UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU

JOZELY FRANCISCA MELLO LIMA

**Efeito da incorporação de agentes antifúngicos na resistência à
tração e porosidade de materiais resilientes temporários para base
de próteses**

BAURU
2016

JOZELY FRANCISCA MELLO LIMA

Efeito da incorporação de agentes antifúngicos na resistência à tração e porosidade de materiais resilientes temporários para base de próteses

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
2016

Lima, Jozely Francisca Mello

L628e

Efeito da incorporação de agentes antifúngicos na resistência à tração e porosidade de materiais resilientes temporários para base de próteses / Jozely Francisca Mello Lima – Bauru, 2016.

157 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:

FOLHA DE APROVAÇÃO

Dedicatória

Dedico este trabalho a quem sempre me apoiou incondicionalmente, se doando e renunciando de sonhos para que eu fosse em busca dos meus. A vocês, que me guiaram, me protegeram e me fizeram ser hoje quem sou, meus queridos e amados pais (**Luiz e Jozette**), dedico mais essa vitória. Obrigada por serem um grande exemplo de trabalho, de honestidade, de paciência, de fé, de firmeza e principalmente, perseverança.

Dedico também ao meu marido, **Daniel Sartorelli**, pessoa que admiro, que me inspira, meu confidente e que sempre me incentiva, acreditando em mim mais do eu mesma. Meu exemplo de paciência e bondade, o amor que escolhi para a vida toda.

Agradecimentos

A toda minha família e por todo amor que sempre me deram.

À minha vizinha **Maria Alice** que me enche de carinho e mimos. Alguém capaz de deixar de lado suas próprias vontades para trazer sorriso em outra pessoa. Meu exemplo de fé e amor.

À minha **Tia Jeane** querida por todos os conselhos e amor incondicional ao longo de toda a vida. Queria poder estar lendo esse agradecimento especial a você que neste momento está olhando por mim de algum lugar. Mesmo durante a batalha difícil contra o câncer, nunca tive dúvidas de seu carinho e torcida por minhas conquistas. Sua preocupação com meu bem-estar passou várias vezes por cima de sua dor, quando mesmo em momentos sofridos, me dava conselhos e me incentivava. Queria hoje poder te abraçar e dizer que esta vitória também é sua.

Ao meu **Tio Manoel** por toda confiança e apoio, acreditando que eu era capaz de chegar onde eu quisesse. Foi um dos meus maiores professores, tanto profissional quanto de vida e que tenho o prazer de dividir minha vida profissional hoje, compartilhando do meu conhecimento e aprendendo com seu brilhantismo. Obrigada por me ensinar!

À minhas queridas irmãs **Lizia e Leysa** que sempre acreditaram muito em mim. Cada uma com seu jeito peculiar, me ajudaram de alguma forma nessa conquista.

Aos meus primos **Vitor, Alice e Jean** pelos momentos maravilhosos que sempre passamos juntos. É muito gratificante poder aprender e ter aula com você Vitor. Tornar-se uma aluna sua só me enche de orgulho e me acrescentou muito como “ser humano”. Compartilhar de minha experiência profissional com você Alice, aprendendo com suas habilidades com tecnologia me trazem muitas surpresas agradáveis. E dividir momentos de vida com você Jean, que é um grande conhecedor de todos os assuntos da atualidade me incentiva a querer crescer mais, assim como é admirável sua força e firmeza.

À minha **Tia Reângela** que não me permite ficar um dia triste, pois não há ninguém que fique perto dela sem dar boas gargalhadas. Isso é um estilo de vida admirável!

Aos meus sogros **Célia e Carlos** pelas boas histórias e pelo bom convívio. Dividir e aprender com a experiência de vocês é muito gratificante.

Aos meus cunhados adorados **Érick e Mariana** que considero grandes amigos e sempre me apoiaram. Posso afirmar que tê-los na família foi um dos presentes maravilhosos que o casamento me trouxe.

“Quem tem um amigo, mesmo que um só, não importa onde se encontre, jamais sofrerá de solidão; poderá morrer de saudades, mas não estará só. “

Amyr Klink

À **Camilinha**, amiga que a vida me deu desde o dia que nasci e que o destino se encarregou de nos unir para sempre. Contar com sua amizade é engrandecedor e ter a oportunidade de hoje poder dividir com você o meu dia-a-dia é gratificante.

