



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



Norberto Martins de Oliveira Junior

**Influência da utilização de adesivos para prótese na adesão e formação de
biofilme simples e misto**

Araraquara

2018



UNESP - Universidade Estadual Paulista
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Norberto Martins de Oliveira Junior

**Influência da utilização de adesivos para prótese na adesão e formação de
biofilme simples e misto**

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia de Araraquara, para obtenção do título de Doutor em Reabilitação Oral, área de Prótese.

Orientador: Prof. Dr. Marco Antonio Compagnoni.

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Marlise Inêz Klein.

Araraquara

2018

Oliveira Junior, Norberto Martins de

Influência da utilização de adesivos para prótese na adesão e formação de biofilme simples e misto / Norberto Martins de Oliveira Junior.-- Araraquara: [s.n.], 2018

103 f. ; 30 cm.

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

Orientador: Prof. Dr. Marco Antonio Compagnoni

Co-orientadora: Profa. Dra. Marlise Inêz Klein

1. Prótese total 2. Adesivos 3. Microbiologia I. Título

Norberto Martins de Oliveira Junior

**Influência da utilização de adesivos para prótese na adesão e formação de
biofilme simples e misto**

Comissão julgadora

Tese para obtenção do grau de Doutor em Reabilitação Oral

Presidente e Orientador: Prof. Dr. Marco Antonio Compagnoni

Professor Titular do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese, Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP.

2º Examinador: Profa. Dra. Ana Carolina Pero

Professora Livre Docente do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese, Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP.

3º Examinador: Profa. Dra. Janaina Habib Jorge

Professora Assistente Doutor do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese, Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP.

4º Examinador: Profa. Dra. Karin Hermana Neppelenbroek

Professora Livre Docente do Departamento de Prótese e Periodontia, Faculdade de Odontologia de Bauru, USP.

5º Examinador: Profa. Dra. Claudia Helena Lovato da Silva

Professora Associada do Departamento de Materiais Dentários e Prótese, Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, USP.

Araraquara, 29 de janeiro de 2018.

DADOS CURRICULARES

Norberto Martins de Oliveira Junior

Nascimento	22.01.1989 - São Carlos - SP
Filiação	Norberto Martins de Oliveira Cleuvina Baroni Martins de Oliveira
2004/2006	Ensino Médio Colégio São Carlos
2007/2011	Graduação em Odontologia Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP
2012/2014	Curso de Pós-Graduação em Reabilitação Oral (Prótese), nível de Mestrado Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP
2014/2018	Curso de Pós-Graduação em Reabilitação Oral (Prótese), nível de Doutorado Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP

A Deus

Que me dá muita força e saúde para vencer a cada dia e seguir em frente com meus sonhos, que me permitiu nascer em uma família linda e que me proporcionou tudo que sempre precisei, e que me guiou pelo caminho do bem e preparou tudo em minha vida para acontecer na hora certa.

Aos meus Pais Norberto e Cleuvina

Meus amados pais, que sempre acreditaram em mim, incentivaram, apoiaram e proporcionaram simplesmente tudo em minha vida. Me criaram de maneira exemplar e me guiaram pelo caminho do estudo, por isso vocês são os grandes responsáveis também pela minha chegada até este ponto da carreira profissional. Sou muito grato a Deus por ter vocês como meus pais!

Vocês representam meu grande e eterno exemplo nesta vida! Amo muito vocês!

À minha esposa Tauane

Tudo aconteceu como deveria acontecer, e foi perfeito assim. A partir do momento que te encontrei, que coincide com o fim de meu Mestrado e início de meu Doutorado, conheci uma nova vida, que você me ensinou a viver. Ao seu lado me vi feliz como nunca fui. Como companheiros de vida e de pós-graduação, nos incentivamos diariamente e somos muito mais fortes. Além disso, você teve grande influência no desenvolvimento deste trabalho. Quantos problemas relacionados à minha pesquisa você me ajudou a resolver, e quantas vezes discutimos minha metodologia juntos?

Você me representa, além de amor, um grande incentivo durante minha trajetória no Doutorado.

Muito Obrigado por tudo! Te amo muito e para sempre!

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Marco Antonio Compagnoni

Meu grande orientador nestes 10 anos de vida científica. Durante meu Doutorado pude conhecer ainda mais sobre seu caráter e índole, sempre me auxiliando na resolução dos problemas da maneira mais sensata, compreensiva e humana possível. Muito obrigado por sua orientação, confiança, apoio e toda contribuição em meu processo de aprendizado ao longo desses anos de convivência. Sinto-me privilegiado por tê-lo como orientador.

À Prof^a. Dr^a. Ana Carolina Pero Vizoto

Pela amizade que desenvolvemos durante os anos, pelos momentos de descontração e por toda sua contribuição em minha vida na pós-graduação. Vejo você como uma grande orientadora e líder, que se dedica pela harmonia de nosso grupo de pesquisa de maneira humana e amiga, acima de tudo. Considero como uma grande co-orientadora que sempre esteve disposta a ajudar e contribuir no que fosse necessário. Muito obrigado por tudo!

À Prof^a. Dr^a. Marlise Inêz Klein

Uma grande pesquisadora e profissional que tive o prazer de conviver e ter como co-orientadora durante meu doutorado, sempre disposta a se dedicar integralmente na orientação de seus alunos. Pude aprender vários conceitos de biologia molecular e microbiologia graças à sua ajuda. Sempre orientou da maneira mais eficiente possível durante todos os desdobramentos e dificuldades da pesquisa, estando sempre muito presente. Agradeço muito sua co-orientação neste trabalho! Sem sua ajuda ele não seria possível.

À minhas irmãs Maira e Sheila, aos meus sobrinhos Gabriel e Enzo, e ao meu cunhado Rogério a parte mais próxima de minha grande família, com os quais divido meus momentos de felicidade ou dificuldade, agradeço todo o apoio. Vocês representam meus laços eternos nesta vida e são muito importantes para mim!

Aos amigos do Grupo de Pesquisa: André, Larissa, Danny, Andressa, Gabi Giro, Vivian, Priscila, Ana Flávia, Marcela, Elen, Carina

Cada um em sua própria fase e em busca de seus sonhos e objetivos... Obrigado pela convivência, amizade e pelos momentos de descontração que fizeram a pós-graduação ser bem mais fácil. Agradeço também o conhecimento

compartilhado durante todos esses anos em que trabalhamos juntos, sem dúvida pude crescer muito com a convivência com cada um de vocês.

Aos todos meus companheiros da pós-graduação

Poderia me esquecer de alguém caso citasse nomes, por isso agradeço a todos aqueles que tive o prazer de conviver durante meus anos na pós-graduação... pessoal do laboratório de microbiologia, das diferentes áreas de prótese, companheiros de turma e de outras turmas, duplas em clínicas, brasileiros e estrangeiros... Obrigado pela convivência, amizade e aprendizados!

A todos os professores do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese da Faculdade de Odontologia de Araraquara

Muito obrigado pela convivência e por todos os ensinamentos transmitidos ao longo de meus estudos!

A todos os funcionários do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese da Faculdade de Odontologia de Araraquara, estagiários e bolsistas

Pela convivência, respeito, ajuda e companhia.

A todos os funcionários da Seção de Pós-Graduação

Pela atenção e pelos serviços a mim prestados.

Aos funcionários da Biblioteca

Por toda colaboração e auxílio.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior)

Pela concessão de Bolsa de Doutorado.

Oliveira Junior NM de. Influência da utilização de adesivos para prótese na adesão e formação de biofilme simples e misto [Tese de Doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2018.

RESUMO

Objetivos: Verificar se os adesivos *Ultra Corega Creme* e *Corega Fita Adesiva* interferem na adesão e formação de biofilme simples e misto de *Candida albicans* e de *Lactobacillus casei*, e observar possíveis relações de sinergismo ou antagonismo entre as espécies. **Metodologia:** Espécimes em resina acrílica termopolimerizável (*Lucitone 550*) foram confeccionados (N=144), de formato circular e com rugosidade padronizada ($3,0 \mu\text{m} \pm 0,3$), e foram divididos em três grupos: Sem Adesivo, com Adesivo *Ultra Corega Creme* e com Adesivo *Corega Fita Adesiva*. Estes foram divididos em três subgrupos cada: *C. albicans* simples, *L. casei* simples e misto de *C. albicans* com *L. casei*. Foram feitos ensaios de adesão e de formação de biofilme em duplicata, resultando em 8 espécimes (n=8) por condição experimental. Foi observada a quantidade de cada micro-organismo nas superfícies dos espécimes através de contagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) por mL e foi feita a caracterização dos espécimes através de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), sendo utilizados 18 espécimes nesta análise (N=18), 2 por condição experimental (n=2). Análise de variância por ANOVA dois fatores e teste de *Tukey* para comparações múltiplas foram empregados, e um nível de significância de 0,05 foi obedecido para todas as comparações realizadas. **Resultados:** *L. casei* só apresentou diferença de adesão em uma situação de seu cultivo misto, na qual *L. casei* (misto) aderiu mais na situação *Sem Adesivo* do que quando o *Adesivo Creme* foi utilizado, já *C. albicans* (simples e misto) aderiu mais quando o *Adesivo Fita* foi utilizado. *C. albicans* tanto simples quanto misto aderiu mais quando comparado com *L. casei* (simples ou misto). *L. casei* (simples) formou mais biofilme na situação *Sem Adesivo*, já em seu cultivo misto com *C. albicans* não foi observada diferença em seu crescimento entre as situações testadas. *C. albicans* (simples e misto) formou mais biofilme quando o *Adesivo Fita* foi utilizado em relação ao *Adesivo Creme*, e o fungo formou mais biofilme quando comparado com *L. casei*. De um modo geral, sempre que uma mesma espécie foi comparada em sua situação simples e misto, tanto nas análises de adesão quanto de biofilme, não foi observada diferença estatisticamente significativa. Durante a análise qualitativa observou-se que, nos ensaios de formação de biofilmes, *L. casei* simples na condição *Sem Adesivo* teve maior crescimento do que quando os adesivos testados eram utilizados, e *C. albicans* tanto simples quanto misto cresceu mais no *Adesivo Fita* do que no *Adesivo Creme*. **Conclusões:** (1) Não observou-se relações de sinergismo ou antagonismo entre os dois micro-organismos estudados; (2) *L. casei*, de maneira geral, não difere sua adesão quando adesivos são utilizados; (3) *C. albicans* aderiu mais em *Adesivo Fita* do que nas outras situações; (4) *L. casei* (simples) formou mais biofilme na situação *Sem Adesivo* do que quando adesivos foram utilizados; (5) *C. albicans* (simples e misto) formou mais biofilme quando o *Adesivo Fita* foi utilizado do que quando empregou-se *Adesivo Creme* (6) Na análise qualitativa e na situação *Sem Adesivo*, os dois micro-organismos apresentaram crescimento mais intenso.

Palavras-Chave: Prótese total. Adesivos. Microbiologia.

Oliveira Junior NM de. Influence of the use of denture adhesives on adhesion and biofilm formation single and mixed [Tese de Doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2018.

ABSTRACT

Objectives: To verify whether the adhesives *Ultra Corega Cream* and *Corega Strips* interfere in the adhesion and biofilm formation by *Candida albicans* and *Lactobacillus casei* in single- and mixed-species setup, and observe possible synergistic or antagonistic relationships between these species. **Methodology:** Specimens made from heat-polymerized acrylic resin (*Lucitone 550*) were fabricated (N=144), with circular shape and standardized roughness ($3.0\ \mu\text{m} \pm 0.3$), and were divided into three groups: *Without Adhesive*, with Adhesive *Ultra Corega Cream* and with Adhesive *Corega Strips*. These groups were divided into three subgroups each: *C. albicans* single-species, *L. casei* single-species and *C. albicans* with *L. casei* (mixed-species). Microbial adhesion and biofilm formation assays were performed in duplicate, resulting in 8 specimens (n=8) per experimental condition. The amount of each microorganism on the surfaces of the specimens was observed by counting of Colony Forming Units (CFU) per mL and the specimens were characterized by Scanning Electron Microscopy (SEM), being used 18 specimens in this analysis (N=18), 2 per experimental condition (n=2). Analysis of variance by ANOVA two-way and Tukey's test for multiple comparisons were employed, and a significance level of 0.05 was obeyed for all comparisons. **Results:** *L. casei* showed only one difference of adhesion in a situation of its mixed-species cultivation, in which *L. casei* (mixed-species) adhered more in the situation *Without Adhesive* than when *Cream Adhesive* was used, and *C. albicans* (single- and mixed-species) adhered more when *Strips Adhesive* was used. *C. albicans* both single- and mixed-species adhered more than *L. casei* (single- and mixed-species). *L. casei* (single) formed more biofilm in the situation *Without Adhesive*, but in its mixed cultivation with *C. albicans* had no difference of growth in the tested situations. *C. albicans* (single- and mixed-species) formed more biofilm when the *Strips Adhesive* was used in relation to *Cream Adhesive*, and the fungus formed more biofilm when compared to *L. casei*. In general, always that a specie was compared in its single- and mixed-species situation, both in adhesion and biofilm, no statistically significant difference was observed. During the qualitative analysis was observed that, in biofilm formation assays, *L. casei* single-species in the condition *Without Adhesive* had higher growth than when the adhesives tested were used, and *C. albicans* both simple and mixed growth more in the *Strips Adhesive* than in *Cream Adhesive*. **Conclusions:** (1) It was not observed relations of synergism or antagonism between the two microorganisms studied; (2) *L. casei* does not differ its adhesion when adhesives are used; (3) *C. albicans* adhered more in *Strips Adhesive* than in the other situations; (4) *L. casei* (single-species) formed more biofilm in the situation *Without Adhesive* than when adhesives were used; (5) *C. albicans* (single- and mixed-species) formed more biofilm with *Strips Adhesive* than with *Cream Adhesive*; (6) In the qualitative analysis and in the situation *Without Adhesive*, the two microorganisms showed more intense growth.

Keywords: Denture, complete. Adhesives. Microbiology.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 PROPOSIÇÃO.....	16
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	17
3.1 Informações gerais sobre adesivos protéticos.....	17
3.2 Informações gerais sobre estomatite protética.....	22
3.3 Influência de adesivos protéticos especificamente no desenvolvimento de espécies de <i>Candida</i>	25
3.4 Influência de adesivos protéticos na microbiota e células orais.....	29
3.5 Composição da microbiota oral em dentados e usuários de próteses.....	32
3.6 Desenvolvimento de biofilmes multiespécies.....	37
3.7 Uso de probióticos de <i>Lactobacillus</i> spp. no combate à estomatite protética - estudos clínicos.....	39
3.8 Uso de probióticos de <i>Lactobacillus</i> spp. no combate à candidíase urogenital.....	40
3.9 Interações variadas entre <i>Candida</i> spp. e <i>Lactobacillus</i> spp.....	41
4 MATERIAL E MÉTODO.....	47
4.1 Material.....	47
4.2 Método.....	51
4.2.1 Confeção de espécimes de resina acrílica.....	51
4.2.1.1 Inclusão dos discos de silicona.....	51
4.2.1.2 Manipulação, prensagem e polimerização da resina acrílica.....	54

4.2.1.3 Desinclusão e acabamento.....	56
4.2.1.4 Padronização da rugosidade superficial.....	57
4.2.1.5 Desinfecção dos espécimes.....	58
4.2.2 Análises Microbiológicas.....	59
4.2.2.1 Preparo dos inóculos.....	60
4.2.2.2 Aplicação dos adesivos.....	61
4.2.2.3 Coleta e preparo da saliva.....	62
4.2.2.4 Ensaios de Adesão.....	64
4.2.2.5 Ensaios de formação de Biofilme.....	66
4.2.2.6 Caracterização dos espécimes por condição experimental através de análise por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	67
4.3 Análise Estatística.....	69
5 RESULTADOS	70
5.1 Contagem de Unidades Formadoras de Colônia.....	70
5.2 Caracterização por Microscopia Eletrônica de Varredura.....	76
6 DISCUSSÃO.....	88
7 CONCLUSÕES.....	92
REFERÊNCIAS.....	93
APÊNDICE.....	100
ANEXO.....	101

1 INTRODUÇÃO

A retenção das próteses totais convencionais na cavidade oral é obtida fundamentalmente pela interação de mecanismos físicos⁴⁵ que incluem a adaptação desta sobre os tecidos de suporte com a presença de uma fina camada de saliva entre a base da prótese e a mucosa, uma adequada extensão periférica de suas bordas, e a pressão atmosférica, além de fatores fisiológicos como um controle neuromuscular adequado^{4,19,35,55}. Existem ocasiões em que a retenção da prótese total fica comprometida, mesmo com a realização de procedimentos corretos durante a sua confecção^{45,55}. Nestes casos os pacientes são orientados a fazer uso de adesivos para prótese, que irão auxiliar na sua retenção, estabilidade e função^{13,24,26,31,52,55,74}. Os adesivos para prótese ou fixadores para dentaduras, como são denominados comercialmente, são definidos como materiais utilizados para auxiliar na adesão da prótese na mucosa^{45,74} e são utilizados em situações onde os fatores físicos que promovem sua retenção são limitantes^{46,55}. Basicamente, sua ação ocorre devido à viscosidade do adesivo na interface entre a base da prótese e a mucosa, facilitando o selado periférico por meio de uma melhor adesão³⁷.

Quando indicados corretamente, diversos são os benefícios da utilização desses adesivos, quer na qualidade de vida dos usuários de próteses totais em termos de adaptação, estabilidade, retenção e conforto, por reduzirem significativamente o movimento das próteses totais, como também por proporcionarem maior habilidade para mastigar e falar^{12,14,24-26,31,52,55,65,74}. Os adesivos atuam também como apoio psicológico aos pacientes, promovendo uma maior autoconfiança na sua utilização⁵⁵. Apesar de muitos profissionais hesitarem em recomendar adesivos protéticos abertamente, o uso como meio auxiliar no tratamento de usuários de próteses totais é reconhecido e consagrado na literatura odontológica^{22,23,32,59}.

Os adesivos para próteses podem ser divididos em insolúveis e solúveis. Do grupo insolúvel fazem parte as almofadas adesivas, enquanto o grupo solúvel inclui creme, pó e fita. É comum a inclusão de um ou mais componentes que tornem o adesivo viscoso e pegajoso quando há absorção de água, especialmente nos adesivos do grupo solúvel²³, o que poderia resultar em maior colonização microbiana nas próteses quando há uso destes adesivos. Em geral adesivos protéticos são

compostos por substâncias ativas como goma karaya, tragacanto, acácia, pectina, gelatina, metil-celulose, hidroximetil celulose, carboximetilcelulose de sódio, além de polímeros sintéticos (óxido de polietileno, acrilamidas, polivinil acético^{2,23}), e componentes não-ativos, tais como vaselina e óleo mineral, que são incluídos com o objetivo de facilitar o manuseamento do material^{2,23}. Geralmente também são incluídos óleos de menta e derivados para dar sabor agradável, corantes, e borato de sódio e de metilo ou poli-paraban, que são utilizados como conservantes. Ainda, agentes antimicrobianos tais como hexaclorofeno, tetraborato de sódio, metilsalicilato e borato de sódio⁵⁴ são incorporados por alguns fabricantes na composição de adesivos para próteses.

O efeito de adesivos protéticos sobre a microbiota oral é alvo de alguns estudos presentes na literatura odontológica. Um trabalho de 2013 comprovou a eficácia antimicrobiana de 3 marcas comerciais de adesivos protéticos (*Corega*, *Biotene* e *Fixodent*) em relação às espécies bacterianas *Streptococcus oralis* e *Streptococcus mutans*, *Prevotella oralis* e *Fusobacterium nucleatum*⁶⁴. Além disso, alguns estudos observaram efeito antifúngico de adesivos protéticos^{36,66,71}. No entanto, outros trabalhos têm mostrado que estes agentes não apresentam um efeito sobre a microbiota oral, principalmente em relação ao crescimento dos fungos do gênero *Candida*^{29,33,50,54}, espécies comumente relacionadas à casos de estomatite em usuários de próteses^{15,16}. Tais discrepâncias nos resultados podem ser atribuídas ao fato de que cada estudo avalia diferentes adesivos, diferentes espécies microbianas e empregam distintas técnicas para ensaio de crescimento microbiano⁷¹. Theilade et al.⁷⁶ afirmaram que estudos relacionados à microbiota oral de pacientes desdentados são fragmentados, frequentemente derivados de uma pequena amostra e/ou pacientes, e se utilizam de técnicas que detectam um pequeno número de micro-organismos. Dessa maneira, não há consenso em relação ao fato de que adesivos para próteses tenham um efeito sobre o crescimento e colonização microbiana^{48,59}.

O estudo do efeito dos adesivos para dentadura na microbiota oral vem a ser um aspecto de interesse pois a dificuldade de remoção dos adesivos da prótese e dos tecidos orais^{14,48}, aliada ao ambiente formado entre a prótese e a mucosa, pode acarretar a proliferação e sobrevivência de micro-organismos orais, sendo estes compostos também por bactérias, mas principalmente por espécies de

*Candida*²¹. Desse modo, a sobrevivência de determinados micro-organismos pode resultar no desenvolvimento de doenças específicas na mucosa oral, como a estomatite protética.

A estomatite protética, infecção fúngica que acomete muitos usuários de próteses totais, apresenta etiologia multifatorial e tem como um grande fator predisponente a má higiene oral^{8,21,70}, apontada como uma das principais contribuintes para a manutenção de *Candida* spp. nesse nicho, e, portanto, influenciando o potencial de virulência desses fungos⁷⁰. Ainda, a resina acrílica utilizada na confecção de próteses totais tem como característica a rugosidade superficial, o que muitas vezes facilita a adesão microbiana e desenvolvimento de biofilme quando existe higiene precária⁸. Entre as estratégias disponíveis para o tratamento da estomatite protética, sem dúvida a instrução aos usuários de próteses totais em relação à higienização^{8,21,70}, assim como a remoção da prótese durante o sono são primordiais, mas o tratamento pode contar ainda com a prescrição de antifúngicos e antissépticos ou desinfetantes⁷⁰. Nota-se na literatura científica atual que o uso de probióticos no combate ao desenvolvimento exacerbado de espécies de *Candida* é também uma realidade como um coadjuvante do tratamento convencional⁴¹. Os probióticos referem-se à cepas selecionadas, sendo estas consideradas suplementos de micro-organismos vivos que tem efeito benéfico no organismo do hospedeiro.

A associação de espécies probióticas, especialmente de *Lactobacillus*, à espécies de *Candida*, tem se tornado alvo de vários estudos atuais que objetivam inibição de desenvolvimento fúngico^{10,27,28,41,43,51,68,72,80}. Por exemplo, o consumo diário de dois queijos experimentais contendo probióticos (*Lactobacillus acidophilus* NCFM ou *Lactobacillus rhamnosus* Lr-32) foi eficaz na inibição da colonização oral de *Candida* spp. em usuários de próteses totais⁴³. Ainda, as cepas *Lactobacillus rhamnosus* HS111 e *Lactobacillus acidophilus* HS101 foram espécies probióticas efetivas no tratamento de candidíase de usuários de próteses totais²⁷. Não somente na área odontológica, mas também no campo da ginecologia^{42,47,82} há interesse no assunto, uma vez que a colonização descontrolada de espécies de *Candida* é a grande responsável também por infecções ginecológicas. Em outro estudo que preconizou o consumo diário de espécies probióticas de *Lactobacillus* por via oral, o tratamento antimicrobiano proposto foi eficaz contra infecções uro-genitais por

Escherichia coli e *Candida albicans*⁴², mostrando-se assim um coadjuvante promissor no tratamento de pacientes nessa situação. Köhler et al.³⁰, por sua vez, observaram em um estudo in vitro que o desenvolvimento de *Candida albicans* foi reduzido devido à produção de ácido láctico por *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 e *Lactobacillus reuteri* RC-14. No entanto, estudos que empregam espécies patogênicas de *Lactobacillus* no tratamento de infecções por *Candida* são escassos^{3,6,49}.

Um estudo recente comparou os microbiomas de usuários de próteses totais, buscando compreender as relações patógeno-hospedeiro e as interações entre as diferentes espécies microbianas encontradas no ambiente oral⁴⁹. A composição bacteriana de amostras coletadas de 123 participantes foi determinada por sequenciamento da região bacteriana hipervariável V4 de genes 16S *rDNA*, além da composição fúngica, através de cultura de espécies de *Candida*⁴⁹. Os pesquisadores encontraram correlação entre espécies de *Candida* e *Lactobacillus* patogênico, sendo esta uma evidência de que o desenvolvimento da estomatite protética é mais complexo do que uma simples infecção fúngica. Segundo esses autores, tanto fungos quanto bactérias têm um papel evidente na progressão da estomatite protética.

Em um estudo de 2009, evidências de que espécies de *Candida* e de *Lactobacillus* patogênico estão conjuntamente envolvidas no desenvolvimento da estomatite protética também são apresentadas. Bilhan et al.⁶ concluíram que espécies de *Lactobacillus* parecem desempenhar um importante papel no desenvolvimento de estomatite protética, no entanto sugerem que essa associação seja mais profundamente investigada. Já em uma publicação de 2016, Allison et al.³, ao explorarem a literatura atual relacionada à *Candida* spp. e bactérias clinicamente importantes, mencionam que *Lactobacillus* spp. patogênicos isolados da cavidade oral tem a capacidade de inibir o crescimento de *C. albicans* através da produção de peróxido de hidrogênio. Os autores comentam que a interação destas espécies acontece também no aparelho genital feminino, onde *Lactobacillus* spp. agem como barreira contra infecção de outros patógenos pela competição por adesão e produção de componentes antimicrobianos, como peróxido de hidrogênio. Desta maneira, os autores indicam que os dados da literatura sugerem efeito inibitório de

Lactobacillus sobre desenvolvimento de *Candida*, formação de hifas e produção de biofilme.

Uma maior exploração na inter-relação entre *Candida spp.* e *Lactobacillus spp.* mostra-se necessária para fornecer maiores evidências sobre o assunto, uma vez que há comprovação que *Lactobacillus* estão presentes no ambiente oral, na saliva^{17,40,81}, e em lesões de cárie¹, havendo inclusive aumento no número de *Lactobacillus* orais em saliva com o aumento da idade⁴⁰. A identificação e quantificação de tais espécies, buscando uma relação de sinergismo ou antagonismo entre elas, auxilia na compreensão da função de tais micro-organismos no desenvolvimento da estomatite protética, permitindo determinar o papel dos *Lactobacillus* (inibitório, contribuinte ou neutro). Nesse contexto, a consequência do uso de adesivos protéticos com diferentes formas físicas de apresentação sobre o desenvolvimento microbiano de maneira isolada e multiespécies pode ajudar a esclarecer se estes materiais influenciam neste processo. O entendimento destas interações é importante não somente para uma melhor compreensão da patobiologia de infecções e interações microbianas, mas também para a formulação de novas estratégias e composição de agentes antimicrobianos que possam combater tais infecções, especialmente em adesivos utilizados em reabilitações protéticas.

7 CONCLUSÕES

Dentro das limitações deste estudo in vitro foi possível concluir que:

1. Não observou-se praticamente nenhuma inter-relação entre os dois micro-organismos estudados;
2. *L. casei*, de maneira geral, não diferiu sua Adesão quando adesivos foram utilizados;
3. *C. albicans* aderiu mais quando cultivada em *Adesivo Fita*;
4. *L. casei* (simples) formou mais Biofilme na situação *Sem Adesivo*;
5. *C. albicans* formou mais Biofilme quando o *Adesivo Fita* foi utilizado do que quando empregou-se *Adesivo Creme*;
6. Os dois micro-organismos, na análise qualitativa e na situação *Sem Adesivo*, deram indício de desenvolvimento mais intenso.

REFERÊNCIAS*

1. Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J Clin Microbiol*. 2005; 43(11): 5721-32.
2. Adisman K. The use of denture adhesive as an aid to denture treatment. *J Prosthet Dent*. 1989; 62(6): 711-5.
3. Allison DL, Willems HM, Jayatilake JA, Bruno VM, Peters BM, Shirliff ME. Candida-bacteria interactions: their impact on human disease. *Microbiol Spectr*. 2016; 4(3). doi: 10.1128/microbiolspec.VMBF-0030-2016.
4. Barbenel JC. Physical retention of complete dentures. *J Prosthet Dent*. 1971; 26(6): 592-600.
5. Bates AM, Garaicoa JL, Fischer CL, Brogden KA. Diminished antimicrobial peptide and antifungal antibiotic activities against candida albicans in denture adhesive. *Antibiotics (Basel)*. 2017 feb 6; 6(1). [Epub ahead of print].
6. Bilhan H, Sulun T, Erköse G, Kurt H, Erturan Z, Kutay O et al. The role of Candida albicans hyphae and Lactobacillus in denture-related stomatitis. *Clin Oral Investig*. 2009; 13(4): 363-8.
7. Bogucki ZA, Napadlek P, Dabrowa T. A clinical evaluation denture adhesives used by patients with xerostomia. *Medicine (Baltimore)*. 2015; 94(7): e545.
8. Budtz-Jørgensen E. Ecology of Candida-associated denture stomatitis. *Microb Ecol Health Dis*. 2000; 12: 170-85.
9. Bulgasem BY, Lani MN, Hassan Z, Wan Yusoff WM, Fnaish SG. Antifungal activity of lactic acid bacteria strains isolated from natural honey against pathogenic candida species. *Mycobiology*. 2016; 44(4): 302-9.
10. do Carmo MS, Noronha FM, Arruda MO, Costa ÊP, Bomfim MR, Monteiro AS et al. *Lactobacillus fermentum* ATCC 23271 Displays *In vitro* Inhibitory Activities against *Candida* spp. *Front Microbiol*. 2016; 7: 1722.
11. Chandra J, Mukherjee PK, Ghannoum MA. In vitro growth and analysis of Candida biofilms. *Nat Protoc*. 2008; 3(12): 1909-24.
12. Chew CL. Movement of maxillary complete dentures - a kinesiographic study. *J Dent*. 1983; 11(3): 257-63.

* De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca:
<http://www.foar.unesp.br/#biblioteca/manual>.

13. Chew CL, Boone ME, Swartz ML, Phillips RW. Denture adhesives: their effects on denture retention and stability. *J Dent.* 1985; 13(2): 152-9.
14. Coates AJ. Usage of denture adhesives. *J Dent.* 2000; 28(2): 137-40.
15. Coimbra FC, Salles MM, De Oliveira VC, Macedo AP, Da Silva CH, Pagnano VO et al. Antimicrobial efficacy of complete denture cleansers. *Am J Dent.* 2016; 29(3): 149-53.
16. Compagnoni MA, de Souza RF, Marra J, Pero AC, Barbosa DB. Relationship between *Candida* and the nocturnal denture wear: quantitative study. *J Oral Rehabil.* 2007; 34(8): 600-5.
17. Emilson CG, Thorselius I. Prevalence of mutans streptococci and lactobacilli in elderly Swedish individuals. *Scand J Dent Res.* 1988; 96(1): 14-21.
18. Fakhri H, Fayaz A, Faramarzi F, Javaheri HH. The knowledge and attitude of general dentists toward denture adhesives in Tehran. *Indian J Dent Res.* 2009; 20(2): 164-8.
19. Felton D, Cooper L, Duqum I, Minsley G, Guckes A, Haug S et al. Evidence-based guidelines for the care and maintenance of complete dentures. A publication of the American College of Prosthodontics. *J Am Dent Assoc.* 2011; 142 Suppl 1: 1S-20S.
20. Garaicoa JL, Fischer CL, Bates AM, Holloway J, Avila-Ortiz G, Guthmiller JM et al. Promise of combining antifungal agents in denture adhesives to fight *Candida* species infections. *J Prosthodont.* 2016 Nov 21. [Epub ahead of print].
21. Gendreau L, Loewy ZG. Epidemiology and etiology of denture stomatitis. *J Prosthodont.* 2011; 20(4): 251-60.
22. Grasso JE. Denture adhesives: changing attitudes. *J Am Dent Assoc.* 1996; 127(1): 90-6.
23. Grasso JE. Denture adhesives. *Dent Clin North Am.* 2004; 48(3): 721-33.
24. Grasso JE, Rendell J, Gay T. Effect of denture adhesive on the retention and stability of maxillary dentures. *J Prosthet Dent.* 1994; 72(4): 399-405.
25. Han JM, Hong G, Hayashida K, Maeda T, Murata H, Sasaki K. Influence of composition on the adhesive strength and initial viscosity of denture adhesives. *Dent Mater J.* 2014; 33(1): 98-103.
26. Hasegawa S, Sekita T, Hayakawa I. Effect of denture adhesive on stability of complete dentures and the masticatory function. *J Med Dent Sci.* 2003; 50(4): 239-47.
27. Ishikawa KH, Mayer MP, Miyazima TY, Matsubara VH, Silva EG, Paula CR et al. A multispecies probiotic reduces oral *Candida* colonization in denture wearers. *J Prosthodont.* 2015; 24(3): 194-9.

28. Jørgensen MR, Kragelund C, Jensen PØ, Keller MK, Twetman S. Probiotic *Lactobacillus reuteri* has antifungal effects on oral *Candida* species in vitro. *J Oral Microbiol.* 2017; 9(1): 1274582.
29. Kim E, Driscoll CF, Minah GE. The effect of a denture adhesive on the colonization of *Candida* species in vivo. *J Prosthodont.* 2003; 12(3): 187-91.
30. Köhler GA, Assefa S, Reid G. Probiotic interference of *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *Lactobacillus reuteri* RC-14 with the opportunistic fungal pathogen *Candida albicans*. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 2012; 2012: 636474.
31. Kulak Y, Ozcan M, Arikan A. Subjective assessment by patients of the efficiency of two denture adhesive pastes. *J Prosthodont.* 2005; 14(4): 248-52.
32. Kumar PR, Shajahan PA, Mathew J, Koruthu A, Aravind P, Ahammed MF. Denture adhesives in prosthodontics: an overview. *J Int Oral Health.* 2015; 7(Suppl 1): 93-5.
33. Leite AR, Mendoza-Marin DO, Paleari AG, Rodriguez LS, Roccia AA, Policastro VB et al. Crossover clinical trial of the influence of the use of adhesive on biofilm formation. *J Prosthet Dent.* 2014; 112(2): 349-56.
34. Li D, Li Q, Liu C, Lin M, Li X, Xiao X et al. Efficacy and safety of probiotics in the treatment of *Candida*-associated stomatitis. *Mycoses.* 2014; 57(3): 141-6.
35. Lindstrom RE, Pawelchak J, Heyd A, Tarbet WJ. Physical-chemical aspects of denture retention and stability: a review of the literature. *J Prosthet Dent.* 1979; 42(4): 371-5.
36. Makihiro S, Nikawa H, Satonobu SV, Jin C, Hamada T. Growth of *Candida* species on commercial denture adhesives in vitro. *Int J Prosthodont.* 2001; 14(1): 48-52.
37. Mañes JF, Selva EJ, De-Barutell A, Bouazza K. Comparison of the retention strengths of three complete denture adhesives: an in vivo study. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2011; 16(1): e132-6.
38. Manfredi M, Merigo E, Salati A, Conti S, Savi A, Polonelli L et al. In vitro candidacidal activity of a synthetic killer decapeptide (KP) against *Candida albicans* cell adhered to resin acrylic discs. *J Oral Pathol Med.* 2007; 36: 468-71.
39. Marra J. Atividade antimicrobiana de uma resina acrílica para base protética combinada a um polímero antimicrobiano sobre a formação de biofilme [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da Unesp; 2011.
40. Marsh PD, Percival RS, Challacombe SJ. The influence of denture-wearing and age on the oral microflora. *J Dent Res.* 1992; 71(7): 1374-81.

41. Matsubara VH, Wang Y, Bandara HM, Mayer MP, Samaranayake LP. Probiotic lactobacilli inhibit early stages of *Candida albicans* biofilm development by reducing their growth, cell adhesion, and filamentation. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2016; 100(14): 6415-26.
42. Mezzasalma V, Manfrini E, Ferri E, Boccarusso M, Di Gennaro P, Schiano I et al. Orally administered multispecies probiotic formulations to prevent uro-genital infections: a randomized placebo-controlled pilot study. *Arch Gynecol Obstet.* 2017; 295(1): 163-72.
43. Miyazima TY, Ishikawa KH, Mayer M, Saad S, Nakamae A. Cheese supplemented with probiotics reduced the *Candida* levels in denture wearers-RCT. *Oral Dis.* 2017; 23(7): 919-25.
44. do Nascimento C, Ferreira de Albuquerque Junior R, Issa JP, Ito IY, Lovato da Silva CH, de Freitas Oliveira Paranhos H et al. Use of the DNA Checkerboard hybridization method for detection and quantitation of *Candida* species in oral microbiota. *Can J Microbiol.* 2009; 55(5): 622-6.
45. Nicolas E, Veyrune J, Lassauzay C. A six-month assessment of oral health-related quality of life of complete denture wearers using denture adhesive: a pilot study. *J Prosthodont.* 2010; 19(6): 443-8.
46. Niedermeier WH, Krämer R. Salivary secretion and denture retention. *J Prosthet Dent.* 1992; 67(2): 211-6.
47. Niu XX, Li T, Zhang X, Wang SX, Liu ZH. *Lactobacillus crispatus* modulates vaginal epithelial cell innate response to *Candida albicans*. *Chin Med J (Engl).* 2017; 130(3): 273-9.
48. Nunes ÉM, Policastro VB, Scavassin PM, Leite AR, Mendoza Marin DO, Giro G et al. Crossover clinical trial of different methods of removing a denture adhesive and the influence on the oral microbiota. *J Prosthet Dent.* 2016; 115(4): 462-8.
49. O'Donnell LE, Robertson D, Nile CJ, Cross LJ, Riggio M, Sherriff A et al. The oral microbiome of denture wearers is influenced by levels of natural dentition. *PLoS ONE.* 2015; 10(9): e0137717.
50. Oliveira MC, Oliveira VM, Vieira AC, Rambob I. In vivo assessment of the effect of an adhesive for complete dentures on colonisation of *Candida* species. *Gerodontology.* 2010; 27(4): 303-7.
51. Oliveira VM, Santos SS, Silva CR, Jorge AO, Leão MV. *Lactobacillus* is able to alter the virulence and the sensitivity profile of *Candida albicans*. *J Appl Microbiol.* 2016; 121(6): 1737-44.

52. Oliveira Junior NM, Rodriguez LS, Mendoza Marin DO, Paleari AG, Pero AC, Compagnoni MA. Masticatory performance of complete denture wearers after using two adhesives: A crossover randomized clinical trial. *J Prosthet Dent*. 2014; 112(5): 1182-7.
53. Orsi CF, Sabia C, Ardizzoni A, Colombari B, Neglia RG, Peppoloni S et al. Inhibitory effects of different lactobacilli on *Candida albicans* hyphal formation and biofilm development. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2014; 28(4): 743-52.
54. Ozkan YK, Uçankale M, Ozcan M, Uner N. Effect of denture adhesive on the micro-organisms in vivo. *Gerodontology*. 2012; 29(1): 9-16.
55. Panagiotouni E, Pissiotis A, Kapari D, Kaloyannides A. Retentive ability of various denture adhesive materials: an in vitro study. *J Prosthet Dent*. 1995; 73(6): 578-85.
56. Panariello, BHD. Eficácia da imersão e da escovação mecânica combinada com diferentes agentes de limpeza de próteses na redução da viabilidade de biofilme multi-espécies [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da Unesp; 2013.
57. 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.
58. Panariello BH, Izumida FE, Moffa EB, Pavarina AC, Jorge JH, Giampaolo ET. Effect of mechanical toothbrushing combined with different denture cleansers in reducing the viability of a multispecies biofilm on acrylic resins. *Am J Dent*. 2016; 29(3): 154-60.
59. Papadiochou S, Emmanouil I, Papadiochos I. Denture adhesives: a systematic review. *J Prosthet Dent*. 2015; 113(5): 391-7.
60. Pereira-Cenci T, Deng DM, Kraneveld EA, Manders EM, Del Bel Cury AA, Ten Cate JM et al. The effect of *Streptococcus mutans* and *Candida glabrata* on *Candida albicans* biofilms formed on different surfaces. *Arch Oral Biol*. 2008; 53(8): 755-64.
61. Perin Leite AR, de Oliveira Júnior NM, Mendoza Marin DO, Compagnoni MA, Pero AC. Proinflammatory cytokine production from NOK-SI keratinocytes after exposure to denture adhesives. *J Prosthet Dent*. 2017 jul 7. [Epub ahead of print]
62. Polke M, Hube B, Jacobsen ID. *Candida* survival strategies. *Adv Appl Microbiol*. 2015; 91: 139-235.
63. Polyzois GL, de Baat C. Attitudes and usage of denture adhesives by complete denture wearers: a survey in Greece and the Netherlands. *Gerodontology*. 2012; 29(2): e807-14.

64. Polyzois G, Stefaniotis T, Papaparaskevas J, Donta C. Antimicrobial efficacy of denture adhesives on some oral malodor-related microbes. *Odontology*. 2013; 101(1): 103-7.
65. Pradíes G, Sanz I, Evans O, Martínez F, Sanz M. Clinical study comparing the efficacy of two denture adhesives in complete denture patients. *Int J Prosthodont*. 2009; 22(4): 361-7.
66. Rajaram A, Manoj SS. Influence of 3 different forms of a commercially available denture adhesive material on the growth of *Candida* species: an in vitro study. *J Prosthet Dent*. 2017; 118(3): 379-85.
67. Regis RR, Della Vecchia MP, Pizzolitto AC, Compagnoni MA, Souza PP, de Souza RF. Antimicrobial properties and cytotoxicity of an antimicrobial monomer for application in prosthodontics. *J Prosthodont*. 2012; 21(4): 283-90.
68. Rossoni RD, Fuchs BB, de Barros PP, Velloso MD, Jorge AO, Junqueira JC et al. *Lactobacillus paracasei* modulates the immune system of *Galleria mellonella* and protects against *Candida albicans* infection. *PLoS One*. 2017; 12(3): e0173332.
69. Sachdeo A, Haffajee AD, Socransky SS. Biofilms in the edentulous oral cavity. *J Prosthodont*. 2008; 17(5): 348-56.
70. Salerno C, Pascale M, Contaldo M, Esposito V, Busciolano M, Milillo L et al. *Candida*-associated denture stomatitis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2011; 16(2): e139-43.
71. Sampaio-Maia B, Figueiral MH, Sousa-Rodrigues P, Fernandes MH, Scully C. The effect of denture adhesives on *Candida albicans* growth in vitro. *Gerodontology*. 2012; 29(2): e348-56.
72. Song YG, Lee SH. Inhibitory effects of *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus casei* on *Candida* biofilm of denture surface. *Arch Oral Biol*. 2017; 76: 1-6.
73. Stafford GD, Russell C. Efficiency of denture adhesives and their possible influence on oral microorganisms. *J Dent Res*. 1971; 50(4): 832-6.
74. Tarib NA, Bakar MT, Murat MDTA, Ahmad M, Kamarudin KH. Masticatory effect and bite force in complete dentures: a study of denture adhesive. *Hong Kong Dent J*. 2010; 7(2): 67-73.
75. Teles FR, Teles RP, Sachdeo A, Uzel NG, Song XQ, Torresyap G et al. Comparison of microbial changes in early redeveloping biofilms on natural teeth and dentures. *J Periodontol*. 2012; 83(9): 1139-48.
76. Theilade E, Budtz-Jørgensen E, Theilade J. Predominant cultivable microflora of plaque on removable dentures in patients with healthy oral mucosa. *Arch Oral Biol*. 1983; 28(8): 675-80.

77. 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.
78. Thein ZM, Samaranayake YH, Samaranayake LP. Characteristics of dual species *Candida* biofilms on denture acrylic surfaces. *Arch Oral Biol.* 2007; 52(12): 1200-8.
79. Toda C. Avaliação da atividade antimicrobiana de um reembasador resiliente combinado a um polímero antimicrobiano sobre a formação de biofilme [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da Unesp; 2013.
80. Ujaoney S, Chandra J, Faddoul F, Chane M, Wang J, Taifour L et al. In vitro effect of over-the-counter probiotics on the ability of *Candida albicans* to form biofilm on denture strips. *J Dent Hyg.* 2014; 88(3): 183-9.
81. Valentini F, Luz MS, Boscato N, Pereira-Cenci T. Biofilm formation on denture liners in a randomised controlled in situ trial. *J Dent.* 2013; 41(5): 420-7.
82. Wang S, Wang Q, Yang E, Yan L, Li T, Zhuang H. Antimicrobial compounds produced by vaginal *Lactobacillus crispatus* are able to strongly inhibit *Candida albicans* growth, hyphal formation and regulate virulence-related gene expressions. *Front Microbiol.* 2017; 8: 564.
83. Zissis AJ, Polyzois GL, Yannikakis SA, Harrison A. Roughness of denture materials: a comparative study. *Int J Prosthodont.* 2000; 13(2): 136-40.
84. Zomorodian K, Haghighi NN, Rajaei N, Pakshir K, Tarazooie B, Vojdani et al. Assessment of *Candida* species colonization and denture-related stomatitis in complete denture wearers. *Med Mycol.* 2011; 49(2): 208-11.