

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU

ANDREA LEMOS FALCÃO PROCÓPIO

**Avaliação da adição de antimicrobianos em reembasador resiliente
temporário no tratamento da estomatite protética: um estudo
clínico randomizado**

BAURU

2019

ANDRÉA LEMOS FALCÃO PROCÓPIO

Avaliação da adição de antimicrobianos em reembasador resiliente temporário no tratamento da estomatite protética: um estudo clínico randomizado

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências Odontológicas Aplicadas, área de concentração Reabilitação Oral.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Karin Hermana Neppelenbroek

BAURU

2019

Procópio, Andréa Lemos Falcão

Avaliação da adição de antimicrobianos em reembasador resiliente temporário no tratamento da estomatite protética: um estudo clínico randomizado / Andréa Lemos Falcão Procópio. – Bauru, 2018.

153 p. : il. ; 31cm.

Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Bauru. Universidade de São Paulo

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Karin Hermana Neppelenbroek

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação/tese, por processos fotocopiadores e outros meios eletrônicos.

Assinatura: _____

Data:

Comitê de Ética da FOB-USP
Registro **CAAE:**
48753215.3.0000.5417

FOLHA DE APROVAÇÃO

AGRADECIMENTOS

A Deus, a quem confio e entrego todos meus planos e sonhos, por tudo que tem me proporcionado durante esses anos e por colocar sempre pessoas (anjos) especiais no meu caminho.

Aos meus pais, **Silvia e Rubens**. Posso dizer que meu interesse pelo ensino é herança deles. Obrigada por serem meus maiores exemplos de caráter, de humanidade, de empatia e por me ensinarem diariamente valores tão importantes, baseado em um relacionamento com respeito e muito amor. Meu pai exemplo de equilíbrio e paciência, foi o único dos irmãos a fazer faculdade, hoje engenheiro civil formado em universidade pública, me ensinou com seu exemplo o poder transformador da educação. Minha mãe, formada em Jornalismo e mais tarde professora universitária, me proporcionou crescer em um universo rodeado por livros, sempre incentivou a leitura em nossa casa. Sou muito grata a esta criação. Obrigada por acreditarem em mim e nos meus sonhos e não medirem esforços para que eu consiga realizá-los. Obrigada pelo incentivo e amor incondicional, por serem meu ponto de apoio sempre.

À minha irmã, **Lulu**, que mesmo distante se faz sempre presente, por cuidar dos meus pais durante todos esses anos em que estive longe. Por me ajudar com todas as minhas dúvidas com formulas matemáticas e cálculos desta tese, pois apenas ela herdou essa habilidade do meu pai.

As minhas tias maternas, Tia **Cacá**, Tia **Nice** e Tia **Lucinha**, por me inspirarem sempre através de seus exemplos. Por serem minhas “mães postiças”, por me darem todo suporte, força e incentivo. Sorte daqueles que têm vocês por perto.

Ao **Ricardo**, que entrou na minha vida e aos poucos conseguiu se fazer cada vez mais essencial. Ric, tenho muitas coisas para te agradecer, obrigada por estar sempre ao meu lado, pelo suporte que você tem me dado, por compartilhar comigo essa escolha pela pós-graduação e pelo ensino, por dividir comigo todas as angústias e multiplicar todas as alegrias. Obrigada por ser tão parceiro e compreensivo, por ser exatamente tudo que eu precisava.

Ao nosso grupo de pesquisa padrão Nepp. **Jana, Anna Clara e Carol**, pela parceria de sempre, por me ajudarem incondicionalmente em tudo. Tenho muito orgulho da nossa união dentro e fora do ambiente de trabalho.

Jana, obrigada por me acolher assim que cheguei na FOB, você se tornou uma amiga muito especial. Sua ajuda e seu jeito proativo foram essenciais para que muitas etapas desta tese acontecesse. Obrigada!

Carol, muito obrigada por toda ajuda com as lâminas dessa pesquisa, não poderia ter escolhido alguém melhor para confiar uma parte metodológica deste trabalho. Obrigada por ser tão cuidadosa e responsável, obrigada pelo carinho e amizade.

Anna, nossa baby Nepp, que chegou a pouco tempo e já faz uma diferença enorme em nossas vidas. Tenho certeza que Deus coloca as pessoas certas em cada lugar, e que você é uma pessoa iluminada que veio só para agregar a equipe. Anna, você tem um futuro brilhante nesse meio, pois é dedicada e não mede esforço para ajudar, obrigada por tudo.

Também agradeço a todos os alunos de Iniciação Científica, por ajudar no desenvolvimento prático dessa pesquisa.

A todos os professores do Departamento de Prótese, **Prof. Dr. Accácio Lins do Valle**, **Prof. Dr. Carlos dos Reis Pereira de Araújo**, **Prof. Dr. Estevam Augusto Bonfante**, **Prof. Dr. Gerson Bonfante**, **Prof. Dr. José Henrique Rubo**, **Prof. Dr. Paulo César Rodrigues Conti**, **Prof. Dr. Renato de Freitas**, **Prof.^a Dr.^a Simone Soares**, **Prof. Dr. Vinícius Carvalho Porto** e **Prof. Dr. Wellington Cardoso Bonachela**, pela boa convivência e conhecimentos científicos compartilhados.

Em especial:

Ao **Prof. Dr. Luiz Fernando Pegoraro**. Ao ler seus livros e artigos durante a graduação nunca imaginei que o teria tão próximo. Obrigada professor, por demonstrar e reafirmar diariamente seu amor ao ensino, pelos inúmeros conselhos tão valiosos, por ser exemplo de sabedoria não apenas cientificamente, mas em saber viver. Obrigada por ser fonte de inspiração para mim e para tantos outros.

Ao **Prof. Dr. Pedro César Garcia de Oliveira**, a quem carinhosamente aprendi a chamar de “my friend”, assim como minha orientadora o chama. Pedro, obrigada por ser um ser humano tão especial, por diversas vezes encontrei conforto em nossas conversas na correria do dia a dia da FOB. Obrigada por fazer da sua sala praticamente uma extensão da sala da Karin, por estar sempre lá, nos incentivando e dando força, e é claro, por me “defender” muitas vezes nas reuniões intermináveis desta tese. Você fez tudo ficar mais leve, eu tenho enorme carinho por você.

A **Prof.^a Dr.^a Lucimar Falavinha Vieira**, por ser exatamente quem ela é. Lu, obrigada pelo apoio de sempre, por cuidar da Karin como uma mãe, pelos almoços maravilhosos na sua casa e por toda diversão que você traz consigo sempre que está presente. Obrigada!

À **Prof.^a Dr.^a Ana Lúcia Pompéia Fraga de Almeida**, a nossa chefe do departamento. Ana, muito obrigada pela amizade, pelo carinho e por ser um exemplo de competência e de mulher forte dentro do departamento, você faz diferença. Obrigada por tudo.

À **Prof.^a Dr.^a Vanessa Lara**, por disponibilizar sua sala, por ser sempre muito acessível e por contribuir de forma indispensável para que essa tese fosse melhor desenvolvida.

Ao **Prof.^a Dr.^a Heitor Honório** e ao **Prof.^a Dr.^a José Roberto Pereira Lauris** por contribuírem com conhecimentos e pela realização da análise estatística desta tese.

À todos os funcionários do Centro Integrado de Pesquisa (CIP), em especial à **Rafa**, e ao **Marcelo**, pela disponibilidade e ajuda com a metodologia microbiológica deste trabalho.

À todos os funcionários do Departamento de Prótese, em especial à **Deborah** e **Cleide**. Meninas, muito obrigada por serem tão prestativas, por sempre demonstrarem solicitude, empenho, zelo e atenção a tudo que fazem. Cleidinha, muito obrigada pelo cafezinho diário.

Às todos os funcionários da clínica de Pós-Graduação, em especial **Hebe**, por tornar a rotina da clínica mais leve e descontraída. Obrigada pela ajuda de sempre.

À todos os colegas de curso de mestrado e doutorado em especial aos que fizeram parte da minha turma (**Fernanda, Guilherme, Gustavo, Ilana, Oscar, Patrick, Thereza, Verena e Vinicius**) pelo companheirismo, por todas as experiências trocadas, pelas dicas e ajuda diária nas clínicas e na vida. Cada um foi fundamental para o meu crescimento pessoal e profissional dentro da pós-graduação.

À minha amiga do coração **Verena (Bode)**, por ser tão importante para mim durante esse período. **Bodinha**, obrigada por ser exemplo de força e determinação, por compartilhar comigo as dores e alegrias dessa caminhada, seu apoio foi fundamental.

À minha amiga **Fernanda Piras**, a quem eu admiro muito pela força e coragem. Obrigada por dividir um pouco da sua força conosco, você é incrível, Fer.

À minha amiga-irmã-gêmea **Ilana (Biu)** que Deus sabiamente colocou em minha vida. Biu, muito obrigada por estar presente em todos os momentos desta caminhada. Obrigada pela amizade incondicional, sincera e verdadeira, por todo apoio e carinho.

Ao meu querido amigo **Sazón**, que sempre consegue alegrar nossos dias. Obrigada pela energia boa de sempre e por todos os momentos divertidos.

À minha amiga **Thereza** que desde o início esteve presente em todos os momentos, o que foi de ajuda fundamental para minha adaptação a vida nova em Bauru e que agora nos presenteou com uma mascotinha da turma, a nossa Maitê.

À minha querida amiga **Polly**, com quem tive a chance de dividir não só o mesmo teto, mas também todas as angústias e alegrias da pós-graduação e da vida longe de casa. Obrigada por ser a minha família em Bauru. Obrigada pelas palavras sempre tão certas, pelo ombro amigo, pelo seu jeito conciliador e por sempre estar disposta a ajudar. Você foi muito importante em todo esse processo.

Às minhas amigas de Maceió, **Cléo, Giulianna, Jéssica, Kycia, Layla, e Mariah**, que hoje estão espalhadas pelo mundo, mas sempre unidas pelo coração. Muito obrigada pela torcida e pelo carinho de sempre.

A todos os pacientes da Faculdade de Odontologia de Bauru, que participaram espontaneamente deste trabalho. Obrigado pela confiança depositada no meu trabalho, pela amizade e pelos presentinhos que sempre me deixavam sem graça. Vou levar cada de vocês na memória com muito carinho, vocês são o motivo desta tese ter sido desenvolvida e merecem meu eterno agradecimento.

À Faculdade de Odontologia de Bauru FOB-USP. Tenho um carinho e admiração imensurável pela instituição. Obrigada por abrir as portas para o início da minha carreira acadêmica, pelos incentivos e por acolher tantos alunos que assim como eu, puderam realizar pesquisas e concretizar sonhos profissionais dentro da instituição.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro por meio do auxílio à pesquisa sob processo 2017/07314-1.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro concedido por meio da bolsa e auxílio pelo Programa de Apoio à Pós-Graduação (PROAP) para realização deste trabalho (Código de Financiamento 001).

Obrigada!

AGRADECIMENTO ESPECIAL

O meu mais profundo agradecimento à minha orientadora, **Prof.^a Dr.^a Karin Hermana Neppelenbroek**.

É muito difícil conseguir descrever em palavras tudo o que a Karin fez e faz por mim e por todos seus alunos. Foram seis anos de convivência diária e eu deixo o meu agradecimento aqui por cada dia que passei perto dela, pois sempre gerou algum tipo de aprendizado. Karin, você é uma pessoa fora da curva, tudo que aprendi desde que cheguei em Bauru e a professora que sou hoje tem um pouco de você. Eu fico extremamente honrada e feliz quando alguém me encontra na FOB e fala que eu estou ficando parecida com você. Eu sou muito grata a sua orientação e espero que você saiba da diferença que faz na vida das suas alunas, do que você representa como professora. Você é nossa maior referência de trabalho árduo, dedicação extrema e força de vontade para conseguir alcançar nossas metas, por mais difíceis que elas pareçam ser. Só tenho a te agradecer por me ensinar sempre a ser alguém que busca o melhor, a ser mais caprichosa, a ter respeito pelos pacientes e pela pesquisa. Obrigada de coração por tudo!

RESUMO

Os objetivos deste estudo clínico randomizado foram: 1) avaliar a eficácia a longo prazo de um material resiliente temporário para reembasamento de próteses removíveis (Trusoft) modificado pela adição de concentrações inibitórias mínimas (CIMs) de agentes antimicrobianos para biofilme de *Candida albicans* no tratamento da estomatite protética (EP); 2) comparar a efetividade desse método de liberação gradual de fármacos com a terapia antifúngica tópica convencional. Quarenta pacientes portadores de EP e usuários de pelo menos uma prótese total superior (PTS) foram aleatoriamente distribuídos de acordo com um dos tratamentos instituídos por 14 dias (n=10): Controle Positivo-CP: nistatina suspensão oral (100.000 IU/mL; 4x/dia); Controle Geral-CG: reembasamento da PTS com Trusoft; Grupo NIS: reembasamento da PTS com Trusoft contendo a CIM de nistatina e Grupo CLX: reembasamento da PTS com Trusoft modificado pela CIM de diacetato de clorexidina. A efetividade dos tratamentos propostos foi avaliada por exames citológicos por esfregaço e culturas micológicas quantitativas obtidos da superfície interna da PTS e mucosa palatina de suporte de todos os pacientes antes (T0) e ao final do tratamento (T14) e 15 (R15), 30 (R30) e 60 (R60) dias decorridos de sua suspensão (acompanhamento). Para a documentação da resposta clínica, foram obtidas fotografias padronizadas da mucosa palatina dos pacientes em cada consulta. Os dados microbiológicos e clínicos foram analisados por uma série de testes estatísticos ($\alpha=0,05$). Os esfregaços dos palatos nos Grupos NIS e CLX não evidenciaram *Candida* micelial (0%) ao final de 14 dias de tratamento e, no último dia acompanhamento (R60), apenas 1 paciente do Grupo CLX apresentou sua presença, sendo esses resultados superiores aos do Grupo CP ($P<0,05$). Houve significativa redução dos escores de formas miceliais nos esfregaços das próteses para todos os grupos de estudo ao término do tratamento (T14) ($P<0,05$), mas essa diferença foi mantida a longo prazo (R15, R30 e R60) apenas para os grupos nos quais as PTS foram reembasadas (CG, NIS e CLX) ($P<0,05$). Em relação à consulta inicial (T0), apenas as culturas micológicas dos palatos do Grupo NIS e das PTS dos Grupos NIS e CLX evidenciaram redução significativa dos valores de UFC/mL após os 14 dias de tratamento, e esses resultados foram mantidos por até 60 dias após

sua suspensão (R60) ($P<0,05$). Os pacientes dos grupos controles (CP e CG) não apresentaram melhora clínica na severidade da EP ao término do tratamento (T14) ($P>0,05$), o que foi evidenciado de forma significativa apenas para os Grupos NIS e CLX, sendo os escores obtidos mantidos estatisticamente em todos os períodos de acompanhamento ($P<0,05$). Dentro das limitações deste estudo in vivo, foi possível concluir que a adição de nistatina e clorexidina em suas CIMs a um reembasador resiliente temporário se mostrou um método terapêutico efetivo a longo prazo para a EP por reduzir significativamente as formas patogênicas e células viáveis de *Candida* spp. nos palatos e nas próteses, proporcionando simultaneamente melhora clínica significativa da severidade da inflamação em até 60 dias após a suspensão do tratamento. Considerando os resultados microbiológicos e clínicos a curto e longo prazo obtidos, o método de tratamento alternativo proposto com ambos os fármacos incorporados na matriz polimérica se mostrou superior à terapia antifúngica tópica convencional com nistatina em suspensão.

Palavras-chave*: Estomatite sob Prótese; Reembasadores de Dentadura; Agentes Antimicrobianos; Sistemas de Liberação de Medicamentos; *Candida*.

* Em acordo com os Descritores em Ciências da Saúde (DeCS): <http://decs.bvs.br/>

ABSTRACT

Evaluation of antimicrobial addition to temporary resilient liner in the treatment of denture stomatitis: a randomized clinical study

The objectives of this randomized clinical study were: 1) to evaluate the long-term efficacy of a temporary denture resilient liner (Trusoft) modified by the addition of minimum inhibitory concentrations (MICs) of antimicrobial agents for *Candida albicans* biofilm in the treatment of denture stomatitis (DS); 2) to compare the effectiveness of this sustained drug-delivery method with conventional topical antifungal therapy. Forty patients with DS and users of at least one maxillary complete denture (MCD) were randomly assigned according to one of treatments instituted for 14 days (n=10): Positive Control-PC: nystatin oral suspension (100,000 IU/mL; 4x/day); General Control-GC: MCD relining with Trusoft; Group NYS: MCD relining with Trusoft containing nystatin at MIC, and Group CHX: MCD relining with Trusoft modified by chlorhexidine diacetate at MIC. The effectiveness of the treatments was evaluated by cytological smears and mycological quantitative cultures taken from the inner surface of the MCD and palatal mucosa of all patients before (T0) and at the end of treatment (T14), and 15 (R15), 30 (R30) and 60 (R60) days after its suspension (follow-up). To document the clinical response, standardized photographs were taken of the palatal mucosa of patients at each visit. Microbiologic and clinical data were analyzed with the use of a series of statistical tests ($\alpha=0.05$). Palatal smears of Groups NYS and CHX did not exhibit mycelial *Candida* (0%) at the end of 14 days of treatment and, on the last day follow-up (R60), only 1 patient from Group CHX demonstrated its presence, and these results were greater than those from Group PC ($P<0.05$). There was a significant reduction in the mycelial form scores in the MCD smears for all study groups at the end of the treatment (T14) ($P<0.05$), but this difference was maintained in the long-term (R15, R30 and R60) only for the groups in which the MCD were relined (GC, NYS, and CHX) ($P<0.05$). Compared to the baseline (T0), only mycological cultures from palates of Group NYS and dentures from Groups NYS and CHX showed a significant reduction in the CFU/mL values after 14 days of treatment, and these results were maintained for up to 60 days after its suspension (R60) ($P<0.05$). Patients in the control groups (PC and GC) did not exhibit clinical improvement in the DS

severity at the end of treatment (T14) ($P>0.05$), which was observed only significantly for Groups NYS and CHX, and the scores obtained were statistically maintained in all follow-up periods ($P<0.05$). Within the limitations of this in vivo study, it was possible to conclude that the addition of nystatin and chlorhexidine at their MICs to a temporary resilient liner was a long-term effective therapeutic method for DS by significantly reducing the pathogenic forms and viable cells of *Candida* spp. on the palates and dentures, while providing significant clinical improvement of the inflammation severity within 60 days after discontinuation of treatment. Considering the short- and long-term microbiological and clinical results obtained, the proposed alternative treatment method with both drugs incorporated into the polymer matrix was shown to be superior to conventional topical antifungal therapy with nystatin suspension.

Key-words*: Denture Stomatitis; Denture Liners; Anti-Infective Agents; Drug Delivery Systems; *Candida*.

*In accordance with Health Sciences Descriptors (DeCS) available at <http://decs.bvs.br/>

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1: Mucosas palatinas acometidas por estomatite protética Tipo I (A), II (B) e III (C) de acordo com a classificação de Newton..... 41
- FIGURA 2: A- CIM do fármaco (nistatina) adicionada ao pó do reembasador Trusoft; B- Mistura dos pós (fármaco e reembasador); C- Material manipulado após a adição do líquido..... 43
- FIGURA 3: A- Desgaste da superfície interna da PTS; B- CIM do fármaco (clorexidina) adicionada ao pó do Trusoft; C- Manipulação do material até obtenção de uma mistura homogênea; D- Inserção do material na região interna da PTS; E- Prótese após o reembasamento e plastificação do material; F- Recorte dos excessos do material reembasador..... 44
- FIGURA 4: Coleta de material para obtenção de esfregaços: A- Raspagem de área eritematosa da mucosa palatina de um paciente com estomatite protética; B- Raspagem da superfície interna da PTS correspondente ao eritema..... 46
- FIGURA 5: Esfregaços citológicos da superfície palatina com resultado negativo (ausência – escore 0) e positivo (presença –escore 1) para formas miceliais de *Candida* spp. Seta indica forma micelial.... 46
- FIGURA 6: Esfregaços citológicos da superfície interna de uma PTS com resultado negativo (ausência – escore 0), baixo (escore 1), moderado (escore 2) e alto (escore 3) para formas miceliais de *Candida* spp. Seta indica forma micelial (1=micélio)..... 47
- FIGURA 7: Material sendo coletado com *swab* oral nas superfícies avaliadas. A- eritema da mucosa palatina; B- região interna de PTS correspondente ao eritema..... 49
- FIGURA 8: A- Agitação de tubo Falcon contendo *swab* oral com material coletado em vórtex por 1 min; B- Semeadura em duplicata de alíquotas de 50 µL da suspensão resultante em placa de Petri contendo ágar Sabourand; C- Colônias viáveis de *Candida* spp. após 48 h de incubação a 37°C. 49
- FIGURA 9: Escore esquemático da estomatite protética proposto pelo presente estudo. São mostrados os níveis de 1 a 24 considerando o tipo (I, II e III), acometimento por quadrante (1, 2, 3 ou 4 quadrantes) e grau de inflamação (menos ou mais vermelho) da mucosa palatina..... 51
- FIGURA 10: Culturas micológicas de um paciente do Grupo NIS antes do tratamento (T0) provenientes das diferentes superfícies avaliadas. A: Mucosa palatina; B: PTS..... 65
-
-

FIGURA 11: Mucosa palatina de um paciente do Grupo CP nos períodos T0 (A), T14 (B), R30 (C) e R60 (D).	72
FIGURA 12: Mucosa palatina de um paciente do Grupo CG nos períodos T0 (A), T14 (B), R30 (C) e R60 (D).	73
FIGURA 13: Mucosa palatina de um paciente do Grupo NIS nos períodos T0 (A), T14 (B), R30 (C) e R60 (D).....	74
FIGURA 14: Mucosa palatina de um paciente do Grupo CLX nos períodos T0 (A), T14 (B), R30 (C) e R60 (D).....	75

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Características demográficas (idade e sexo do paciente) e distribuição dos fatores predisponentes entre os grupos de tratamento (idade das PTS, uso de fármacos indutores de xerostomia, presença de xerostomia, hábitos precários de higiene das próteses, uso de tabaco e tipo de estomatite protética) 58
- Tabela 2 - Número e porcentagem (%) de pacientes com presença de formas miceliais de *Candida* spp. nos palatos para os grupos de estudo avaliados nos períodos antes (T0) e ao final (T14) dos tratamentos e após 15 (R15), 30 (R30) e 60 (R60) dias de sua suspensão e magnitude do efeito dos tratamentos 59
- Tabela 3 - Médias e desvios-padrão obtidos pelo escore quantitativo de formas miceliais (0= ausência; 1= grau baixo; 2= grau moderado; 3= grau alto) para as PTS referentes aos grupos de estudo para os períodos de avaliação antes (T0) e ao final (T14) dos tratamentos e após 15 (R15), 30 (R30) e 60 (R60) dias de sua suspensão e valores do efeito dos tratamentos 63
- Tabela 4 - Médias e desvios-padrão das contagens de colônias de *Candida* spp. em log₁₀ UFC/mL nos palatos e PTS dos grupos de estudo nos períodos de avaliação antes (T0) e ao final (T14) dos tratamentos e após 15 (R15), 30 (R30) e 60 (R60) dias de sua suspensão e valores do efeito dos tratamentos 67
- Tabela 5 - Médias e desvios-padrão do escore clínico proposto pelo estudo para severidade da inflamação da mucosa palatina (0 a 24) para os grupos de tratamento nos períodos de avaliação antes (T0) e ao final (T14) dos tratamentos e após 15 (R15), 30 (R30) e 60 (R60) dias de sua suspensão..... 71
-
-

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO E SÍNTESE BIBLIOGRÁFICA	17
2	PROPOSIÇÃO	35
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	39
3.1	Seleção dos pacientes.....	39
3.2	Anamnese e exame clínico.....	40
3.3	Randomização.....	41
3.4	Intervenções	42
3.5	Desfecho primário.....	44
3.6	Métodos para avaliação dos tratamentos	44
3.6.1	Exame citológico por esfregaço.....	45
3.6.2	Cultura micológica quantitativa	48
3.6.3	Avaliação clínica	50
3.7	Planejamento experimental	52
4	RESULTADOS	57
4.1	Participantes, características demográficas e fatores predisponentes	57
4.2	Resultados dos exames citológicos por esfregaço.....	59
4.3	Resultados das culturas micológicas quantitativas.....	65
4.4	Resultados clínicos.....	70
5	DISCUSSÃO	79
6	CONCLUSÃO.....	99
	REFERÊNCIAS	103
	APÊNDICE	129

1 INTRODUÇÃO E SÍNTESE BIBLIOGRÁFICA

1 INTRODUÇÃO E SÍNTESE BIBLIOGRÁFICA

A infecção fúngica mais comum entre humanos, em especial, idosos e usuários de próteses totais, a candidose oral, é causada pelas espécies do gênero *Candida*, sobretudo *Candida albicans*, considerada como o mais importante dos fungos patógenos oportunistas (AKPAN; MORGAN, 2002). Essa infecção pode causar desconforto local, alteração do paladar e disfagia, o que leva a deficiências nutricionais e debilidade sistêmica (LALLA et al., 2010). Em indivíduos imunocompetentes, a esofagite por *Candida* é rara por estar associada a fatores predisponentes específicos. Entretanto, em pacientes imunocomprometidos, como os diabéticos não controlados, com alto grau de deficiências nutricionais, submetidos a tratamentos antineoplásicos, internados em Unidades de Terapia Intensiva (UTIs), receptores de transplantes de órgãos e, em especial, portadores da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), é comum a ocorrência de candidose orofaríngea como uma evolução da colonização da cavidade bucal por *Candida* (SPAMPINATO; LEONARDI, 2013). A proliferação desses microrganismos nas regiões bucal e orofaríngea tem sido considerada como a principal fonte de invasão hematogênica (SUN et al., 2016). A disseminação da candidose pela corrente sanguínea ou pelo trato gastrointestinal superior leva à candidemia, infecção sistêmica relacionada à alta taxa de mortalidade (58 -81%) (HORN et al., 2009; MORAN et al., 2010; PATIL et al., 2015; VAEZI et al., 2017).

A candidose oral mais comumente encontrada é a do tipo atrófica crônica, conhecida como estomatite protética (GENDREAU; LOEWY, 2011; MILLSOP; FAZEL, 2016), sendo também considerada a lesão da mucosa bucal mais frequente em idosos (GŁOWACKA; KONOPKA, 2018; LYNGE PEDERSEN et al., 2015; RIVERA; DROGUETT; ARENAS-MÁRQUEZ, 2017). Apesar disso, sua prevalência tem sido descrita como altamente variável entre os portadores de próteses removíveis, com porcentagens entre 13,3% e 88% (AOUN; BERBERI, 2017; BARBEAU et al., 2003; BARNABÉ et al., 2004; FIGUEIRAL et al., 2007; GENDREAU; LOEWY, 2011; GONZÁLEZ-SERRANO et al., 2016; KANSKY et al., 2018; MOOSAZADEH et al., 2016; RAMAGE et al., 2004; RIVERA; DROGUETT; ARENAS-MÁRQUEZ, 2017; WEBB; THOMAS; WHITTLE, 2005), o que pode ser

atribuído às diferentes populações de pacientes estudados nas diversas regiões do mundo (PURYER, 2017). Essa condição patológica é caracterizada por inflamação e eritema dos tecidos da mucosa bucal recobertos pelas próteses removíveis (ARENDORF; WALKER, 1987; MILLSOP; FAZEL, 2016). Clinicamente, pode se apresentar em diferentes graus de severidade nos tecidos de suporte da prótese, desde de múltiplos pontos hiperêmicos a áreas eritematosas difusas e hiperplasia papilar (NEWTON AV, 1962). Quando há manifestação dos sintomas, pode ocorrer sangramento da mucosa bucal, inchaço, prurido, desconforto, ardor, halitose, gosto desagradável e xerostomia, além de lesões associadas, como queilite angular e glossite romboide mediana (ARENDORF; WALKER, 1987; BUDTZ-JÖRGENSEN, 1974; JEGANATHAN; LIN, 1992; SALERNO et al., 2011). Entretanto, a estomatite protética é de difícil percepção pelos pacientes, pois na maior parte dos casos não há manifestação dos sintomas (PERIĆ et al., 2018; PURYER, 2017; TRUHLAR; SHAY; SOHNLE, 1994).

Os níveis das espécies do gênero *Candida* presentes nas lesões, nos biofilmes das próteses removíveis e na saliva dos pacientes são considerados como o principal fator etiológico dessa condição bucal (ALTARAWNEH et al., 2013; MAHDAVI OMRAN et al., 2018; MORSE et al., 2018), que chega a afetar até 93% desses indivíduos (BAENA-MONROY et al., 2005; BANTING; HILL, 2001; MCMULLAN-VOGEL et al., 1999; MUSTAFA et al., 2019; PIRES et al., 2002). Por isso, é conhecida também como estomatite protética associada à *Candida* spp. e candidose crônica eritematosa ou atrófica (SALERNO et al., 2011). A espécie mais comum, *C. albicans*, é isolada em 50 a 98% dos casos (ALTARAWNEH et al., 2013; AOUN; BERBERI, 2017; BAENA-MONROY et al., 2005; GENDREAU; LOEWY, 2011; MIMA et al., 2012; MOOSAZADEH et al., 2016; SALERNO et al., 2011; SANITA et al., 2011; SILVA et al., 2012; TAY et al., 2014), sendo outras espécies como *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* e *Candida tropicalis*, também frequentemente identificadas nos pacientes com essa infecção (MAHDAVI OMRAN et al., 2018; MARCOS-ARIAS et al., 2009; MARTINS et al., 2010; ZOMORODIAN et al., 2011). Assim, para o tratamento da estomatite protética bem como para o estabelecimento de medidas preventivas para essa lesão bucal, é importante considerar os fatores etiológicos de ordem local e sistêmica associados à capacidade de adesão e colonização das espécies de *Candida* na mucosa bucal e

próteses removíveis (BILHAN et al., 2009; SALERNO et al., 2011; MAHDAVI OMRAN et al., 2018).

Além da infecção por *Candida* spp., múltiplos fatores etiológicos de ordem local e sistêmica estão envolvidos na estomatite protética. Os fatores sistêmicos incluem antibióticos de amplo espectro (BUDTZ-J.SEN, 1990; DORKO et al., 2001; RITCHIE et al., 1969; SOYSA; SAMARANAYAKE; ELLEPOLA, 2008), imunossupressores, terapias antineoplásicas (GOLECKA et al., 2006), gênero, tabaco, álcool (BARBEAU et al., 2003; SOYSA; ELLEPOLA, 2005), endocrinopatologias (DORKO et al., 2001; GONZÁLEZ-SERRANO et al., 2016), deficiências nutricionais (BUDTZ-J.SEN, 1990; RITCHIE et al., 1969), dieta rica em carboidratos (MARTORI et al., 2014; NIKAWA et al., 1997), debilidade física, alergias, idade (WEERASURIYA; SNAPE, 2008) e comprometimento da resposta imunológica secundário a condições sistêmicas (DOROCKA-BOBKOWSKA et al., 2010; SALERNO et al., 2011; PEREZOUS et al., 2005). Dos fatores locais relacionados à estomatite protética, destacam-se presença de biofilme protético, sobretudo formado por *Candida* e anaeróbicos gram-positivos (BANTING; GREENHORN; MCMINN, 1995; BUDTZ-JØRGENSEN; BERTRAM, 1970; BUDTZ - JØRGENSEN; THEILADE; THEILADE, 1983; KOOPMANS; KIPPUW; DE GRAAFF, 1988; PEREIRA-CENCI et al., 2008; RADFORD; CHALLACOMBE; WALTER, 1999; REDDING et al., 2009), comprometimento do fluxo salivar e função das glândulas salivares (SHIP; PILLEMER; BAUM, 2002), baixo pH da saliva (FIGUEIRAL et al., 2007; LOMBARDI; BUDTZ-JORGENSEN, 1993; MARTORI et al., 2014), inadequada higiene bucal e das próteses, trauma causada por próteses mal adaptadas, principalmente antigas, com instabilidade oclusal e dimensão vertical reduzida (ARENDORF; WALKER, 1987; BUDTZ-JØRGENSEN; BERTRAM, 1970; COELHO; SOUSA; DARÉ, 2004; GENDREAU; LOEWY, 2011) e uso das próteses durante o sono (BARBEAU et al., 2003; FIGUEIRAL et al., 2007; NEPPELENBROEK et al., 2008; WEBB et al., 1998).

A estomatite protética pode afetar usuários de próteses removíveis parciais e totais, embora seja quase sempre encontrada na mucosa palatina sob uma prótese total superior (ARENDORF; WALKER, 1987; GENDREAU; LOEWY, 2011; PURYER, 2017). Possivelmente, os tecidos de suporte do arco inferior são raramente

acometidos por tal patologia como resultado da limpeza promovida pela língua e maior ação da saliva, enquanto que aqueles da arcada oposta se tornam protegidos desses efeitos em razão do melhor selamento periférico e cobertura palatina das próteses totais superiores que, desse modo, acabam por conter seu próprio microambiente (SHULMAN; RIVERA-HIDALGO; BEACH, 2005). Ainda, a colonização por microrganismos patogênicos se torna propícia neste ambiente tanto pela cobertura parcial ou total dos ductos das glândulas salivares palatinas menores por este tipo de prótese quanto por seu uso durante o período de sono, onde ocorre a redução fisiológica da salivagem. Além disso, mesmo sem a presença de outro fator predisponente, a própria pressão negativa resultante de um efetivo selado periférico de uma prótese total superior bem adaptada pode traumatizar a mucosa de suporte (BUDTZ-JÖRGENSEN, 1974), tornando-se mais susceptível às infecções microbianas, incluindo a estomatite protética (RITCHIE et al., 1969). Essa lesão é observada com muito mais frequência em usuários de próteses totais removíveis em relação àquelas implanto-retidas, porque nestas últimas ocorre maior distribuição das cargas oclusais, o que reduz o trauma aos tecidos mucosos de suporte (EMAMI et al., 2008). O trauma, como resultado de aumento da carga oclusal, leva a alterações inflamatórias (EMAMI et al., 2008) bem como ao aumento das moléculas receptoras de *Candida* nos tecidos, facilitando, portanto, a instalação da estomatite protética nos pacientes usuários de próteses removíveis (PURYER, 2017).

Uma diversidade de métodos e cuidados tem sido proposta para o tratamento da estomatite protética, entre os quais, uso de antifúngicos tópicos e sistêmicos, reembasamento das próteses com materiais de longa duração, confecção de novas próteses, instruções de higiene bucal, limpeza e desinfecção das próteses, eliminação de irregularidades anatômicas, restabelecimento de oclusão não traumática, remoção das próteses durante o sono e restituição nutricional (BUDTZ-JÖRGENSEN, 1974; CARTER; KERR; SHEPHERD, 1986; LOMBARDI; BUDTZ-JÖRGENSEN, 1993; MIMA et al., 2012; NEPELENBROEK et al., 2008; SRINIVASAN; GULABANI, 2010). O maior desafio no manejo dessa condição clínica está relacionado às altas taxas de recidiva clínica e recorrência pós-tratamento, sobretudo quando utilizados agentes antifúngicos (RAMAGE et al., 2004). Assim, o tratamento deve ser individualizado ao paciente, considerando tanto os fatores

predisponentes associados quanto a necessidade da combinação de mais de uma conduta terapêutica.

Os antifúngicos sistêmicos devem ser utilizados com cautela no tratamento da estomatite protética pelo potencial problema de surgimento e seleção de cepas de leveduras resistentes a esses fármacos após a instituição da terapia (LOMBARDI; BUDTZ-JORGENSEN, 1993; MAHDAVI OMRAN et al., 2018; MARCOS-ARIAS et al., 2012), além da possibilidade da patologia ser o resultado de uma infecção endógena (CROSS et al., 2004). Embora a terapia antifúngica sistêmica seja recomendada para pacientes imunocomprometidos (PEREZOUS et al., 2005), é necessário considerar sua possível implicação adversa à saúde dos mesmos na medida em que podem resultar em efeitos hepatotóxicos e nefrotóxicos (LOMBARDI; BUDTZ-JORGENSEN, 1993), além da interação com outros agentes (CHOI et al., 2010; HAZIN et al., 2008). Uma progressiva recolonização da infecção da mucosa bucal e das superfícies internas das próteses por *Candida* spp. tem sido amplamente relatada tanto a curto quanto a longo prazo após a suspensão de terapias à base de agentes sistêmicos como fluconazol e itraconazol (ARIKAN; KULAK; KADIR, 1995; BUDTZ-JORGENSEN; HOLMSTRUP; KROGH, 1988; CROSS et al., 2004; FIGUEIRAL et al., 2015; KULAK; ARIKAN; DELIBALTA, 1994). Esse insucesso do tratamento da estomatite protética com antifúngicos sistêmicos é especialmente associado ao fato de tais medicamentos não atingirem uma concentração suficiente para eliminação das espécies de *Candida* nas superfícies protéticas, o que leva à sua recolonização e, conseqüentemente, da mucosa de suporte (MATHABA; DAVIES; WARMINGTON, 1995; OHSHIMA et al., 2018).

Embora ainda seja o tratamento mais utilizado para a estomatite protética, a terapia antifúngica tópica, com agentes como o miconazol e, sobretudo com a nistatina (BANTING; HILL, 2001; LOMBARDI; BUDTZ-JORGENSEN, 1993; MILTON ROCHA GUSMÃO; PEREIRA, 2013; NEPPELENBROEK et al., 2008), apresenta limitações. Tais agentes apresentam um curto tempo de retenção nas superfícies protéticas e tecidos infectados em função do fluxo salivar, dos movimentos da língua e da deglutição (BANTING; HILL, 2001). Como resultado, são necessárias várias aplicações dos medicamentos ao longo do dia (VAZQUEZ, 2010), tornando a posologia rigorosa, o que requer complacência do paciente (SCHNEID, 1992). A rápida diluição dos fármacos tópicos na cavidade bucal também resulta em falha na

erradicação das espécies de *Candida* das superfícies de suporte das próteses (BANTING; HILL, 2001), o que frequentemente acarreta em um quadro de reinfecção em até duas semanas após a suspensão do tratamento (BANTING; HILL, 2001; MILTON ROCHA GUSMÃO; PEREIRA, 2013; NEPPELENBROEK et al., 2008; OHSHIMA et al., 2018; SILVA et al., 2012; ZHANG et al., 2016). Outros fatores associados ao insucesso da terapia antifúngica tópica convencional para a estomatite protética incluem a falta de percepção da infecção pelos pacientes, necessidade de gastos com medicação, uso contínuo das próteses e sabor desagradável do produto (TRUHLAR; SHAY; SOHNLE, 1994), além da preocupação com a resistência fúngica, previamente comentada (ARÀVALO et al., 2016; GOLDMAN et al., 2004; LOMBARDI; BUDTZ-JORGENSEN, 1993; MARTINEZ et al., 2002; PFALLER, 2012; ROGERS, 2002; ZOMORODIAN et al., 2011). Ainda, muitos antifúngicos tópicos contêm açúcar, que pode interferir com a saúde bucal e, até mesmo sistêmica, no caso de pacientes com desordens metabólicas, como diabetes (VAZQUEZ; SOBEL, 2012).

A ação dos agentes antifúngicos convencionalmente utilizados para o tratamento da estomatite protética se torna reduzida nas bases protéticas (MIMA et al., 2012; SANTOS et al., 2008) em razão também da colonização microbiana em profundidade na resina acrílica (CHAU et al., 1995; DAVENPORT, 1972; PEREIRA-CENCI et al., 2008) e ao complexo biofilme presente nesse substrato (PEREIRA-CENCI et al., 2008; SALERNO et al., 2011; SATO et al., 1997). Duas consequências do crescimento de biofilme com grande relevância clínica são: menor susceptibilidade das células microbianas à ação dos agentes antimicrobianos (CHANDRA et al., 2001; RAMAGE et al., 2004) e a maior proteção dos microorganismos à atuação das células de defesa do hospedeiro (MAH; O'TOOLE, 2001). Baixo crescimento, regulação do metabolismo celular alterada devido à limitação de nutrientes e condições de estresse e a densidade celular são outros mecanismos sugeridos de resistência do biofilme aos antimicrobianos (JAYAMPATH SENEVIRATNE et al., 2010). Esse grau de resistência aumenta com a maturação do biofilme (MAH; O'TOOLE, 2001) e, ainda, as espécies que o produzem tem sido correlacionadas aos resultados desfavoráveis em pacientes com infecções, incluindo as recorrências (TUMBARELLO et al., 2012).

As próteses removíveis podem causar múltiplas alterações no ambiente bucal, incluindo alterações na saliva, competição entre microrganismos para aderência ao substrato, diminuição do pH, aumento do potencial de óxido-redução e depósitos de fosfato, cálcio e proteínas nas bases acrílicas que estão em contato com a mucosa de suporte. Conseqüentemente, as espécies fúngicas sofrem rápida adaptação osmótica e mudanças metabólicas, bem como produzem respostas ao estresse oxidativo, levando à formação de biofilmes (SÁNCHEZ-VARGAS et al., 2013). Por isso, a simples presença dessas próteses, mesmo sem outros fatores, tem sido considerada como um agente predisponente primário para o desenvolvimento da estomatite protética. A composição da comunidade microbiana do biofilme protético é semelhante à do biofilme dental, com exceção de um aumento de *Candida* spp., sobretudo *C. albicans*, o que favorece ainda mais tal predisposição à patologia (BAENA-MONROY et al., 2005; BARBEAU et al., 2003; DAVENPORT, 1970; MARTINS et al., 2016; PIRES et al., 2002; SANITA et al., 2011). A propensão dos tecidos protéticos de suporte às infecções é também facilitada pelo trauma ocasionado pelo contato do biofilme das bases acrílicas com a mucosa subjacente (ZOMORODIAN et al., 2011), devido ao aumento da permeabilidade às toxinas microbianas (RICHARDSON; ADNER; NORDSTRÖM, 2001). Conseqüentemente, o tratamento da estomatite protética deve ser direcionado às superfícies acrílicas internas das bases das próteses removíveis, visando a eliminação do biofilme protético (NEPPELENBROEK et al., 2008).

Métodos mecânicos (higienização por escovação e limpeza com ultrassom), químicos (imersão em agentes de limpeza, desinfetantes e enxagatórios bucais) e físicos (irradiação por micro-ondas, laser de baixa intensidade e terapia fotodinâmica) têm sido recomendados para o controle e remoção do biofilme protético. Embora grande parte dos usuários ainda limpem suas próteses removíveis apenas com enxague em água (AOUN; BERBERI, 2017; APRATIM et al., 2013), a escovação com dentífrício, sabão ou mesmo água representa o método mais adotado por essa população (APRATIM et al., 2013) devido à facilidade, simplicidade e baixo custo, (COELHO; SOUSA; DARÉ, 2004; OSMARI et al., 2016; PAPADIOCHOU; POLYZOIS, 2018). Entretanto, tem sido demonstrado que, quando utilizada de forma isolada, a escovação apresenta baixa efetividade na remoção do biofilme protético (CRUZ et al., 2011; ASLANIMEHR et al., 2019) bem como na

prevenção da estomatite protética associada à *Candida* spp. (ASLANIMEHR et al., 2019). Quando inseridos em uma comunidade do tipo biofilme, os microrganismos se tornam parcialmente protegidos das forças de cisalhamento da escova dental, minimizando sua ação (BAENA-MONROY et al., 2005). Outro fator que dificulta a limpeza por esse método é a presença de irregularidades e porosidades na resina acrílica das bases protéticas (DUYCK et al., 2016). Ainda, há a possibilidade da abrasão das cerdas da escova causar danos e desgaste aos materiais para base de prótese e dentes artificiais, o que é dependente do tipo de escova e/ou dentífrico/sabão (FREITAS-PONTES; SILVA-LOVATO; PARANHOS, 2009; POLICASTRO et al., 2016). Tais alterações resultam em perda de brilho superficial e aumento de rugosidade, tornando o controle e a remoção do biofilme ainda mais difíceis (HARRISON; JOHNSON; DOUGLAS, 2004). Por fim, a escovação também torna-se menos efetiva se realizada por indivíduos com redução da acuidade visual, limitações da capacidade motora e comprometimento cognitivo, o que é comum nos usuários de próteses removíveis idosos (KANLI; DEMIREL; SEZGIN, 2005) e residentes de casas de repouso (KANLI; DEMIREL; SEZGIN, 2005; PAPADIOCHOU; POLYZOIS, 2018). Essas limitações podem ser superadas com o uso do ultrassom, outro método mecânico de limpeza das próteses removíveis (CRUZ et al., 2011; DE ANDRADE et al., 2011; DUYCK et al., 2016; NISHI et al., 2014; SHAY, 2000). Por outro lado, à semelhança do que ocorre com a escovação, tem sido relatado que tal método, quando não associado a outros, apresenta baixa eficácia para a remoção de biofilme protético (DE ANDRADE et al., 2011; NISHI et al., 2014). Também é necessário considerar a aquisição e manutenção de um dispositivo ultrassônico (NISHI et al., 2014), sendo, portanto, mais viável seu emprego em ambientes institucionais como hospitais e casas de repouso (SHAY, 2000).

Com o objetivo de melhorar a eficácia dos métodos mecânicos na redução do biofilme protético, tem sido amplamente recomendada a associação dos mesmos a outros do tipo químico ou físico. Neste sentido, diversos agentes de limpeza e soluções desinfetantes podem ser utilizados, sendo as formulações à base de hipoclorito de sódio, perboratos de sódio e digluconato de clorexidina consideradas as mais efetivas para o controle e remoção do biofilme das bases acrílicas e tratamento da estomatite protética quando testadas como métodos químicos

adjuntos a escovação ou ultrassom (ARRUDA et al., 2017; DE SOUSA PORTA et al., 2015; PELLIZZARO et al., 2012; RAMAGE et al., 2019). Por outro lado, inúmeras são as desvantagens associadas ao uso de tais soluções como agentes de limpeza, incluindo alterações de cor nas resinas acrílicas das bases protéticas (PARANHOS et al., 2014), além do tempo requerido por ciclo de desinfecção, que geralmente é prolongado.

Uma preocupação constante com o uso de agentes de limpeza de hipoclorito de sódio e clorexidina, ainda que em baixas concentrações, é o potencial efeito citotóxico residual apresentado por essas soluções, que acabam ficando impregnadas nas irregularidades e porosidades das resinas acrílicas das bases protéticas após a desinfecção, não sendo completamente removidas após o enxague (PROCÓPIO et al., 2018). Soluções de hipoclorito de sódio em baixas concentrações (0,5 ou 1%) após imersão noturna diária ou imersão prolongada, resultaram em alterações deletérias nas propriedades físicas e mecânicas de dentes artificiais (CAMPANHA et al., 2012; PISANI et al., 2012) resinas acrílicas e reembasadores para bases de próteses removíveis (DAVI et al., 2010; PISANI et al., 2010, 2012). Mesmo em curtos períodos de imersão, essas soluções também foram capazes de causar efeitos adversos sobre propriedades materiais para bases de próteses (DE REZENDE PINTO et al., 2010; POLYZOIS et al., 2013) e dentes acrílicos (PISKIN; SIPAHI; AKIN, 2014), quando utilizadas em concentrações mais altas (2 ou 5,25%). Além disso, formulações de hipoclorito de sódio também tem sido frequentemente associadas à corrosão de componentes metálicos de próteses removíveis (FELIPUCCI et al., 2011; PAPADOPOULOS et al., 2011; PARANHOS et al., 2014). A imersão prolongada das próteses removíveis em soluções de clorexidina podem levar à redução da dureza de dentes artificiais acrílicos (CAMPANHA et al., 2012) e aumento da rugosidade superficial de resinas reembasadoras rígidas (MACHADO et al., 2012). A longo prazo, mesmo em concentração recomendada para imersão noturna (2%), foi demonstrado que a clorexidina alterou a resistência de união entre os dentes artificiais à resina acrílica de base da prótese após ciclos diários de 5 min por 180 dias (PERO et al., 2016). Imersões diárias em soluções de perborato de sódio podem resultar, a longo prazo, em alterações adversas na dureza e rugosidade de dentes artificiais acrílicos bem como em efeitos indesejados a algumas propriedades físicas e mecânicas dos

materiais acrílicos ou de poliamida das bases protéticas (KÖROĞLU et al., 2016; PORWAL et al., 2015). Por fim, materiais macios para reembasamento de próteses removíveis podem sofrer deterioração superficial pela imersão em soluções de limpeza de hipocloritos e perboratos (JIN et al., 2005; MACHADO et al., 2011; MURATA et al., 2010; NIKAWA et al., 1994; TAN et al., 2000; YILMAZ et al., 2004), o que favorece ainda mais o acúmulo de biofilme (BOSCATO et al., 2009).

Com o intuito de superar tais limitações inerentes aos métodos químicos, foi proposta a desinfecção das próteses removíveis acrílicas por micro-ondas, considerada como uma alternativa de baixo custo, rápida e eficaz para a inativação dos microrganismos presentes no biofilme protético (KLIRONOMOS; KATSIMPALI; POLYZOIS, 2015). Estudos clínicos demonstraram efetividade deste método físico de desinfecção quando utilizado em associação apenas à escovação das próteses (NEPPELENBROEK et al., 2008; SANITA et al., 2012; SILVA et al., 2012; WEBB; THOMAS; WHITTLE, 2005) ou, além disso, à uma medicação antifúngica tópica (BANTING; HILL, 2001) ou agente químico de limpeza. Apesar desses resultados promissores, a irradiação por micro-ondas, pode danificar de forma inaceitável as próteses. Tem sido demonstrado que ciclos diários de desinfecção por micro-ondas foram capazes de afetar a dimensão linear, cor e translucidez de materiais para base de prótese à base de acrílico ou poliamida, sendo as maiores alterações observadas durante os primeiros 60-90 dias (POLYCHRONAKIS et al., 2018). Entretanto, mesmo um único ciclo de 5 ou 15 min, em ambiente seco ou úmido, não foi recomendado como protocolo seguro para a desinfecção de próteses totais pelo efeito de enfraquecimento e a fragilidade causados pelas micro-ondas à resina acrílica termopolimerizável para base protética, que clinicamente se tornaria vulnerável a fraturas (HAMOUDA; AHMED, 2010). A desinfecção das próteses por esse método também pode resultar, tanto a curto quanto longo prazo, em outros efeitos adversos aos materiais utilizados para a confecção das bases (SHAFEEQ et al., 2016; WAGNER; PIPKO, 2015), dentes artificiais acrílicos (CAMPANHA et al., 2005, 2012; GANDHI et al., 2017) e resistência de união entre ambos (MATOS et al., 2018), além de alterações deletérias a reembasadores rígidos (CAMPANHA et al., 2005; MACHADO et al., 2012; NOVAIS et al., 2009) e resilientes (DIXON; BREEDING; FALER, 1999; MACHADO et al., 2011; PAVAN et al., 2007). Outro aspecto a ser considerado é que próteses removíveis com metais não são

recomendadas para a desinfecção por esse método em razão do dano ao magnétron do forno (HAMOUDA; AHMED, 2010). Por fim, ainda não há protocolo seguro estabelecido para o uso de irradiação de micro-ondas que garanta a desinfecção das próteses, sem causar implicações clínicas significativas em suas propriedades físico-mecânicas. Ainda, há uma grande variação em relação ao tempo de exposição e a potência, que parecem ser aleatoriamente selecionados na maioria das pesquisas disponibilizadas (KLIRONOMOS; KATSIMPALI; POLYZOIS, 2015).

Mais recentemente, a terapia fotodinâmica antimicrobiana tem sido sugerida como um método físico alternativo à irradiação por micro-ondas para o tratamento da estomatite protética. Entretanto, os resultados dos poucos estudos clínicos disponíveis ainda são controversos, mostrando eficácia semelhante (MIMA et al., 2012) ou inferior (DE SENNA et al., 2018; MACIEL et al., 2016) à da terapia antifúngica convencional. Isso pode ser atribuído ao fato da terapia fotodinâmica possuir um protocolo dependente de uma dosimetria complexa, associado a fatores como dose, modo de aplicação e tempo de exposição à luz, que podem ser clinicamente inviáveis no contexto do ambiente odontológico. Além disso, alta taxa de recorrência (78%) de estomatite protética nos pacientes que receberam terapia fotodinâmica em um período de até 90 dias após a suspensão do tratamento (MIMA et al., 2012). Ainda, é relevante se considerar os custos relacionados ao desenvolvimento dos equipamentos de LEDs (light-emitting diode), sendo um específico para o tratamento da região bucal acometida pela estomatite protética e o outro para a prótese. Outra preocupação relatada está relacionada aos agentes fotossensibilizadores, que apresentam riscos químicos potenciais para a pele por meio de vias subcutâneas, de ingestão ou de inalação (BRESKEY et al., 2013).

Frente aos aspectos anteriormente discutidos, conclui-se que, para um efetivo tratamento da estomatite protética a longo prazo, é imprescindível que a remoção do biofilme protético seja realizada sem causar, simultaneamente, danos à prótese, de forma a impedir uma reinfecção da mucosa de suporte via base acrílica. No entanto, como já comentado, a prevalência dessa condição é significativamente maior em próteses removíveis com inadequadas condições de adaptação e com maior tempo de uso, que apresentam mais irregularidades e porosidades (GENDREAU; LOEWY, 2011; NEPPELENBROEK et al., 2008; WEBB et al., 1998). Tais próteses insatisfatórias requerem substituição, mas previamente às moldagens para a

confeção das novas, é necessário que os tecidos de suporte estejam saudáveis (ZARB et al., 2006). Durante esse período, os procedimentos de reembasamento das próteses tem sido indicado como um tratamento adjunto para a estomatite protética, uma vez que o biofilme protético é removido mecanicamente para dar espaço ao material condicionador/reembasador, rompendo o contato da base acrílica contaminada com os tecidos de suporte (DAVENPORT, 1972; OHSHIMA et al., 2018) e, ao mesmo tempo, promovendo sua readaptação à área chapeável (MARÍN ZULUAGA; GÓMEZ VELANDIA; RUEDA CLAUJIO, 2011). Quando as próteses são reembasadas com materiais macios, os benefícios terapêuticos podem ser superiores em relação aos rígidos, pois sua viscoelasticidade produz um efeito de amortecimento que melhora a mastigação e a distribuição das forças oclusais nos tecidos de suporte, o que favorece a recuperação da saúde bucal mais rapidamente durante um curto período de tempo. Essa minimização dos traumas mecânicos causados pelas próteses removíveis inadequadas e pelo próprio biofilme protético resulta em maior conforto ao paciente (BROWN, 1988; DOROCKA-BOBKOWSKA; MEDYNSKI; PRYLINSKI, 2017; FARRELL, 1975).

Apesar dessas vantagens, os materiais macios para reembasamento são pouco resistentes à escovação (MÄKILÄ; HONKA, 1979), tendo sua integridade superficial alterada mesmo após limpeza com escova extra-macia (HERMANN et al., 2008; UEDA et al., 2018). Ainda, as propriedades químicas, físicas e mecânicas desses materiais são mais sensíveis aos efeitos adversos dos agentes de limpeza para prótese, que ocasionam perda das características elásticas (BROEK et al., 2011) e aumento da dureza e rugosidade superficial (MOHAMMED et al., 2016), reduzindo significativamente seu tempo de vida clínica. Essas alterações são ainda mais pronunciadas nos materiais macios temporários, que embora apresentem alta maciez inicial, perdem rapidamente etanol e plastificantes, limitando sua vida útil a um período relativamente curto, que varia de 3 ou 4 dias para os condicionadores teciduais, e em torno de 14 dias para os reembasadores resilientes de curta duração (HONG et al., 2009; MURATA et al., 2010). Assim, os materiais macios, sobretudo os temporários, são mais porosos, irregulares e facilmente degradáveis em relação àqueles rígidos das bases próteses, o que os tornam mais susceptíveis à colonização microbiana (BULAD et al., 2004; MÄKILÄ; HOPUSU-HAVU, 1977; PAVAN et al., 2010; TAYLOR; BULAD, 2008). Visando superar tais limitações, tem sido

recomendada a incorporação de fármacos antifúngicos/antimicrobianos a esses materiais (IQBAL; ZAFAR, 2016).

A adição de agentes com propriedades antimicrobianas aos materiais macios temporários como os condicionadores de tecido e reembasadores resilientes de curta duração tem se mostrado efetiva como uma abordagem terapêutica para prolongar longevidade clínica desses materiais, prevenir o acúmulo de biofilme protético (DOUGLAS; WALKER, 1973; NIKAWA et al., 1997; SCHNEID, 1992) e inibir a colonização por *C. albicans* (ALBRECHT et al., 2018; AMIN et al., 2009; CARTER; KERR; SHEPHERD, 1986; CATALÁN et al., 2008; CHOPDE et al., 2012; FALAH-TAFTI et al., 2010; GEERTS; STUHLINGER; BASSON, 2008; QUINN, 1985; RADNAI et al., 2010). Esse protocolo de incorporação dos fármacos em matriz polimérica que sofre lixiviação de seus componentes, como é a dos materiais macios temporários, pode atuar como uma terapia em potencial para a estomatite protética por várias razões: 1) diferente dos antifúngicos tópicos convencionais, a liberação dos antimicrobianos através dos materiais ocorre de forma gradual, sendo capaz de alcançar uma concentração terapêutica efetiva nos tecidos infectados, mesmo sob os efeitos diluentes da saliva e dos movimentos de deglutição e da língua; 2) o tratamento é baseado na utilização da prótese, eliminando a necessidade de adesão dos pacientes, que geralmente têm dificuldade em obedecer o rígido protocolo da posologia antifúngica convencional, o que é vantajoso, sobretudo àqueles idosos, institucionalizados e portadores de deficiências físicas e/ou mentais; 3) a recuperação dos tecidos infectados é ainda mais favorecida pela prevenção da colonização microbiana, além de serem atingidos simultaneamente os demais benefícios do reembasamento das próteses com materiais macios, como remoção do trauma pela readaptação das bases à área chapeável e eliminação do contato dos tecidos de suporte com o biofilme protético, rompendo o ciclo de reinfecção; 4) Em feridas cirúrgicas, essa combinação pode prevenir infecções pela ação antimicrobiana dos agentes incorporados; 5) o período de utilização de uma prótese reembasada com um material macio temporário modificado com antimicrobiano é semelhante ao período de tratamento com antifúngico tópico convencional (14 dias) (BUENO et al., 2015; MATSUURA et al., 1997; SCHNEID, 1992; TRUHLAR; SHAY; SOHNLE, 1994). Assim, pelas características de sua matriz polimérica bem como seu tempo vida útil, os materiais macios de curta duração para base de prótese são os

mais indicados para a modificação por fármacos como uma alternativa viável para o tratamento da estomatite protética. É importante ressaltar que, após o período de 14 dias, para evitar a recorrência dessa patologia, os materiais temporários devem ser substituídos por reembasadores de longa duração quando as próteses estiverem satisfatórias ou novas devem ser confeccionadas se necessário.

Apesar dos benefícios terapêuticos relatados com o sistema de liberação gradual de fármacos, tem sido demonstrado que a adição de agentes antifúngicos/antimicrobianos em concentrações comercialmente disponíveis a materiais a condicionadores de tecido e reembasadores resilientes temporários, pode afetar suas características estruturais (ADDY; HANDLEY, 1981; URBAN et al., 2009), além de outras propriedades como módulo de elasticidade e peso (ADDY; HANDLEY, 1981), resistência à tração (SCHNEID, 1992; URBAN et al., 2006), dureza (ADDY; HANDLEY, 1981; SCHNEID, 1992; URBAN et al., 2015), rugosidade superficial (URBAN et al., 2015) e resistência da união ao descolamento da resina acrílica para base de prótese (ALBRECHT et al., 2018; ALCÂNTARA et al., 2013).

Com o objetivo de manter as propriedades dos materiais modificados, um estudo prévio objetivou determinar concentrações de fármacos menores que as comercialmente disponíveis, mas simultaneamente efetivas para a inibição fúngica (BUENO et al., 2015). Ao longo de 14 dias, as concentrações inibitórias mínimas (CIMs) capazes de inibir 90% ou mais do biofilme de *C. albicans* (SC5314) em um condicionador de tecido (Softone) e um reembasador resiliente temporário (Trusoft) foram obtidas com nistatina (antifúngico poliênico) e diacetato de clorexidina (agente antimicrobiano de amplo espectro). Foi também demonstrado que as CIMs de nistatina e diacetato de clorexidina não interferiram de forma deletéria nas propriedades do reembasador resiliente temporário (Trusoft) de dureza Shore A (BUENO et al., 2017), rugosidade superficial (BUENO et al., 2017), características morfológicas (SÁNCHEZ-ALIAGA et al., 2013), resistência da união ao descolamento da resina acrílica para base de prótese (SÁNCHEZ-ALIAGA et al., 2016), sorção de água e solubilidade (LIMA et al., 2016a), porosidade (LIMA et al., 2016b), resistência à tração e porcentagem de alongamento (NEPPELENBROEK et al., 2018). Além disso, o reembasamento de dispositivos palatinos intra-buciais com Trusoft modificado por nistatina e clorexidina em suas CIMs se mostrou como um protocolo viável para a utilização durante 14 dias em um estudo em animais (HOTTA

et al., 2016), não resultando em alterações histopatológicas na mucosa palatina dos ratos ao longo deste período (HOTTA et al., 2019). Tal biocompatibilidade in vivo e a excelente atividade antibiofilme contra *C. albicans* apresentada pelo reembasador resiliente temporário após a adição das CIMs de nistatina e diacetato de clorexidina, aliadas à preservação de diversas propriedades do material modificado ao longo de 14 dias de avaliação, sugerem que esse protocolo pode ser considerado como promissor para o tratamento da estomatite protética. Assim, seria pertinente testar sua efetividade em um estudo clínico randomizado com pacientes portadores dessa patologia.

2 PROPOSIÇÃO

2 PROPOSIÇÃO

O presente estudo clínico randomizado teve como objetivo geral avaliar a longo prazo o efeito da incorporação de agentes antimicrobianos em reembasador resiliente temporário no tratamento de pacientes com estomatite protética, bem como comparar a efetividade desse método de liberação gradual de fármacos com a terapia tópica convencional.

Os objetivos específicos deste estudo clínico randomizado foram:

- a) Investigar a efetividade a longo prazo de um método de liberação gradual e controlada de fármacos a partir de bases protéticas resilientes no tratamento de pacientes com estomatite protética, em função de:
 - um reembasador resiliente temporário para base de prótese (Trusoft);
 - dois agentes antimicrobianos comumente utilizados para a terapia dessa patologia (nistatina e diacetato de clorexidina), testados em suas CIMs para biofilme de *C. albicans*;
 - diferentes períodos de tempo após a suspensão dos tratamentos propostos (15, 30 e 60 dias);
 - três métodos de avaliação: obtenção de escores clínicos da severidade das lesões por meio de fotografias do palato e contagem de colônias viáveis de *Candida* spp. e determinação de escores de formas miceliais desses fungos tanto na mucosa palatina quanto na superfície interna das próteses totais superiores dos pacientes antes e após os tratamentos testados e nos períodos decorridos de sua suspensão;

 - b) Comparar o método de liberação dos agentes antimicrobianos a partir da matriz polimérica modificada com a terapia antifúngica convencional por nistatina oral em suspensão em relação à eficácia para o tratamento dos pacientes com estomatite protética.
-
-

As hipóteses testadas neste estudo foram:

1ª) A adição de ambos os antimicrobianos testados no reembasador resiliente temporário seria efetiva como método terapêutico aos pacientes com estomatite protética tanto ao final do tratamento quanto a longo prazo;

2ª) Em relação à terapia antifúngica tópica convencional, o método proposto para a liberação gradual dos fármacos a partir da base resiliente apresentaria melhores resultados imediatos e nos períodos após a suspensão do tratamento.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 SELEÇÃO DOS PACIENTES

O estudo foi realizado em 40 pacientes usuários de pelo menos uma prótese total superior (PTS), portadores de estomatite protética nas áreas subjacentes às PTS e atendidos na clínica de Prótese da Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo (FOB/USP). A metodologia experimental foi iniciada apenas mediante aprovação do projeto de pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da FOB/USP (CAAE Proc. n° 48753215.3.0000.5417) (Apêndice 1). Para participar do estudo, todos os pacientes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido devidamente preenchido pelo pesquisador responsável (Apêndice 1). Foram excluídos os pacientes anêmicos, imunocomprometidos, com endocrinopatologias não controladas, que estivessem fazendo uso de antibióticos, esteroides e antifúngicos nos últimos três meses, aqueles sob tratamento antineoplásico (radio ou quimioterapia) e usuários da mesma PTS por mais de 30 anos (NEPPELENBROEK et al., 2008; SANITA et al., 2012)

Para a seleção dos pacientes, indivíduos usuários de PTS foram avaliados por um especialista em Patologia Bucal (V.S.L.) para o diagnóstico clínico de estomatite protética. Aqueles com diagnóstico clínico positivo foram submetidos a uma anamnese inicial contendo questões especificamente relacionadas aos critérios de exclusão adotados para a pesquisa. Então, os pacientes não excluídos foram submetidos à confirmação do diagnóstico clínico de estomatite protética por meio de exames citológicos por esfregaço tanto das áreas eritematosas da mucosa palatina quanto das áreas da superfície interna da PTS correspondentes aos eritemas. Para ser considerada como positiva a análise microscópica dos esfregaços, foi necessário a evidência da presença de formas miceliais (pseudohifas e hifas), característica morfológica indicativa de infecção pelas espécies de *Candida*, em, pelo menos, uma das superfícies avaliadas (mucosa do palato duro e superfície interna da prótese) (NEPPELENBROEK et al., 2008). Cinquenta e cinco pacientes com esfregaço micológico positivo para estomatite protética foram designados a um dos

tratamentos testados, mas apenas 40 indivíduos completaram todos os períodos de avaliação do presente estudo.

3.2 ANAMNESE E EXAME CLÍNICO

Os pacientes selecionados com diagnóstico positivo para estomatite protética incluídos neste estudo foram inicialmente submetidos à anamnese completa e exame clínico detalhado (Apêndice 2). Na anamnese, os pacientes foram questionados quanto a uso de medicamentos, estado geral de saúde (anterior e atual) e histórico de saúde familiar. Também foram anotadas as seguintes informações de idade e sexo do paciente, tempo e frequência de uso das próteses atuais e uso de tabaco (NEPPELENBROEK et al., 2008). As próteses dos pacientes foram visualmente inspecionadas em relação à presença de biofilme. Para isso, a higiene da PTS foi classificada em acordo com o índice de placa modificada de Ambjörnsen's, sendo avaliadas três áreas da superfície interna e duas da externa quando aos seguintes níveis de higiene foram os seguintes: (0) boa higiene- sem presença de biofilme visível ao exame; (1) higiene insuficiente - biofilme cobrindo moderadamente parte da prótese; (2) higiene precária- prótese recoberta por biofilme visível (PRZYBYŁOWSKA et al., 2016). Outras condições das próteses observadas clinicamente foram a retenção, suporte, estabilidade, adaptação e desgaste dos dentes artificiais. Além disso, foi realizado um exame clínico detalhado das seguintes regiões: palato, mucosa jugal, língua, lábios, orofaringe e dentes (quando presentes na arcada inferior) de cada paciente.

O exame inicial da região palatina foi realizado em acordo com a classificação da estomatite protética de acordo com Newton (1962): Tipo I: Hiperemia puntiforme – caracteriza-se pela presença de áreas puntiformes de inflamação dispersas pela mucosa normal, geralmente próximas aos orifícios dos ductos das glândulas salivares palatinas menores; Tipo II: Hiperemia difusa - caracteriza-se pela inflamação generalizada sobre a mucosa recoberta pela prótese, a qual se apresenta lisa e atrófica; Tipo III: Hiperemia granular - caracteriza-se pela mucosa hiperêmica, com aparência nodular, que pode estar presente em toda a região

recoberta pela prótese ou, mais frequentemente, restrita à região central do palato (Figura 1).

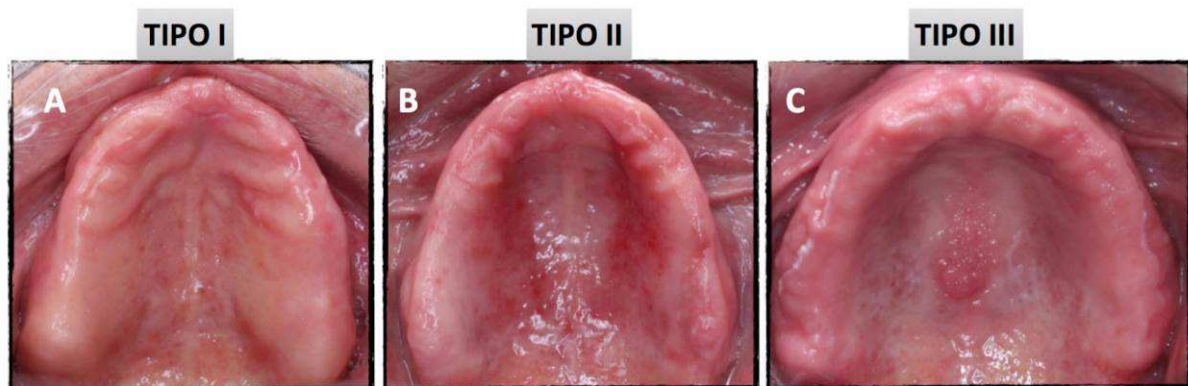


FIGURA 1: Mucosas palatinas acometidas por estomatite protética Tipo I (A), II (B) e III (C) de acordo com a classificação de Newton.

3.3 RANDOMIZAÇÃO

Uma randomização estratificada gerada por programa de computador (Microsoft Excel) foi utilizada para distribuir os pacientes nos grupos de tratamento de forma homogênea no período inicial de avaliação. Para isso, foram consideradas as características demográficas (idade e sexo do participante), o tipo de estomatite protética de acordo com Newton e os principais fatores predisponentes associados à essa condição: idade das PTS, uso de fármacos indutores de xerostomia (hipoglicemiantes, anti-hipertensivos e ansiolíticos), presença de xerostomia, hábitos precários de higiene bucal, tabagismo e uso noturno das próteses (SANITA et al., 2012; SILVA et al., 2012).

Devido à natureza da intervenção, os participantes tinham conhecimento se o tratamento seria convencional (antifúngico tópico) ou por meio de reembasamento da PTS. No entanto, neste último método, o paciente desconhecia se o material resiliente seria modificado ou não por fármaco. As consultas foram organizadas de forma a evitar a comunicação entre os participantes e prevenir a contaminação potencial do estudo. Não houve sigilo de alocação dos participantes para o pesquisador responsável, pois a coloração do reembasador se tornava modificada em função da adição do fármaco.

3.4 INTERVENÇÕES

Os 40 pacientes selecionados foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos (n=10), de acordo com os seguintes tratamentos instituídos por um período de 14 dias:

Controle Positivo - CP – uso de medicação antifúngica tópica convencional à base de nistatina (Nistatina Suspensão Oral, 100.000 UI/mL, Neo Química Com. e Ind. Ltda., Anápolis, Goiás, Brasil), quatro vezes ao dia;

Controle Geral – CG – reembasamento da PTS com Trusoft™ (Bosworth Company, Skokie, IL, EUA) sem fármaco;

Grupo CLX – reembasamento da PTS com Trusoft modificado pela adição da CIM de diacetato de clorexidina 98% (Acros Organics, New Jersey, NJ, EUA – CAS 206986-79-0) (0,064 g de fármaco para cada grama de pó do material reembasador) (BUENO et al., 2015);

Grupo NIS – reembasamento da PTS com Trusoft modificado pela adição da CIM de nistatina (Pharma Nostra Comercial, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) (0,032 g de fármaco para cada grama de pó do material reembasador) (BUENO et al., 2015).

Os pacientes de todos os grupos de estudo foram devidamente instruídos a realizar escovação da (s) prótese (s) removíveis com sabão de coco e escova macia e removê-las durante o período do sono, deixando-as imersas em água filtrada ou fervida. Foi orientado aos indivíduos que a escova dental fornecida pelo pesquisador responsável deveria ser utilizada exclusivamente para limpeza da PTS, devendo ser empregada outra para a higiene da prótese inferior e dentes remanescentes (quando presentes) bem como raspador para a limpeza da língua. Os pacientes receberam tanto verbalmente quanto por escrito os cuidados com a higiene bucal e as instruções de limpeza da (s) prótese (s), que deveriam ser realizados quatro vezes ao dia, ou seja, após as principais refeições e antes de dormir (NEPPELENBROEK et al., 2008).