À **Renata, Tati e Waldo**, amigos de longas datas desde a época do colégio. Vocês fazem parte não apenas dessa conquista, mas fazem parte da minha vida.

À **Ciça** minha amiga e líder do “Support team”. Você me faz acreditar que eu sempre posso ir além e o sorriso sincero alegra meu dia. Contar com seu incentivo diário e poder me espelhar na sua força de vontade é maravilhoso. Obrigada por todos esses anos de amizade.

À **Gabizinha** minha amiga eterna. Aquela que prevê até meu futuro porque sabe que sou previsível. Que conhece todos os meus defeitos e ainda assim me ama! Não tenho como agradecer por todos esses anos que passamos juntas e a distância, agora, sempre me deixará com saudades, mas nunca enfraquecerá nossa amizade.

À **Grá** que continua sendo a minha bailarina preferida. Uma amiga espetacular que levantava meu astral e que não mede esforços para compartilhar momentos importantes com os amigos.

Aos meus amigos **Íris, Luizinho, Liminha e Thainã** que são mais que amigos pois já fazem parte da minha família. Só tenho a agradecer por toda a alegria que vocês compartilharam comigo durante todos esses anos. “Existem pessoas em nossas vidas que nos deixam felizes pelo simples fato de terem cruzado o nosso caminho.”

Aos meus amigos de todas as horas, **Lú, Márcio, Renata, Marcelo, Gutão, Rubão e Sama**, que me fazem sempre rir, mesmo quando estou triste. Não existe momento triste quando estou perto de vocês. Sem vocês esta caminhada seria mais dura.

À equipe Nepp (**Juliana, Andrea, Jana, Cindy**) quem estão sempre dispostas a ajudar, em especial à **Jana** que se tornou minha grande amiga e confidente durante os trabalhos de pesquisa na faculdade.

Ao meu grande amigo **Rafael (Pomarola)** que sempre me apoiou e torceu por mim, estando presente nos momentos mais importantes da minha vida.

“Grandes líderes mudam de estilo para levantar a auto-estima de suas equipes. Se as pessoas acreditam nelas mesmas, é impressionante o que elas conseguem realizar.”

Sam Walton

Ao HGeF na pessoa do Cel. Pires no qual tenho a honra de fazer parte, Aos meus amigos da Odontoclínica, Maj. Macedo, Cap. Marcos, Cap Andrea Brasil, Cap Apuleu, Ten. Luna, Ten. Suyane, Ten Aline, Ten. Aline Melo, Ten. Richelle, Ten. Jorgiana, Dra. Rasângela, Sgt Amanda, Sgt Rosângela, Sd Castro e Sd Amaro, em especial ao meu amigo TC Couto que sempre me compreende e me acolheu tão bem, me ensinando um exemplo de liderança e cooperativismo,

À família Centrinho HRAC que me acolheu tão bem, onde tive a honra de fazer especialização em Dentística. Obrigada pelo apoio e companheirismo **Nádia, Aparício e Lilian.**

A todos os meus companheiros de Mestrado e Doutorado de Reabilitação Oral e de outros departamentos da FOB-USP que tive o prazer de conviver e aprender muito. Poderia fazer uma lista gigantesca com todos os nomes que me marcaram nas várias turmas desde 2009 no qual tive o prazer de conhecer e gostaria de agradecer de uma forma geral, pois todos sabem o quão são queridos. Muito Obrigada!

À Faculdade de Odontologia de Bauru, na pessoa de sua Diretora, **Prof. Dra. Maria Aparecida Moreira Machado** pelo apoio e oportunidade desta conquista.

Aos professores da Faculdade de Odontologia de Bauru, especialmente aos professores do Departamento de Prótese que tenho grande carinho e admiração por todos, sem exceção. O conhecimento que cada um me transmitiu faz hoje uma diferença enorme na minha vida profissional e serei eternamente grata a todos. **Prof. Dr. Accácio Lins do Valle, Prof.^a Dr.^a Ana Lúcia Pompéia Fraga de Almeida, Prof. Dr. Carlos dos Reis Pereira de Araújo, Prof. Dr. Gerson Bonfante, Prof. Dr. Estevam Augusto Bonfante, Prof. Dr. José Henrique Rubo, Prof.^a Dr.^a Karin Hermana Neppelenbroek, Prof.^a Dr.^a Lucimar Falavinha Vieira, Prof. Dr. Luiz Fernando Pegoraro, Prof. Dr. Paulo César**

Rodrigues Conti, Prof. Dr. Pedro César Garcia de Oliveira, Prof. Dr. Renato de Freitas, Prof.^a Dr.^a Simone Soares, Prof. Dr. Vinícius Carvalho Porto, Prof. Dr. Wellington Cardoso Bonachela. Serei fã de vocês onde quer que eu esteja.

Às turmas de graduação que tive o prazer de conviver durante minha experiência como pós-graduanda nesta casa, em especial, à **turma LI** no qual fui homenageada e acolhida com tanto carinho. Sempre tive muitas dúvidas e inseguranças, mas era durante a clínica com vocês que me sentia uma pessoa mais útil. Muito obrigada por todo aprendizado que vocês me deram. Foi muito bom poder estar por perto. Obrigada pelo companheirismo de vocês.

Aos funcionários da Faculdade de Odontologia de Bauru principalmente à **Ivana, Cláudia, Cleide, Reivanildo, Marcelo, Alegria, Ana Silvia, Débora, Val e Ziley** pela boa convivência, amizade e por sempre se mostrarem disponíveis a ajudar quando precisei. Mais do que colegas de trabalho, levarei comigo a amizade e carinho de vocês.

Às funcionárias da clínica de pós-graduação **Hebe e Cleusa** por tornarem minhas manhãs e tardes tão agradáveis. É um luxo poder partilhar momentos com vocês.

À FAPESP pelo apoio financeiro para realização desta pesquisa, por meio dos auxílios concedidos (Processos 2010/07932-8; 2011/06479-0; 2012/11074-2 e 2013/10400-6).

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES pela bolsa, auxílio indispensável para realização deste trabalho.

Obrigada!

Agradecimento Especial

À minha orientadora, **Profª Drª Karin Hermana Neppelenbroek** que durante todos esses anos me acolheu, orientou, incentivou e ensinou coisas que eu nunca achei que poderia. Me ensinou muito além da Odontologia, me dando conselhos e me ajudando a melhorar como pessoa. Cada dia que passei sob sua orientação foi uma dádiva onde transformei sonhos impossíveis em realidade e dificuldades em oportunidades. À minha “Chefinha” faltarão adjetivos e agradecimentos. Será motivo de orgulho para mim levar seu nome como minha eterna orientadora. Se eu pudesse escolher, lhe escolheria um milhão de vezes. Sua garra, sabedoria, força de vontade, firmeza, o referencial de família, amizade, trabalho em equipe e amor à docência servirão como referência para mim daqui pra frente!

Muito Obrigada!

Tente uma, duas, três vezes e se possível tente a quarta, a quinta e quantas vezes for necessário. Só não desista nas primeiras tentativas, a persistência é amiga da conquista. Se você quer chegar a onde a maioria não chega, faça o que a maioria não faz.

Bill Gates

RESUMO

Este estudo investigou a resistência à tração (ou limite de resistência à tração- LRT) e a porosidade de reembasadores resilientes temporários modificados por concentrações inibitórias mínimas (CIMs) de agentes antifúngicos para o biofilme *Candida albicans* (SC5314). Para os testes de LRT, corpos de prova em forma de halteres (n=7) com uma área transversal de 33 mm x 6 mm x 3 mm foram produzidos para os materiais resilientes (Trusoft e Softone) sem (controle) ou com incorporação de cinco fármacos em suas CIMs: nistatina- 0,032 g; diacetato de clorexidina- 0,064; cetoconazol- 0,128 g; miconazol- 0,256 g; itraconazol-0,256 g (grama de fármaco por grama de pó de material resiliente). Após a plastificação, as amostras foram imersas em água destilada a 37°C durante 24 h, 7 e 14 dias e, então, testadas em tensão em uma máquina universal de ensaios (EMIC DL-500 MF) a 40 mm/min. A porosidade foi mensurada por absorção de água, com base na exclusão do efeito plastificante. Inicialmente, determinou-se por isotermas de sorção, que a solução de armazenagem adequada para os corpos de prova (65 mm x 10 mm x 3,3 mm) de ambos os materiais foi o cloreto de cálcio anidro a 50% (S50). Assim, o fator de porosidade (FP) foi calculado para os grupos de estudo (n=10) formados por espécimes sem (controle) ou com incorporação de fármaco em suas CIMs (nistatina, clorexidina ou cetoconazol) após a armazenagem em água destilada ou S50 por 24 h, 7 e 14 dias. Os dados de resistência à tração (MPa) e percentagem de alongamento (%) foram submetidos à ANOVA de 3 fatores seguida pelo teste de Tukey ($\alpha=0,05$). Os dados de porosidade foram analisados estatisticamente por ANOVA de medidas repetidas para 4 fatores e teste de Tukey ($\alpha=0,05$). Ao final de 14 dias, a resistência à tração para ambos os materiais foi significativamente menor nos grupos modificados pelo miconazol e itraconazol em relação aos outros grupos ($P<0,0001$), que não mostraram diferenças significativas entre si ($P>0,05$). Após 7 e 14 dias em água, o miconazol e itraconazol adicionados a ambos os materiais resultaram em percentagens significativamente menores de alongamento em comparação com os outros fármacos e ao controle ($P<0,0001$), que foram semelhantes entre si ($P>0,05$). O cetoconazol não resultou em alterações significativas no FP para ambos os materiais resilientes em água ao longo de 14 dias ($P>0,05$). Em comparação aos controles, houve aumento dos FPs do Softone e

Trusoft aos 14 dias de imersão em água somente após a adição de nistatina e clorexidina e de clorexidina, respectivamente ($P<0,05$). Ambos os materiais não apresentaram alterações significativas no FP em até 14 dias de imersão na S50, em comparação aos controles ($P>0,05$). Em todas as condições experimentais, os FPs do Softone e Trusoft foram significativamente menores quando imersos em S50 em comparação com a água destilada ($P<0,05$). Concluiu-se que a adição de nistatina, clorexidina e cetozonazol nas CIMs para o biofilme de *C. albicans* não resultou em efeitos deletérios na resistência à tração e na percentagem de alongamento dos materiais resilientes temporários para base de prótese até o período de 14 dias. A adição de antifúngicos nas CIMs não resultou em efeitos adversos à porosidade de ambos os materiais resilientes temporários em diferentes períodos de imersão em água, com exceção da clorexidina e nistatina no Softone e clorexidina no Trusoft aos 14 dias. Não foram observados efeitos deletérios para a porosidade de ambos os materiais resilientes modificados com as CIMs dos fármacos durante os 14 dias de imersão na S50.

Palavras-chave*: Anti-Infecciosos; Estomatite sob Prótese; Reembasadores de Dentadura; Resistência à tração; Porosidade.

*Em acordo com os Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) disponível no domínio <http://decs.bvs.br>

ABSTRACT

Effect of incorporation of antifungal agents on the ultimate tensile strength and porosity of temporary soft denture liners

This study investigated the tensile strength (ultimate tensile strength- UTS) and porosity of temporary soft denture liners modified by minimum inhibitory concentrations (MICs) of antifungal agents for *Candida albicans* biofilm (SC5314). For UTS tests, dumbbell-shaped specimens (n=7) with a central cross-sectional area of 33 mm x 6 mm x 3 mm were produced by resilient materials (Trusoft and Softone) without (control) or with incorporation of five drugs at MICs: nystatin- 0.032 g; chlorhexidine diacetate-0.064 g; ketoconazole- 0.128 g; miconazole- 0.256 g; itraconazole- 0.256 g (each per gram of soft liner powder). After plasticization, specimens were immersed in distilled water at 37°C for 24 h, 7 and 14 days, and then tested in tension in a universal testing machine (EMIC DL-500 MF) at 40 mm/min. The porosity was measured by water absorption, based on exclusion of the plasticizer effect. Initially, it was determined by sorption isotherms that the adequate storage solution for specimens (65 mm x 10 mm x 3.3 mm) of both materials was 50% anhydrous calcium chloride (S50). Then, the porosity factor (PF) was calculated for the study groups (n=10) formed by specimens without (control) or with drug incorporation at MICs (nystatin, chlorhexidine or ketoconazole) after storage in distilled water or S50 for 24 h, 7 and 14 days. Data of tensile strength (MPa) and elongation percentage (%) were submitted to 3-way ANOVA followed by Tukey's test ($\alpha=0.05$). Data of porosity were statistically analyzed by 4-way repeated measures ANOVA and Tukey's test ($\alpha=0.05$). At the end of 14 days, the tensile strength for both materials was significantly lower in the groups modified by miconazole and itraconazole compared to the other groups ($P<0.0001$), which showed no significant difference between them ($P>0.05$). After 7 and 14 days in water, miconazole and itraconazole added into both materials result in significant lower elongation percentages compared to the other drugs and control ($P<0.0001$), which were similar to each other ($P>0.05$). Ketoconazole resulted in no significant changes in PF for both liners in water over 14 days ($P>0.05$). Compared to the controls, Softone and Trusoft PFs were increased at 14-day water immersion only after addition of nystatin

and chlorhexidine, and chlorhexidine, respectively ($P<0.05$). Both materials showed no significant changes in PF in up to 14 days of S50 immersion, compared to the controls ($P>0.05$). In all experimental conditions, Softone and Trusoft PFs were significantly lower when immersed in S50 compared to distilled water ($P<0.05$). It was concluded that the addition of the nystatin, chlorhexidine and ketoconazole at MICs for *C. albicans* biofilm resulted in no harmful effects on the ultimate tensile strength and elongation percentage of the temporary soft denture liners up to 14-day period. The addition of antifungals at MICs resulted in no detrimental effects for the porosity of both temporary soft liners in different periods of water immersion, except for chlorhexidine and nystatin in Softone and chlorhexidine in Trusoft at 14 days. No deleterious effect was observed for the porosity of both soft liners modified by the drugs at MICs over 14 days of S50 immersion.

Key-words*: Anti-Infective Agents; Stomatitis, Denture; Denture Liners; Tensile strength; Porosity.

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

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	27
2.1	Estomatite protética: Etiologia, patogênese e terapêutica	29
2.2	Avaliação de propriedades dos materiais para base de prótese	48
2.3	Adição de antimicrobianos em materiais para base de prótese	69
3	PROPOSIÇÃO	85
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	89
4.1	Materiais	91
4.2	Parte I: Metodologia de resistência à tração.....	92
4.2.1	Confecção dos corpos de prova	92
4.2.2	Teste de resistência à tração.....	94
4.3	Parte II: Metodologia de porosidade	95
4.3.1	Confecção dos corpos de prova	95
4.3.2	Determinação do tempo para secagem e sorção de água	97
4.3.3	Determinação da <i>aw</i> ótima	99
4.3.4	Grupos de estudo	100
4.3.5	Cálculo do fator porosidade (FP).....	101
4.4	Planejamento experimental	102
5	RESULTADOS	105
5.1	Parte I: Resistência à tração.....	107
5.2	Parte II: Porosidade	111

6	DISCUSSÃO	119
6.1	Parte I: Resistência à tração.....	121
6.2	Parte II: Porosidade	128
7	CONCLUSÕES	137
7.1	Parte I: Resistência à tração.....	139
7.2	Parte II: Porosidade	139
7.3	Conclusões gerais	140
	REFERÊNCIAS	141

Introdução

1 INTRODUÇÃO

As espécies do gênero *Candida* vivem como comensais em diferentes partes do organismo na maioria dos indivíduos saudáveis. Sobre certas condições, esses microrganismos podem agir como patógenos e colonizar os tecidos e as mucosas, causando infecções locais e sistêmicas (SALERNO et al., 2011). A infecção da cavidade oral pela *Candida* spp., denominada candidose bucal, é considerada a infecção fúngica mais comum em humanos, acometendo principalmente idosos e usuários de próteses totais (AKPAN; MORGAN, 2002).

A candidose bucal pode evoluir para a região orofaríngea em pacientes com imunocomprometimento, especialmente nos portadores da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) (AKPAN; MORGAN, 2002). Quando há envolvimento do esôfago, os pacientes podem apresentar dificuldade de deglutição dos alimentos, o que leva a deficiências nutricionais e debilidade sistêmica (LALLA et al., 2010). Além disso, a constante aspiração e deglutição das espécies fúngicas em indivíduos com a saúde geral comprometida tem sido associada à disseminação da candidose, o que pode acarretar em fungemia (DAHIYA et al., 2003), infecção sistêmica relacionada a alta taxa de mortalidade (71-79%) entre esses pacientes (ABELSON et al., 2005; COLOMBO et al., 1999; COSTA et al., 2000; DIMOPOULOS et al., 2007).

Quando está relacionada à utilização de próteses removíveis, parciais ou totais, a candidose bucal é denominada estomatite protética. Essa lesão, considerada a mais comum entre os usuários dessas próteses, apresenta prevalência de aproximadamente 65%, tendo sido associada a múltiplos fatores etiológicos (BARBEAU et al., 2003; COELHO; SOUSA; DARE, 2004). Entre os fatores sistêmicos podem ser citados debilidade física, alergia, idade, gênero, uso de tabaco, patologias endócrinas, deficiências nutricionais, utilização por períodos prolongados de antibióticos de amplo espectro, utilização de medicamentos imunossupressores e a presença de doenças causadoras de alterações nos mecanismos imunológicos (DOROCKA-BOBKOWSKA et al., 2010; FIGUEIRAL et al., 2007; PEREZOUS et al., 2005; SALERNO et al., 2011). Ainda, fatores locais

associados às próteses têm sido considerados determinantes no desenvolvimento ou manutenção da estomatite protética, entre os quais a presença de biofilme, trauma local causado pela prótese, hipossalivação e xerostomia, uso contínuo da prótese e redução do pH salivar (BARBEAU et al., 2003; FIGUEIRAL et al., 2007; LOMBARDI; BUDTZ-JORGENSEN, 1993; NEPPELENBROEK et al., 2008; TORRES et al., 2002).

Apesar de sua etiologia ser considerada atualmente como multifatorial, a infecção por *Candida* tem sido relatada como o principal fator associado a essa patologia, acometendo cerca de 93% dos indivíduos (BANTING; HILL, 2001; BUDTZ-JORGENSEN; BERTRAM, 1970; RAMAGE et al., 2004; RITCHIE et al., 1969; WEBB et al., 1998). Entre as espécies de *Candida* relacionadas à estomatite protética, a *Candida albicans* é a mais prevalente, sendo identificada em 50 a 98% dos casos (BAENA-MONROY et al., 2005; BARBEAU et al., 2003; COCO et al., 2008; GENDREAU; LOEWY, 2011; MCMULLAN-VOGEL et al., 1999; MIMA et al., 2012; PIRES et al., 2002; SALERNO et al., 2011; SANITA et al., 2011; VANDEN ABEELE et al., 2008). Essas células fúngicas apresentam capacidade de adesão não apenas à mucosa bucal, mas fundamentalmente à resina acrílica da base das próteses, colonizando-a em profundidade, especialmente nas áreas mais irregulares e porosas, correspondentes às regiões não polidas das próteses (internas) (BUDTZ-JORGENSEN, 1990; DAVENPORT, 1970; PEREIRA-CENCI et al., 2008; PURI et al., 2008). Vários estudos demonstraram maior colonização por *Candida* spp. nas superfícies internas das próteses em relação aos tecidos de suporte dos pacientes (ARENDORF; WALKER, 1987; BANTING; HILL, 2001; MIMA et al., 2012; NEPPELENBROEK et al., 2008; VANDEN ABEELE et al., 2008). Esses aspectos sugerem que o tratamento para a estomatite protética deve ser direcionado primariamente à prótese uma vez que o ambiente propício para a proliferação de *Candida* spp. desenvolvido na superfície tecidual da base protética associado à alta afinidade desses microrganismos pelo substrato acrílico podem funcionar como uma fonte de reinfecção da mucosa do paciente (DAVENPORT, 1972; DAVENPORT, 1970; IACOPINO; WATHEN, 1992; NEPPELENBROEK et al., 2008; SANTARPIA et al., 1990)

Antifúngicos tópicos e ou sistêmicos são efetivos em minimizar os sinais e sintomas da estomatite protética (BANTING; HILL, 2001; NEPPELENBROEK et al., 2008). No entanto, esses fármacos não conseguem atingir uma concentração antifúngica terapêutica nas superfícies internas das próteses, que acabam por reinfectar a mucosa rapidamente após a suspensão do tratamento (BANTING; HILL, 2001; IACOPINO; WATHEN, 1992; MATHABA; DAVIES; WARMINGTON, 1995; NEPPELENBROEK et al., 2008; YARBOROUGH et al., 2016). Assim, um tratamento efetivo para a estomatite protética deve idealmente conter uma terapia baseada na liberação de fármacos antifúngicos que possam atingir concentrações terapêuticas suficientes para eliminar as espécies de *Candida* tanto dos tecidos de suporte quanto das superfícies infectadas das próteses. Neste contexto, a incorporação de agentes antimicrobianos em reembasadores resilientes temporários para base de próteses pode funcionar como um tratamento em potencial para a estomatite protética por várias razões (ADDY, 1981; AMIN et al., 2009; CHOPDE et al., 2012; CHOW; MATEAR; LAWRENCE, 1999; FALAH-TAFTI et al., 2010; IQBAL; ZAFAR, 2016; MATSUURA et al., 1997; RADNAI et al., 2010; SCHNEID, 1992; SKUPIEN et al., 2013; THOMAS; NUTT, 1978; TRUHLAR; SHAY; SOHNLE, 1994): 1) o contato do biofilme protético com os tecidos infectados é eliminado, impedindo a reinfecção via prótese (MARIN ZULUAGA; GOMEZ VELANDIA; RUEDA CLAUIJO, 2011; MILTON ROCHA GUSMAO; PEREIRA, 2013; SKUPIEN et al., 2013; THOMAS; NUTT, 1978); 2) diferentemente dos antifúngicos tópicos convencionais, a liberação gradual dos fármacos através dos materiais resilientes, consegue manter uma concentração terapêutica efetiva nos sítios infectados, mesmo sob os efeitos diluentes da salivagem/deglutição e movimentos da língua (CARTER; KERR; SHEPHERD, 1986); 3) a terapia se baseia na utilização da prótese reembasada, reduzindo a necessidade de participação do paciente (RADNAI et al., 2010; TRUHLAR; SHAY; SOHNLE, 1994); 4) o reembasamento com o material macio permite a readaptação da base protética aos tecidos de suporte, minimizando o trauma tecidual que agrava a infecção e promovendo conforto ao paciente (MARIN ZULUAGA; GOMEZ VELANDIA; RUEDA CLAUIJO, 2011); 5) o tempo de utilização de uma prótese reembasada com material resiliente temporário é curto, semelhante a do tratamento com antifúngico tópico convencional (14 dias),

com a vantagem de recuperar os tecidos injuriados e prevenir o acúmulo de biofilme até a substituição da prótese ou reembasamento com materiais de longa duração (SCHNEID, 1992; TRUHLAR; SHAY; SOHNLE, 1994).

Apesar dessas vantagens, a modificação de materiais poliméricos/plásticos pela adição de substâncias antifúngicas em concentrações comercialmente disponíveis pode afetar suas propriedades (IQBAL; ZAFAR, 2016), tais como morfologia de superfície (ADDY, 1981; URBAN et al., 2009), módulo de elasticidade e peso (ADDY, 1981), resistência à tração (ADDY, 1981; URBAN et al., 2006), dureza (ADDY, 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 (ALCANTARA et al., 2012).

Visando preservar as propriedades dos materiais modificados, Bueno et al. 2015 determinaram as concentrações inibitórias mínimas (CIMs) para biofilme de *C. albicans* de agentes antifúngicos (nistatina, miconazol, cetoconazol, itraconazol e clorexidina) incorporados em reembasadores resilientes temporários (Trusoft e Softone). Os autores observaram que todos os fármacos testados em ambos os materiais foram capazes de inibir 90% ou mais do biofilme de *C. albicans* em até 14 dias de incubação. Entretanto, para que esse protocolo possa ser recomendado clinicamente para o tratamento da estomatite protética, é necessário avaliar o efeito da adição desses fármacos em suas CIMs sobre as propriedades da matriz polimérica modificada.

Entre as propriedades mecânicas importantes de polímero, destaca-se a resistência à tração que é a resistência máxima do material sob tensão, proporcionando informações sobre sua qualidade (OGUZ et al., 2007). Um material rígido com resistência à tração e alongamento inadequados não poderia ser utilizado como material reembasador resiliente (KULAK-OZKAN; SERTGOZ; GEDIK, 2003; OGUZ et al., 2007). