB, Marra J, Ruvolo-Filho AC, Compagnoni MA. Influence of microwave polymerization method and thickness on porosity of acrylic resin. *J Prosthodont.* 2008; 17(2):125-9.
101. Nowakowska-Toporowska A, Raszewski Z, Wieckiewicz W. Color change of soft silicone relining materials after storage in artificial saliva. *J Prosthet Dent.* 2016; 115(3): 377-80.
102. Jorge JH, Giampaolo ET, Vergani CE, Machado AL, Pavarina AC, Carlos IZ. Cytotoxicity of denture base resins: effect of water bath and microwave postpolymerization heat treatments. *Int J Prosthodont.* 2004; 17(3): 340-4.
103. Jorge JH, Giampaolo ET, Vergani CE, Machado AL, Pavarina AC, Carlos IZ. Effect of postpolymerization heat treatments on the cytotoxicity of two denture base acrylic resins. *J Appl Oral Sci.* 2006; 14(3): 203-7.
104. Jorge JH, Giampaolo ET, Vergani CE, Machado AL, Pavarina AC, Carlos IZ. Biocompatibility of denture base acrylic resins evaluated in culture of L929 cells. Effect of polymerisation cycle and postpolymerisation treatments. *Gerodontology.* 2007; 24(1): 52-7.
105. Jorge JH, Giampaolo ET, Vergani CE, Machado AL, Pavarina AC, Carlos IZ. Effect of microwave postpolymerization treatment and of time of storage in water on the cytotoxicity of denture base and reline acrylic resins. *Quintessence Int.* 2009; 40(10): 93-100.
106. Panariello BH, Izumida FE, Moffa EB, Pavarina AC, Jorge JH, Giampaolo ET. Effects of short- term immersion and brushing with different denture cleansers on the roughness, hardness, and color of two types of acrylic resin. *Am J Dent.* 2015; 28(3):150-6.
107. Zamperini CA, Machado AL, Vergani CE, Pavarina AC, Rangel EC, Cruz NC. Evaluation of fungal adherence to plasma-modified polymethylmethacrylate. *Mycoses.* 2011; 54(5): 344-51.
108. Flemming HC, Wingender J. The biofilm matrix. *Nat Rev Microbiol.* 2010; 8(9): 623- 33.

109. Fulaz S, Vitale S, Quinn L, Casey E. Nanoparticle-Biofilm Interactions: The Role of the EPS Matrix. *Trends Microbiol.* 2019; 27(11): 915-926.
110. Wu C, Labrie J, Tremblay YD, Haine D, Mourez M, Jacques M. Zinc as an agent for the prevention of biofilm formation by pathogenic bacteria. *J Appl Microbiol.* 2013; 115(1): 30-40.
111. Zago LHP, de Annunzio SR, de Oliveira KT, Barbugli PA, Valdes BR, Feres M, Fontana CR. Antimicrobial photodynamic therapy against metronidazole-resistant dental plaque bacteria. *J Photochem Photobiol B.* 2020; 209: 111903.
112. Alzayyat ST, Almutiri GA, Aljandan JK, Algarzai RM, Khan SQ, Akhtar S, Matin A, Gad MM. Antifungal Efficacy and Physical Properties of Poly(methylmethacrylate) Denture Base Material Reinforced with SiO₂ Nanoparticles. *J Prosthodont.* 2021; 30(6):500-8.
113. Susewind S, Lang R, Hahnel S. Biofilm formation and *Candida albicans* morphology on the surface of denture base materials. *Mycoses.* 2015; 58(12): 719-27.
114. Peltola P, Vehkalahti MM, Wuolijoki-Saaristo K. Oral health and treatment needs of the long-term hospitalised elderly. *Gerodontology.* 2004; 21(2): 93-9.
115. Shay K. Denture hygiene: a review and update. *J Contemp Dent Pract.* 2000; 1(2): 28-41.
116. Brondani MA, Samim F, Feng H. A conventional microwave oven for denture cleaning: a critical review. *Gerodontology.* 2012; 29(2): 6-15.
117. Mendonça MJ, Machado AL, Giampaolo ET, Pavarina AC, Vergani CE. Weight loss and surface roughness of hard chairside reline resins after toothbrushing: influence of postpolymerization treatments. *Int J Prosthodont.* 2006; 19(3): 281-7.
118. Dovigo LN, Pavarina AC, Ribeiro DG et al. Microwave disinfection of complete dentures contaminated in vitro with selected bacteria. *J Prosthodont.* 2009; 18(7): 611-7.
119. Gama MC, de Oliveira DG, da Silva PM, Ordinola-Zapata R, Duarte MH, Porto VC. Antifungal activity of 4% chlorhexidine and 2% sodium hypochlorite against *Candida albicans* biofilms. *Gen Dent.* 2015; 63(5): 43-7.
120. Amaya Arbeláez MI, Vergani CE, Barbugli PA, Pavarina AC, Sanitá PV, Jorge JH. Long-Term Effect of Daily Chemical Disinfection on Surface Topography and *Candida Albicans* Biofilm Formation on Denture Base and Reline Acrylic Resins. *Oral Health Prev Dent.* 2020; 18(1): 999-1010.

121. Peracini A, Machado Andrade I, Oliveira VC, Macedo AP, Silva-Lovato CH, Oliveira Pagnano V, Watanabe E, Oliveira Paranhos HF. Antimicrobial action and long-term effect of overnight denture cleansers. *Am J Dent.* 2017; 30(2): 101-108.
122. de Oliveira CE, Gasparoto TH, Dionísio TJ, Porto VC, Vieira NA, Santos CF, Lara VS. *Candida albicans* and denture stomatitis: evaluation of its presence in the lesion, prosthesis, and blood. *Int J Prosthodont.* 2010; 23(2): 158-9.
123. Yassin SA, German MJ, Rolland SL, Rickard AH, Jakubovics NS. Inhibition of multispecies biofilms by a fluoride-releasing dental prosthesis copolymer. *J Dent.* 2016; 48: 62-70.
124. Mantzourani M, Gilbert SC, Fenlon M, Beighton D. Non-oral bifidobacteria and the aciduric microbiota of the denture plaque biofilm. *Mol Oral Microbiol.* 2010; 25(3):190-9.
125. Sanchez-Vargas LO, Estrada-Barraza D, Pozos-Guillen AJ, Rivas-Caceres R (2013). Biofilm formation by oral clinical isolates of *Candida* species. *Arch Oral Biol.* 2013; 58(10): 1318-26.
126. Cakan U, Yuzbasioglu E, Kurt H, Kara HB, Turunç R, Akbulut A, Aydin KC. Assessment of hygiene habits and attitudes among removable partial denture wearers in a university hospital. *Niger J Clin Pract.* 2015; 18(4): 511-5.
127. Ribas BR, Tasso CO, Ferrisse TM, Jorge JH. Influence of brushing with antiseptic soap solution on the surface and biological properties of an acrylic denture base resin. *Am J Dent.* 2022; 35(5): 238-44.
128. Ribas BR, Tasso CO, Ferrisse TM, Jorge JH. Influence of brushing with an antiseptic soap solution on the surface and biological properties of a hard chairside relined resin. *Am J Dent.* 2022; 35(6): 291-6.
129. Rocha MM, Carvalho AM, Coimbra FCT, Arruda CNF, Oliveira VC, Macedo AP, Silva-Lovato CH, Pagnano VO, Paranhos HFO. Complete denture hygiene solutions: antibiofilm activity and effects on physical and mechanical properties of acrylic resin. *J Appl Oral Sci.* 2021;29: 20200948.
130. Barnabé W, de Mendonça Neto T, Pimenta FC, Pegoraro LF, Sclaro JM. Efficacy of sodium hypochlorite and coconut soap used as disinfecting agents in the reduction of denture stomatitis, *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. *J Oral Rehabil.* 2004; 31(5): 453-9.
131. Devine DA, Percival RS, Wood DJ, Tuthill TJ, Kite P, Killington RA, Marsh PD. Inhibition of biofilms associated with dentures and toothbrushes by tetrasodium EDTA. *J Appl Microbiol.* 2007; 103(6): 2516-24.
132. Manh Ha N, The Son N. The Genus *Cryptocarya*: A Review on Phytochemistry and Pharmacological Activities. *Chem Biodivers.* 2023; 20(3): 202201102.

133. Simões RJ; Fonseca P; FigueiraL MH. Oral infections by *Candida* spp. *Odontol. Clín.-Cient. (Online)* vol.12 no.1 Recife Jan./Mar. 2013.
134. Engel AS, Kranz HT, Schneider M, Tietze JP, Piwowarczyk A, Kuzius T, Arnold W, Naumova EA. Biofilm formation on different dental restorative materials in the oral cavity. *BMC Oral Health*. 2020; 20(1): 162.
135. Shemesh M, Tam A, Steinberg D. Differential gene expression profiling of *Streptococcus mutans* cultured under biofilm and planktonic conditions. *Microbiology (Reading)*. 2007; 153(Pt 5): 1307-1317.
136. Takahashi N, Iwasa F, Inoue Y, Morisaki H, Ishihara K, Baba K. Evaluation of the durability and antiadhesive action of 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine grafting on an acrylic resin denture base material. *J Prosthet Dent*. 2014; 112(2): 194-203.
137. Verran J, Maryan CJ. Retention of *Candida albicans* on acrylic resin and silicone of different surface topography. *J Prosthet Dent*. 1997; 77(5): 535-9.
138. Huh JB, Lim Y, Youn HI, Chang BM, Lee JY, Shin SW. Effect of denture cleansers on *Candida albicans* biofilm formation over resilient liners. *J Adv Prosthodont*. 2014; 6(2): 109-14.
139. Flemming HC, Wingender J. The biofilm matrix. *Nat Rev Microbiol*. 2010; 8(9): 623-33.
140. Fulaz S, Vitale S, Quinn L, Casey E. Nanoparticle-Biofilm Interactions: The Role of the EPS Matrix. *Trends Microbiol*. 2019; 27(11): 915-26.