Para a terapia convencional com nistatina tópica, os pacientes do Grupo CP foram aconselhados a remover sua (s) prótese (s) e realizar os procedimentos de higienização bucal previamente ao bochecho de um conta-gotas da solução

antifúngica por 1 min, quatro vezes ao dia. Cada paciente recebeu a posologia terapêutica detalhada por escrito, acompanhada de um frasco de 50 mL da medicação, que foi suficiente para todo o período de tratamento (14 dias).

Os pacientes dos outros grupos (CG, CLX e NIS) tiveram suas PTS reembasadas com Trusoft. Para o Grupo CP, o Trusoft foi proporcionado (1 g/1 mL) e manipulado de acordo com as recomendações do fabricante. Para os grupos CLX e NIS, cada fármaco na forma de pó em suas CIMs para o biofilme de *C. albicans* foi misturado ao pó do material reembasador (Figura 2A e 2B). Então, o líquido foi adicionado à mistura de pós (Figura 2C) (BUENO et al., 2015).



FIGURA 2: A- CIM do fármaco (nistatina) adicionada ao pó do reembasador Trusoft; B- Mistura dos pós (fármaco e reembasador); C- Material manipulado após a adição do líquido.

Para o reembasamento, as PTS foram limpas, secas e, então, submetidas à um desgaste de sua superfície interna de aproximadamente 2 mm (Maxicut NB78SE-045, DhPro, Rhadartrade, Paranguá, PR, Brasil), para criar espaço para o material reembasador (Figura 3A). Ainda, as bordas externas das próteses foram asperizadas para melhorar a interface de união entre a base acrílica e o material nesta região. Em seguida, o agente de união proveniente do kit do Trusoft foi aplicado com pincel sobre toda a superfície interna da PTS e área de selado periférico externo. As superfícies externas demais e dentes das próteses foram isolados com vaselina sólida (Quimidrol Comercio Industria Importação Ltda., Joinville, SC, Brasil) para evitar adesão do material.

Após a proporção (Figura 3B) e manipulação (Figura 3C), o material foi acrescentado de modo uniforme no interior da PTS dos pacientes (Figura 3D), sendo levado em posição em sua cavidade bucal para a realização dos movimentos funcionais. Em seguida, foi solicitado ao paciente para ocluir durante 4 a 5 minutos

para a plastificação do material (Figura 3E), conforme instruções do fabricante. Após esse período, as próteses foram removidas de posição, enxaguadas em água corrente e, então, os excessos foram removidos com tesoura clínica (S.S. White Duflex, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) (Figura 3F).

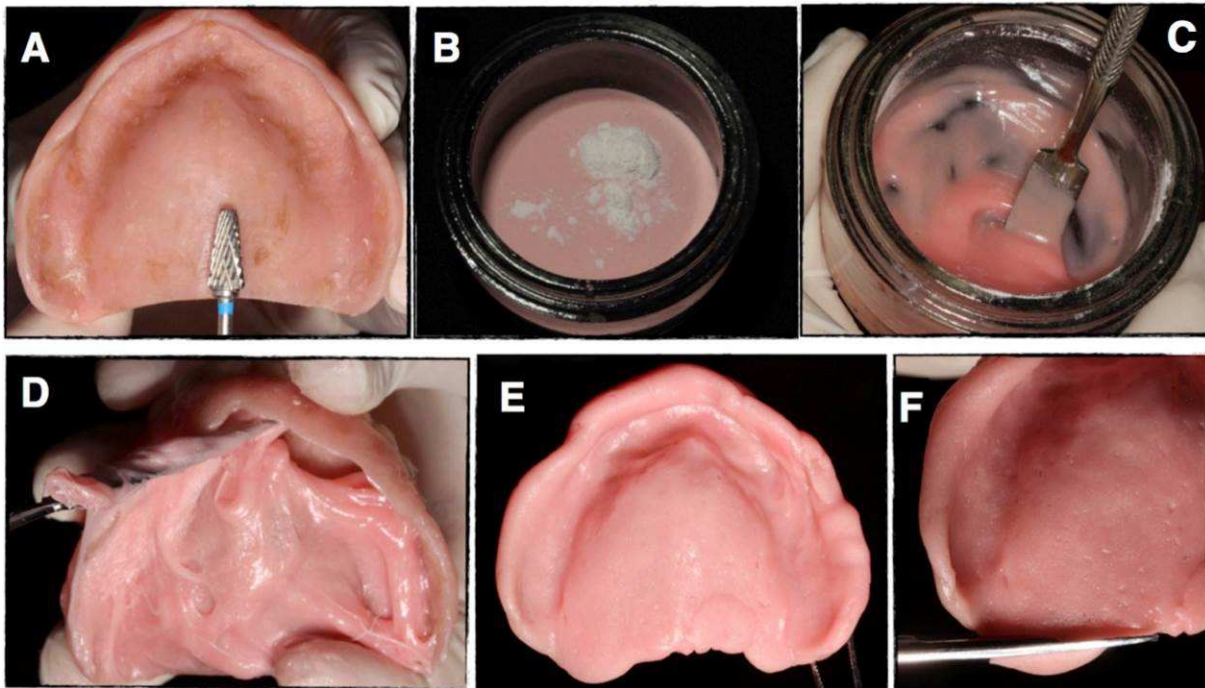


FIGURA 3: A- Desgaste da superfície interna da PTS; B- CIM do fármaco (clorexidina) adicionada ao pó do Trusoft; C- Manipulação do material até obtenção de uma mistura homogênea; D- Inserção do material na região interna da PTS; E- Prótese após o reembasamento e plastificação do material; F- Recorte dos excessos do material reembasador.

3.5 DESFECHO PRIMÁRIO

O desfecho primário será a redução significativa de formas miceliais e valores de UFC/mL de *Candida* spp. nos palatos e nas superfícies internas das PTS dos pacientes acompanhado da melhora clínica da severidade de estomatite protética na mucosa palatina ao final dos tratamentos e após sua suspensão (longo prazo), em relação ao período inicial.

3.6 MÉTODOS PARA AVALIAÇÃO DOS TRATAMENTOS

Para a avaliação da efetividade dos tratamentos propostos para cada grupo de estudo, foram adotados três diferentes métodos: exame citológico por esfregaço,

cultura micológica quantitativa e avaliação clínica. Os três métodos foram realizados para todos os pacientes antes (T0) e ao final do tratamento (T14). Para investigar a efetividade de cada tratamento a longo prazo, os três métodos também foram aplicados após 15 (R15), 30 (R30) e 60 (R60) dias decorridos de sua suspensão. Após esse período, para os casos onde o tratamento com o reembasamento (CG, CLX e NIS) não se mostrasse efetivo, o pesquisador responsável se comprometeu em realizar a terapia antifúngica convencional com nistatina suspensão oral por 14 dias. Ao final do tratamento, os pacientes foram encaminhados para a clínica de Prótese da Graduação e Pós-Graduação da FOB/USP, para a confecção de novas próteses ou o reembasamento laboratorial da PTS, segundo a necessidade.

3.6.1 EXAME CITOLÓGICO POR ESFREGAÇO

Os exames citológicos por esfregaço foram realizados por raspagem superficial das áreas eritematosas da mucosa palatina (Figura 4A) e regiões correspondentes aos eritemas na superfície interna das PTS (Figura 4B), utilizando espátulas de metal nº 31 estéreis (SSWhite/Duflex Artigos Dentários Ltda, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) (NEPPELENBROEK et al., 2008). O material coletado de cada superfície foi friccionado em lâminas para microscopia e, então, fixado em solução de álcool/éter por 30 min para ser corado pela técnica do PAS (Periodic Acid-Schiff) (NEPPELENBROEK et al., 2008) nas dependências do Laboratório de Patologia, localizado no Departamento de Cirurgia, Estomatologia, Patologia e Radiologia da FOB/USP. Todo o material coletado não aproveitado foi esterilizado e descartado de forma adequada.

Em cada período de avaliação, os esfregaços foram realizados em duplicata, sendo obtidas duas lâminas do palato e duas da prótese para cada paciente (NEPPELENBROEK et al., 2008). Para cada lâmina da mucosa palatina e da PTS (e suas respectivas duplicatas), um total de 10 campos foi selecionado para a obtenção de fotografias padronizadas em sentido horário em microscópio óptico (400X). Por meio das imagens, foi possível detectar a presença de formas miceliais das espécies de *Candida*, estruturas de resistência e patogenicidade com capacidade de aderência e invasão tecidual.

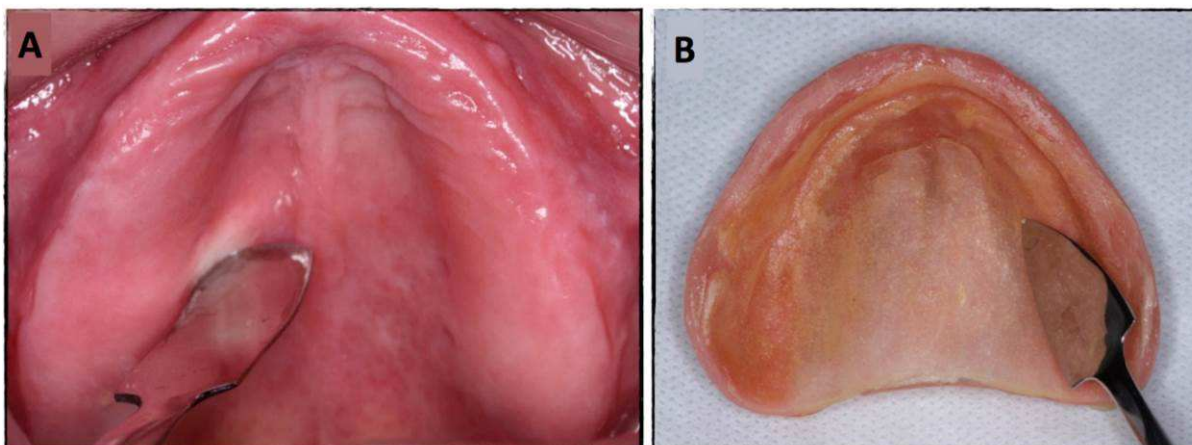


FIGURA 4: Coleta de material para obtenção de esfregaços: A- Raspagem de área eritematosa da mucosa palatina de um paciente com estomatite protética; B- Raspagem da superfície interna da PTS correspondente ao eritema.

A análise dos esfregaços provenientes da mucosa palatina foi realizada de maneira qualitativa e não quantitativa, pois no presente estudo, tal como em investigações prévias (BANTING; HILL, 2001; NEPPELENBROEK et al., 2008), foram observadas, nessa superfície, escassas formas miceliais ou, até mesmo, ausência dessas estruturas, inclusive antes do tratamento para a estomatite protética. Assim, para as análises dos dados, foram atribuídos os valores de 0 (zero) para a ausência e 1 (um) para a presença de forma micelial de *Candida* spp. na região palatina dos pacientes (Figura 5). Para cada período de avaliação, o resultado para esses esfregaços era considerado positivo (escore 1) quando pelo menos um dos campos avaliados em uma das duplicatas apresentasse hifa/pseudohifa.

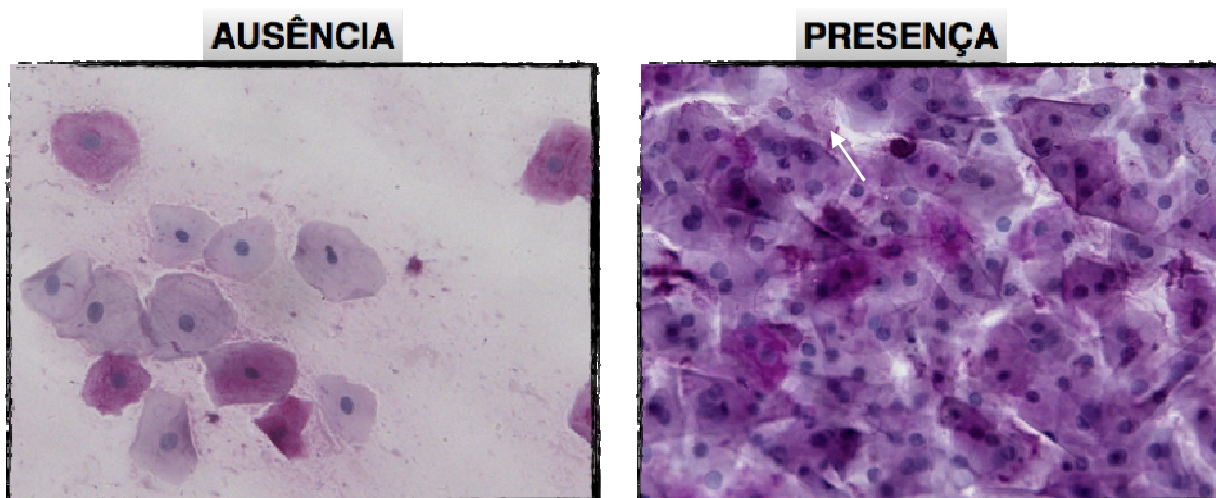


FIGURA 5: Esfregaços citológicos da superfície palatina com resultado negativo (ausência – escore 0) e positivo (presença –escore 1) para formas miceliais de *Candida* spp. Seta indica forma micelial.

Para os esfregaços obtidos da região interna da PTS correspondente aos eritemas, foi possível realizar uma análise quantitativa, sendo adotado o escore proposto por (MATTOS et al., 2009), onde zero (0) indica ausência de formas miceliais e os índices de 1 a 3, a presença em graus baixo, moderado e alto, respectivamente (Figura 6). Para a obtenção do escore final da PTS do paciente em cada período de avaliação, foi inicialmente obtida a média de escores de todos os 10 campos avaliados em cada duplicata. Então, a média dos escores das duplicatas foi calculada.

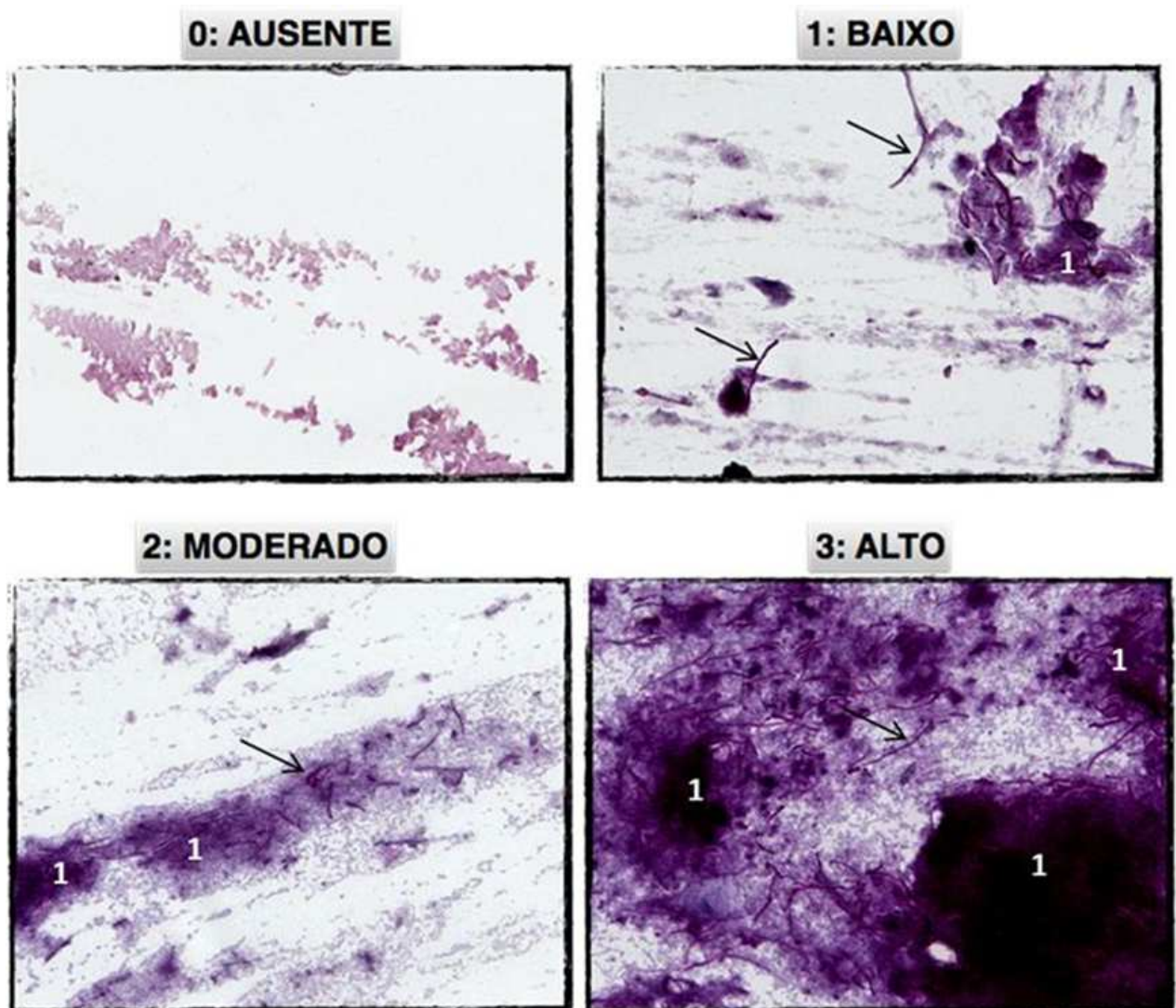


FIGURA 6: Esfregaços citológicos da superfície interna de uma PTS com resultado negativo (ausência – escore 0), baixo (escore 1), moderado (escore 2) e alto (escore 3) para formas miceliais de *Candida* spp. Seta indica forma micelial (1=micélio).

As análises dos esfregaços provenientes de ambas as superfícies (palato/PTS) foram realizadas por meio de um estudo duplo-cego envolvendo dois examinadores previamente treinados e calibrados por um profissional com experiência na área de Patologia Bucal. Os examinadores eram cegos quanto ao grupo de tratamento e o período de avaliação em que cada paciente se encontrava (T0, T14, R15, R30 e R60).

3.6.2 CULTURA MICOLÓGICA QUANTITATIVA

Para as culturas micológicas quantitativas, foi realizada a semeadura em duplicata de material proveniente das mucosas palatinas e PTS dos pacientes antes (T0) e ao final (T14) dos tratamentos propostos e decorridos 15 (R15), 30 (R30) e 60 (R60) dias de sua suspensão. As coletas foram obtidas por meio de fricção de *swab* oral estéril durante 1 min nas lesões acometidas pela estomatite protética nos palatos e áreas correspondentes na região interna das PTS (Figura 7). Em seguida, o *swab* contendo o material de cada superfície foi imerso em 5 mL de PBS (Phosphate Buffer Solution; Sigma-Aldrich Inc., St. Louis, MO, EUA) e submetido à agitação em vórtex (Agitador de soluções modelo AP56 Phoenix Luferco., Araraquara, São Paulo, Brasil) por 1 min para a desprendimento dos microrganismos. Então, 50 µL da suspensão resultante foram semeados em duplicata em Agar Sabouraud Dextrose (Acumedia Manufactures Inc., Baltimore, MA, EUA) com 5 µg/mL de cloranfenicol (MIMA et al., 2012; NEPPELENBROEK et al., 2008; SILVA et al., 2012) (Figura 8).

Por segurança, no caso das suspensões estarem muito concentradas e não ser possível quantificar as colônias de *Candida* spp., também foram realizadas diluições seriadas dessas soluções em PBS entre 10^{-1} a 10^{-4} para a semeadura em duplicata. Após a incubação das placas de Petri a 37°C durante 48 h, as colônias viáveis das espécies de *Candida* foram contadas e os números de unidades formadoras de colônias (UFC/mL) calculados (MARTORI et al., 2014; MIMA et al., 2012; NEPPELENBROEK et al., 2008; SILVA et al., 2012). É importante destacar que, após a contagem das colônias, todo o material utilizado foi esterilizado para descarte da forma adequada.

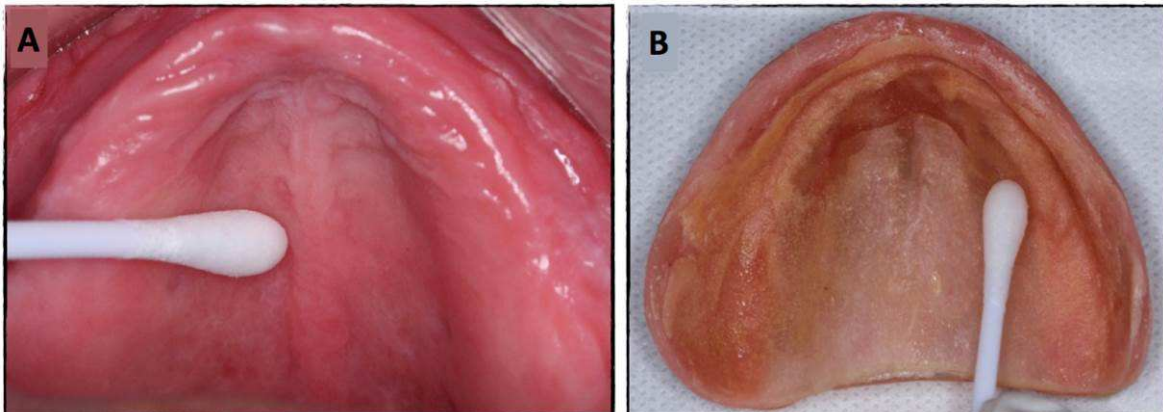


FIGURA 7: Material sendo coletado com swab oral nas superfícies avaliadas. A- eritema da mucosa palatina; B- região interna de PTS correspondente ao eritema.

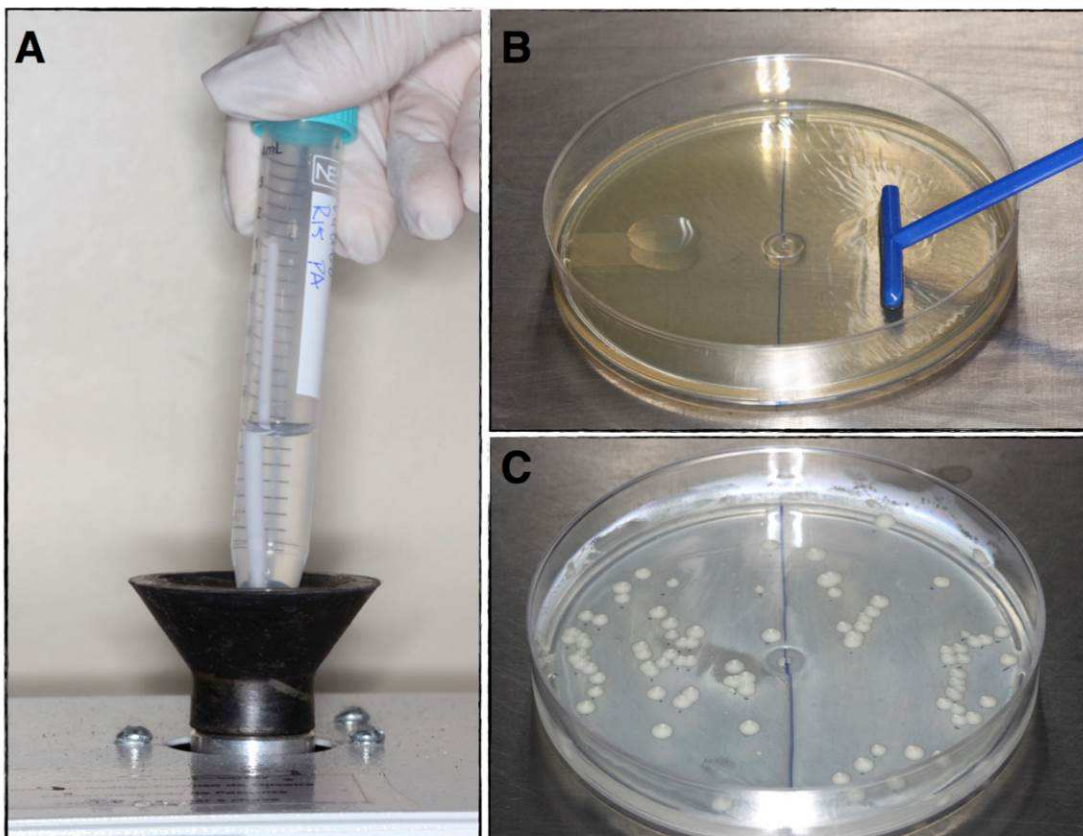


FIGURA 8: A- Agitação de tubo Falcon contendo swab oral com material coletado em vórtex por 1 min; B- Semeadura em duplicata de alíquotas de 50 μ L da suspensão resultante em placa de Petri contendo ágar Sabourand; C- Colônias viáveis de *Candida* spp. após 48 h de incubação a 37°C.

3.6.3 AVALIAÇÃO CLÍNICA

Para avaliação clínica, a mucosa palatina de todos os pacientes foi fotografada de maneira padronizada (Canon EOS Rebel T6i, Canon, Tóquio, Japão) por um único operador, sob as mesmas condições (local, luz, ângulo e posição do paciente). Em cada um dos períodos avaliados (T0, T14, R15, R30 e R60), foram obtidas três fotografias de cada paciente utilizando um espelho intrabucal do tipo oclusal (BARBEAU et al., 2003; NEPPELENBROEK et al., 2008).

A análise das imagens foi realizada de forma comparativa entre os diferentes períodos para cada paciente por meio de um estudo duplo-cego envolvendo dois especialistas devidamente treinados e calibrados por um Patologista Bucal (MIMA et al., 2012; NEPPELENBROEK et al., 2008; SANITA et al., 2011; SILVA et al., 2012). Os examinadores não tinham conhecimento do grupo de tratamento nem do período de avaliação em que cada participante pertencia. Para cada paciente, a melhor imagem, das três obtidas em cada período, foi selecionada para a avaliação clínica. Na análise cega, os examinadores foram instruídos a classificar a estomatite protética de acordo com um escore proposto por esta investigação, que ranqueou tal condição clínica em 24 diferentes níveis de severidade, sendo 8 para cada tipo (I, II e III de Newton), como ilustra a Figura 9. Nesse escore, buscou-se abranger a severidade clínica da patologia de uma forma ampla, considerando não apenas sua classificação segundo Newton (1962), mas também o acometimento por quadrante e grau de eritema (Figura 9). Com isso, o nível clínico de severidade da estomatite protética da mucosa palatina foi ranqueado entre 1, que representa um Tipo I de Newton (hiperemia puntiforme) acometendo um quadrante (independente de qual) com um grau de inflamação menos intenso (pouco avermelhado) até 24, que se refere a um Tipo III abrangendo os quatro quadrantes com maior grau de eritema (mais avermelhado) (Figura 9).

Ao final do período de tratamento (T14), os pacientes dos Grupos CG, NIS e CLX tiveram suas PTS submetidas a reembasamento com uma resina acrílica autopolimerizável rígida de longa duração (Kooliner, GC America Inc., Alsip, IL, EUA), o qual foi mantido até a consulta final de acompanhamento (R60). Concluído o período experimental, todos os pacientes foram devidamente encaminhados à

Clínica de Prótese da FOB/USP para a confecção de novas próteses ou reembasamento mediato, em acordo com a necessidade.

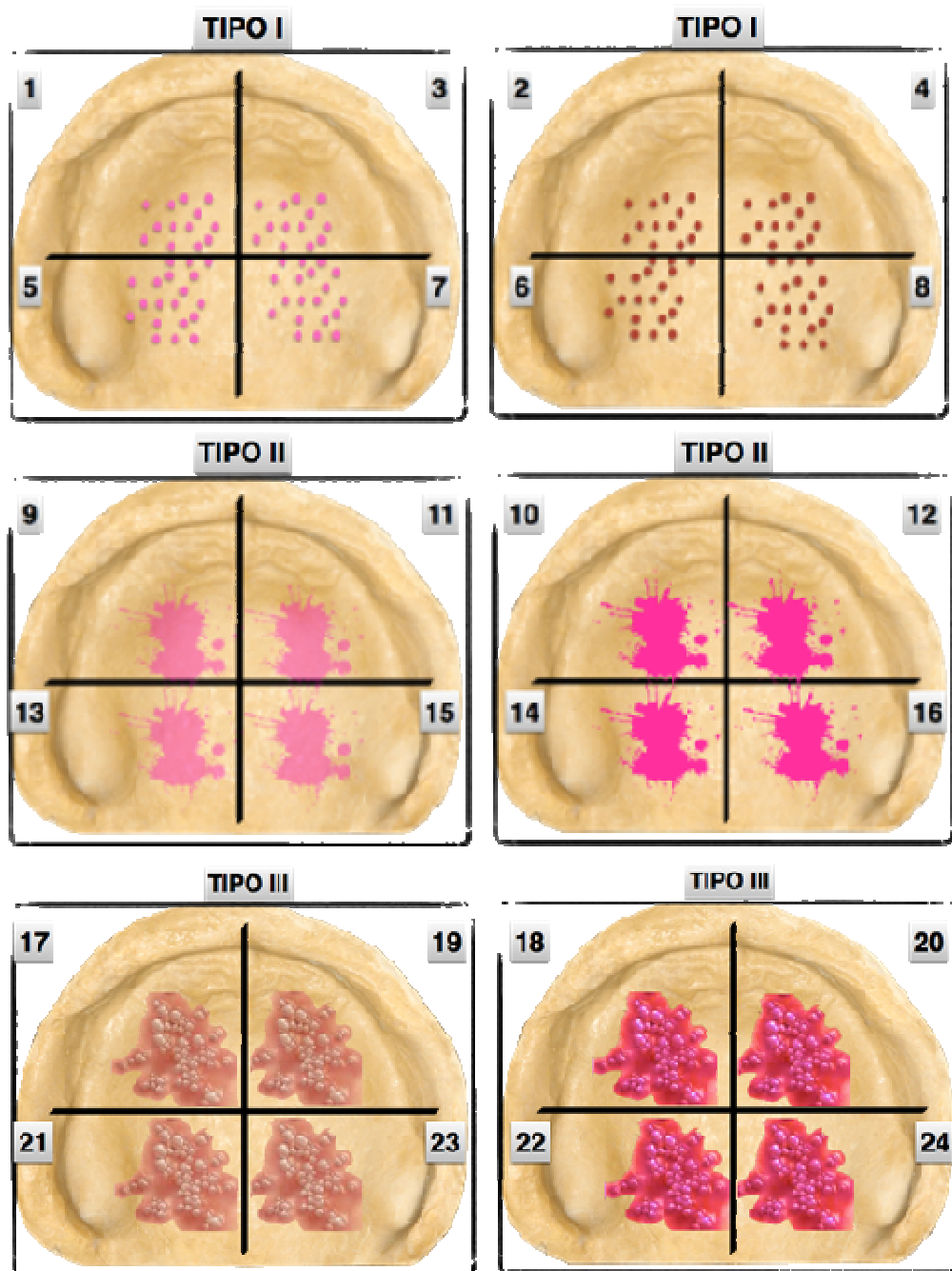


FIGURA 9: Escore esquemático da estomatite protética proposto pelo presente estudo. São mostrados os níveis de 1 a 24 considerando o tipo (I, II e III), acometimento por quadrante (1, 2, 3 ou 4 quadrantes) e grau de inflamação (menos ou mais vermelho) da mucosa palatina.

3.7 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Para avaliar a longo prazo a efetividade da incorporação de agentes antimicrobianos em reembasador resiliente temporário no tratamento da estomatite protética, 40 pacientes diagnosticados com essa condição foram distribuídos aleatoriamente em quatro diferentes grupos de tratamento (CP, CG, CLX e NIS) instituídos durante 14 dias. Os pacientes foram avaliados antes (T0), ao final de cada tratamento (T14) e decorridos 15 (R15), 30 (R30), 60 (R60) dias de sua suspensão por três diferentes métodos: exame citológico por esfregaço, cultura micológica quantitativa e avaliação clínica por meio de fotografias intrabucais do tipo oclusal.

Para aferir a reprodutibilidade e confiabilidade dos valores encontrados nos exames citológicos por esfregaços e análises clínicas, os dois examinadores cegos em relação ao grupo de tratamento e período de avaliação de cada paciente foram testados em relação ao nível de concordância. O teste Kappa foi utilizado para estimar a calibração entre os avaliadores para os esfregaços provenientes da mucosa palatina. O teste “t” pareado e a fórmula de Dahlberg foram empregados para determinar, respectivamente, o erro sistemático e erro casual interexaminador tanto dos escores referentes aos esfregaços das PTS dos pacientes quanto daqueles dos dados clínicos de severidade de estomatite protética.

As proporções de presença (escore 1) e ausência (escore 0) formas miceliais de *Candida* spp. na mucosa palatina dos pacientes pertencentes aos diferentes grupos de tratamento em cada período de avaliação foram comparadas pelo teste de associação do qui-quadrado (χ^2). Os dados qualitativos dos esfregaços da mucosa palatina dos pacientes referentes à ausência ou presença de *Candida* micelial de cada grupo de estudo nos diferentes períodos de avaliação foram analisados pelo teste de Cochran. Por se tratar de uma variável qualitativa, a magnitude do efeito de cada grupo para formas miceliais de *Candida* na mucosa palatina foi mensurada por melhoria percentual, calculada com base no número de pacientes com esfregaços positivos nos períodos pós-tratamento em relação ao mesmo número obtido no pré-tratamento (T0). Tal magnitude foi determinada nos períodos de T14 e R60 para que fosse possível avaliar a significância clínica do parâmetro tanto imediatamente após o término do tratamento quanto na avaliação

final de acompanhamento após sua suspensão. Definiu-se que uma melhoria de 30% ou mais correspondia a uma diferença clinicamente significativa (NEPPELENBROEK et al., 2008).

Os valores referentes aos esfregaços das superfícies internas das PTS, obtidos pelo escore quantitativo de formas miceliais (0= ausência; 1= grau baixo; 2= grau moderado; 3= grau alto), foram analisados por análise de variância (ANOVA) para dois fatores de avaliação: tratamento (CP, CG, NIS e CLX) e período (T0, T14, R15, R30 e R60). O teste complementar de Tukey HSD foi aplicado quando diferenças estatísticas foram detectadas entre as condições experimentais. A significância clínica dos diferentes grupos na redução dos escores quantitativos de *Candida* micelial nas próteses também foi avaliada pelo cálculo do tamanho do efeito (GEERTS; STUHLINGER; BASSON, 2008; NEPPELENBROEK et al., 2008), que foi determinado obtendo-se a diferença média padronizada entre os resultados pré e pós-tratamento para cada grupo e, então, dividindo-se pelo desvio-padrão do resultado do pré-tratamento. Para a avaliação da significância clínica desse parâmetro imediatamente após a conclusão do tratamento e no período final de acompanhamento após sua suspensão, o cálculo do tamanho do efeito neste estudo foi realizado em dois momentos: T14 e R60. Para a interpretação dos valores obtidos para o efeito, foram utilizados os seguintes limites: 0,2= pequeno efeito; 0,5= moderado; 0,8= grande; 1,20= muito grande (FUJITA, 2010).

Para a análise dos dados das culturas micológicas quantitativas provenientes das mucosas palatinas e próteses, foram obtidos os valores de UFC/mL, a partir da determinação dos números de colônias viáveis de *Candida* spp., em acordo com a seguinte fórmula:

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

q

Onde:

número de colônias= média do número de colônias viáveis de *Candida* spp. obtida das duplicatas das semeaduras nas placas de Petri para cada superfície (palato/PTS) e período de avaliação;

n= valor absoluto da diluição seriada em PBS;

q= quantidade em mL pipetada sobre o meio de cultura das placas de Petri durante as sementeiras.

Os valores originais de UFC/mL de *Candida* obtidos dos palatos e PTS para os grupos de tratamento avaliados nos diferentes períodos de avaliação apresentaram distribuição assimétrica e variabilidade muito acentuada. A transformação para logaritmo na base de 10 diminuiu a assimetria, mas não conseguiu a homogeneização da variabilidade e, por isso, optou-se pela análise não-paramétrica dos dados. O teste de Friedman foi empregado para a avaliação da efetividade de cada tratamento (CP, CG, NIS e CLX) no seu término (T14) e nos períodos de acompanhamento posterior (R15, R30 e R60). A comparação entre os grupos de tratamento nos diferentes períodos de avaliação para cada superfície avaliada (palato/PTS) foi realizada pelo teste de Kruskal-Wallis. A significância clínica dos diferentes grupos para os números de UFC/mL nos palatos e próteses também foi determinada pelo cálculo do tamanho do efeito (NEPPELENBROEK et al., 2008; SANITÁ et al., 2009; SILVA et al., 2012) em T14 e R60.

Os dados clínicos de severidade de estomatite protética na mucosa palatina, ranqueados no escore proposto neste estudo entre 0 e 24, foram estatisticamente analisados por meio de ANOVA para dois fatores de avaliação (“tratamento” e “período”), seguida pelo teste de Tukey HSD. Da mesma forma, utilizou-se o cálculo do tamanho do efeito para avaliar a significância clínica entre os tratamentos em relação à severidade de inflamação na mucosa palatina dos pacientes em T14 e R60.

Em todas as análises estatísticas, considerou-se significativo um valor de probabilidade *P* menor que 0,05.

4 RESULTADOS

4 RESULTADOS

4.1 PARTICIPANTES, CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS E FATORES PREDISPONETES

As características demográficas e distribuição dos fatores predisponentes dos participantes deste estudo estão descritas na Tabela 1.

A média de idade dos pacientes selecionados para os quatro grupos de estudo no momento inicial da avaliação variou de 61 a 67,5 anos. Para todos os grupos avaliados, houve predominância do sexo feminino em relação ao masculino. Considerando o número total de pacientes avaliados neste estudo (n=40), foi possível observar que 32 (80%) eram mulheres e 8 (20%) eram homens. A média de idade das PTS entre os grupos de tratamento avaliados variou entre 11,2 e 18,6 anos. Em relação ao uso de fármacos, é possível observar, pela Tabela 1, que a terapia com anti-hipertensivos foi a mais frequentemente utilizada pelos pacientes, independentemente do grupo de estudo. Considerando os 40 pacientes avaliados, foi observado que 27 pacientes (67,5%) faziam uso de medicamentos anti-hipertensivos, 12 estavam sob terapia com hipoglicemiantes (30%) e 4 (10%) tomavam algum tipo de ansiolítico. Além disso, 42,5% dos pacientes se queixaram de xerostomia e a grande maioria deles (72,5%) apresentou higiene das PTSs precária (insatisfatória).

Apenas 4 (10%) dos 40 participantes do estudo eram fumantes. Do total de pacientes (n=40) pertencentes a estes grupos, foi observado que 22 apresentaram estomatite protética Tipo II (55%) e 17 Tipo III (42,5%), enquanto o Tipo I segundo a classificação proposta por Newton (1962) foi observado apenas em 1 deles (2,5%). Como todos os pacientes utilizavam suas próteses durante o sono (100%) antes do estudo, esses dados não foram descritos na Tabela 1.

Não houve diferença estatisticamente significativa para as características demográficas, o tipo de estomatite protética de acordo com Newton e os principais fatores predisponentes associados à patologia ($P>0,05$; Tabela 1), mostrando que a randomização estratificada foi eficiente em homogeneizar as subamostras entre os diferentes grupos de estudo.

58 **Resultados**

Tabela 1- Características demográficas (idade e sexo do paciente) e distribuição dos fatores predisponentes entre os grupos de tratamento (idade das PTS, uso de fármacos indutores de xerostomia, presença de xerostomia, hábitos precários de higiene das próteses, uso de tabaco e tipo de estomatite protética)

	Média de idade dos pacientes	Sexo dos pacientes		Média de idade das PTS	Fármacos			Presença de xerostomia	Hábitos precários de higiene	Uso de tabaco	Tipo de estomatite		
		M	F		AHT	HGL	ASL				I	II	III
CP	62,7	7	3	17,3	8	4	0	5	8	2	0	4	6
CG	67,5	9	1	17,0	6	5	1	5	8	1	0	5	5
NIS	64,9	7	3	18,6	6	1	0	1	6	0	1	6	3
CLX	61,0	9	1	11,2	7	2	3	6	7	1	0	7	3
Valor P	0,518 [†]	0,475*		0,442 [†]	0,740*	0,190*	0,083*	0,109*	0,710*	0,527*	0,481*		

Sexo: F= feminino; M= masculino; Fármacos: AHT= anti-hipertensivos, HGL=hipoglicemiantes, ASL= ansiolíticos.

* χ^2 ($P < 0,05$).

[†]ANOVA 1 fator ($P < 0,05$).

Ao longo do experimento, 15 pacientes desistiram do estudo, sendo 6 do grupo CP, 3 do grupo CG, 2 do grupo NIS e 4 do grupo CLX.

4.2 RESULTADOS DOS EXAMES CITOLÓGICOS POR ESFREGAÇO

Os resultados dos exames citológicos por esfregaço referentes à mucosa palatina e superfície interna das PTS de cada paciente dos Grupos CP, CG, NIS e CLX, para os diferentes períodos avaliados, estão apresentados, respectivamente, nas Tabelas A1, A2, A3 e A4 do Apêndice 3.

Os dados qualitativos dos exames citológicos por esfregaços provenientes da mucosa palatina demonstraram uma excelente concordância (LANDIS; KOCH, 1977) entre os dois observadores cegos para os todos grupos de tratamento, nos diferentes períodos de avaliação (valor de Kappa=0,94; coeficiente de concordância= 97,50%).

A presença de formas miceliais das espécies do gênero *Candida* na mucosa palatina dos pacientes pertencentes aos diferentes grupos de tratamento ao longo dos períodos avaliados e a magnitude do efeito dos tratamentos estão descritas na Tabela 2.

Tabela 2- Número e porcentagem (%) de pacientes com presença de formas miceliais de *Candida* spp. nos palatos para os grupos de estudo avaliados nos períodos antes (T0) e ao final (T14) dos tratamentos e após 15 (R15), 30 (R30) e 60 (R60) dias de sua suspensão e magnitude do efeito dos tratamentos

Grupo	Períodos					Magnitude do efeito	
	T0	T14	R15	R30	R60	T14	R60
CP	8 (80%)	6 (60%)	8 (80%)	8 (80%)	8 (80%)	25%	0%
CG	6 (60%)	3 (30%)	6 (60%)	5 (50%)	4 (40%)	50%	33,3%
NIS	5 (50%)*	0 (0%)#	0 (0%)#	0 (0%)#	0 (0%)#	100%	100%
CLX	7 (70%)*	0 (0%)#	2(20%)#	1 (10%)#	1 (10%)#	100%	85,7%

Nas linhas, números e porcentagens acompanhados por diferentes símbolos são significativamente diferentes em relação à presença de formas miceliais de *Candida* spp. nos palatos dos pacientes pertencentes a um mesmo grupo de tratamento nos distintos períodos de avaliação (teste de Cochran; $P < 0,05$).

Nas colunas, números e porcentagens conectados por colchetes são significativamente diferentes em relação à presença de formas miceliais de *Candida* spp. nos palatos dos pacientes pertencentes aos distintos grupos de tratamento em cada período de avaliação (χ^2 ; $P < 0,05$).

Os resultados dos esfregaços citológicos obtidos no período inicial (T0) evidenciaram presença de formas miceliais de *Candida* em pelo menos um dos campos selecionados das lâminas (em pelo menos uma das duplicatas) referentes à mucosa palatina de 26 dos 40 pacientes avaliados neste estudo (Tabela 2).

Para o período inicial (T0), o teste do qui-quadrado (χ^2) demonstrou que não houve diferença estatisticamente significativa entre as porcentagens de pacientes com presença de formas miceliais no palato para os diferentes grupos de tratamento ($P>0,05$), demonstrando homogeneidade da amostra selecionada para o estudo em relação a este critério. Ao final do tratamento (T14), os grupos experimentais nos quais as PTS foram reembasadas com a adição de fármacos (NIS e CLX) não evidenciaram presença de *Candida* micelial nos esfregaços micológicos do palato (0%), apresentando diferença estatisticamente significativa em relação ao Grupo CP, no qual os pacientes foram tratados de forma convencional com nistatina tópica ($P=0,0026$). Embora o grupo submetido ao reembasamento apenas com o material resiliente temporário (Grupo CG) tenha evidenciado formas miceliais de *Candida* spp. nos palatos de 30% dos pacientes ao término do tratamento (T14), esse resultado não foi diferente estatisticamente daquele apresentado pelos Grupos NIS e CLX no mesmo período ($P>0,05$). Nos retornos após a suspensão do tratamento (R15, R30 e R60), o Grupo CP apresentou as mais elevadas porcentagens de presença de *Candida* micelial no palato (80%) dentre os avaliados, diferindo-se estatisticamente do Grupo CLX (R15= 20%; R30=R60= 10%) e também do Grupo NIS, no qual os esfregaços micológicos permaneceram negativos para todos os pacientes nos três períodos de acompanhamento (0%) ($P<0,05$). Em R15 e R30, o tratamento do Grupo CG, por sua vez, diferiu-se significativamente apenas daquele do Grupo NIS ($P<0,05$), não sendo mais essa diferença detectada em R60 ($P>0,05$).

Para o último período de avaliação (R60), apenas os grupos em que os pacientes tiveram suas PTS reembasadas com adição de fármaco (NIS e CLX), obtiveram significativamente menores valores de porcentagens de presença de formas miceliais em relação ao grupo no qual os pacientes foram tratados convencionalmente com antifúngico tópico ($P=0,005$) (Tabela 2).

Considerando cada tratamento nos diferentes períodos de avaliação, o teste de Friedman não evidenciou redução significativa nas porcentagens de *Candida*

micelial nos palatos dos pacientes ao final do tratamento (T14) em relação ao período inicial (T0) para o Grupo CP. Esse resultado foi mantido nas avaliações de acompanhamento (R15, R30 e R60), não sendo também detectada diferença significativa em qualquer comparação entre os diferentes períodos entre si (T0, T14, R15, R30 e R60) ($P>0,05$). A magnitude do efeito para os pacientes submetidos à terapia convencional com antifúngico tópico (Grupo CP) também evidenciou que não houve melhora clínica significativa ao final do tratamento (0%) nem após 60 dias de sua suspensão (25%). Embora numericamente as porcentagens de pacientes com presença de *Candida* micelial nos palatos do Grupo CG em todas as consultas tenham sido inferiores às aquelas do Grupo CP em todas as avaliações (Tabela 2), não houve diferença estatisticamente significativa nas comparações entre os diferentes períodos entre si nem em relação à consulta inicial ($P>0,05$). Apesar disso, o reembasamento das PTS com o material resiliente sem fármacos (Grupo CG) mostrou uma melhora clínica significativa para esse parâmetro tanto ao final do tratamento (50%) quando no último período de avaliação (33,3%) (Tabela 2).

O tratamento do Grupo NIS eliminou as formas fúngicas miceliais na mucosa palatina dos pacientes ao final de 14 dias de tratamento, e esse resultado foi mantido por 60 dias após sua suspensão com diferença significativa em relação ao período inicial ($P=0,004$) e, portanto, com melhora clínica de 100%. Similarmente, todos os esfregaços micológicos do palato do Grupo CLX se apresentaram negativos em T14, havendo redução significativa das porcentagens obtidas nos demais períodos de acompanhamento (R15, R30 e R60) em relação a T0 ($P<0,011$) (Tabela 2). A magnitude do efeito do tratamento mostrou melhora clínica de 100% ao final do tratamento e de 85,7% após 60 dias de sua suspensão (Tabela 2).

Para os esfregaços obtidos das PTS dos pacientes, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os escores atribuídos pelos dois examinadores cegos, considerando o erro sistemático ($P=0,131$) e o erro casual interexaminador (0,18).

No período inicial (T0), os resultados dos esfregaços citológicos obtidos das PTS evidenciaram presença de formas miceliais de *Candida* em pelo menos um dos campos selecionados das lâminas (de menos uma das duplicatas) para todos os pacientes avaliados neste estudo (Tabelas A1, A2, A3 e A4 do Apêndice 3). O

sumário da ANOVA-2 fatores para os dados obtidos pelo escore quantitativo de *Candida* micelial da região interna da PTS está apresentado na Tabela A5 do Apêndice 3. As médias e desvios-padrão obtidos por esse escore para os grupos de estudo e diferentes períodos avaliados e o tamanho do efeito dos tratamentos estão expostos na Tabela 3.

Tabela 3- Médias e desvios-padrão obtidos pelo escore quantitativo de formas miceliais (0= ausência; 1= grau baixo; 2= grau moderado; 3= grau alto) para as PTS referentes aos grupos de estudo para os períodos de avaliação antes (T0) e ao final (T14) dos tratamentos e após 15 (R15), 30 (R30) e 60 (R60) dias de sua suspensão e valores do efeito dos tratamentos

Grupo	Períodos					Tamanho do efeito	
	T0	T14	R15	R30	R60	T14	R60
CP	1,73 (0,67) Aab	0,89 (0,92) Ac	1,03 (0,56) Abc	1,40 (0,66) Aabc	1,98 (0,80) Aa	1,25	-0,37
CG	1,52 (0,92) Aa	0,33 (0,47) Ab	0,30 (0,16) Bb	0,28 (0,27) Bb	0,43 (0,35) Bb	1,29	1,18
NIS	1,6 (0,96) Aa	0,14 (0,18) Ab	0,01 (0,03) Bb	0,09 (0,19) Bb	0,15 (0,24) Bb	1,52	1,51
CLX	1,30 (0,72) Aa	0,19 (0,32) Ab	0,15 (0,19) Bb	0,08 (0,16) Bb	0,06 (0,15) Bb	1,54	1,72

Desvios-padrão entre parênteses.

Verticalmente, diferentes letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os grupos de tratamento para o mesmo período de avaliação ($P < 0,05$).

Horizontalmente, diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os períodos de avaliação para um mesmo grupo de tratamento ($P < 0,05$).

As médias dos escores obtidos dos esfregaços da superfície interna das PTS dos pacientes avaliados demonstrou que houve diferença estatisticamente significativa entre os diferentes grupos de tratamento ($P < 0,001$), “períodos de avaliação” ($P < 0,001$) e na interação “período de avaliação” x “grupo de tratamento” ($P < 0,001$) (Tabela A5 do Apêndice 3). Uma vez que os resultados da ANOVA relevaram significância para esse fator e interação, foi realizado o teste post-hoc Tukey.

Considerando cada grupo nos diferentes períodos de avaliação, foi observado que todos os quatro (CP, CG, NIS e CLX) apresentaram redução significativa das médias dos escores de hifas e pseudohifas de *Candida* spp. nas superfícies protéticas ao final de 14 dias (T14) em relação à consulta inicial (T0) ($P < 0,05$), e o tamanho do efeito para esses tratamentos foi classificado em muito grande ($> 1,20$; Tabela 3). A redução das médias dos escores foi mantida após a suspensão do tratamento para os grupos nos quais as PTS dos pacientes foram reembasadas (CG, NIS, CLX), não havendo diferença entre os períodos de acompanhamento (R15, R130 e R60) ($P > 0,05$) (Tabela 3). O tamanho do efeito dos tratamentos permaneceu muito grande para os Grupos NIS (1,51) e CLX (1,72) e grande para o Grupo CG (1,18) no período final de acompanhamento (R60).

Para o Grupo CP, a diminuição das médias de escores para formas miceliais fúngicas obtida ao final do tratamento se manteve estatisticamente significativa em até 30 dias após sua suspensão (R15 e R30) em comparação ao período inicial ($P < 0,05$). Entretanto, essa diferença não foi mais detectada quando as médias iniciais foram comparadas com aquelas obtidas no último retorno (R60) para os pacientes do Grupo CP ($P > 0,05$), e o tamanho do efeito do tratamento foi insignificante neste período (-0,37) (Tabela 3).

Considerando apenas o período inicial (T0), foi demonstrado que não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias dos escores referentes às formas miceliais da PTS ($P > 0,05$) para os quatro grupos de tratamento, demonstrando homogeneidade da amostra selecionada para o estudo em relação a este critério. Os grupos nos quais os pacientes tiveram suas PTS reembasadas, independentemente da adição de fármacos (CG, NIS e CLX) apresentaram numericamente menores médias de escore de *Candida* micelial nas superfícies

protéticas em relação àquele que recebeu terapia convencional com nistatina tópica (CP) ao final do tratamento (T14), entretanto, essa diferença não foi estatisticamente significativa ($P>0,05$). Analisando cada período após a suspensão dos tratamentos (R15, R30 e R60), foi possível observar que o grupo da terapia convencional (CP) se diferiu significativamente dos demais nos quais as PTS foram reembasadas, com menores médias para os escores referentes às formas miceliais para esses últimos (CG, NIS e CLX) ($P<0,05$).

4.3 RESULTADOS DAS CULTURAS MICOLÓGICAS QUANTITATIVAS

Os resultados originais, médias e desvio-padrão das culturas micológicas quantitativas (UFC/mL) de *Candida* spp. para a mucosa palatina e superfície interna da PTS de cada paciente dos Grupos CP, CG, NIS e CLX, para os diferentes períodos avaliados, estão apresentados, respectivamente, nas Tabelas A6, A7, A8 e A9 do Apêndice 3. As culturas micológicas quantitativas iniciais (T0) evidenciaram células viáveis de *Candida* nas superfícies internas das próteses de todos os pacientes avaliados (Tabelas A6 a A9 do Apêndice 3). No mesmo período (T0), as placas de Petri das culturas da mucosa palatina não revelaram crescimento fúngico para 16 pacientes e os valores de UFC/mL referentes àquelas dos 24 pacientes restantes foram menores que os observados com as culturas das PTS em todas as condições avaliadas, exceto duas (Tabelas A6 a A9 do Apêndice 3). Essa diferença entre os números de colônias viáveis apresentadas pelas superfícies avaliadas está ilustrada na Figura 10.

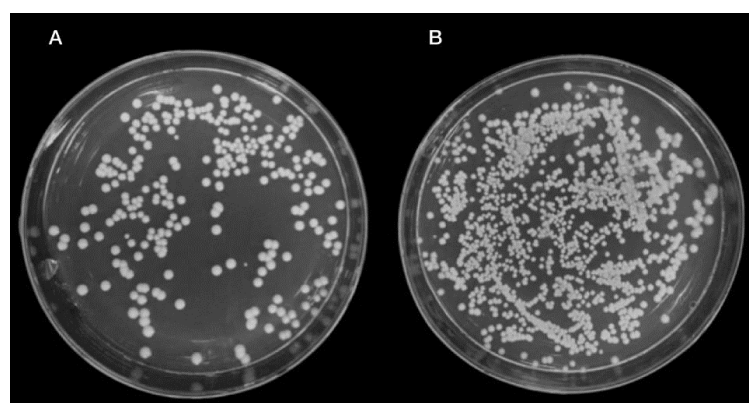


FIGURA 10: Culturas micológicas de um paciente do Grupo NIS antes do tratamento (T0) provenientes das diferentes superfícies avaliadas. A: Mucosa palatina; B: PTS.

Os valores médios e desvios-padrão das células viáveis de *Candida* em \log_{10} UFC/mL nos palatos e próteses de todos os grupos de estudo nos diferentes períodos de avaliação e os valores do tamanho do efeito dos tratamentos estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4- Médias e desvios-padrão das contagens de colônias de *Candida* spp. em log₁₀ UFC/mL nos palatos e PTS dos grupos de estudo nos períodos de avaliação antes (T0) e ao final (T14) dos tratamentos e após 15 (R15), 30 (R30) e 60 (R60) dias de sua suspensão e valores do efeito dos tratamentos

Grupo	Superfície	Períodos					Tamanho do efeito	
		T0	T14	R15	R30	R60	T14	R60
CP	Palato	2,13 (1,64)	1,24 (1,75)	1,09 (1,55)	1,74 (1,95)	2,12 (1,63)	0,54	0,01
	PTS	4,16 (1,15)	3,75 (2,13)	4,29 (1,27)	4,59 (1,17)	4,41(1,06)	0,35	-0,21
CG	Palato	1,48 (1,91)	0,60 (1,27)	0,89 (1,45)	1,16 (1,54)	0,92 (1,21)	0,46	0,29
	PTS	4,75 (1,15)*	3,77 (1,69)	3,23 (1,96)#	2,09 (1,87)#	3,32 (0,63)#	0,85	1,24
NIS	Palato	2,07 (1,50)*	1,22 (1,46)#	1,21 (1,53)#	0,67 (1,57)#	1,00 (1,65)#	0,56	0,71
	PTS	3,89 (0,60)*	1,77 (1,62)#	2,29 (1,42)#	2,02 (1,56)#	2,18 (1,60)#	3,53	2,85
CLX	Palato	2,15 (2,32)*	1,69 (1,81)	1,47 (1,92)	1,43 (1,86)	1,35 (1,78)#	0,19	0,34
	PTS	4,51 (1,14)*	2,22 (2,05)#	1,96 (1,86)#	1,64 (1,74)#	0,66 (1,40)#	2,00	3,37

Desvios-padrão entre parênteses.

Nas linhas, médias e desvios-padrão de log₁₀ UFC/mL referentes aos palatos e PTS de um mesmo grupo de tratamento acompanhados por diferentes símbolos são significativamente diferentes nos distintos períodos de avaliação (teste de Friedman; $P < 0,05$).

Nas colunas, médias e desvios-padrão de log₁₀ UFC/mL conectados por colchetes são significativamente diferentes entre distintos grupos de tratamento em cada período de avaliação (Kruskal-Wallis; $P < 0,05$).

Antes do início dos tratamentos (T0), o teste de Kruskal-Wallis não evidenciou diferença estatisticamente significativa para os valores de \log_{10} UFC/mL entre os quatro grupos avaliados ($P>0,05$), caracterizando assim, homogeneidade da amostra selecionada para as culturas micológicas quantitativas.

Os resultados do teste de Kruskal-Wallis indicaram que, ao término dos tratamentos (T14), não houve diferença significativa nas contagens de colônias de *Candida* spp. (\log_{10} UFC/mL) obtidas dos palatos dos pacientes entre os diferentes grupos ($P>0,05$). Esse resultado foi estatisticamente mantido nos períodos após a suspensão dos tratamentos (R15, R30 e R60) ($P>0,05$), embora na última avaliação (R60), numericamente, maiores médias de \log_{10} UFC/mL tenham sido observados nas culturas dos palatos do grupo de pacientes que utilizou a terapia antifúngica convencional em comparação aos demais (Tabela 4).

Ao final dos tratamentos (T14) e no primeiro retorno após sua suspensão (R15), os grupos nos quais as PTS foram reembasadas com o material modificado por fármacos (NIS e CLX) apresentaram, numericamente, menores médias de \log_{10} UFC/mL nas superfícies protéticas em relação aos controles (CP e CG). Entretanto, de acordo com o teste de Kruskal-Wallis, essa diferença foi estatisticamente significativa no período T14 apenas entre os Grupos NIS e CP ($P=0,023$) e Grupos NIS e CG ($P=0,015$) e no período R15 apenas entre os Grupos NIS e CP ($P=0,007$) e Grupos CLX e CP ($P=0,009$). Após 30 dias e 60 dias da suspensão dos tratamentos, os grupos nos quais as PTS foram reembasadas, independentemente da adição de fármacos (CG, NIS e CLX), exibiram menores médias de \log_{10} UFC/mL nas PTS quando comparados ao grupo de terapia convencional com nistatina tópica (CP) ($P<0,05$). No último retorno (R60), também foi detectada diferença estatisticamente significativa entre o Grupo CG e o Grupo CLX ($P<0,001$), com menores médias para esse último (Tabela 4).

Considerando cada grupo isoladamente, nos diferentes períodos de avaliação, é possível observar na Tabela 4 uma redução numérica nas médias de \log_{10} UFC/mL de *Candida* spp. nos palatos dos pacientes ao final de todos os tratamentos (T14), que não foi considerada significativa pelo teste de Friedman ($P>0,05$), com exceção do Grupo NIS ($P=0,02$). Neste período, o tamanho do efeito foi considerado pequeno para os tratamentos dos Grupos CG e CLX (0,46 e 0,19

respectivamente) e médio para aqueles dos Grupos CP e NIS (0,54 e 0,56; Tabela 4). As culturas micológicas quantitativas da mucosa palatina do Grupo NIS também demonstraram, quando comparadas àquelas do período inicial (T0), uma redução estatisticamente significativa das médias de log₁₀ UFC/mL de *Candida* em todos os períodos de acompanhamento: R15 ($P=0,020$), R30 ($P=0,002$) e R60 ($P=0,005$), sendo mantido o tamanho do efeito em médio no último período de avaliação (0,71). Para o Grupo CLX, o teste de Friedman demonstrou essa diferença apenas com relação à consulta final (R60) ($P=0,034$), mas o tamanho do efeito se manteve pequeno neste período (0,34). Já para os grupos controles (CP e CG), não houve foram detectadas diferenças estatisticamente significantes entre as contagens de colônias obtidas inicialmente (T0) e aquelas obtidas após 15 (R15), 30 (R30) e 60 (R60) dias após a suspensão do tratamento ($P>0,05$) (Tabela 4). Na significância clínica observada para este parâmetro, o tamanho do efeito dos tratamentos dos Grupos CP e CG foi insignificante (0,01) e pequeno (0,29), respectivamente, em R60 (Tabela 4).

Em relação às culturas microbiológicas quantitativas da superfície interna das PTS de cada grupo ao longo do tempo, o teste de Friedman não evidenciou diferença nas médias de log₁₀ UFC/mL de *Candida* para a terapia convencional com nistatina tópica (CP) entre os diferentes períodos de avaliação ($P<0,05$). Esses resultados podem visualizados na Tabela 4, que ainda mostram que o tamanho do efeito do tratamento foi pequeno (0,35) e negativo (-0,21) em T14 e R60, respectivamente. Quando as PTS foram reembasadas apenas com o material (Grupo CG), foram observados menores médias de contagens de colônias viáveis após 14 dias (Tabela 4). Essa diferença não foi considerada estatisticamente significativa em relação ao período inicial (T0) pelo teste de Friedman ($P<0,05$), entretanto, clinicamente, o tamanho do efeito do tratamento para tal parâmetro foi grande (0,85). Já a redução nas médias de log₁₀ UFC/mL das PTS observada nos períodos de acompanhamento (R15, R30 e R60) em comparação à consulta inicial (T0) se mostrou estatisticamente significativa ($P<0,05$) para o Grupo CG e efeito do tratamento observado ao final no último período de avaliação foi muito grande (1,24) (Tabela 4). Nos grupos nos quais as PTS foram reembasadas com o material modificado por fármacos (Grupos NIS e CLX), o teste de Friedman evidenciou significativamente menores contagens de colônias viáveis de *Candida* spp. tanto ao

final do tratamento (T14) quanto nos períodos de acompanhamento (R15, R30 e R60) com relação à consulta inicial (T0) ($P < 0,05$). A Tabela 4 mostra que o tamanho do efeito dos tratamentos dos Grupos NIS e CLX foi muito grande para as próteses em T14 (3,53 e 2,00 respectivamente) e R60 (2,85 e 3,37 respectivamente).

4.4 RESULTADOS CLÍNICOS

Os dados clínicos originais dos sinais de estomatite protética, obtidos a partir a avaliação das fotografias intrabucais em escores de severidade da inflamação da mucosa palatina de cada paciente dos Grupos CP, CG, NIS e CLX, para os diferentes períodos avaliados, estão apresentados, respectivamente, nas Tabelas A10, A11, A12 e A13 do Apêndice 3.

Não houve diferenças estatisticamente significativas entre os escores atribuídos pelos dois examinadores cegos para os dados clínicos obtidos em cada período, evidenciando alto grau de correlação e concordância, considerando o erro sistemático ($P = 0,256$) e o erro casual interexaminador (0,97).

O sumário da ANOVA-2 fatores os dados clínicos dos escores de severidade da inflamação da mucosa está exposto na Tabela A14 do Apêndice 3. A Tabela 5 apresenta as médias e desvios-padrão obtidos desses escores para os grupos de tratamento nos diferentes períodos avaliados.

As médias dos escores para severidade e acometimento da inflamação da mucosa palatina pacientes dos pacientes avaliados demonstrou que houve diferença estatisticamente significativa entre os diferentes grupos de tratamento ($P < 0,001$), “períodos de avaliação” ($P < 0,001$) e na interação “período de avaliação” x “grupo de tratamento” ($P < 0,001$) (Tabela A14 do Apêndice 3). Uma vez que os resultados da ANOVA relevaram significância para esse fator e interação, foi realizado o teste post-hoc Tukey.

Tabela 5- Médias e desvios-padrão do escore clínico proposto pelo estudo para severidade da inflamação da mucosa palatina (0 a 24) para os grupos de tratamento nos períodos de avaliação antes (T0) e ao final (T14) dos tratamentos e após 15 (R15), 30 (R30) e 60 (R60) dias de sua suspensão

Grupo	Períodos					Tamanho do efeito	
	T0	T14	R15	R30	R60	T14	R60
CP	20,10 (3,92) Aa	14,30 (9,44) Aa	16,20 (8,87) Aa	19,00 (5,86) Aa	19,20 (5,53) Aa	1,47	0,22
CG	19,70 (4,37) Aa	17,20 (5,00) Aab	13,4 (6,70) ABab	12,50 (7,47) ABb	13,50 (7,41) ABab	0,57	1,41
NIS	17,00 (4,42) Aa	1,40 (3,50) Bb	2,40 (5,39) Bb	5,00 (5,83) Bb	6,60 (4,19) Bb	3,52	2,35
CLX	17,60 (4,16) Aa	9,30 (7,14) ABb	8,50 (7,67) Bb	7,60 (6,29) Bb	8,70 (5,50) Bb	1,99	2,13

Desvios-padrão entre parênteses.

Médias referentes ao escore clínico de severidade apresentado na Figura B.

Verticalmente, diferentes letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os grupos de tratamento para o mesmo período de avaliação (teste de Tukey HSD; $P < 0,05$).

Horizontalmente, diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os períodos de avaliação para um mesmo grupo de tratamento (teste de Tukey HSD; $P < 0,05$).

Considerando cada grupo de estudo ao longo do tempo, foi possível observar ao final dos tratamentos (T14) para os grupos controles (CP e CG), menores valores médios para os escores de severidade da inflamação da mucosa palatina em relação ao período inicial (Tabela 5). Essa diferença de valores não foi estatisticamente significativa pelo teste de Tukey HSD ($P>0,05$), entretanto, clinicamente houve redução visível do eritema para ambos os grupos, como ilustra as Figuras 11 (A-B) e 12 (A-B) e o tamanho do efeito para os tratamentos em T14 foi considerado muito grande para o Grupo CP e médio para Grupo CG (Tabela 5).

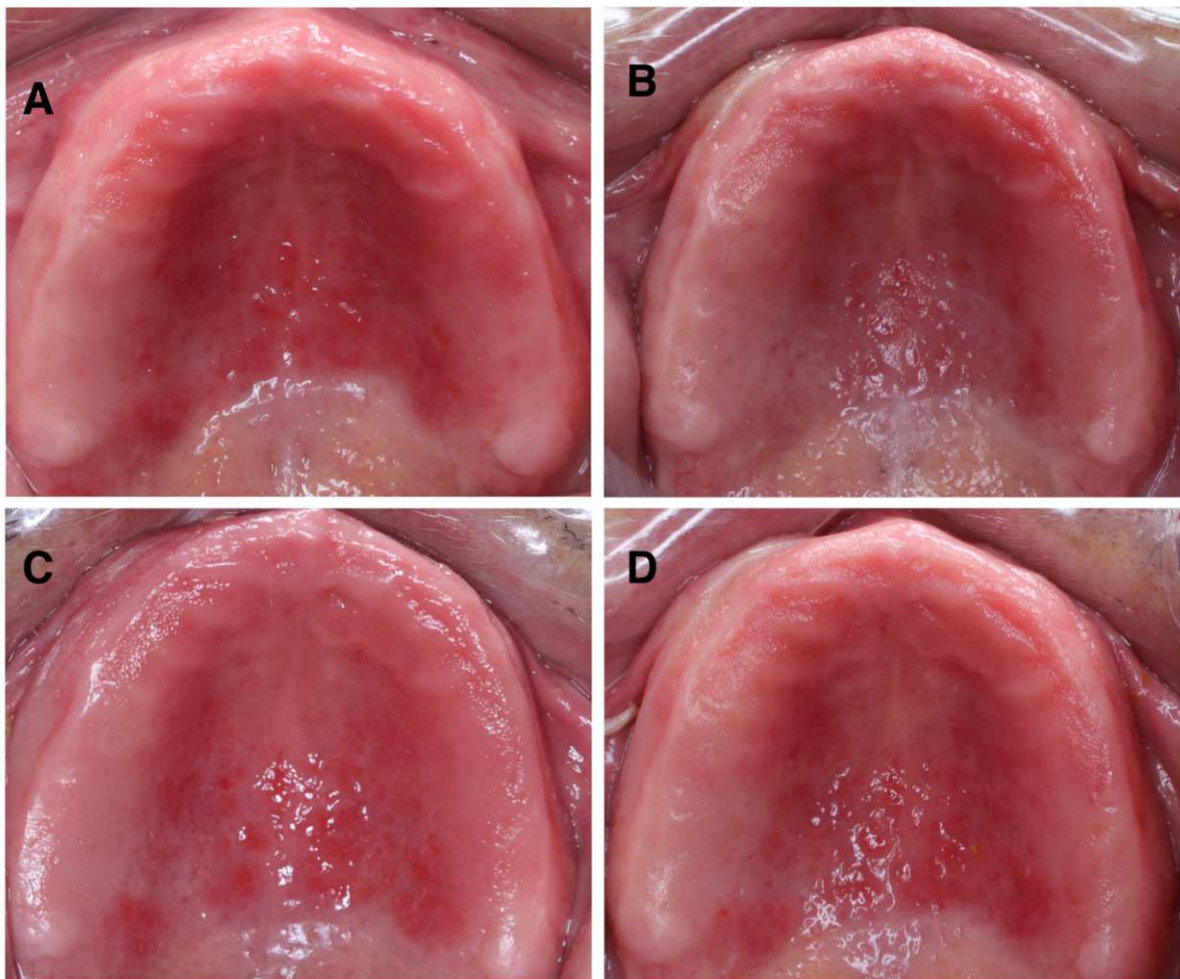


FIGURA 11: Mucosa palatina de um paciente do Grupo CP nos períodos T0 (A), T14 (B), R30 (C) e R60 (D).

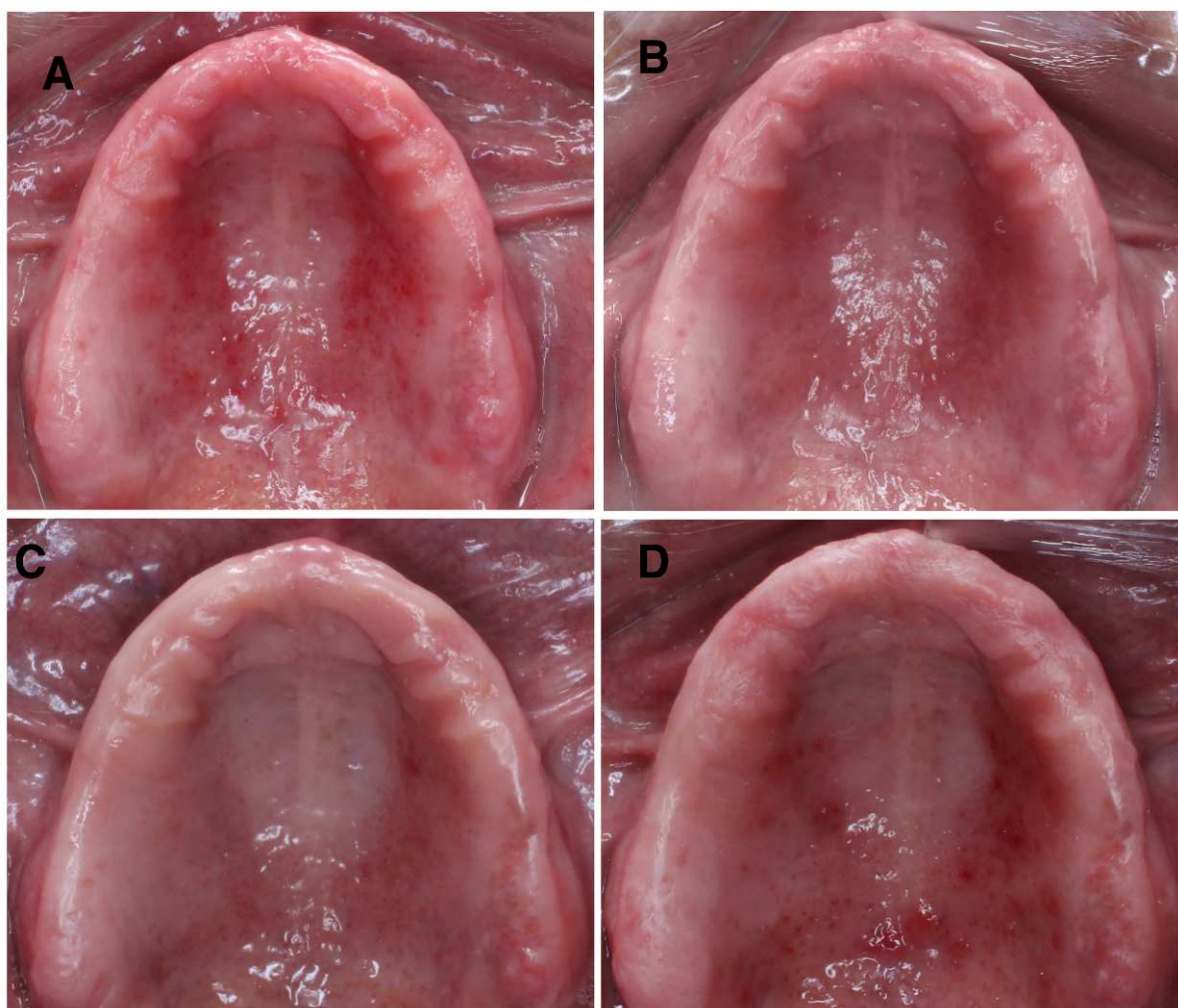


FIGURA 12: Mucosa palatina de um paciente do Grupo CG nos períodos T0 (A), T14 (B), R30 (C) e R60 (D).

A Tabela 5 mostra também que, para os pacientes tratados com nistatina tópica (Grupo CP), não houve diferença estatisticamente significativa entre os valores médios para os escores de severidade da inflamação do palato nos períodos de acompanhamento (R15, R30, R60) em relação à consulta inicial ($P>0,05$). Esses resultados foram clinicamente observados nas fotografias de todos os pacientes do Grupo CP nestes períodos (Figuras 11 C-D), e o tamanho do efeito do tratamento obtido em R60 foi mínimo (0,22) (Tabela 5).

Em relação ao período inicial (T0), os escores clínicos dos pacientes que tiveram suas PTS reembasadas com material sem fármaco (Grupo CG) foram significativamente reduzidos após 30 dias da suspensão do tratamento (R30) ($P<0,05$) que, por sua vez, não foi estatisticamente diferente em relação aos

períodos T14, R15 e R60 ($P>0,05$) (Tabela 5). A redução visível do eritema nos tecidos palatinos de suporte durante os períodos de acompanhamento foi observada para todos os pacientes do Grupo CG como ilustra a Figura 12 (B,C-D), com significância clínica demonstrada para este parâmetro por meio do tamanho do efeito do tratamento em R60, que foi classificado como muito grande (1,41) (Tabela 5).

É possível observar pela Tabela 5 que, em relação ao período inicial (T0), os grupos experimentais nos quais as PTS dos pacientes foram reembasadas com adição de fármacos (NIS e CLX), apresentaram redução significativa das médias dos escores de severidade da inflamação ao final do tratamento (T14) ($P<0,05$). Essa melhora clínica, representada sobretudo pela evidente redução do eritema da mucosa palatina de todos os pacientes de ambos os grupos, pode ser observada nas Figuras 13 (A-B) e 14 (A-B) e o tamanho do efeito para os tratamentos foi considerado muito grande em T14 (Grupo NIS= 3,52; Grupo CLX= 1,99) (Tabela 5).

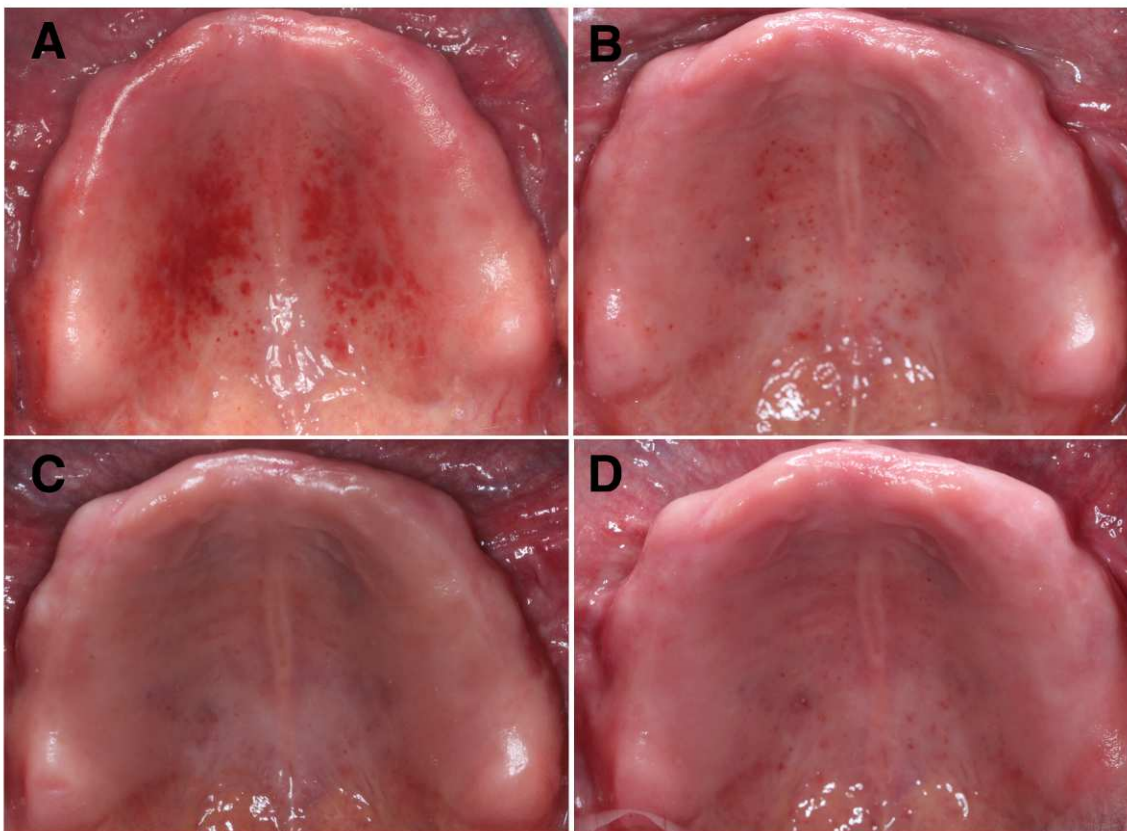


FIGURA 13: Mucosa palatina de um paciente do Grupo NIS nos períodos T0 (A), T14 (B), R30 (C) e R60 (D).

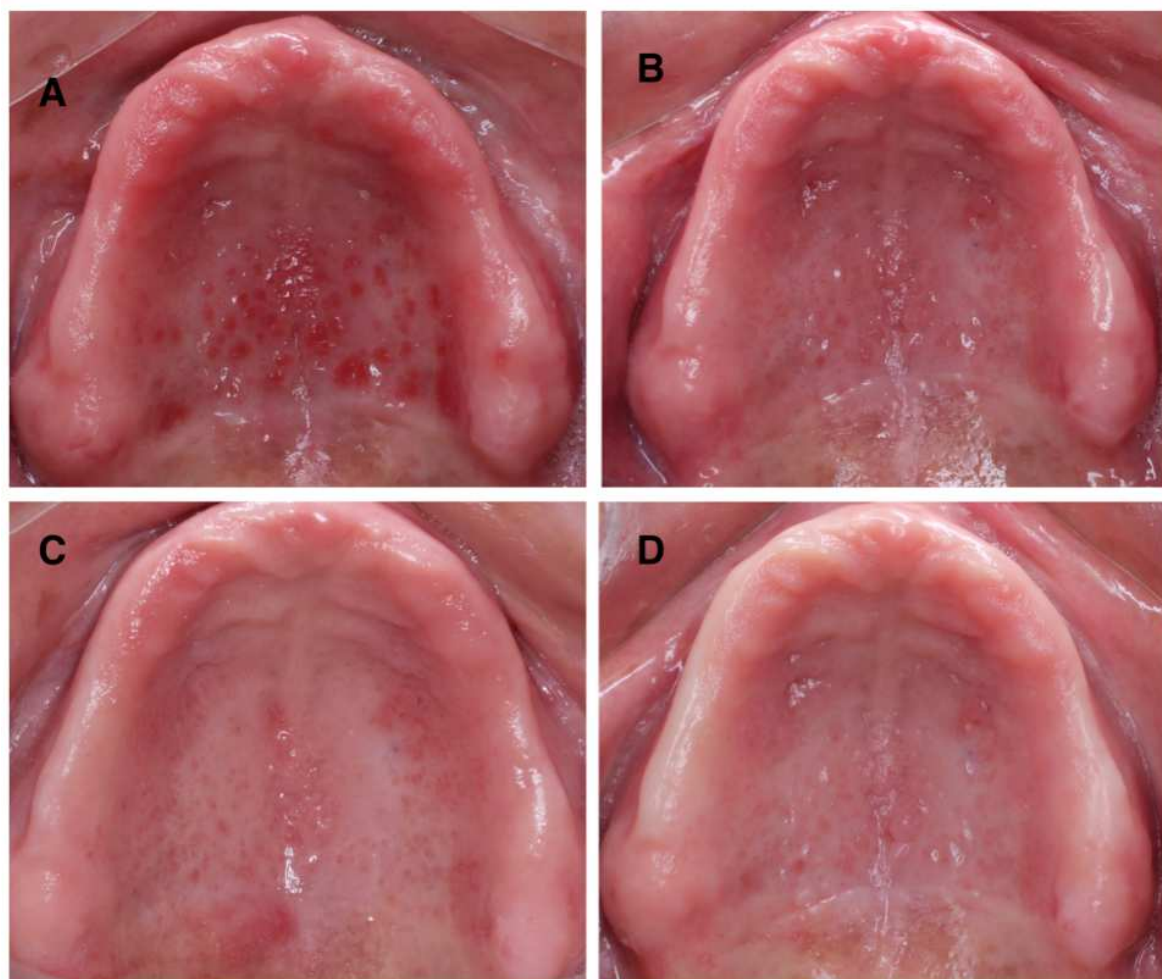


FIGURA 14: Mucosa palatina de um paciente do Grupo CLX nos períodos T0 (A), T14 (B), R30 (C) e R60 (D).

Os escores clínicos obtidos ao final dos tratamentos (T14) para os Grupos NIS e CLX foram mantidos nos períodos de acompanhamento (R15, R30 e R60), não havendo diferenças entre eles ($P < 0,05$) (Tabela 5). As fotografias obtidas de todos os pacientes de ambos os grupos nesses períodos evidenciaram recuperação da mucosa palatina em relação à avaliação inicial. Após 60 dias da suspensão dos tratamentos, os locais correspondentes inicialmente aos pontos ou máculas de eritema do período inicial se revelaram como “cicatrices”, não sendo mais evidentes sinais de inflamação como ilustra as Figuras 13 (C-D) e 14 (C-D). O tamanho do efeito dos tratamentos dos Grupos NIS e CLX se manteve como muito grande em R60 (2,35 e 2,13 respectivamente).

A comparação entre os grupos de tratamento em cada período não revelou diferenças estatisticamente significantes entre eles no período inicial (T0) ($P>0,05$), demonstrando homogeneidade da amostra selecionada para o estudo quanto aos escores de severidade da inflamação da mucosa palatina (Tabela 5). Ao final do período de tratamento (T14), as menores médias de escores clínicos foram obtidas para o Grupo NIS, que se apresentou estatisticamente semelhante ao Grupo CLX ($P>0,05$) e significativamente diferente dos grupos controles (CP e CG) ($P<0,05$) (Tabela 5). Embora os valores médios dos escores de severidade de estomatite protética para o Grupo CLX tenham sido numericamente inferiores àqueles referentes aos Grupos CP e CG, essa diferença não foi estatisticamente significativa em T14 ($P>0,05$) (Tabela 5). Considerando cada período após a suspensão dos tratamentos (R15, R30 e R60), o Grupo CP apresentou os maiores escores clínicos, se diferenciando estatisticamente dos Grupos NIS e CLX, que demonstraram as menores médias nas consultas de acompanhamento ($P<0,05$). Ainda nesses períodos (R15, R30 e R60), não foram observadas diferenças significantes para os escores de severidade entre os grupos nos quais as PTS foram reembasadas com material modificado por fármacos (NIS e CLX) e aquele no qual o reembasador foi utilizado sem antimicrobianos (CG) ($P>0,05$), o qual, por sua vez foi estatisticamente semelhante ao grupo da terapia convencional com nistatina (CP) ($P>0,05$) (Tabela 5).

5 DISCUSSÃO

5 DISCUSSÃO

No presente estudo, a média de idade dos pacientes (64,02 anos) avaliados foi condizente com as obtidas em investigações prévias (ALTARAWNEH et al., 2013; BAENA-MONROY et al., 2005; BARBEAU et al., 2003; CATALÁN et al., 2008; GAUCH et al., 2018; GHORBANI et al., 2018; MCMULLAN-VOGEL et al., 1999; MIMA et al., 2012; NEPPELENBROEK et al., 2008; PERIĆ et al., 2018; SANITA et al., 2012; SILVA et al., 2012) que sugerem maior prevalência de estomatite protética em idosos, sobretudo após a sexta década de vida, o que está especialmente associado ao elevado número de usuários de próteses removíveis pertencentes a essa faixa etária (COELHO; SOUSA; DARÉ, 2004; DAVENPORT, 1972; PINA et al., 2017). Como consequência da redução do fluxo de oxigênio e saliva, um microambiente anaeróbico e acidulado é desenvolvido aos tecidos de suporte dessas próteses (SAMPAIO-MAIA et al., 2012), favorecendo a formação de um biofilme de alta densidade, com bactérias e fungos (WEBB; THOMAS; WHITTLE, 2005). Por isso, tem sido sugerido que as próteses removíveis acrílicas, sobretudo as totais superiores, mesmo sem ação de outros fatores predisponentes, funcionam como indutor traumático e reservatório de microrganismos desencadeantes de resposta inflamatória mediada por infecção local (RIBEIRO et al., 2012). Especificamente em relação à estomatite protética, o ambiente desenvolvido sob tais próteses, além de aumentar o crescimento de leveduras, facilitam a proliferação de formas patogênicas de *Candida* spp. e, a presença constante desses microrganismos na resina acrílica, contribuiu para um ciclo de reinfecção da mucosa via prótese (GENDREAU; LOEWY, 2011).

Outros fatores também têm sido associados ao fato da patologia avaliada neste estudo ser mais frequentemente encontrada em idosos. Os locais incluem alterações da microbiota oral e da quantidade e qualidade da saliva, maior tempo de uso da mesma prótese e alta incidência de higiene oral inadequada na população idosa. Os sistêmicos englobam risco aumentado de doenças de ordem geral e mudanças de hábitos dietéticos e estilo de vida, além do maior de uso de medicamentos durante a senilidade (JAINKITTIVONG; ANEKSUK; LANGLAIS, 2010; MARTORI et al., 2014).

O tempo de uso da mesma prótese tende a ser maior com o aumento da idade, pois indivíduos mais idosos são mais resistentes a substituir próteses antigas (COELHO; SOUSA; DARÉ, 2004; FIGUEIRAL et al., 2007; KANLI; DEMIREL; SEZGIN, 2005; MOSKONA; KAPLAN, 1992; SANITA et al., 2011; ZOMORODIAN et al., 2011). Além de impactar negativamente com a qualidade de vida dos indivíduos (PEREA et al., 2013), o uso prolongado da mesma prótese removível, sobretudo após cinco anos, leva ao desgaste da resina acrílica das bases, ocasionando o aumento da porosidade e rugosidade superficial e o surgimento de fissuras, que facilitam a adesão e colonização microbiana (BRANTES et al., 2019; MOSKONA; KAPLAN, 1992). Foi demonstrado que o maior período de utilização da mesma prótese acrílica removível resultou em significativamente maior acúmulo de biofilme (BRANTES et al., 2019) e que próteses mais antigas apresentaram estatisticamente maior contaminação por *C. albicans* (NAIK; PAI, 2011). Uma clara associação entre a estomatite protética e idade das próteses tem sido estabelecida na literatura (AL-DWAIRI, 2008; (BRANTES et al., 2019; FIGUEIRAL et al., 2007; NEPPELENBROEK et al., 2008; SANITA et al., 2012; SILVA et al., 2012; THILAKUMARA et al., 2017; ZOMORODIAN et al., 2011). Na presente investigação, a média de idade das PTS variou entre 11,2 e 18,6 anos nos diferentes grupos de tratamento avaliados, concordando com estudos prévios em pacientes com estomatite protética que encontraram médias superiores a 10 anos (BRANTES et al., 2019; NEPPELENBROEK et al., 2008; SILVA et al., 2012; THILAKUMARA et al., 2017). Uma maior prevalência dessa infecção tem sido significativamente observada em próteses removíveis com mais de cinco anos em relação àquelas confeccionadas antes desse período (FIGUEIRAL et al., 2007; ZOMORODIAN et al., 2011). Dessa forma, os fatores físicos e microbianos supracitados associados ao trauma mecânico aos tecidos de suporte causado por próteses antigas que perderam, ao longo do tempo, a adaptação à área chapeável, (BRANTES et al., 2019; COELHO; SOUSA; DARÉ, 2004; MANDALI et al., 2011), provavelmente tenham contribuído para o desenvolvimento da estomatite protética nos pacientes avaliados neste estudo.

Nos idosos, a função motora diminuída e a redução da acuidade visual levam frequentemente à incapacidade de execução de adequada higiene bucal e das próteses ou à dependência de outros para a realização desses cuidados (KANLI; DEMIREL; SEZGIN, 2005; MARTORI et al., 2014; WEBB et al., 1998). Um estudo

prévio demonstrou que apenas 16,7% das próteses utilizadas por indivíduos idosos (64 a 89 anos) sem candidose oral foram consideradas devidamente limpas (KANLI; DEMIREL; SEZGIN, 2005). Na presente pesquisa, a maioria dos participantes (72,5%) apresentaram higiene das PTS classificada como precária (insatisfatória), concordando com resultados obtidos por Silva et al. (2012), que observaram a mesma condição em 71,6% dos pacientes com estomatite protética. A limpeza inadequada das próteses acrílicas removíveis tem sido associada ao aumento da colonização por *Candida* (MOSKONA; KAPLAN, 1992) e ao desenvolvimento de estomatite protética (BRANTES et al., 2019; KANLI; DEMIREL; SEZGIN, 2005; KULAK-OZKAN; KAZAZOGLU; ARIKAN, 2002). Além disso, o trauma causado pelo contato do biofilme protético com os tecidos de suporte torna a mucosa mais vulnerável às infecções por aumentar sua permeabilidade às toxinas microbianas (ZOMORODIAN et al., 2011).

Com a redução da função mastigatória pelo uso desse tipo de prótese, é frequente nos idosos a adoção de dieta pastosa, rica em carboidrato (MARTORI et al., 2014; NIKAWA et al., 1997), bem como o desenvolvimento de deficiências nutricionais (IACOPINO; WATHEN, 1992). O consumo regular de carboidratos tende a estimular o metabolismo fermentativo das espécies de *Candida* e outros patógenos envolvidos na estomatite protética, além de reduzir o pH salivar, favorecendo a adesão e proliferação microbiana (BAENA-MONROY et al., 2005). Uma maior colonização por *Candida* tem sido relatada com o aumento da idade do indivíduo (PRAKASH et al., 2016; ZAREMBA et al., 2006). Deficiências de ferro, ácido fólico e vitaminas, como as do complexo B, podem predispor esses indivíduos às infecções por microrganismos oportunistas (ARENDORF; WALKER, 1987). Outro relevante fator relacionado à maior prevalência de estomatite protética na população idosa refere-se a significativa associação existente entre xerostomia e aumento da idade (AL-DWAIRI; LYNCH, 2014), que é decorrente principalmente de efeitos de medicamentos indutores de hipossalivação (anti-hipertensivos, hipoglicemiantes e ansiolíticos), além de desidratação, doenças autoimunes como Síndrome de Sjögren, radioterapia de cabeça e pescoço e depressão psicossocial (IKEBE et al., 2007; MATEAR et al., 2006; SHIP; PILLEMER; BAUM, 2002). Além das ações antimicrobiana e imunológica, a saliva desempenha um papel de proteção dos tecidos de traumas mecânicos. Sua falta, portanto, pode causar lesões bucais

(EDGERTON; TABAK; LEVINE, 1987), sintomas como alterações no paladar (SPIELMAN, 1990), ardência, sensibilidade e coceira na mucosa oral e língua, além de dificuldades com a fonação, mastigação e deglutição, resultando em carências nutricionais (AL-DWAIRI; LYNCH, 2014; SREEBNEY; VALDINI, 1988). Um menor grau de satisfação em relação às próteses removíveis foi observado em pacientes xerostômicos, o que foi associado, sobretudo, às dificuldades relatadas em relação à perda de retenção pela falta de saliva (AL-DWAIRI; LYNCH, 2014; EDGERTON; TABAK; LEVINE, 1987). Ainda, tem sido relatado que a colonização por *Candida* spp. assim como a candidose oral estão significativamente relacionadas à xerostomia e redução do fluxo da saliva e/ou alteração de sua composição (CAMPISI et al., 2008; LYNGE PEDERSEN et al., 2015; PEREIRA-CENCI et al., 2008). No presente estudo, uma grande parcela dos pacientes (42,5%) relatou apresentar sensação de “boca seca”. Do total de indivíduos avaliados (n=60), 27 pacientes (67,5%) faziam uso de medicamentos anti-hipertensivos, 12 estavam sob terapia com hipoglicemiantes (30%) e 4 (10%) tomavam algum tipo de ansiolítico. Esses achados sugerem que a estomatite protética pode estar relacionada à senilidade, à xerostomia e ao uso de anti-hipertensivos para a amostra de pacientes selecionada para este estudo.

Oitenta por cento dos pacientes avaliados nesta pesquisa eram do sexo feminino, e a predominância de mulheres com estomatite protética em comparação aos homens foi previamente reportada por vários autores (AOUN; BERBERI, 2017; BAENA-MONROY et al., 2005; CATALÁN et al., 2008; FIGUEIRAL et al., 2007; GHORBANI et al., 2018; NEPPELENBROEK et al., 2008; SANITA et al., 2011; SILVA et al., 2012; ZOMORODIAN et al., 2011). Na perimenopausa e pós-menopausa, que era o período de vida em que se encontrava todas, exceto uma das pacientes deste estudo, a atrofia da mucosa bucal e a redução do estrogênio e da progesterona podem contribuir para a exacerbação da resposta inflamatória contra a irritação crônica causada pelo uso de próteses removíveis, reduzindo a proteção do epitélio contra traumas e infecções (COELHO; SOUSA; DARÉ, 2004; GOLECKA-BAKOWSKA; MIERZWINSKA-NASTALSKA; BYCHAWSKA, 2010). Foi sugerido que a deficiência de ferro, que é mais comum no sexo feminino, é um importante fator predisponente para infecções por *Candida* (BASTIAAN; READE, 1982). Ainda, a maior prevalência de estomatite protética na população feminina tem sido associada

a razões estéticas e sociais, haja vista que as mulheres procuram com maior frequência os tratamentos reabilitadores em comparação aos homens e tendem a utilizar suas próteses por períodos mais prolongados (AOUN; BERBERI, 2017; BASTIAAN; READE, 1982; COELHO; SOUSA; DARÉ, 2004). O uso contínuo das PTS, fator observado em todos os pacientes do presente estudo, tem sido fortemente associado ao desenvolvimento e manutenção da estomatite protética (AOUN; CASSIA, 2016; BARBEAU et al., 2003; BRANTES et al., 2019; EMAMI et al., 2008; FIGUEIRAL et al., 2007; GENDREAU; LOEWY, 2011; NEPPELENBROEK et al., 2008; SILVA et al., 2012;). Esse hábito, especialmente durante o sono, onde ocorre uma redução fisiológica do fluxo salivar, é considerado um facilitador para a colonização de *Candida* e outros patógenos na mucosa de suporte, como uma consequência do ambiente com pH reduzido desenvolvido sob as próteses (BUDTZ-JØRGENSEN; BERTRAM, 1970). Alguns autores atribuíram a maior prevalência de estomatite protética em indivíduos que usam continuamente suas próteses ao fato dos tecidos de suporte estarem em constante contato com as bases acrílicas, o que reduz o efeito protetor da saliva e impede a oxigenação adequada da mucosa, resultando na diminuição de sua resistência às agressões mecânicas e microbiológicas (EMAMI et al., 2008; GENDREAU; LOEWY, 2011).

Apenas quatro (10%) dos 40 participantes do presente estudo eram fumantes, concordando com os achados encontrados previamente em pacientes com estomatite protética (SILVA et al., 2012). Não há um consenso na literatura se o tabaco aumenta a colonização oral por *Candida* spp. Alguns autores defendem que os hidrocarbonetos aromáticos no tabaco podem servir como nutrientes para os fungos leveduriformes (BARBEAU et al., 2003; DARWAZEH; HAMMAD; AL-JAMAEI, 2010). Ainda, foi sugerido que esse hábito pode indiretamente aumentar o nível de glicose salivar, facilitando o crescimento fúngico, além de deprimir a atividade leucocitária e outras defesas imunológicas não específicas na cavidade oral (SOYSA; SAMARANAYAKE; ELLEPOLA, 2008). Por outro lado, a estomatite protética foi significativamente relacionada ao fato do paciente nunca ter sido fumante (MARTORI et al., 2014). O tabaco demonstrou atividade antimicrobiana e o hábito de fumar por longos períodos pode levar a maior queratinização da mucosa oral, aumentando sua proteção frente a traumatismos (MARTORI et al., 2014).

Entretanto, como o número de fumantes desta investigação foi reduzido, essas possíveis associações devem ser interpretadas com cautela.

A estomatite protética Tipo II de Newton (1969) foi observada na maioria (55%) dos pacientes avaliados nesta pesquisa, em acordo com os achados de estudos anteriores (DA SILVA; MARTINS-FILHO; PIVA, 2011; NAIK; PAI, 2011; NEPELENBROEK et al., 2008; RITCHIE et al., 1969; SILVA et al., 2012). Entretanto, alguns encontraram o Tipo I como o mais frequente entre os pacientes com essa patologia (COCO et al., 2008; FIGUEIRAL et al., 2007; KULAK-OZKAN; KAZAZOGLU; ARIKAN, 2002; PIRES et al., 2002). Tem sido relatado que a estomatite protética Tipo I se mostra mais como resultado de trauma ao passo que a do Tipo II e III envolvem a interação de vários fatores, sendo a infecção por *Candida* o mais importante deles (BUDTZ-JØRGENSEN; BERTRAM, 1970; COOK, 1991; JEGANATHAN; LIN, 1992; WILSON, 1998). A variabilidade encontrada entre os estudos pode ser atribuída, ao menos em parte, à subjetividade dos parâmetros utilizados para a classificação da estomatite protética (FIGUEIRAL et al., 2007). Buscando maior objetividade para esses parâmetros, nesta investigação, como previamente mencionado, foi desenvolvido um escore clínico de classificação de severidade da patologia em 24 níveis diferentes, de forma a abranger não apenas a classificação segundo Newton (1962), mas também o acometimento da infecção por quadrante e grau de eritema.

De acordo com as análises estatísticas da presente investigação, houve homogeneidade para todos os fatores predisponentes avaliados entre os quatro grupos de estudo. Consequentemente, a contribuição potencial desses fatores nos resultados obtidos com os tratamentos testados foi possivelmente eliminada (SILVA et al., 2012).

Para a avaliação da efetividade dos tratamentos nos diferentes períodos investigados no presente estudo, foram utilizados métodos microbiológicos e clínicos. O exame citológico por esfregaço direto da área inflamada foi adotado nesta investigação, pois além de ser um método simples, indolor, não invasivo e de baixo custo, permite a identificação das estruturas patogênicas de *Candida* spp. (pseudohifas e hifas), sendo, portanto, um indicador importante da presença de infecção por esses microrganismos (BANTING; HILL, 2001; BUDTZ-JØRGENSEN,

1974; KULAK; ARIKAN; DELIBALTA, 1994; OLSEN; STENDERUP, 1990; PURYER, 2017). Por não diferenciar as formas invasivas daquelas comensais (leveduras), o método das culturas micológicas quantitativas foi relatado como uma prova não confiável da infecção por *Candida* (BUDTZ-JØRGENSKN; BERTRAM, 1970). Apesar disso, foi selecionado nesta pesquisa como complementar ao exame por esfregaço, por ser considerado ainda o método padrão-ouro para estimar o número de células microbianas viáveis (HAZAN et al., 2012), e por ter sido empregado por relevantes estudos clínicos prévios sobre tratamento de estomatite protética (MIMA et al., 2012; NEPPELENBROEK et al., 2008; SANITA et al., 2012; SILVA et al., 2012; ULUDAMAR; GÖKHAN ÖZYEŞİL; OZKAN, 2011; WEBB; THOMAS; WHITTLE, 2005). Os achados dos métodos microbiológicos foram combinados à avaliação clínica, que é uma ferramenta imprescindível para o diagnóstico da patologia (BARBEAU et al., 2003; WILSON, 1998) e a determinação da efetividade do tratamento proposto.

Formas miceliais de *Candida* spp. estavam presentes pelo menos um campo de todos os esfregaços obtidos durante a avaliação inicial (T0) das superfícies internas das próteses dos 40 pacientes que participaram deste estudo. Com relação aos esfregaços iniciais obtidos da mucosa palatina, foi observada a presença de *Candida* micelial em 50% ou mais dos pacientes de cada grupo de tratamento. Além disso, não foi possível nesta investigação, assim como em outras prévias (BANTING; HILL, 2001; NEPPELENBROEK et al., 2008), realizar uma análise quantitativa dos esfregaços dos palatos considerados como positivos nem mesmo no período inicial, em razão da escassa presença de formas invasivas de *Candida* spp. Por outro lado, nos esfregaços das superfícies internas das PTS, a análise quantitativa por meio de escores foi viabilizada. Nas culturas micológicas quantitativas iniciais obtidas nesta investigação, colônias fúngicas viáveis foram encontradas nas PTS de todos pacientes avaliados e nos palatos de apenas 24 deles. Quando as culturas obtidas na mucosa palatina se apresentaram como positivas, os números de UFC/mL para essa superfície foram, na grande maioria das condições experimentais avaliadas, inferiores àqueles observados nas PTS. Esses achados concordam com resultados obtidos em esfregaços e/ou culturas de estudos prévios, que estabeleceram uma associação direta entre a colonização da região interna das próteses removíveis por *Candida* spp., sobretudo por formas miceliais, e

a patogênese da estomatite protética (ARENDRF; WALKER, 1987; BANTING; HILL, 2001; DAVENPORT, 1970; LAL et al., 1992; DE SENNA et al., 2018; MIMA et al., 2012; MUSTAFA et al., 2019; NEPPELENBROEK et al., 2008; SILVA et al., 2012), reforçando a importância do foco do tratamento dessa condição no biofilme protético (NEPPELENBROEK et al., 2008). Neste contexto, uma alternativa terapêutica promissora refere-se ao reembasamento das bases acrílicas com materiais macios temporários modificados por antimicrobianos.

A incorporação de CIMs de nistatina e diacetato de clorexidina em um reembasador resiliente temporário para base de prótese (Trusoft) mostrou efetividade *in vitro* na inibição do biofilme de *C. albicans* (BUENO et al., 2015), sem alterar deletoriamente as propriedades físicas, mecânicas e biológicas do material ao longo de sua vida útil (14 dias) (SÁNCHEZ-ALIAGA et al., 2013; LIMA et al., 2016a; LIMA et al., 2016b; SÁNCHEZ-ALIAGA et al., 2016; SÁNCHEZ-ALIAGA et al., 2016; BUENO et al., 2017; NEPPELENBROEK et al., 2018). Ainda, no decorrer desse período, tal sistema de liberação sustentada de fármacos apresentou biocompatibilidade com a mucosa palatina de ratos (HOTTA et al., 2016; HOTTA et al., 2019). Apesar dos resultados promissores obtidos com a adição das CIMs de nistatina e clorexidina no reembasador resiliente temporário ao longo de sua vida útil, faltava informação acerca da efetividade desse protocolo no tratamento de pacientes com estomatite protética, tornando-se este o alvo principal de investigação do presente estudo. Ainda, a terapia alternativa proposta foi comparada à convencional com nistatina tópica em suspensão.

Segundo os achados obtidos por exames citológicos por esfregaços, culturas micológicas quantitativas e fotografias intraorais, aceitou-se a primeira hipótese testada de que a adição das CIMs de ambos os fármacos ao material foi efetiva como método terapêutico da estomatite protética nos pacientes avaliados, tanto ao final do tratamento quanto a longo prazo. Apenas dois estudos clínicos (CATALÁN et al., 2008; GEERTS; STUHLINGER; BASSON, 2008) foram encontrados até o momento na literatura pertinente disponível utilizando materiais macios para base de prótese modificados por agentes antimicrobianos. Entretanto, por razões metodológicas, os achados obtidos nessas pesquisas prévias (culturas quantitativas e/ou severidade clínica da inflamação) poderão ser apenas indiretamente comparados aos encontrados na presente investigação.

No presente estudo, em relação à T0, as culturas micológicas quantitativas mostraram redução das médias de \log_{10} UFC/mL de *Candida* nos palatos dos pacientes após o reembasamento com ambos os fármacos incorporados ao Trusoft, e essa diferença foi significativa em todos os períodos avaliados para o Grupo NIS, mas apenas na consulta final (R60) para o Grupo CLX. Já para as PTS, os resultados dos Grupos NIS e CLX mostraram significativamente menores contagens de colônias viáveis de *Candida* spp. tanto ao final do tratamento (T14) quanto nos períodos de acompanhamento (R15, R30 e R60) em relação à consulta inicial (T0). Quando as PTS foram reembasadas apenas com Trusoft (Grupo GC), não houve alteração significativa dos valores de UFC/mL na mucosa palatina dos pacientes ao longo do período experimental, mas redução significativa da colonização fúngica nas PTS foi observada nas consultas de acompanhamento. Apesar disso, a comparação estatística entre tratamentos mostrou que as PTS do Grupo NIS revelaram menores contagens de colônias viáveis que aquelas do Grupo CG em T14 e R60.

Geerts, Stuhlinger e Basson (2008) observaram uma redução significativa na contagem de células fúngicas do tipo levedura provenientes da saliva de pacientes com estomatite protética após 7 dias de utilização de próteses reembasadas com material macio temporário contendo nistatina. Após esse período, os níveis de células fúngicas, ainda que se mostrassem inferiores aos obtidos na fase de pré-tratamento, aumentaram em até 14 dias, o que levou os autores a recomendarem a substituição do material modificado pelo fármaco semanalmente. No grupo onde as próteses foram reembasadas apenas com material, as contagens de células fúngicas na saliva voltaram a se elevar após 4 dias, estando superiores aos níveis iniciais ao final de 14 dias de avaliação. A melhor performance do material macio temporário sem fármaco em relação à colonização fúngica observada neste estudo pode ser explicada por diferenças nos produtos selecionados. Geerts, Stuhlinger e Basson (2008) utilizaram como um condicionador tecidual (Visco-gel) ao passo que neste estudo foi selecionado um reembasador resiliente de curta duração (Trusoft). É esperado que, em comparação aos condicionadores teciduais, os reembasadores resilientes temporários como o Trusoft, apresentem uma menor quantidade de plastificante e álcool (SINGH et al., 2010), o que permitem seu uso clínico por até 14 dias, que é o período de tratamento convencional para estomatite protética com nistatina tópica em suspensão. Esse período de vida útil é reduzido a 3 ou 4 dias no

caso dos condicionadores teciduais não modificados por fármacos, incluindo o Visco-gel (CATALÁN et al., 2008; HONG et al., 2012). Isso foi demonstrado em um estudo prévio (MACIEL et al., 2019), no qual o Visco-gel apresentou as mais altas porcentagens de sorção de água e solubilidade entre nove materiais macios temporários testados em todos os períodos de avaliação (3, 5, 7 e 14 dias), enquanto o Trusoft não demonstrou alterações significativas para ambas as propriedades em até 14 dias. A maior efetividade observada nesta pesquisa com adição da nistatina ao reembasador pode ser atribuída a vários fatores, entre os quais, ao fato de que o fármaco em pó, na CIM determinada, foi incorporado da maneira como recebido pela empresa importadora e distribuidora de matérias-primas farmacêuticas (Pharma Nostra Comercial). Na outra pesquisa (GEERTS; STUHLINGER; BASSON, 2008), os autores pulverizaram um comprimido de Mycostatin® (500.000 UI) para adicioná-lo ao pó do condicionador de tecido. Assim, é muito provável que a concentração de nistatina viabilizada pelo comprimido tenha variado de acordo com a quantidade de material utilizado durante o reembasamento, já que esse fator depende da área de superfície interna da prótese. Já na presente pesquisa, a CIM da nistatina foi determinada, em gramas, sempre na mesma proporção de pó do fármaco por pó do material, assegurando, portanto, uma mesma concentração por reembasamento, independentemente do tamanho da PTS. Por fim, as diferenças nos resultados encontrados entre as pesquisas podem ser atribuídas ao fato de que Geerts, Stuhlinger e Basson (2008) utilizaram apenas as culturas micológicas quantitativas provenientes da saliva como método de avaliação da efetividade do tratamento, não sendo analisadas importantes superfícies diretamente envolvidas na infecção (palato e prótese). Vale ressaltar que os autores não determinaram a presença de formas invasivas de *Candida* spp. nestas áreas, não avaliaram clinicamente a severidade da estomatite protética nem investigaram a eficácia da terapia proposta após a suspensão dos tratamentos (longo prazo).

Clinicamente, a redução significativa das médias dos escores de severidade da inflamação apresentada pelos Grupos NIS e CLX na presente investigação, ao final do tratamento (T14) foi evidenciada pela acentuada minimização do eritema da mucosa palatina de todos os pacientes ao final do tratamento (T14), e essa melhora clínica se manteve nos períodos de acompanhamento (R15, R30 e R60). Em T14 e R60, o tamanho do efeito de tratamento para ambos os grupos foi considerado muito

grande. Em comparação ao reembasamento apenas com o condicionador de tecido (Coe-Comfort), Catalán et al. (2008) observaram que, ao final de 12 dias de tratamento, a adição de nistatina e *Melaleuca alternifolia* (árvore do chá) ao material resultou em diminuição da inflamação da mucosa palatina de pacientes com estomatite protética e inibição significativa do crescimento de *C. albicans* nas culturas dos palatos. Embora seja um condicionador de tecido como o Visco-gel, foi sugerido que o Coe-Comfort apresenta viabilidade clínica por até 14 dias (HONG et al., 2012; MACIEL et al., 2016), devido à maior retenção de plastificantes em sua estrutura quando imerso em água e à presença de um componente de alto peso molecular (undecilenato de zinco) que minimiza a sorção pelo polímero (HONG et al., 2012). Apesar da efetividade da incorporação de nistatina tenha sido avaliada também por parâmetros clínicos por Catalán et al. (2008), a comparação com a eficácia obtida com o Grupo NIS da presente investigação se torna limitada por alguns fatores, entre os quais: 1) o estudo prévio não quantificou a colonização da superfície interna das próteses por *Candida*, que é determinante na patogênese da estomatite protética, principalmente em relação à presença de formas miceliais (BANTING; HILL, 2001; NEPELENBROEK et al., 2008), também não avaliada pelos autores; 2) nenhuma análise (clínica ou microbiológica) foi realizada após a suspensão dos tratamentos; 3) a incorporação do fármaco ocorreu por meio de nistatina em suspensão (Micostatin 100.000 UI/mL) misturada ao líquido do condicionador tecidual.

No presente estudo, quando as PTS foram reembasadas apenas com Trusoft (Grupo GC), não houve redução significativa da severidade da inflamação após 14 dias, e esse resultado foi estatisticamente inferior àqueles obtidos com a adição dos fármacos (Grupos NIS e CLX) no mesmo período, estando esses resultados de acordo com os obtidos com Catalán et al. (2008). Para o Grupo CG, uma diferença significativa nos escores clínicos foi observada em relação à consulta inicial (T0) apenas aos 30 dias da suspensão do tratamento. Apesar desses resultados e das maiores médias obtidas para o Grupo CG em comparação aos Grupos NIS e CLX em todos os períodos de acompanhamento, não houve diferença entre eles para esse parâmetro a longo prazo. Nessa fase (R15, R30 e R60), os melhores resultados clínicos apresentados no Grupo CG podem ser explicados, parcialmente, pela maior demora na recuperação dos tecidos de suporte devido à ausência de

fármaco. Ainda, vale ressaltar que ao final do tratamento (T14), o Trusoft foi substituído por um reembasador rígido autopolimerizável de longa duração (Kooliner) até a conclusão do período experimental. Esse procedimento também pode ter acelerado, a partir de R15 (aproximadamente um mês), o tempo clínico de recuperação da mucosa palatina dos pacientes com estomatite protética, como sugerido em estudo prévio (MARÍN ZULUAGA; GÓMEZ VELANDIA; RUEDA CLAUJO, 2011), após o reembasamento com Kooliner por 4 semanas em comparação ao condicionamento tecidual com Coe-Comfort.

Diferentemente das investigações prévias supracitadas, este estudo utilizou os esfregaços para a avaliação da eficácia dos tratamentos com base na premissa de que culturas micológicas positivas não indicam necessariamente a presença de formas invasivas de *Candida*, já que no meio de cultivo também há crescimento das formas comensais (blastóporo) (BANTING; HILL, 2001). O reembasamento das PTS com Trusoft modificado por nistatina e clorexidina resultou, na eliminação das formas miceliais de *Candida* spp. na mucosa palatina (0%) ao término dos 14 dias de tratamento. A magnitude do efeito de ambos os tratamentos foi significativamente mantida em até 60 dias após sua suspensão, mesmo com a presença de um esfregaço positivo referente ao palato do Grupo CLX (10%). Em comparação à consulta inicial (T0), o Grupo CG não evidenciou redução significativa nas porcentagens de pacientes com *Candida* na mucosa palatina nos diversos períodos de avaliação. Por outro lado, para o Grupo CG, assim como nos Grupos NIS e CLX, houve redução significativa dos escores referentes à essas estruturas invasivas nas PTS dos pacientes tanto ao final dos tratamentos (T14) quanto nas consultas de acompanhamento (R15, R30 e R60). Ao final de 14 dias (T14) e no último período de acompanhamento (R60), os efeitos dos tratamentos com reembasamento das PTS foram considerados muito grande para esse parâmetro, à exceção do Grupo CG em R60, que ainda assim foi grande. Esses resultados reforçam a importância da remoção do contato do biofilme protético durante o tratamento da estomatite protética, de modo a romper o ciclo de reinfecção dos tecidos de suporte via base acrílica (DAVENPORT, 1972; OHSHIMA et al., 2018). É imprescindível recuperar a mucosa injuriada e tratar a infecção por *Candida* spp. antes de considerar a substituição das próteses atuais por novas. Esse tipo de reabilitação oral falhou como terapia para a estomatite protética associada à *Candida* (BUDTZ-

JØRGENSEN; BERTRAM, 1970; KULAK; ARIKAN; DELIBALTA, 1994) e, ainda, não se mostrou efetivo contra as estruturas miceliais desses fungos (KULAK; ARIKAN; DELIBALTA, 1994). Neste contexto, o tratamento proposto por este estudo com a adição dos fármacos ao reembasador resiliente mostrou ser eficiente tanto em reduzir *Candida* micelial das superfícies avaliadas quanto em recuperar a mucosa de suporte inflamada para permitir, após um período semelhante à terapia antifúngica convencional (14 dias), os procedimentos clínicos necessários à confecção de novas próteses, incluindo as moldagens.

Quando considerado o conjunto de resultados dos exames microbiológicos e clínicos obtidos ao final dos tratamentos e nos períodos de acompanhamento, a terapia antifúngica tópica convencional com nistatina em suspensão (Grupo CP) se mostrou, a curto e longo prazo, inferior à adição dos fármacos em suas CIMs ao reembasador resiliente temporário. Assim, a segunda hipótese testada nesta investigação também foi aceita. A nistatina foi selecionada como o antifúngico da terapia convencional desta pesquisa por ser ainda considerado o agente de primeira escolha para o tratamento tópico de candidose oral em casos não complicados (AKPAN; MORGAN, 2002; IQBAL; ZAFAR, 2016) e em pacientes com função imunológica normal (PATIL et al., 2015). É rara a detecção de cepas fúngicas resistentes a esse fármaco (ROGERS, 2002), que além de possuir o mais largo espectro de ação entre os antifúngicos disponíveis, sendo considerado fungicida, destaca-se também dos demais pelo custo acessível e menor potencial hepatotóxico, por não possuir absorção no trato gastrointestinal quando em suspensão (PATIL et al., 2015). A ação antifúngica de agentes polienos como a nistatina ocorre pela ligação do fármaco ao ergosterol dentro da membrana celular do fungo, o que altera sua permeabilidade, ocasionando extravasamento de íons potássio e componentes intracelulares vitais (ROGERS, 2002). Apesar das vantagens, o uso tópico da nistatina produz um gosto desagradável na boca e, se ingerido como recomendado na posologia para o tratamento da região orofaríngea, pode causar sintomas como náuseas, vômitos e diarreia (ROGERS, 2002).

Os estudos clínicos prévios (CATALÁN et al., 2008; GEERTS; STUHLINGER; BASSON, 2008) sobre incorporação de agentes antimicrobianos nas bases macias temporárias utilizaram apenas o condicionador de tecido como controle. Dessa forma, os achados obtidos com o Grupo CP nesta investigação poderão ser

indiretamente comparados aos encontrados por autores que testaram outros tratamentos para a estomatite protética e, ao mesmo tempo, adotaram a terapia antifúngica tópica com nistatina como controle. Ao final de 14 dias de tratamento, a nistatina em suspensão foi tão efetiva quanto a terapia fotodinâmica (MIMA et al., 2012), irradiação por micro-ondas (SILVA et al., 2012) e enxaguatório bucal à base de extrato de chá verde (GHORBANI et al., 2018) em reduzir de colônias viáveis de *Candida* spp. nos palatos e melhorar clinicamente a severidade da lesão nos pacientes com estomatite protética. Desses estudos, nenhum determinou a presença de forma micelial de *Candida* e apenas dois analisaram a colonização fúngica nas superfícies protéticas bem como avaliaram a efetividade dos tratamentos a longo prazo (MIMA et al., 2012; SILVA et al., 2012). A redução da colonização fúngica nas próteses dos pacientes avaliados após 14 dias de tratamento com nistatina tópica também foi encontrada por Mima et al. (2012) e Silva et al. (2012). Esses autores ainda observaram, em relação ao período inicial, menores valores de UFC/mL em ambas as superfícies avaliadas (palato/prótese) e redução dos sinais clínicos de severidade da inflamação em duas semanas após a suspensão da nistatina tópica, sendo esses resultados comparáveis aos obtidos com a terapia fotodinâmica (MIMA et al., 2012) e irradiação por micro-ondas (SILVA et al., 2012). Após esse período e em até 90 após o início dos tratamentos propostos pelos autores, não houve diferença na colonização por *Candida* spp. nas próteses e palatos em comparação à consulta inicial, e os pacientes apresentaram altas porcentagens de recorrência dos sinais clínicos da patologia (MIMA et al., 2012; SILVA et al., 2012).

Na presente investigação, a nistatina em suspensão, ao final de 14 dias, promoveu redução numérica das médias de UFC/mL de *Candida* spp. nas duas superfícies avaliadas, sobretudo na mucosa palatina dos pacientes. Entretanto, essa diferença não foi significativa e nem comparável, para o mesmo período (T14), à redução da colonização fúngica promovida pelo Grupo NIS no palato e pelos Grupos NIS e CLX nas PTS. Da mesma forma, a terapia convencional resultou, clinicamente, em redução visível do eritema da mucosa palatina dos pacientes em T14, entretanto, não houve diferença significativa nos escores de severidade da inflamação. Dentro do escore proposto neste estudo, a estomatite protética no Grupo CP inicialmente classificada pela média obtida como Tipo III de Newton

(20,10), ainda seria um Tipo II após 14 dias de uso da nistatina em suspensão (14,30), voltando aos mesmos níveis de severidade inicial (19,00-19,20) a partir do segundo retorno (R30). Similarmente, a efetividade clínica da terapia convencional não foi comparável àquela da incorporação de nistatina no reembasador resiliente, que reduziu significativamente os escores clínicos iniciais (Grupo NIS= 17,00) ao final de 14 dias de tratamento (Grupo NIS= 1,40). Embora neste período (Grupo CLX= 9,30), a adição de clorexidina tenha resultado em uma média de escore clínico significativamente inferior à inicial (Grupo CLX= 17,60) e estatisticamente semelhante à do Grupo NIS, o tratamento também foi comparável ao da terapia convencional. Entretanto, em todas as consultas de acompanhamento (R15, R30 e R60), o Grupo CLX, à semelhança do Grupo NIS, se mostrou sempre superior ao Grupo CP, resultando em melhora clínica com escores médios classificados em Tipo I (Grupo NIS= 2,40-6,60; Grupo CLX= 8,50-8,70).

A falha com a terapia antifúngica tópica observada nesta investigação provavelmente está relacionada à baixa concentração do fármaco na área infectada e, sobretudo, nas superfícies protéticas. Após a aplicação do medicamento, há uma rápida perda de seu efeito terapêutico pelos efeitos diluentes do ambiente bucal (BANTING; HILL, 2001). A retenção da nistatina é ainda mais crítica nas superfícies protéticas, uma vez que a suspensão é utilizada como bochecho, realizado com as próteses fora da cavidade bucal. Para melhorar a concentração local da medicação, recomenda-se a utilização de quatro doses diárias (BAKHSHI et al., 2012), como preconizado aos pacientes do Grupo CP neste estudo. Essa posologia, portanto, é rigorosa, e depende da complacência do indivíduo (SCHNEID, 1992), que também pode se incomodar com o sabor desagradável do fármaco e outros possíveis efeitos adversos (TRUHLAR; SHAY; SOHNLE, 1994). Os resultados microbiológicos e clínicos favoráveis obtidos por Mima et al. (2012) e Silva et al. (2012) em até duas semanas após a suspensão da nistatina tópica foram associados à adesão dos pacientes ao rígido esquema terapêutico, às orientações de higiene oral e das próteses e à recomendação de remoção das mesmas durante o sono. Esses fatores, somados à variabilidade inerente às metodologias e populações dos diferentes estudos, podem explicar, ao menos em parte, as diferenças entre os resultados obtidos pelos autores e os observados nesta pesquisa. O uso do agente tópico bem como a higiene bucal e cuidados com as próteses foram orientados pelo profissional,

mas integralmente realizados em casa pelos pacientes do Grupo CP, não sendo, portanto, passíveis de controle. Por fim, o escore clínico proposto neste estudo é mais abrangente do que utilizado pelos autores que, a curto prazo, observaram significativa melhora dos sinais clínicos da estomatite protética apenas com o uso da nistatina em suspensão (GHORBANI et al., 2018; MIMA et al., 2012; SILVA et al., 2012). Os níveis de 1 a 24 do escore proposto considera não apenas o tipo de lesão segundo Newton (MIMA et al., 2012; SILVA et al., 2012) ou a área de eritema (GHORBANI et al., 2018), mas esses dois aspectos juntos e, também, o grau de inflamação da mucosa palatina. Assim, a melhora clínica visual nos palatos dos pacientes do Grupo CP não foi sensível ao ponto de resultar em diferença na média do escore de severidade ao final de 14 dias, como foi observado com os Grupos NIS e CLX.

Banting et al. (1995) avaliaram a efetividade da terapia tópica com nistatina em pastilhas associada ou não à imersão noturna das próteses em solução do mesmo agente antifúngico como tratamento da estomatite protética. Após 7 dias de terapia, independentemente da imersão das próteses, os pacientes apresentaram melhora visível dos sinais clínicos, mas cerca de 80% deles ainda apresentava formas invasivas de *Candida* nos esfregaços da mucosa bucal e/ou superfície interna das próteses. Além disso, as probabilidades de recorrência de estomatite protética (presença de *Candida* micelial) ao longo 90 dias de avaliação foram de 66% e 78%, respectivamente, para os pacientes que associaram ou não a imersão das próteses em nistatina. Os autores atribuíram o insucesso da terapia na incapacidade do fármaco em remover o agente etiológico das superfícies (palato/prótese). Embora tenham utilizado pastilhas de nistatina e não suspensão, os achados de Banting et al. (1995) corroboram com os do presente estudo, sobretudo a longo prazo. Nesta pesquisa, não houve melhora significativa da porcentagem de pacientes com a presença de formas miceliais de *Candida* nos palatos dos pacientes do Grupo CP tanto a curto quanto a longo prazo, sendo o tratamento sempre inferior àqueles dos Grupos NIS e CLX. Para as próteses, a nistatina tópica resultou em redução de *Candida* micelial em T14 comparável à dos tratamentos propostos com adição dos fármacos. Entretanto, os escores quantitativos de formas fúngicas invasivas apresentados pelo Grupo CP, após duas semanas da suspensão da terapia (R15) até o último período de acompanhamento (R60), foram semelhantes

àqueles observados na consulta inicial (T0), e significativamente inferiores aos obtidos pelos Grupos NIS e CLX.

Por outro lado, Atai et al. (2017) concluíram que, ao final de 14 dias de tratamento, a nistatina em suspensão foi tão efetiva quanto uma solução de quitosana de baixo peso molecular em reduzir formas miceliais de *Candida* dos palatos de pacientes com estomatite protética. Entre 7 e 14 dias, ambos os tratamentos também minimizaram significativamente a área de eritema na mucosa palatina, entretanto, para a nistatina, esse efeito ocorreu em um tempo mais curto. É possível sugerir que, os melhores resultados obtidos com a terapia antifúngica convencional na investigação prévia (ATAI et al., 2017) em comparação aos presentes achados em T14, se devem à imersão das próteses em solução de hipoclorito de sódio a 1% à noite durante o tratamento. Uma maior comparação dos efeitos entre os estudos também é dificultada pelo fato dos autores não terem realizado a análise das superfícies protéticas quanto à presença de *Candida* micelial nem a avaliação dos tratamentos a longo prazo. Banting e Hill (2001) associaram nistatina tópica em pastilhas (3x/dia) à irradiação das próteses por micro-ondas ou sua imersão noturna em digluconato de clorexidina a 0,2% no tratamento de pacientes com estomatite protética. Ao final de 14 dias, observaram ausência de formas miceliais em todos os palatos e todas as próteses avaliadas, exceto uma. Entretanto, em até 90 dias de acompanhamento desde o início dos tratamentos, 53% e 85% das próteses irradiadas e imersas na solução, respectivamente, apresentaram reinfecção por *Candida* micelial. Dessa forma, os melhores resultados apresentados pelos autores em até 14 dias estão associados à eliminação das formas invasivas de *Candida* nas superfícies das próteses pela ação das micro-ondas e clorexidina. Com a remoção desses tratamentos, houve presença marcante de formas invasivas em ambas superfícies nos períodos de acompanhamento, à semelhança do que foi observado com o Grupo CP neste estudo. Esses resultados reforçam a importância da remoção do contato dos tecidos de superfície com o biofilme protético, o que foi promovido nos grupos com reembasamento, sobretudo NIS e CLX, que ainda tiveram os efeitos de liberação gradual dos fármacos como comentado previamente, evitando a reinfecção por *Candida* micelial.

Os resultados microbiológicos e clínicos a curto e longo prazo encontrados no presente estudo sugerem a incorporação das CIMs de diacetato de clorexidina e, sobretudo, nistatina, em reembasador resiliente temporário para base de próteses removíveis como tratamento para pacientes com estomatite protética. Uma grande vantagem desse tratamento sobre os convencionais com agentes antifúngicos tópicos é que o paciente apenas precisa utilizar as próteses reembasadas, eliminando, portanto, a necessidade de adesão às rígidas posologias terapêuticas (TRUHLAR; SHAY; SOHNLE, 1994). Além disso, o contato do biofilme protético com os tecidos injuriados é eliminado pela interposição do material reembasador e, assim, a reinfecção via prótese contaminada torna-se inviabilizada (DAVENPORT, 1972; OHSHIMA et al., 2018). Nesse sistema, os fármacos são liberados continuamente e gradualmente nos tecidos protéticos e paraprotéticos, mantendo-se em concentração terapêutica ao longo da vida útil dos materiais macios de curta duração, que corresponde em média ao tempo de tratamento convencional com antifúngico tópico (BUENO et al., 2015; MATSUURA et al., 1997; SCHNEID, 1992; TRUHLAR; SHAY; SOHNLE, 1994). Durante esse período, a formação de biofilme protético é prevenida (DOUGLAS; WALKER, 1973; NIKAWA et al., 1997; SCHNEID, 1992) e, ainda, a resiliência da base macia associada à readaptação da prótese resultante do reembasamento levam à recuperação da mucosa injuriada, assegurando conforto ao paciente (BROWN, 1988; DOROCCA-BOBKOWSKA; MEDYNSKI; PRYLINSKI, 2017; FARRELL, 1975).

6 CONCLUSÃO

6 CONCLUSÃO

De acordo com a metodologia aplicada para avaliação dos tratamentos e com base nas condições experimentais do presente estudo, foi possível concluir que:

- Na comparação entre os fármacos incorporados em suas CIMs ao reembasador resiliente temporário, a nistatina foi ligeiramente superior ao diacetato de clorexidina em dois parâmetros a curto prazo (14 dias): redução dos escores clínicos de severidade e colonização fúngica no palato;
 - A incorporação de nistatina e diacetato de clorexidina em suas CIMs ao reembasador resiliente temporário Trusoft reduziu, após a suspensão do tratamento em até 60 dias, significativamente, as formas miceliais e as células viáveis de *Candida* spp. nos palatos e próteses bem como a severidade clínica da inflamação na mucosa palatina dos pacientes;
 - Considerando o conjunto de parâmetros microbiológicos e clínicos, ambos os fármacos incorporados ao material resiliente foram considerados efetivos tanto a curto quanto a longo prazo para o tratamento de pacientes estomatite protética;
 - O método de liberação dos agentes antimicrobianos, em especial a nistatina, a partir da matriz polimérica modificada foi superior à terapia antifúngica convencional em todos os parâmetros microbiológicos e clínicos avaliados a curto e longo prazo, exceto pela similaridade na redução de *Candida* micelial nas próteses ao final de 14 dias de tratamento.
-
-

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

Addy M, Handley R. The effects of the incorporation of chlorhexidine acetate on some physical properties of polymerized and plasticized acrylics. *J Oral Rehabil.* 1981;8(2):155-63.

Akpan A, Morgan R. Oral candidiasis. *Postgrad Med J.* 2002 Aug;78(922):455-9.

Albrecht N, Da Silva FTK, De Alencar MJS, Maia LC, Urban VM, Neppelenbroek KH, et al. Peel bond strength and antifungal activity of two soft denture lining materials incorporated with 1% chlorhexidine diacetate. *Dent Mater J.* 2018;37(5):725-733.

Alcântara CS, Macêdo AFC de, Gurgel BCV, Jorge JH, Neppelenbroek KH, Urban VM. Peel bond strength of resilient liner modified by the addition of antimicrobial agents to denture base acrylic resin. *J Appl Oral Sci.* 2013;20(6):607-12.

Al-Dwairi Z, Lynch E. Xerostomia in complete denture wearers: prevalence, clinical findings and impact on oral functions. *Gerodontology.* 2014;31(1):49-55.

Al-Dwairi ZN. Prevalence and risk factors associated with denture-related stomatitis in healthy subjects attending a dental teaching hospital in North Jordan. *J Ir Dent Assoc.* 2008;54(2):80-3.

Altarawneh S, Bencharit S, Mendoza L, Curran A, Barrow D, Barros S, et al. Clinical and Histological Findings of Denture Stomatitis as Related to Intraoral Colonization Patterns of *Candida albicans*, Salivary Flow, and Dry Mouth. *J Prosthodont.* 2013; 22(1):13-22.

Amin WM, Al-Ali MH, Salim N a, Al-Tarawneh SK. A new form of intraoral delivery of antifungal drugs for the treatment of denture-induced oral candidosis. *Eur J Dent.* 2009; 3(4):257-66.

Aoun G, Berberi A. Prevalence of Chronic Erythematous Candidiasis in Lebanese Denture Wearers: a Clinico-microbiological Study. *Mater Socio Medica.* 2017; 29(1):26-29.

Aoun G, Cassia A. Evaluation of Denture-related Factors Predisposing to Denture Stomatitis in a Lebanese Population. *Mater Socio Medica.* 2016; 28(5):392-396.

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;1;14(6):1161-4.

Aràvalo MP, Arias A, Andreu A, Rodríguez C, Sierra A. Fluconazole, Itraconazole and Ketoconazole In Vitro Activity against *Candida* spp. *J Chemother.* 2016;6(4):226-9.

Arendorf TM, Walker DM. Denture stomatitis: a review. *J Oral Rehabil.* 1987; 14(3):217-27.

Arikan A, Kulak Y, Kadir T. Comparison of different treatment methods for localized and generalized simple denture stomatitis. *J Oral Rehabil.* 1995; 22(5):365-9.

Arruda CNF de, Salles MM, Badaró MM, de Cássia Oliveira V, Macedo AP, Silva-Lovato CH, et al. Effect of sodium hypochlorite and *Ricinus communis* solutions on control of denture biofilm: A randomized crossover clinical trial. *J Prosthet Dent.* 2017;117(6):729-734.

Atai Z, Atai M, Amini J, Salehi N. In vivo study of antifungal effects of low-molecular-weight chitosan against *Candida albicans*. *J Oral Sci.* 2017;59(3):425-430.

Aslanimehr M, Mojarad N, Ranjbar S, Aalaei S. In vitro comparison of the effects of microwave irradiation and chemical and mechanical methods on the disinfection of complete dentures contaminated with *Candida albicans*. *Dent Res J (Isfahan).* 2019;15(5):340-346.

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

Bakhshi M, Taheri JB, Basir Shabestari S, Tanik A, Pahlevan R. Comparison of therapeutic effect of aqueous extract of garlic and nystatin mouthwash in denture stomatitis. *Gerodontology.* 2012. 29(2):e680-4.

Banting DW, Greenhorn PA, McMinn JG. Effectiveness of a topical antifungal regimen for the treatment of oral candidiasis in older, chronically ill, institutionalized, adults. *J Can Dent Assoc.* 1995;61(3):199-200.

Banting DW, Hill SA. Microwave disinfection of dentures for the treatment of oral candidiasis. *Spec Care Dent.* 2001;21(1):4-8

Barbeau J, Séguin J, Goulet JP, De Koninck L, Avon SL, Lalonde B, et al. Reassessing the presence of *Candida albicans* in denture-related stomatitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2003; 95(1):51-9.

Barnabé W, De Mendonça Neto T, Pimenta FC, Pegoraro LF, Scolaro JM. Efficacy of sodium hypochlorite and coconut soap used as disinfecting agents in the reduction of denture stomatitis, *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. *J Oral Rehabil.* 2004; 31(5):453-9.

Bastiaan RJ, Reade PC. The prevalence of *Candida albicans* in the mouths of tobacco smokers with and without oral mucous membrane keratoses. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol.* 1982;53(2):148-51.

Bilhan H, Sulun T, Erkoş 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.

Boscato N, Radavelli A, Faccio D, Loguercio AD. Biofilm formation of *Candida albicans* on the surface of a soft denture-lining material. *Gerodontology.* 2009;26(3):210-3.

Brantes MF, Azevedo RS, Rozza-de-Menezes RE, Póvoa HC, Tucci R, Gouvêa AF, Takahama-Jr A. Analysis of risk factors for maxillary denture-related oral mucosal lesions: A cross-sectional study. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2019;1;24(3):e305-e313.

Breskey JD, Lacey SE, Vesper BJ, Paradise WA, Radosevich JA, Colvard MD. Photodynamic Therapy: Occupational Hazards and Preventative Recommendations for Clinical Administration by Healthcare Providers. *Photomed Laser Surg.* 2013;31(8):398-407.

Broek R, Koczorowski R, Rogalewicz R, Voelkel A, Czarnecka B, Nicholson JW. Effect of denture cleansers on chemical and mechanical behavior of selected soft lining materials. *Dent Mater.* 2011;27(3):281-90.

Brown D. Resilient soft liners and tissue conditioners. *Br Dent J.* 1988; 164(11):357-60.

Budtz-jørgensen E, Bertram U. Denture stomatitis I. The etiology in relation to trauma and infection. *Acta Odontol Scand.* 1970;28(1):71-92.

Budtz-jørgensen E, Bertram U. Denture stomatitis: II. The effect of antifungal and

prosthetic treatment. *Acta Odontol Scand.* 1970;28(3):283-304.

Budtz-jørgensen E, Holmstrup P, Krogh P. Fluconazole in the treatment of Candida-associated denture stomatitis. *Antimicrob Agents Chemother.* 1988; 32(12):1859-63.

Budtz-jørgensen E, Theilade E, Theilade J. Quantitative relationship between yeasts and bacteria in denture-induced stomatitis. *Eur J Oral Sci.* 1983;91(2):134-42.

Budtz-jørgensen E. Etiology, pathogenesis, therapy, and prophylaxis of oral yeast infections. *Acta Odontol Scand.* 1990;48(1):61-9.

Budtz-jørgensen E. The significance of *Candida albicans* in denture stomatitis. *Eur J Oral Sci.* 1974; 82(2):151-90.

Bueno MG, De Sousa EJB, Hotta J, Porto VC, Urban VM, Neppelenbroek KH. Surface properties of temporary soft liners modified by minimum inhibitory concentrations of antifungal s. *Braz Dent J.* 2017;28(2):158-164.

Bueno MG, Urban VM, Barbério GS, da Silva WJ, Porto VC, Pinto L, et al. Effect of antimicrobial agents incorporated into resilient denture relines on the *Candida albicans* biofilm. *Oral Dis.* 2015;21(1):57-65.

Bulad K, Taylor RL, Verran J, Fraser McCord J. Colonization and penetration of denture soft lining materials by *Candida albicans*. *Dent Mater.* 2004;20(2):167-75.

Campanha NH, Pavarina AC, Jorge JH, Vergani CE, MacHado AL, Giampaolo ET. The effect of long-term disinfection procedures on hardness property of resin denture teeth. *Gerodontology.* 2012;29(2):e571-6.

Campanha NH, Pavarina AC, Vergani CE, MacHado AL. Effect of microwave sterilization and water storage on the Vickers hardness of acrylic resin denture teeth. *J Prosthet Dent.* 2005;93(5):483-7.

Campisi G, Panzarella V, Matranga D, Calvino F, Pizzo G, Lo Muzio L, et al. Risk factors of oral candidosis: A twofold approach of study by fuzzy logic and traditional statistic. *Arch Oral Biol.* 2008;53(4):388-97.

Carter GM, Kerr MA, Shepherd MG. The rational management of oral candidosis associated with dentures. *N Z Dent J.* 1986;82(369):81-4.

Catalán A, Pacheco JG, Martínez A, Mondaca MA. In vitro and in vivo activity of

melaleuca alternifolia mixed with tissue conditioner on *Candida albicans*. Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology. 2008;105(3):327-32.

Chandra J, Mukherjee PK, Leidich SD, Faddoul FF, Hoyer LL, Douglas LJ, et al. Antifungal resistance of Candidal biofilms formed on denture acrylic in vitro. J Dent Res. 2001;80(3):903-8.

Chau VB, Saunders TR, Pimsler M, Elfring DR. In-depth disinfection of acrylic resins. J Prosthet Dent. 1995;74(3):309-13.

Choi YH, Lee U, Lee BK, Lee MG. Pharmacokinetic interaction between itraconazole and metformin in rats: Competitive inhibition of metabolism of each drug by each other via hepatic and intestinal CYP3A1/2. Br J Pharmacol. 2010;161(4):815-29.

Chopde N, Pharande A, Khade MN, Khadtare YR, Shah SS, Apratim A. In vitro antifungal activity of two tissue conditioners combined with nystatin, miconazole and fluconazole against *Candida albicans*. J Contemp Dent Pract. 2012;13(5):695-8.

Coco BJ, Bagg J, Cross LJ, Jose A, Cross J, Ramage G. Mixed *Candida albicans* and *Candida glabrata* populations associated with the pathogenesis of denture stomatitis. Oral Microbiol Immunol. 2008; 23(5):377-83.

Coelho CMP, Sousa YTCS, Daré AMZ. Denture-related oral mucosal lesions in a Brazilian school of dentistry. J Oral Rehabil. 2004; 31(2):135-9.

Cook RJ. Response of the oral mucosa to denture wearing. Journal of Dentistry. 1991; 19(3):135-47.

Cross LJ, Williams DW, Sweeney CP, Jackson MS, Lewis MAO, Bagg J. Evaluation of the recurrence of denture stomatitis and *Candida* colonization in a small group of patients who received itraconazole. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2004;97(3):351-8.

Cruz PC, Andrade IM, Peracini A, Souza-Gugelmin MC, Silva-Lovato CH, de Souza RF, Paranhos Hde F. The effectiveness of chemical denture cleansers and ultrasonic device in biofilm removal from complete dentures. J Appl Oral Sci. 2011;19(6):668-73.

da Silva HF, Martins-Filho PRS, Piva MR. Denture-related oral mucosal lesions among farmers in a semi-arid Northeastern region of Brazil. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2011; 16(6):e740-4.

Darwazeh AMG, Hammad MM, Al-Jamaei AA. The relationship between oral hygiene and oral colonization with *Candida* species in healthy adult subjects*. *Int J Dent Hyg*. 2010;8(2):128-33.

Davenport JC. The denture surface. *Br Dent J*. 1972;1;133(3):101-5.

Davenport JC. The oral distribution of candida in denture stomatitis. *Br Dent J*. 1970;18;129(4):151-6.

Davi LR, Peracini A, De Queiroz Ribeiro N, Soares RB, Da Silva CHL, De Freitas Oliveira Paranhos H, et al. Effect of the physical properties of acrylic resin of overnight immersion in sodium hypochlorite solution. *Gerodontology*. 2010;27(4):297-302.

De Andrade IMH, Cruz PC, Da Silva CHL, De Souza RF, De Freitas Oliveira Paranhos H, Candido RC, et al. Effervescent tablets and ultrasonic devices against *Candida* and mutans streptococci in denture biofilm. *Gerodontology*. 2011;28(4):264-70.

De Rezende Pinto L, Rodríguez Acosta EJT, Távora FFF, Da Silva PMB, Porto VC. Effect of repeated cycles of chemical disinfection on the roughness and hardness of hard reline acrylic resins. *Gerodontology*. 2010;27(2):147-53.

de Senna AM, Vieira MMF, Machado-de-Sena RM, Bertolin AO, Núñez SC, Ribeiro MS. Photodynamic inactivation of *Candida* ssp. on denture stomatitis. A clinical trial involving palatal mucosa and prosthesis disinfection. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2018; 22:212-216.

De Sousa Porta SR, De Lucena-Ferreira SC, Da Silva WJ, Del Bel Cury AA. Evaluation of sodium hypochlorite as a denture cleanser: A clinical study. *Gerodontology*. 2015;32(4):260-6.

Dixon DL, Breeding LC, Faler TA. Microwave disinfection of denture base materials colonized with *Candida albicans*. *J Prosthet Dent*. 1999;81(2):207-14.

Dorko E, Jenča A, Pilipčinec E, Danko J, Švický E, Tkáčiková L. *Candida*-associated denture stomatitis. *Folia Microbiol (Praha)*. 2001; 46(5):443-6.

Dorocka-Bobkowska B, Medynski D, Prylinski M. Recent Advances in Tissue Conditioners for Prosthetic Treatment. A review. *Adv Clin Exp Med*. 2017;26(4):723-728.

Dorocka-Bobkowska B, Zozulinska-Ziolkiewicz D, Wierusz-Wysocka B, Hedzelek W, Szumala-Kakol A, Budtz-Jørgensen E. Candida-associated denture stomatitis in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract.* 2010;90(1):81-6.

Douglas WH, Walker DM. Nystatin in denture liners--an alternative treatment of denture stomatitis. *Br Dent J.* 1973; 60(4):231-239.

Duyck J, Vandamme K, Krausch-Hofmann S, Boon L, Keersmaecker K De, Jalon E, et al. Impact of denture cleaning method and overnight storage condition on denture biofilm mass and composition: A cross-over randomized clinical trial. *PLoS One.* 2016;5;11(1):e0145837.

Edgerton M, Tabak LA, Levine MJ. Saliva: A significant factor in removable prosthodontic treatment. *J Prosthet Dent.* 1987;57(1):57-66.

Emami E, De Grandmont P, Rompré PH, Barbeau J, Pan S, Feine JS. Favoring trauma as an etiological factor in denture stomatitis. *J Dent Res.* 2008; 87(5):440-4.

Falah-Tafti A, Jafari AA, Lotfi-Kamran MH, Fallahzadeh H, Hayan RS. A Comparison of the eFficacy of Nystatin and Fluconazole Incorporated into Tissue Conditioner on the In Vitro Attachment and Colonization of Candida Albicans. *Dent Res J.* 2010;7(1):18-22.

Farrell DJ. Tissue conditioning and tissue conditioners. *Dent Clin North Am.* 1975;19(2):255-68.

Felipucci DNB, Davi LR, Paranhos HFO, Bezzon OL, Silva RF, Pagnano VO. Effect of different cleansers on the surface of removable partial denture. *Braz Dent J.* 2011; 22(5):392-7.

Figueiral MH, Azul A, Pinto E, Fonseca PA, Branco FM, Scully C. Denture-related stomatitis: Identification of aetiological and predisposing factors - A large cohort. *J Oral Rehabil.* 2007; 34(6):448-55.

Figueiral MH, Fonseca P, Lopes MM, Pinto E, Pereira-Leite T, Sampaio-Maia B. Effect of Denture-Related Stomatitis Fluconazole Treatment on Oral Candida albicans Susceptibility Profile and Genotypic Variability. *Open Dent J.* 2015;30;9:46-51.

Freitas-Pontes KM, Silva-Lovato CH, Paranhos HFO. Mass loss of four commercially available heat-polymerized acrylic resins after toothbrushing with three different dentifrices. *J Appl Oral Sci.* 2009;17(2):116-21.

Fujita T. Clinical importance of effect size in randomized controlled trials. *Arch Surg.* 2010;145(4):400-1.

Gandhi N, Daniel S, Benjamin S, Kurian N, Varghese VS. Evaluation of surface microhardness following chemical and microwave disinfection of commercially available acrylic resin denture teeth. *J Clin Diagnostic Res.* 2017;11(5):87-91.

Gauch LMR, Pedrosa SS, Silveira-Gomes F, Esteves RA, Marques-da-Silva SH. Isolation of *Candida* spp. from denture-related stomatitis in Pará Brazil. *Brazilian J Microbiol.* 2018; 49(1):148-151.

Geerts GAVM, Stuhlinger ME, Basson NJ. Effect of an antifungal denture liner on the saliva yeast count in patients with denture stomatitis: A pilot study. *J Oral Rehabil.* 2008;35(9):664-9.

Gendreau L, Loewy ZG. Epidemiology and Etiology of Denture Stomatitis. *J Prosthodont.* 2011; 20(4):251-60.

Ghorbani A, Sadrzadeh A, Habibi E, Dadgar K, Akbari J, Moosazadeh M, et al. Efficacy of *Camellia sinensis* extract against *Candida* species in patients with denture stomatitis. *Curr Med Mycol.* 2018;4(3):15-18.

Głowacka B, Konopka T. Prevalence of oral mucosal lesions in young seniors in the Wrocław region. *Dent Med Probl.* 2018;55(4):405-410.

Goldman GH, Da Silva Ferreira ME, Dos Reis Marques E, Savoldi M, Perlin D, Park S, et al. Evaluation of fluconazole resistance mechanisms in *Candida albicans* clinical isolates from HIV-infected patients in Brazil. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2004; 50(1):25-32.

Golecka M, Ołdakowska-Jedynak U, Mierzwińska-Nastalska E, Adamczyk-Sosińska E. *Candida*-associated denture stomatitis in patients after immunosuppression therapy. In: *Transplantation Proceedings.* 2006; 38(1):155-6.

Golecka-Bakowska M, Mierzwińska-Nastalska E, Bychawska M. Influence of hormone supplementation therapy on the incidence of denture stomatitis and on chemiluminescent activity of polymorphonuclear granulocytes in blood of menopausal-aged women. *Eur J Med Res.* 2010;15 Suppl 2:46-9.

González-Serrano J, Serrano J, López-Pintor RM, Paredes VM, Casañas E, Hernández G. Prevalence of Oral Mucosal Disorders in Diabetes Mellitus Patients Compared with a Control Group. *J Diabetes Res.* 2016;2016:5048967.

Hamouda IM, Ahmed SA. Effect of microwave disinfection on mechanical properties of denture base acrylic resin. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2010;3(7):480-7.

Harrison Z, Johnson A, Douglas CWI. An in vitro study into the effect of a limited range of denture cleaners on surface roughness and removal of *Candida albicans* from conventional heat-cured acrylic resin denture base material. *J Oral Rehabil.* 2004;31(5):460-7.

Hazan R, Que YA, Maura D, Rahme LG. A method for high throughput determination of viable bacteria cell counts in 96-well plates. *BMC Microbiol.* 2012;12:259.

Hazin R, Abuzetun JY, Suker M, Porter J. Rhabdomyolysis induced by simvastatin-fluconazole combination. *J Natl Med Assoc.* 2008;100(4):444-6.

Hermann C, Mesquita MF, Consani RLX, Henriques GEP. The effect of aging by thermal cycling and mechanical brushing on resilient denture liner hardness and roughness. *J Prosthodont.* 2008;17(4):318-22.

Hong G, LI Y, Maeda T, Mizumachi W, Sadamori S, Hamada T, et al. Influence of Storage Methods on the Surface Roughness of Tissue Conditioners. *Dent Mater J.* 2009;27(2):153-8.

Hong G, Maeda T, Murata H, Sasaki K. The dynamic viscoelasticity and plasticizer leachability of tissue conditioners. *Gerodontology.* 2012; 29(4):284-91.

Horn DL, Neofytos D, Anaissie EJ, Fishman JA, Steinbach WJ, Olyaei AJ, et al. Epidemiology and Outcomes of Candidemia in 2019 Patients: Data from the Prospective Antifungal Therapy Alliance Registry. *Clin Infect Dis.* 2009; 15;48(12):1695-703.

Hotta J, Cral WG, Sakima VT, Lara VS, Urban VM, Neppelenbroek KH. Intraoral Device for Optimal Antifungal Delivery in a Rat Model. *Curr Drug Deliv.* 2016;14(5):658-667.

Hotta J, Garlet GP, Cestari TM, Lima JFM, Porto VC, Urban VM, et al. In vivo biocompatibility of an interim denture resilient liner containing antifungal drugs. *J Prosthet Dent.* 2019;121(1):135-142.

Iacopino AM, Wathen WF. Oral candidal infection and denture stomatitis: a comprehensive review. *J Am Dent Assoc.* 1992;123(1):46-51.

Ikebe K, Matsuda K ichi, Morii K, Wada M, Hazeyama T, Nokubi T, et al. Impact of

dry mouth and hyposalivation on oral health-related quality of life of elderly Japanese. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology*. 2007;103(2):216-22.

Iqbal Z, Zafar MS. Role of antifungal medicaments added to tissue conditioners: A systematic review. *Journal of Prosthodontic Research*. 2016.

Jainkittivong A, Aneksuk V, Langlais RP. Oral mucosal lesions in denture wearers. *Gerodontology*. 2010;27(1):26-32.

Jayampath Seneviratne C, Wang Y, Jin L, Abiko Y, Samaranayake LP. Proteomics of drug resistance in candida glabrata biofilms www.proteomics-journal.com. *Proteomics*. 2010;10(7):1444-54.

Jeganathan S, Lin CC. Denture stomatitis — a review of the aetiology, diagnosis and management. *Aust Dent J*. 1992; 37(2):107-14.

Jin Y, Zhang T, Samaranayake YH, Fang HHP, Yip HK, Samaranayake LP. The use of new probes and stains for improved assessment of cell viability and extracellular polymeric substances in *Candida albicans* biofilms. *Mycopathologia*. 2005; 35(10):826-34.

Kanli A, Demirel F, Sezgin Y. Oral candidosis, denture cleanliness and hygiene habits in an elderly population. *Aging Clin Exp Res*. 2005;17(6):502-7.

Kansky AA, Didanovic V, Dovsak T, Brzak BL, Pelivan I, Terlevic D. Epidemiology of oral mucosal lesions in Slovenia. *Radiol Oncol*. 2018;11;52(3):263-266.

Klironomos T, Katsimpali A, Polyzois G. The Effect of Microwave Disinfection on Denture Base Polymers, Liners and Teeth: A Basic Overview. *Acta Stomatol Croat*. 2015;49(3):242-53.

Koopmans ASF, Kippuw N, de Graaff J. Bacterial Involvement in Denture-induced Stomatitis. *J Dent Res*. 1988;67(9):1246-50.

Köroğlu A, Şahin O, Dede DÖ, Deniz ŞT, Karacan SN, Özkan S. Efficacy of denture cleaners on the surface roughness and *Candida albicans* adherence of sealant agent coupled denture base materials. *Dent Mater J*. 2016;35(5):810-816.

Kulak Y, Arikan A, Delibalta N. Comparison of three different treatment methods for generalized denture stomatitis. *J Prosthet Dent*. 1994;72(3):283-8.

Kulak-Ozkan Y, Kazazoglu E, Arikan A. Oral hygiene habits, denture cleanliness, presence of yeasts and stomatitis in elderly people. *J Oral Rehabil.* 2002;29(3):300-4.

Lalla RV, Latortue MC, Hong CH, Ariyawardana A, D'Amato-Palumbo S, Fischer DJ, et al. A systematic review of oral fungal infections in patients receiving cancer therapy. *Supportive Care in Cancer.* 2010;18(8):985-92.

Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics.* 1977;33(1):159-74.

Lima JFM, Maciel JG, Arrais CAG, Porto VC, Urban VM, Neppelenbroek KH. Effect of incorporating antifungals on the water sorption and solubility of interim resilient liners for denture base relining. *J Prosthet Dent.* 2016;15(5):611-6.

Lima JFM, Maciel JG, Hotta J, Vizoto ACP, Honório HM, Urban VM, et al. Porosity of temporary denture soft liners containing antifungal agents. *J Appl Oral Sci.* 2016;24(5):453-461.

Lombardi T, Budtz-Jorgensen. Treatment of denture-induced Stomatitis: a review. *Eur J Prosthodont Rest Dent.* 1993;2(1):17-22.

Lynge Pedersen AM, Nauntofte B, Smidt D, Torpet LA. Oral mucosal lesions in older people: Relation to salivary secretion, systemic diseases and medications. *Oral Dis.* 2015; 21(6):721-9.

Machado AL, Giampaolo ET, Pavarina AC, Jorge JH, Vergani CE. Surface roughness of denture base and reline materials after disinfection by immersion in chlorhexidine or microwave irradiation. *Gerodontology.* 2012;29(2):e375-82.

Machado AL, Giampaolo ET, Vergani CE, Souza JF de, Jorge JH. Changes in roughness of denture base and reline materials by chemical disinfection or microwave irradiation: Surface roughness of denture base and reline materials. *J Appl Oral Sci.* 2011;19(5):521-8.

Maciel CM, Piva MR, Ribeiro MAG, de Santana Santos T, Ribeiro CF, Martins-Filho PRS. Methylene Blue-Mediated Photodynamic Inactivation Followed by Low-Laser Therapy versus Miconazole Gel in the Treatment of Denture Stomatitis. *J Prosthodont.* 2016;25(1):28-32.

Maciel JG, Sugio CYC, de Campos Chaves G, Procópio ALF, Urban VM, Neppelenbroek KH. Determining acceptable limits for water sorption and solubility of

interim denture resilient liners. *J Prosthet Dent.* 2019; 121(2):311-316

Mah TFC, O'Toole GA. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends in Microbiology.* 2001;9(1):34-9.

Mahdavi Omran S, Rezaei Dastjerdi M, Zuashkiani M, Moqarabzadeh V, Taghizadeh-Armaki M. In Vitro Antifungal Susceptibility of Candida Species Isolated from Iranian Patients with Denture Stomatitis *Biomed Res Int.* 2018; 16;2018:3086586.

Mäkilä E, Honka O. Clinical study of a heat-cured silicone soft lining material. *J Oral Rehabil.* 1979;6(2):199-204.

Mäkilä E, Hopsu-Havu VK. Mycotic growth and soft denture lining materials. *Acta Odontol Scand.* 1977; 35(4):197-205.

Mandali G, Sener ID, Turker SB, Ülgen H. Factors affecting the distribution and prevalence of oral mucosal lesions in complete denture wearers. *Gerodontology.* 2011;28(2):97-103.

Marcos-Arias C, Eraso E, Madariaga L, Carrillo-Muñoz AJ, Quindós G. In Vitro Activities of New Triazole Antifungal Agents, Posaconazole and Voriconazole, Against Oral Candida Isolates from Patients Suffering from Denture Stomatitis. *Mycopathologia.* 2012; 173(1):35-46.

Marcos-Arias C, Vicente JL, Sahand IH, Eguia A, De-Juan A, Madariaga L, et al. Isolation of *Candida dubliniensis* in denture stomatitis. *Arch Oral Biol.* 2009; 54(2):127-31.

Marín Zuluaga DJ, Gómez Velandia OC, Rueda Clauijo DM. Denture-related stomatitis managed with tissue conditioner and hard autopolymerising reline material. *Gerodontology.* 2011;28(4):258-63.

Martinez M, López-Ribot JL, Kirkpatrick WR, Coco BJ, Bachmann SP, Patterson TF. Replacement of *Candida albicans* with *C. dubliniensis* in human immunodeficiency virus-infected patients with oropharyngeal candidiasis treated with fluconazole. *J Clin Microbiol.* 2002; 40(9):3135-9.

Martins CHG, Pires RH, Cunha AO, Pereira CAM, Singulani J de L, Abrão F, et al. *Candida/Candida* biofilms. First description of dual-species *Candida albicans/C. rugosa* biofilm. *Fungal Biol.* 2016;120(4):530-537.

Martins M, Henriques M, Ribeiro AP, Fernandes R, Gonçalves V, Seabra Á, et al. Oral Candida carriage of patients attending a dental clinic in Braga, Portugal. *Rev Iberoam Micol.* 2010; 30;27(3):119-24.

Martori E, Ayuso-Montero R, Martinez-Gomis J, Viñas M, Peraire M. Risk factors for denture-related oral mucosal lesions in a geriatric population. *J Prosthet Dent.* 2014;111(4):273-9

Matear DW, Locker D, Stephens M, Lawrence HP. Associations between xerostomia and health status indicators in the elderly. *J R Soc Promot Health.* 2006;126(2):79-85.

Mathaba LT, Davies G, Warmington JR. The genotypic relationship of *Candida albicans* strains isolated from the oral cavity of patients with denture stomatitis. *J Med Microbiol.* 1995;42(5):372-9.

Matos AO, Costa JO, Beline T, Ogawa ES, Assunção WG, Mesquita MF, et al. Effect of Disinfection on the Bond Strength between Denture Teeth and Microwave-Cured Acrylic Resin Denture Base. *J Prosthodont.* 2018; 27(2):169-176.

Matsuura T, Abe Y, Sato Y, Okamoto K, Ueshige M, Akagawa Y. Prolonged antimicrobial effect of tissue conditioners containing silver-zeolite. *J Dent.* 1997; 25(5):373-7.

Mattos BSC, de Sousa AA, de Magalhães MHCG, André M, Brito e Dias R. *Candida albicans* in patients with oronasal communication and obturator prostheses. *Braz Dent J.* 2009;20(4):336-40.

McMullan-Vogel CW, Jüde HD, Ollert MW, Vogel CW. Serotype distribution and secretory acid proteinase activity of *Candida albicans* isolated from the oral mucosa of patients with denture stomatitis. *Oral Microbiol Immunol.* 1999; 14(3):183-9.

Millsop JW, Fazel N. Oral candidiasis. *Clin Dermatol.* 2016; 34(4):487-94.

Milton Rocha Gusmão J, Pereira RP. Treatment protocol for denture stomatitis, prior to anatomical molding. *Gerodontology.* 2013;30(3):232-5.

Mima E, Pavarina A, Silva M, Ribeiro D, Vergani C, Kurachi C, et al. Denture stomatitis treated with photodynamic therapy: Five cases. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology.* 2011;112(5):602-8.

Mima EG, Vergani CE, Machado AL, Massucato EMS, Colombo AL, Bagnato VS, et

al. Comparison of Photodynamic Therapy versus conventional antifungal therapy for the treatment of denture stomatitis: A randomized clinical trial. *Clin Microbiol Infect.* 2012; 18(10):E380-8.

Mohammed HS, Singh S, Hari PA, Amarnath GS, Kundapur V, Pasha N, et al. Evaluate the effect of commercially available denture cleansers on surface hardness and roughness of denture liners at various time intervals. *Int J Biomed Sci.* 2016; 12(4):130-142.

Moosazadeh M, Akbari M, Tabrizi R, Ghorbani A, Golkari A, Banakar M, et al. Denture Stomatitis and *Candida Albicans* in Iranian Population: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Dent (Shiraz, Iran).* 2016;17(3 Suppl):283-292.

Moran C, Grussemeyer CA, Spalding JR, Benjamin DK, Reed SD. Comparison of costs, length of stay, and mortality associated with *Candida glabrata* and *Candida albicans* bloodstream infections. *Am J Infect Control.* 2010; 38(1):78-80.

Morse DJ, Wilson MJ, Wei X, Lewis MAO, Bradshaw DJ, Murdoch C, et al. Denture-associated biofilm infection in three-dimensional oral mucosal tissue models. *J Med Microbiol.* 2018; 67(3):364-375.

Moskona D, Kaplan I. Oral lesions in elderly denture wearers. *Clin Prev Dent.* 1992;14(5):11-4.

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.

Mustafa MW, Ungphaiboon S, Phadoongsombut N, Pangsomboon K, Chelae S, Mahattanadol S. Effectiveness of an Alcohol-Free Chitosan–Curcuminoid Mouthwash Compared with Chlorhexidine Mouthwash in Denture Stomatitis Treatment: A Randomized Trial. *J Altern Complement Med.* 2019; 25(5):552-558.

Naik AV, Pai RC. A Study of Factors Contributing to Denture Stomatitis in a North Indian Community. *Int J Dent.* 2011;2011:589064.

Neppelenbroek KH, Lima JFM, Hotta J, Galitesi LL, Almeida ALPF, Urban VM. Effect of Incorporation of Antifungal Agents on the Ultimate Tensile Strength of Temporary Soft Denture Liners. *J Prosthodont.* 2018; 27(2):177-181.

Neppelenbroek KH, Pavarina AC, Palomari Spolidorio DM, Sgavioli Massucato EM, Spolidorio LC, Vergani CE. Effectiveness of microwave disinfection of complete

dentures on the treatment of Candida-related denture stomatitis. *J Oral Rehabil.* 2008; 35(11):836-46.

Newton AV. Denture sore mouth: a possible aetiology. *Br Dent J.* 1962; 112(9):357-60.

Nikawa H, Iwanaga H, Hamada T, Yuhta S. Effects of denture cleansers on direct soft denture lining materials. *J Prosthet Dent.* 1994;72(6):657-62.

Nikawa H, Yamamoto T, Hamada T, Rahardjo MB, Murata H, Nakanoda S. Antifungal effect of zeolite-incorporated tissue conditioner against *Candida albicans* growth and/or acid production. *J Oral Rehabil.* 1997;24(5):350-7.

Nishi Y, Seto K, Kamashita Y, Kaji A, Kurono A, Nagaoka E. Survival of microorganisms on complete dentures following ultrasonic cleaning combined with immersion in peroxide-based cleanser solution. *Gerodontology.* 2014;31(3):202-9.

Novais PMR, Giampaolo ET, Vergani CE, MacHado AL, Pavarina AC, Jorge JH. The occurrence of porosity in reline acrylic resins. Effect of microwave disinfection. *Gerodontology.* 2009; 26(1):65-71.

Ohshima T, Ikawa S, Kitano K, Maeda N. A proposal of remedies for oral diseases caused by *Candida*: A mini review. *Frontiers in Microbiology.* 2018; 9:9:1522.

Olsen I, Stenderup A. Clinical-mycologic diagnosis of oral yeast infections. *Acta Odontol Scand.* 1990;48(1):11-8.

Osmari D, Fraga S, Braun KO, Unfer B. Behaviour of the Elderly with Regard to Hygiene Procedures for and Maintenance of Removable Dentures. *Oral Heal Prev Dent.* 2016;14(1):21-6.

Papadiochou S, Polyzois G. Hygiene practices in removable prosthodontics: A systematic review. *International Journal of Dental Hygiene.* 2018;16(2):179-201.

Papadopoulos T, Polyzois G, Tapanli A, Frangou M. The effect of disinfecting solutions on bending properties and weight changes of Co-Cr and Ti-6Al-7Nb alloys for dentures. *Odontology.* 2011;99(1):77-82.

Paranhos H de FO, Bezzon OL, Davi LR, Felipucci DNB, Silva CHL da, Pagnano VO. Effect of cleanser solutions on the color of acrylic resins associated with titanium and nickel-chromium alloys. *Braz Oral Res.* 2014;28.pii:S1806-83242014000100234.

Patil S, Rao RS, Majumdar B, Anil S. Clinical appearance of oral Candida infection and therapeutic strategies. *Frontiers in Microbiology*. 2015; 17;6:1391.

Pavan S, Arioli Filho JN, Dos Santos PH, Nogueira SS, Batista AUD. Effect of disinfection treatments on the hardness of soft denture liner materials. *J Prosthodont*. 2007;16(2):101-6.

Pavan S, Dos Santos PH, Filho JNA, Spolidorio DMP. Colonisation of soft lining materials by micro-organisms. *Gerodontology*. 2010;27(3):211-6.

Pellizzaro D, Polyzois G, Machado AL, Giampaolo ET, Sanitá PV, Vergani CE. Effectiveness of mechanical brushing with different denture cleansing agents in reducing in vitro *Candida albicans* biofilm viability. *Braz Dent J*. 2012;23(5):547-54.

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.

Perea C, Suárez-García M-J, Del Río J, Torres-Lagares D, Montero J, Castillo-Oyagüe R. Oral health-related quality of life in complete denture wearers depending on their socio-demographic background, prosthetic-related factors and clinical condition. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2013;18(3):e371-80.

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.

Perezous LF, Flaitz CM, Goldschmidt ME, Engelmeier RL. Colonization of *Candida* species in denture wearers with emphasis on HIV infection: A literature review. *Journal of Prosthetic Dentistry*. 2005;93(3):288-93.

Perić M, Živković R, Milić Lemić A, Radunović M, Miličić B, Arsić Arsenijević V. The severity of denture stomatitis as related to risk factors and different *Candida* spp. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2018;S2212-4403(18)30841-1.

Pero AC, Scavassin PM, Nunes ÉM, Policastro VB, Giro G, Compagnoni MA. Bond Strength of Artificial Teeth Attached to a Microwave-Polymerized Denture Base Resin after Immersion in Disinfectant Solutions. *J Prosthodont*. 2016;25(7):576-579.

Pfaller MA. Antifungal drug resistance: Mechanisms, epidemiology, and consequences for treatment. *Am J Med*. 2012;125 Suppl 1:S3-13.

Pina GDMS, Lia EN, Berretta AA, Nascimento AP, Torres EC, Buszinski AFM, et al. Efficacy of Propolis on the Denture Stomatitis Treatment in Older Adults: A Multicentric Randomized Trial. *Evidence-based Complement Altern Med.* 2017;2017:8971746.

Pires FR, Santos EBD, Bonan PRF, De Almeida OP, Lopes MA. Denture stomatitis and salivary *Candida* in Brazilian edentulous patients. *J Oral Rehabil.* 2002; 29(11):1115-9.

Pisani MX, Macedo AP, Oliveira Paranhos HDF, da Silva CHL. Effect of experimental *Ricinus communis* solution for denture cleaning on the properties of acrylic resin teeth. *Braz Dent J.* 2012;23(1):15-21.

Pisani MX, Silva CHL da, Paranhos H de FO, Souza RF, Macedo AP. The Effect of Experimental Denture Cleanser Solution *Ricinus communis* on Acrylic Resin Properties. *Mater Res.* 2010;13:369- 373.

Piskin B, Sipahi C, Akin H. Effect of Different Chemical Disinfectants on Color Stability of Acrylic Denture Teeth. *J Prosthodont.* 2014;23(6):476-83.

Policastro VB, Giro G, Leite ARP, Mendoza-Marin DO, Paleari AG, Compagnoni MA, et al. In Vitro Assessment of the Abrasion Resistance of Two Types of Artificial Teeth Submitted to Brushing. *J Prosthodont.* 2016;25(6):485-8.

Polychronakis N, Polyzois G, Lagouvardos P, Andreopoulos A, Ngo HC. Long-term microwaving of denture base materials: effects on dimensional, color and translucency stability. *J Appl Oral Sci.* 2018;26:e20170536.

Polyzois G, Niarchou A, Ntala P, Pantopoulos A, Frangou M. The effect of immersion cleansers on gloss, colour and sorption of acetal denture base material. *Gerodontology.* 2013;30(2):150-6.

Porwal A, Khandelwal M, Punia V, Sharma V. Effect of denture cleansers on color stability, surface roughness, and hardness of different denture base resins. *J Indian Prosthodont Soc.* 2015;17(1):61-67.

Prakash B, Shekar M, Maiti B, Karunasagar I, Padiyath S. Prevalence of *Candida* spp. among healthy denture and nondenture wearers with respect to hygiene and age. *J Indian Prosthodont Soc.* 2016;15(1):29-32.

Procópio ALF, da Silva RA, Maciel JG, Sugio CYC, Soares S, Urban VM, et al. Antimicrobial and cytotoxic effects of denture base acrylic resin impregnated with

cleaning agents after long-term immersion. *Toxicol Vitro*. 2018;52:8-13.

Przybyłowska D, Mierzwińska-Nastalska E, Swoboda-Kopeć E, Rubinsztajn R, Chazan R. Potential respiratory pathogens colonisation of the denture plaque of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Gerodontology*. 2016;33(3):322-7.

Puryer J. Denture stomatitis – a clinical update. *Dent Update*. 2017; 43(6):529-30, 533-5.

Quinn DM. The effectiveness, in vitro, of miconazole and keteconazole combined with tissue conditioners in inhibiting the growth of *Candida albicans*. *J Oral Rehabil*. 1985;12(2):177-82.

Radford DR, Challacombe SJ, Walter JD. Denture plaque and adherence of *Candida albicans* to denture-base materials in vivo and in vitro. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*. 1999;10(1):99-116.

Radnai M, Whiley R, Friel T, Wright PS. Effect of antifungal gels incorporated into a tissue conditioning material on the growth of *Candida albicans*. *Gerodontology*. 2010;27(4):292-6.

Ramage G, O'Donnell L, Sherry L, Culshaw S, Bagg J, Czesnikiewicz-Guzik M, et al. Impact of frequency of denture cleaning on microbial and clinical parameters—a bench to chairside approach. *J Oral Microbiol*. 2019;11(1):1538437.

Ramage G, Tomsett K, Wickes BL, López-Ribot JL, Redding SW. Denture stomatitis: A role for *Candida* biofilms. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology*. 2004; 174(1):11-19.

Redding S, Bhatt B, Rawls HR, Siegel G, Scott K, Lopez-Ribot J. Inhibition of *Candida albicans* biofilm formation on denture material. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology*. 2009;107(5):669-72.

Ribeiro DG, Pavarina AC, Dovigo LN, MacHado AL, Giampaolo ET, Vergani CE. Prevalence of *Candida* spp. associated with bacteria species on complete dentures. *Gerodontology*. 2012;29(3):203-8.

Richardson A, Adner N, Nordström G. Persons with insulin-dependent diabetes mellitus: Acceptance and coping ability. *J Adv Nurs*. 2001;33(6):758-63.

Ritchie GM, Fletcher AM, Main DMG, Prophet AS. The etiology, exfoliative cytology,

and treatment of denture stomatitis. *J Prosthet Dent.* 1969; 22(2):185-200.

Rivera C, Droguett D, Arenas-Márquez MJ. Oral mucosal lesions in a Chilean elderly population: A retrospective study with a systematic review from thirteen countries. *J Clin Exp Dent.* 2017;1;9(2):e276-e283.

Rogers TR. Antifungal drug resistance: Does it matter? *International Journal of Infectious Diseases.* 2002; 6 Suppl 1:S47-53.

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 Mar;16(2):e139-43.

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.

Sánchez-Aliaga A, Pellissari CVG, Michel MD, Arrais CAG, Neppelenbroek KH, Urban VM, editors. Análise morfológica e mapeamento de superfície de reembasadores resilientes modificados pela adição de antimicrobianos. In: 30º SBPqO Annual Meeting; 2013; Águas de Lindóia, SP: [anais eletrônicos]. Bauru: USP; 2012 [acesso em 2019 fev 25].

Sánchez-aliaga A, Pellissari CVG, Arrais CAG, Michél MD, Neppelenbroek KH, Urban VM. Peel bond strength of soft lining materials with antifungal to a denture base acrylic resin. *Dent Mater J.* 2016;35(2):194-203.

Sánchez-Vargas LO, Estrada-Barraza D, Pozos-Guillen AJ, Rivas-Caceres R. Biofilm formation by oral clinical isolates of *Candida* species. *Arch Oral Biol.* 2013; 58(10):1318-26.

Sanita P V, Machado AL, Pavarina AC, Massucato EM, Colombo AL, Vergani CE. Microwave denture disinfection versus nystatin in treating patients with well-controlled type 2 diabetes and denture stomatitis: a randomized clinical trial. *Int J Prosthodont.* 2012;25(3):232-44.

Sanitá PV, Vergani CE, Giampaolo ET, Pavarina AC, Machado AL. Growth of *Candida* species on complete dentures: Effect of microwave disinfection. *Mycoses.* 2009;52(2):154-60.

Sanita, Paula Volpato, Pavarina AC, Giampaolo ET, Silva MM, De Oliveira Mima EG, et al. *Candida* spp. prevalence in well controlled type 2 diabetic patients with denture

stomatitis. In: Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology. 2011;111(6):726-33.

Santos VR, Gomes RT, De Mesquita RA, De Moura MDG, França EC, De Aguiar EG, et al. Efficacy of brazilian propolis gel for the management of denture stomatitis: A pilot study. *Phyther Res.* 2008; 22(11):1544-7.

Sato M, Tsuchiya H, Akagiri M, Takagi N, Inuma M. Growth inhibition of oral bacteria related to denture stomatitis by anti-candidal chalcones. *Aust Dent J.* 1997; 42(5):343-6.

Schneid TR. An in vitro analysis of a sustained release system for the treatment of denture stomatitis. *Spec Care Dentist.* 1992;12(6):245-50.

Shafeeq SM, Karthikeyan S, Reddy SM, Karthigeyan S, Manikandan R, Thangavelu A. Cumulative effect of microwave sterilization on the physical properties of microwave polymerized and conventional heat-polymerized acrylic resin. *J Pharm Bioallied Sci.* 2016; 8 Suppl 1:S100-S104.

Shay K. Denture hygiene: A review and update. *Journal of Contemporary Dental Practice.* 2000;15;1(2):28-41.

Ship JA, Pillemer SR, Baum BJ. Xerostomia and the geriatric patient. *Journal of the American Geriatrics Society.* 2002;50(3):535-43.

Shulman JD, Rivera-Hidalgo F, Beach MM. Risk factors associated with denture stomatitis in the United States. *J Oral Pathol Med.* 2005; 34(6):340-6.

Silva MM, Mima EGDO, Colombo AL, Sanitá PV, Jorge JH, Massucato EMS, et al. Comparison of denture microwave disinfection and conventional antifungal therapy in the treatment of denture stomatitis: A randomized clinical study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2012; 114(4):469-79.

Singh K, Chand P, Singh BP, Patel CBS. Study of the effect of surface treatment on the long term effectiveness of tissue conditioner. *J Oral Sci.* 2010; Jun;52(2):261-5.

Soysa NS, Ellepola ANB. The impact of cigarette/tobacco smoking on oral candidosis: An overview. *Oral Diseases.* 2005; 11(5):268-73.

Soysa NS, Samaranayake LP, Ellepola ANB. Antimicrobials as a contributory factor in oral candidosis - A brief overview. *Oral Diseases.* 2008; 14(2):138-43.

Spampinato C, Leonardi D. Candida infections, causes, targets, and resistance mechanisms: Traditional and alternative antifungal agents. *BioMed Research International*. 2013;2013:204237.

Spielman AI. Interaction of Saliva and Taste. *J Dent Res*. 1990; 69(3):838-43.

Sreebny LM, Valdini A. Xerostomia. Part I: Relationship to other oral symptoms and salivary gland hypofunction. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol*. 1988;66(4):451-8.

Srinivasan M, Gulabani M. A microbiological evaluation of the use of denture cleansers in combination with an oral rinse in complete denture patients. *Indian J Dent Res*. 2010;21(3):353-6.

Sun H, Chen Y, Zou X, Li H, Yin X, Qin H, et al. Occurrence of oral Candida colonization and its risk factors among patients with malignancies in China. *Clin Oral Investig*. 2016;20(3):459-67.

Tan HK, Woo A, Kim S, Lamoureux M, Grace M. Effect of denture cleansers, surface finish, and temperature on molloplast B resilient liner color, hardness, and texture. *J Prosthodont*. 2000;9(3):148-55.

Tay LY, Jorge JH, Herrera DR, Campanha NH, Gomes BP, Andre Dos Santos F. Evaluation of different treatment methods against denture stomatitis: A randomized clinical study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2014; 118(1):72-7.

Taylor R, Bulad K. Colonization and deterioration of soft denture lining materials in vivo. *Eur J*. 2008;16(2):50-5.

Thilakumara IP, Jayatilake JAMS, Pallegama RW, Ellepola ANB. Denture-induced stomatitis and associated factors in a group of patients attending a university dental hospital in Sri Lanka. *J Investig Clin Dent*. 2017;8(2).

Truhlar MR, Shay K, Sohnle P. Use of a new assay technique for quantification of antifungal activity of nystatin incorporated in denture liners. *J Prosthet Dent*. 1994; 71(5):517-24.

Tumbarello M, Fiori B, Trecarichi EM, Posteraro P, Losito AR, de Luca A, et al. Risk factors and outcomes of candidemia caused by biofilm-forming isolates in a tertiary care hospital. *PLoS One*. 2012;7(3):e33705.

Ueda T, Kubo K, Saito T, Obata T, Wada T, Yanagisawa K, et al. Surface morphology of silicone soft relining material after mechanical and chemical cleaning.

J Prosthodont Res. 2018;62(4):422-425.

Uludamar A, Gökhan Özyeşil A, Ozkan YK. Clinical and microbiological efficacy of three different treatment methods in the management of denture stomatitis. Gerodontology. 2011;28(2):104-10.

Urban VM, De Souza RF, Galvao Arrais CA, Borsato KT, Vaz LG. Effect of the association of nystatin with a tissue conditioner on its ultimate tensile strength. J Prosthodont. 2006;15(5):295-9.

Urban VM, Lima TF, Bueno MG, Giannini M, Arioli Filho JN, de Almeida ALPF, et al. Effect of the addition of antimicrobial agents on shore a hardness and roughness of soft lining materials. J Prosthodont. 2015;24(3):207-14.

Urban VM, Seó RS, Giannini M, Arrais CAG. Superficial distribution and identification of antifungal/antimicrobial agents on a modified tissue conditioner by sem-eds microanalysis: A preliminary study. J Prosthodont. 2009;18(7):603-10.

Vaezi A, Fakhim H, Khodavaisy S, Alizadeh A, Nazeri M, Soleimani A, et al. Epidemiological and mycological characteristics of candidemia in Iran: A systematic review and meta-analysis. J Mycol Med. 2017; 27(2):146-152.

Vazquez JA, Sobel JD. Miconazole mucoadhesive tablets: A novel delivery system. Clinical Infectious Diseases. 2012; 54(10):1480-4.

Vazquez JA. Optimal management of oropharyngeal and esophageal candidiasis in patients living with HIV infection. HIV/AIDS - Research and Palliative Care. 2010;2:89-101.

Wagner DA, Pipko DJ. The effect of repeated microwave irradiation on the dimensional stability of a specific acrylic denture resin. J Prosthodont. 2015; 24(1):25-31.

Webb BC, Thomas CJ, Whittle T. A 2-year study of Candida-associated denture stomatitis treatment in aged care subjects. Gerodontology. 2005; 22(3):168-76.

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.

Weerasuriya N, Snape J. Oesophageal candidiasis in elderly patients: Risk factors, prevention and management. Drugs and Aging. 2008;25(2):119-30.

Wilson J. The aetiology, diagnosis and management of denture stomatitis. *Br Dent J.* 1998;185(8):380-4.

Yilmaz H, Aydin C, Bal BT, Ocak F. Effects of different disinfectants on physical properties of four temporary soft denture-liner materials. *Quintessence Int.* 2004;35(10):826-34.

Zarb GA. Tratamento protético para pacientes edentulos. Próteses totais convencionais e implantossuportadas. 12. ed. São Paulo: Ed. Santos; 2006.

Zaremba ML, Daniluk T, Rozkiewicz D, Cylwik-Rokicka D, Kierklo a, Tokajuk G, et al. Incidence rate of *Candida* species in the oral cavity of middle-aged and elderly subjects. *Adv Med Sci.* 2006;51 Suppl 1:233-6.

Zhang LW, Fu JY, Hua H, Yan ZM. Efficacy and safety of miconazole for oral candidiasis: A systematic review and meta-analysis. *Oral Diseases.* 2016;22(3):185-95.

Zomorodian K, Haghghi NN, Rajaei N, Pakshir K, Tarazooie B, Vojdani M, et al. Assessment of *Candida* species colonization and denture-related stomatitis in complete denture wearers. *Med Mycol.* 2011; 49(2):208-11.

APÊNDICE

Apêndice 1

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE BAURU-
USP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO CLÍNICA DA ADIÇÃO DE ANTIFÚNGICOS A REEMBASADOR RESILIENTE TEMPORÁRIO NO TRATAMENTO DA ESTOMATITE PROTÉTICA

Pesquisador: Andréa Lemos Falcão Procópio

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 48753215.3.0000.5417

Instituição Proponente: Universidade de São Paulo - Faculdade de Odontologia de Bauru

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.237.365

Apresentação do Projeto:

o Projeto de Pesquisa: AVALIAÇÃO CLÍNICA DA ADIÇÃO DE ANTIFÚNGICOS A REEMBASADOR RESILIENTE TEMPORÁRIO NO TRATAMENTO DA ESTOMATITE PROTÉTICA, Projeto de Pesquisa submetido à FAPESP- para apreciação de bolsa de Doutorado, da pesquisadora Andréa Lemos Falcão Procópio sob a orientação da Profa. Dra. Karin Hermana Neppelenbroek trata-se de um projeto cuja hipótese investigada neste estudo é que o reembasador resiliente modificado pelos antimicrobianos será efetivo no tratamento da estomatite protética.

O estudo será realizado em 60 pacientes usuários de pelo menos uma prótese total (PT) superior, portadores de estomatite protética nas áreas subjacentes às PTs superiores e atendidos na clínica de Prótese da FOB/USP. Os pacientes selecionados serão inicialmente submetidos à anamnese completa e exame clínico detalhado. As próteses dos pacientes também serão inspecionadas em relação à presença de biofilme. O exame criterioso da região palatina será realizado em acordo com a classificação da estomatite protética de acordo com Newton (1962).

Os pacientes serão igualmente distribuídos em quatro grupos (n=15), de acordo com o tratamento: Controle positivo –medicação antifúngica tópica a base de nistatina (Micostatin® suspensão oral 100.000 UI/mL) conforme bula, quatro vezes ao dia por 14 dias; Controle Geral – reembasamento da PT superior com Trusoft™ (Bosworth Company) e uso da

Endereço: DOUTOR OCTAVIO PINHEIRO BRISOLLA 75 QUADRA 9
Bairro: VILA NOVA CIDADE UNIVERSITARIA **CEP:** 17.012-901
UF: SP **Município:** BAURU
Telefone: (14)3235-8356 **Fax:** (14)3235-8356 **E-mail:** cep@fob.usp.br

**FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE BAURU-
USP**

Continuação do Parecer: 1.237.365

mesma por 14 dias; Grupo Nis – reembasamento da PT superior com Trusoft modificado pela adição da MCI de nistatina (Pharmácia Specifica Ltda) (0,032 g/mL) e uso da mesma por 14 dias; Grupo CLX – reembasamento da PT superior com Trusoft modificado pela adição da MCI de diacetato de clorexidina 98% (Acros Organics) (0,064 g/mL) e uso da mesma durante 14 dias. Todos os pacientes serão devidamente orientados a realizar escovação da(s) prótese(s) com sabão de coco e escova macia e removê-las durante o sono. As escovas, o sabão de coco e a medicação serão fornecidos ao paciente pelo pesquisador responsável. Para a avaliação da efetividade dos tratamentos propostos, três métodos serão adotados: exame citológico

por esfregaço, cultura micológica quantitativa e avaliação clínica. Esses métodos serão realizados para todos os pacientes antes (0 dia) e ao final do tratamento (14 dias). Para avaliar a efetividade de cada tratamento, as três avaliações também serão realizadas após 15 e 30 dias decorridos de sua suspensão. Os exames citológicos por esfregaço serão realizados das áreas eritematosas da mucosa palatina e das áreas da superfície interna das próteses totais superiores correspondentes aos eritemas. O material dos esfregaços será coletado por raspagem superficial das áreas selecionadas

com espátulas de metal no31 estéreis e friccionado no centro de uma lâmina para microscopia previamente identificada, a qual será fixada e corada pela técnica do PAS (Periodic Acid-Schiff) (nas dependências do Laboratório de Patologia da FOB/USP. Todo o material coletado não aproveitado será esterilizado e descartado de forma adequada. As lâminas coradas serão analisadas em microscópio óptico (400X) para análise qualitativa dos esfregaços quanto às formas miceliais.

O nível de infecção por formas miceliais será ranqueado por meio de um estudo duplo-cego envolvendo dois examinadores especialistas em Patologia Bucal em: 0 (negativo), 1 (baixo), 2 (moderada) e 3 (alto). Para a cultura micológica quantitativa, serão realizadas coletas de material das áreas eritematosas da mucosa palatina de cada paciente e das áreas da superfície interna da prótese total superior correspondentes aos eritemas com swab oral. Após as coletas, cada swab será individualmente imerso em tubo de ensaio contendo 5,0mL de solução salina estéril, que será agitado vigorosamente por 1min. Uma alíquota de 50L da suspensão será então semeada em uma placa de Petri

contendo ágar Sabourand (Acumedia Manufactures Inc.) com 5g/mL de cloranfenicol. As placas serão incubadas a 37oC por 48h, e, então, as colônias viáveis de Candida spp. serão contadas em um contador de colônias digital para a quantificação dos números de unidades formadoras de

Endereço: DOUTOR OCTAVIO PINHEIRO BRISOLLA 75 QUADRA 9
Bairro: VILA NOVA CIDADE UNIVERSITARIA **CEP:** 17.012-901
UF: SP **Município:** BAURU
Telefone: (14)3235-8356 **Fax:** (14)3235-8356 **E-mail:** cep@fob.usp.br

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE BAURU-
USP



Continuação do Parecer: 1.237.365

colônias (UFC/mL). Após a contagem das colônias, todo o material utilizado será esterilizado e descartado de forma adequada. A avaliação clínica de todos os pacientes será realizada por meio de análise comparativa de fotografias intrabucais do tipo oclusal superior.

Objetivo da Pesquisa:

O presente projeto in vivo tem como proposta avaliar em longo prazo o efeito da incorporação das MCIs de nistatina e diacetato de clorexidina em um reembasador resiliente temporário no tratamento da estomatite protética, bem como comparar a efetividade desse método de liberação gradual de fármacos com o tratamento convencional tópico com nistatina oral em suspensão

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

A concordância do participante com esta pesquisa poderá trazer efeitos adversos pelos medicamentos utilizados como náuseas, vômitos ou diarreia e, raramente, reação alérgica. Além disso, o participante estará sujeito a pequeno desconforto durante as tomadas das fotografias intrabucais e à sensação de gosto desagradável e/ou náusea durante o reembasamento da dentadura.

A concordância do participante com esta pesquisa poderá trazer benefícios como o tratamento da condição patológica instalada e de acompanhamento direto por profissionais especializados da sua condição de saúde bucal, com o correto diagnóstico. Além disso, participante ganhará escova de dente e sabão de coco para limpeza das dentaduras bem como será instruído quanto à realização correta desse procedimento.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O presente projeto que irá avaliar clinicamente o efeito terapêutico de um material resiliente para reembasamento temporário de próteses removíveis, não apresenta nenhum impedimento ético para sua realização. O presente projeto irá avaliar clinicamente o efeito terapêutico de um material resiliente para reembasamento temporário de próteses removíveis, não apresenta nenhum impedimento do ponto de vista ético para sua realização.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

A pesquisadora apresentou a documentação necessária a aprovação da pesquisa, que serão atendidos na clínica de Prótese da Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo (FOB/USP).

Endereço: DOUTOR OCTAVIO PINHEIRO BRISOLLA 75 QUADRA 9
Bairro: VILA NOVA CIDADE UNIVERSITARIA **CEP:** 17.012-901
UF: SP **Município:** BAURU
Telefone: (14)3235-8356 **Fax:** (14)3235-8356 **E-mail:** cep@fob.usp.br

**FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE BAURU-
USP**



Continuação do Parecer: 1.237.365

Recomendações:

a pesquisadora refere que para a seleção dos pacientes, indivíduos usuários de PTs superiores, quem fará a avaliação será um profissional especialista em estomatologia.

Recomenda-se que a pesquisadora identifique quem é este profissional.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não se aplica

Considerações Finais a critério do CEP:

Esse projeto foi considerado APROVADO na reunião ordinária do CEP de 16.09.2015, com base nas normas éticas da Resolução CNS 466/12. No entanto, solicita-se à pesquisadora responsável a identificação do profissional responsável pela avaliação. Ao término da pesquisa o CEP-FOB/USP exige a apresentação de relatório final. Os relatórios parciais deverão estar de acordo com o cronograma e/ou parecer emitido pelo CEP. Alterações na metodologia, título, inclusão ou exclusão de autores, cronograma e quaisquer outras mudanças que sejam significativas deverão ser previamente comunicadas a este CEP sob risco de não aprovação do relatório final. Quando da apresentação deste, deverão ser incluídos todos os TCLEs e/ou termos de doação assinados e rubricados, se pertinentes.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Folha de Rosto	Folha de rosto.pdf	29/07/2015 14:34:14		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_534412.pdf	29/07/2015 23:43:20		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO.docx	25/08/2015 16:29:20	Andréa Lemos Falcão Procópio	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.doc	25/08/2015 16:29:40	Andréa Lemos Falcão Procópio	Aceito
Outros	QUESTIONARIO.pdf	25/08/2015 16:36:35	Andréa Lemos Falcão Procópio	Aceito
Outros	CARTA.jpg	25/08/2015 16:38:38	Andréa Lemos Falcão Procópio	Aceito
Declaração de	DECLARACAO.jpg	25/08/2015	Andréa Lemos	Aceito

Endereço: DOUTOR OCTAVIO PINHEIRO BRISOLLA 75 QUADRA 9
Bairro: VILA NOVA CIDADE UNIVERSITARIA **CEP:** 17.012-901
UF: SP **Município:** BAURU
Telefone: (14)3235-8356 **Fax:** (14)3235-8356 **E-mail:** cep@fob.usp.br

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE BAURU-
USP



Continuação do Parecer: 1.237.365

Pesquisadores	DECLARACAO.jpg	16:42:35	Falcão Procópio	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO_534412.pdf	25/08/2015 16:44:07		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BAURU, 21 de Setembro de 2015

Assinado por:
Izabel Regina Fischer Rubira Bullen
(Coordenador)

Endereço: DOUTOR OCTAVIO PINHEIRO BRISOLLA 75 QUADRA 9
Bairro: VILA NOVA CIDADE UNIVERSITARIA **CEP:** 17.012-901
UF: SP **Município:** BAURU
Telefone: (14)3235-8356 **Fax:** (14)3235-8356 **E-mail:** cep@fob.usp.br



Universidade de São Paulo Faculdade de Odontologia de Bauru

Departamento de Prótese

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Convidamos o (a) senhor (a) a participar da pesquisa intitulada “Avaliação clínica da adição de antifúngicos a reembasador resiliente temporário no tratamento da estomatite protética”, que será conduzida pela cirurgiã-dentista Andréa Lemos Falcão Procópio, aluna do Programa de Pós-graduação em Ciências Odontológicas Aplicadas, área de Reabilitação Oral, sob orientação da Prof^a. Dr^a. Karin Hermana Neppelenbroek, do Departamento de Prótese, da Faculdade de Odontologia de Bauru – Universidade de São Paulo (FOB-USP).

Justificativa: A pesquisa tem como proposta avaliar o efeito de tratamento para estomatite protética com um material macio usado para preencher temporariamente as dentaduras (Trusoft) contendo medicações antimicrobianas em baixas concentrações. Essa abordagem terapêutica tem a vantagem de dar conforto aos tecidos infectados e trata-los por meio da liberação gradual das medicações incorporadas ao material durante o período de 14 dias, que é o equivalente ao tempo de um tratamento convencional.

O estudo será desenvolvido da seguinte maneira:

a) o senhor (a) será devidamente esclarecido sobre os conceitos de estomatite protética e, portanto conscientizado que é portador dessa doença, sendo submetido a exames clínicos e laboratoriais que possibilitarão constatar o estado atual da doença;

b) Os exames laboratoriais corresponderão a procedimentos indolores de raspagem superficial com hastes flexíveis tipo “cotonete” e espátulas de metal estéreis tanto do ‘céu da boca’, nas áreas vermelhas da doença, quanto da superfície interna da dentadura superior que fica em contato com essas regiões; O material coletado será usado única e exclusivamente para esta pesquisa e logo após o seu término será esterilizado e descartado de forma adequada.

c) A avaliação clínica será realizada por meio de fotografias exclusivamente da área afetada pela doença (céu da boca), assegurando sua identidade preservada.

d) Os exames laboratoriais e as fotografias clínicas serão realizados antes do início do tratamento, no dia do término do tratamento e 15 dias e 30 dias depois da suspensão do tratamento.

e) O senhor (a) será sorteado para participar de um dos seguintes tratamentos avaliados na pesquisa: 1) Reembasamento da prótese - a dentadura superior do senhor (a) será preenchida com material macio contendo ou não uma das medicações utilizadas para o tratamento da estomatite protética (nistatina ou clorexidina) durante 14 dias. Neste tratamento, o senhor (a) irá escovar sua dentadura delicadamente com escova macia e sabão de coco e dormir sem ela, deixando-a em copo com água filtrada ou fervida durante o período do sono; 2) tratamento convencional – senhor (a) receberá do pesquisador responsável uma medicação tópica para bochecho (nistatina suspensão oral) comumente utilizada para o tratamento da estomatite protética. Após a remoção da dentadura superior, um conta-gotas do medicamento deverá ser bochechado por um minuto antes de ser cuspid. A aplicação do medicamento deverá ser feita quatro vezes ao dia, após a limpeza da dentadura, por um período de 14 dias.

f) As consultas para exames e aplicação dos tratamentos terão duração aproximada de uma hora.

Ao término da pesquisa, caso o tratamento proposto não seja efetivo no tratamento da estomatite protética, o pesquisador responsável se compromete a realizar o tratamento convencional (com nistatina suspensão oral tópica para bochecho, durante 14 dias) e acompanhar o senhor (a) até que seja estabelecida as condições de normalidade dos tecidos orais.

Riscos e Benefícios: A concordância do senhor (a) com esta pesquisa poderá trazer benefícios como o tratamento da condição patológica instalada e de acompanhamento direto por profissionais especializados da sua condição de saúde bucal, com o correto diagnóstico. Além



Universidade de São Paulo Faculdade de Odontologia de Bauru

Departamento de Prótese

disso, o senhor (a) ganhará escova de dente e sabão de coco para limpeza das dentaduras bem como será instruído quanto à realização correta desse procedimento. A concordância do senhor (a) com esta pesquisa poderá trazer efeitos adversos pelos medicamentos utilizados como náuseas, vômitos ou diarreia e, raramente, reação alérgica. Além disso, o senhor (a) estará sujeito a pequeno desconforto durante as tomadas das fotografias intrabucais e à sensação de gosto desagradável e/ou náusea durante o reembasamento da dentadura.

Acompanhamento: Caso o (a) senhor (a) aceite fazer parte da pesquisa, o acompanhamento durante a realização da mesma será de aproximadamente 44 dias, sendo que durante esse período o (a) senhor (a) virá por cinco (5) vezes à Faculdade de Odontologia de Bauru. Após o período de avaliação do tratamento (30 dias da suspensão), o senhor (a) será encaminhado à Clínica de Prótese Total da Faculdade de Odontologia de Bauru – USP onde receberá o atendimento necessário para que novas dentaduras possam ser confeccionadas ou forradas com material duradouro, segundo a necessidade. Os procedimentos serão realizados quando bem indicados e com seu consentimento. O senhor (a) será orientado quanto à importância dos retornos para avaliação do tratamento e também instruído a respeito da necessidade de colaborar com a limpeza das próteses.

Liberdade de Participação: Os voluntários serão, preferencialmente, funcionários e pacientes das clínicas de prótese da Faculdade de Odontologia de Bauru (FOB-USP), que independentemente do vínculo com a instituição (FOB-USP) terão inteira liberdade de participação, ou não, na pesquisa. A participação nesse estudo é completamente de sua escolha (voluntária) e você poderá desistir a qualquer momento e por qualquer motivo, sem que você seja prejudicado como paciente ou funcionário da Faculdade de Odontologia de Bauru. Fica claro que, sempre que desejar, serão fornecidos esclarecimentos sobre cada uma das etapas da pesquisa e que, a qualquer momento, o senhor (a) poderá recusar a continuar participando do estudo e, também, retirar este seu consentimento, sem que isso lhe traga qualquer penalidade ou prejuízo.

Confidencialidade: As informações conseguidas através da participação não permitirão a identificação do sujeito da pesquisa, exceto aos responsáveis pelo estudo e que a divulgação das mencionadas informações apenas será feita entre os profissionais especializados no assunto. O nome do senhor (a) não será publicado em nenhum momento do estudo. Seus registros serão confidenciais, segundo leis federais, estaduais e locais.

Documentação: Uma via igualmente válida deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido será guardada juntamente com sua ficha clínica no arquivo de estudo e o (a) senhor (a) receberá outra via igualmente válida.

Custos: As despesas para a realização dessa pesquisa são pequenas e serão de inteira responsabilidade do pesquisador que arcará, caso seja necessário, com as despesas de transporte e alimentação dos participantes da pesquisa. Fica claro que a sua participação no estudo não levará a nenhum gasto ou recompensa adicional, sendo totalmente voluntária.

Indenização: Em caso de eventuais danos decorrentes desta pesquisa o voluntário será indenizado.

Contato: Caso haja necessidade de esclarecimento de dúvidas sobre a participação na pesquisa, o senhor (a) deverá entrar em contato com os responsáveis pela pesquisa no Departamento de Prótese da Faculdade de Odontologia de Bauru, no endereço Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75, Vila Universitária, Bauru – SP, tel.: 3235-8277, e para denúncias e/ou reclamações com o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Bauru-USP - Prédio da Pós-Graduação (bloco E - pavimento superior), de segunda à sexta-feira, no horário das **14hs às 17 horas**, em dias úteis. Alameda Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 Vila Universitária – Bauru – SP – CEP 17012-901 Telefone/FAX(14)3235-8356 e-mail: cep@fob.usp.br



Universidade de São Paulo Faculdade de Odontologia de Bauru

Departamento de Prótese

Pelo presente instrumento que atende às exigências legais, o Sr. (a) _____, portador da cédula de identidade _____, após leitura minuciosa das informações constantes neste TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO, devidamente explicada pelos profissionais em seus mínimos detalhes, ciente dos serviços e procedimentos aos quais será submetido, não restando quaisquer dúvidas a respeito do lido e explicado, DECLARA e FIRMA seu CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO concordando em participar da pesquisa proposta. Fica claro que o participante da pesquisa, pode a qualquer momento retirar seu CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO e deixar de participar desta pesquisa e ciente de que todas as informações prestadas tornar-se-ão confidenciais e guardadas por força de sigilo profissional (Art. 9º do Código de Ética Odontológica.).

Por fim, como pesquisador (a) responsável pela pesquisa, DECLARO o cumprimento do disposto na Resolução CNS nº 466 de 2012, contidos nos itens IV.3, item IV.5.a e na íntegra com a resolução CNS nº 466 de dezembro de 2012.

Rubrica do Participante da Pesquisa

Rubrica do Pesquisador Responsável

Por estarmos de acordo com o presente termo o firmamos em duas vias igualmente válidas (uma via para o participante da pesquisa e outra para o pesquisador) que serão rubricadas em todas as suas páginas e assinadas ao seu término, conforme o disposto pela Resolução CNS nº 466 de 2012, itens IV.3.f e IV.5.d.

Bauru, SP, _____ de _____ de _____.

Assinatura do Sujeito da Pesquisa

Andréa Lemos Falcão Procópio
Pesquisador Responsável

O Comitê de Ética em Pesquisa – CEP, organizado e criado pela FOB-USP, em 29/06/98 (Portaria GD/0698/FOB), previsto no item VII da Resolução nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde (publicada no DOU de 13/06/2013), é um Colegiado interdisciplinar e independente, de relevância pública, de caráter consultivo, deliberativo e educativo, criado para defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos.



Universidade de São Paulo Faculdade de Odontologia de Bauru

Departamento de Prótese

Qualquer denúncia e/ou reclamação sobre sua participação na pesquisa poderá ser reportada a este CEP:

Horário e local de funcionamento:

Comitê de Ética em Pesquisa

Faculdade de Odontologia de Bauru-USP - Prédio da Pós-Graduação (bloco E - pavimento superior), de segunda à sexta-feira, no horário das **14h00 às 17 horas**, em dias úteis.

Alameda Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75

Vila Universitária – Bauru – SP – CEP 17012-901

Telefone/FAX(14)3235-8356

e-mail: cep@fob.usp.br

Apêndice 2

**FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
DEPARTAMENTO DE PRÓTESE**

Data: ___ / ___ / ____
Nome: _____
Idade: _____ Data de nascimento: ___ / ___ / ____
Naturalidade: _____ Nacionalidade: _____
Estado Civil: _____ Sexo: _____ Raça: _____
Profissão: _____ Fone profissional: (___) _____
Endereço completo: _____
Cidade: _____ Estado: _____ Fone: (___) _____

QUESTIONÁRIO DE SAÚDE GERAL

Está tomando algum medicamento? () sim () não

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

Qual (is)?

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

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

Qual (is)?

Vícios:

1. Tabaco () sim () não

Fuma () Masca () Tipo _____

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

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

2. Álcool () sim () não

Tipo _____

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

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

3. Outras drogas? () sim () não

Qto/dia/semana? _____

QUESTIONÁRIO DE SAÚDE BUCAL

1. Sente a boca seca? () sim () não

2. Usa prótese removível?

Superior () sim () não Tipo : _____

Inferior () sim () não Tipo : _____

3. Há quanto usa prótese?

Superior _____

Inferior _____

4. Há quanto tempo é desdentado?

Superior _____

Inferior _____

5. Há quanto tempo usa a (s) prótese (s) atual (is) ?

Superior: _____

Inferior: _____

6. Frequência de uso: Contínuo () Esporádico ()

Retira pra dormir? () sim () não

7. Condições da (s) prótese (s) atual (is)?

Suporte Adequado () Inadequado ()

Retenção Adequada () Inadequada ()

Estabilidade Adequada () Inadequada ()

Adaptação Adequada () Inadequada ()

Desgaste dos dentes artificiais: () sim () Não

8. Condições de higienização da (s) prótese (s)

Superior Boa () Satisfatória () Regular () Insatisfatória ()

Placa () sim () não Cálculo () sim () não

Inferior Boa () Satisfatória () Regular () Insatisfatória ()

Placa () sim () não Cálculo () sim () não

9. Condições de higiene bucal

Escovação da língua () sim () não

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

10. Estomatite protética

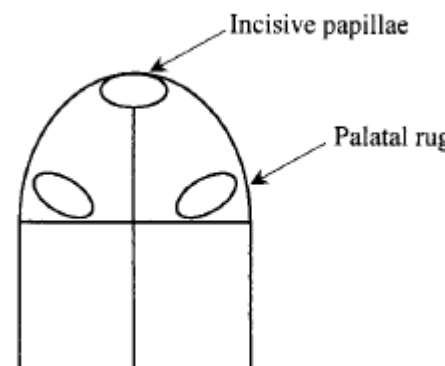
Tipo de estomatite protética : I () II () III ()

Extensão () A () B

Sintomatologia dolorosa () sim () não

Glossite rombóide mediana () sim () não

Queilite angular () sim () não



Apêndice 3

Tabela A1- Ausência (escore 0) e presença (escore 1) de formas miceliais de *Candida* spp. nos tecidos palatinos e médias obtidas pelo escore quantitativo de *Candida* micelial (0 a 4) para as superfícies internas das PTS dos pacientes do Grupo CP para os períodos antes (T0) e ao final (T14) dos tratamentos e após 15 (R15), 30 (R30) e 60 (R60) dias de sua suspensão

Paciente	T0		T14		R15		R30		R60	
	Palato	PTS	Palato	PTS	Palato	PTS	Palato	PTS	Palato	PTS
1	0	1,6	0	0,9	0	0,9	0	1,1	0	1,9
2	1	2,4	1	2,1	1	1	1	1,4	1	1,4
3	1	2,6	1	2,6	1	2,1	1	2,1	1	2,5
4	1	0,9	0	0,1	1	0,9	1	0,5	1	0,4
5	1	1,9	0	0,3	1	0,3	1	0,8	1	1,1
6	1	1,4	1	0,1	1	0,3	1	2,5	1	2,5
7	1	0,8	1	1	1	1,1	1	0,9	1	2,7
8	1	1,1	1	0,8	1	1,1	1	0,9	1	2,5
9	0	2	0	0	0	0,8	0	1,8	0	1,9
10	1	2,6	1	1	1	1,8	1	2	1	2,9

Tabela A2- Ausência (escore 0) e presença (escore 1) de formas miceliais de *Candida* spp. nos tecidos palatinos e médias obtidas pelo escore quantitativo de *Candida* micelial (0 a 4) para as superfícies internas das PTS dos pacientes do Grupo CG para os períodos antes (T0) e ao final (T14) dos tratamentos e após 15 (R15), 30 (R30) e 60 (R60) dias de sua suspensão

Paciente	T0		T14		R15		R30		R60	
	Palato	PTS	Palato	PTS	Palato	PTS	Palato	PTS	Palato	PTS
1	0	0,5	0	0	0	0,5	0	0	0	0
2	0	2	0	1,3	0	0,3	0	0,1	0	0,3
3	0	2,3	0	0,3	0	0,1	1	0	1	0,1
4	0	2,2	0	0	0	0	0	0,3	0	0,6
5	1	0,5	0	0,2	1	0,3	1	0,3	1	0,5
6	1	0,4	0	0	1	0,2	1	0,2	0	0,4
7	1	1,9	1	0	1	0,5	0	0,5	0	0,5
8	1	1,9	0	1,1	1	0,3	1	0,1	1	0,2
9	1	0,6	1	0,3	1	0,5	1	0,9	1	1,3
10	1	2,9	1	0,1	1	0,3	0	0,4	0	0,4

Tabela A4- Ausência (escore 0) e presença (escore 1) de formas miceliais de *Candida* spp. nos tecidos palatinos e médias obtidas pelo escore quantitativo de *Candida* micelial (0 a 4) para as superfícies internas das PTS dos pacientes do Grupo CLX para os períodos antes (T0) e ao final (T14) dos tratamentos e após 15 (R15), 30 (R30) e 60 (R60) dias de sua suspensão

Paciente	T0		T14		R15		R30		R60	
	Palato	PTS	Palato	PTS	Palato	PTS	Palato	PTS	Palato	PTS
1	0	1	0	0	0	0	0	0,1	0	0
2	1	0,4	0	0	0	0	0	0	0	0,1
3	0	1,9	0	0	0	0	0	0	0	0,2
4	1	0,6	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0,9	0	0	0	0,4	0	0	0	0
6	1	2,2	0	1	0	0	0	0	0	0
7	1	1,9	0	0,5	1	0,3	0	0	0	0
8	1	0,8	0	0,1	1	0,4	0	0,2	0	0,5
9	1	0,9	0	0,1	0	0,4	1	0,5	1	0
10	1	2,4	0	0,2	0	0	0	0	0	0

Tabela A5 - ANOVA- 2 fatores para os dados obtidos pelo escore quantitativo de *Candida* micelial da região interna da PTS

Efeito	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Média quadrática	F	P
Grupo (A)	3	35,83	11,94	23,30	0,000000
Período (B)	4	38,39	9,59	41,89	0,000000
A*B	12	10,55	0,87	3,83	0,000043
Erro	144	32,99	0,22		

Tabela A6- Valores originais, médias e desvios-padrão (DP) de UFC/mL de *Candida* spp. para a mucosa palatina e superfície interna das PTS dos pacientes do Grupo CP para os períodos antes (T0) e ao final (T14) dos tratamentos, e após 15 (R15), 30 (R30) e 60 (R60) dias de sua suspensão

Paciente	T0		T14		R15		R30		R60	
	Palato	PTS	Palato	PTS	Palato	PTS	Palato	PTS	Palato	PTS
1	0	360	60	1600	0	400	0	4000	400	10400
2	550	2800000	2000	46800000	400	2760000	800	13600000	800	6400000
3	1200	5600	0	42400	0	48000	800	16400	6400	19600
4	0	9200	0	26000	0	68000	0	56000	0	12800
5	1600	16800	0	9200	0	28400	0	77800	0	27800
6	0	8800	0	0	0	2000	16800	29800	400	5400
7	650	226000	430	78000	150	38000	0	48000	90	60000
8	68800	71000	49600	90000	22000	614000	72000	354000	40000	194000
9	410	720	0	130	60	480	310	920	570	930
10	100	4450	0	40	0	3227	0	4180	0	4400
Médias	7331	314293	5209	4704737	2261	356250	9071	1419110	4866	673533
DP	21604	876153	15609	14790805	6936	865039	22717	4281215	12496	2012909

Tabela A7- Valores originais, médias e desvios-padrão (DP) de UFC/mL de *Candida* spp. para a mucosa palatina e superfície interna das PTS dos pacientes do Grupo CG para os períodos antes (T0) e ao final (T14) dos tratamentos, e após 15 (R15), 30 (R30) e 60 (R60) dias de sua suspensão

Paciente	T0		T14		R15		R30		R60	
	Palato	PTS	Palato	PTS	Palato	PTS	Palato	PTS	Palato	PTS
1	0	3200	0	4000	0	26000	0	0	0	480
2	0	63200	0	800	0	2400	0	800	0	8800
3	0	1600	0	6400	0	400	0	0	80	880
4	0	420000	0	240000	0	480000	0	800	0	26600
5	6000	4400000	0	41400	0	3200	200	800	80	700
6	0	22000	0	0	0	0	0	0	0	2700
7	0	7400	0	8800	0	0	0	0	0	520
8	10800	12000	0	400	400	5200	5600	6000	0	800
9	3020	160000	2000	80000	1600	2250	440	6000	340	13200
10	3080	1540000	490	840000	1360	416180	840	42382	640	1600
Médias	2290	662940	249	122180	336	93563	708	5678	114	5628
DP	3630	139616	634	262925	618	187613	1741	13113	212	8529

Tabela A8- Valores originais, médias e desvios-padrão (DP) de UFC/mL de *Candida* spp. para a mucosa palatina e superfície interna das PTS dos pacientes do Grupo NIS para os períodos antes (T0) e ao final (T14) dos tratamentos, e após 15 (R15), 30 (R30) e 60 (R60) dias de sua suspensão

Paciente	T0		T14		R15		R30		R60	
	Palato	PTS	Palato	PTS	Palato	PTS	Palato	PTS	Palato	PTS
1	1650	9800	70	160	1230	2180	70	2500	430	3980
2	90	6000	0	270	40	180	0	0	1760	5000
3	130	6000	90	0	0	2000	0	4000	0	520
4	270	226000	150	22400	150	18400	0	1000	0	830
5	200	1220	100	600	10	40	0	80	0	0
6	154000	4320	18000	570	16000	700	64000	3760	13400	5070
7	90	3200	0	0	0	0	0	0	0	0
8	30	4170	0	1440	0	110	0	0	0	0
9	0	13200	0	0	0	0	0	30	0	80
10	0	12000	0	0	0	1600	0	1800	0	1870
Médias	15646	28591	1841	2544	1743	2521	6407	1317	1559	1735
DP	48615	69470	5677	6991	5023	5645	20236	1608	4197	2131

Tabela A9- Valores originais, médias e desvios-padrão (DP) de UFC/mL de *Candida* spp. para a mucosa palatina e superfície interna das PTS dos pacientes do Grupo CLX para os períodos antes (T0) e ao final (T14) dos tratamentos, e após 15 (R15), 30 (R30) e 60 (R60) dias de sua suspensão

Paciente	T0		T14		R15		R30		R60	
	Palato	PTS	Palato	PTS	Palato	PTS	Palato	PTS	Palato	PTS
1	0	3200	0	0	0	0	0	0	0	0
2	1200	18800	400	3200	800	2800	800	1080	400	0
3	0	20000	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	2400	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	1320000	0	240000	0	72000	0	4000	0	0
6	0	20000	0	4000	0	0	0	0	0	0
7	38000	5240000	1200	1200	0	800	0	2400	0	800
8	84000	132000	6000	12800	12400	4000	4800	1600	5600	4800
9	13200	4000	6400	0	9600	1600	8400	1600	2760	0
10	57200	6000	4000	320	5100	40	5600	0	5600	0
Médias	19360	676640	1800	26152	2790	8124	1960	1068	1436	560
DP	30183	1654630	2628	75242	4651	22487	3112	1359	2354	1510

Tabela A10- Valores originais da severidade da inflamação da mucosa palatina segundo escore clínico proposto pelo estudo (0 a 24) para os pacientes do Grupo CP para os períodos antes (T0) e ao final (T14) dos tratamentos e após 15 (R15), 30 (R30) e 60 (R60) dias de sua suspensão

Paciente	Período				
	T0	T14	R15	R30	R60
1	24	23	19	19	19
2	16	7	0	16	16
3	15	11	11	15	15
4	23	0	23	24	24
5	20	17	24	24	24
6	16	15	7	16	15
7	24	23	23	23	24
8	23	23	23	23	23
9	16	0	8	6	8
10	24	24	24	24	24
Médias	20,10	14,30	16,20	19,00	19,20
DP	3,92	9,44	8,87	5,86	5,53

Tabela A11- Valores originais da severidade da inflamação da mucosa palatina segundo escore clínico proposto pelo estudo (0 a 24) para os pacientes do Grupo CG para os períodos antes (T0) e ao final (T14) dos tratamentos e após 15 (R15), 30 (R30) e 60 (R60) dias de sua suspensão

Paciente	Período				
	T0	T14	R15	R30	R60
1	16	15	15	15	15
2	16	15	12	16	15
3	16	11	0	0	0
4	24	15	16	3	12
5	24	24	15	15	22
6	16	15	15	15	11
7	24	24	23	23	23
8	14	11	4	4	3
9	23	23	16	16	16
10	24	19	18	18	18
Médias	19,70	17,20	13,4	12,50	13,50
DP	4,37	5,00	6,70	7,47	7,41

Tabela A12- Valores originais da severidade da inflamação da mucosa palatina segundo escore clínico proposto pelo estudo (0 a 24) para os pacientes do Grupo NIS para os períodos antes (T0) e ao final (T14) dos tratamentos e após 15 (R15), 30 (R30) e 60 (R60) dias de sua suspensão

Paciente	Período				
	T0	T14	R15	R30	R60
1	16	0	0	11	9
2	24	0	0	0	8
3	16	11	16	16	11
4	16	0	0	0	0
5	16	0	8	7	7
6	8	3	0	0	3
7	23	0	0	0	10
8	16	0	0	0	0
9	16	0	0	7	7
10	19	0	0	9	11
Médias	17,00	1,40	2,40	5,00	6,60
DP	4,42	3,50	5,39	5,83	4,19

Tabela A13- Valores originais da severidade da inflamação da mucosa palatina segundo escore clínico proposto pelo estudo (0 a 24) para os pacientes do Grupo CLX para os períodos antes (T0) e ao final (T14) dos tratamentos e após 15 (R15), 30 (R30) e 60 (R60) dias de sua suspensão

Paciente	Período				
	T0	T14	R15	R30	R60
1	16	7	0	11	11
2	22	0	0	0	0
3	12	11	11	3	5
4	24	15	0	0	0
5	16	0	15	15	15
6	15	12	11	9	9
7	15	13	13	11	11
8	24	19	19	11	11
9	16	16	16	16	16
10	16	0	0	0	9
Médias	17,60	9,30	8,50	7,60	8,70
DP	4,16	7,14	7,67	6,29	5,50

Tabela A14 - ANOVA- 2 fatores para os dados da severidade da inflamação da mucosa palatina segundo o score clínico

Efeito	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Média quadrática	F	P
Grupo (A)	3	3809,24	1269,75	10,80	0,000033
Período (B)	4	1962,83	490,71	27,19	0,000000
A*B	12	875,61	72,97	4,04	0,000021
Erro	36	4229,24	117,48		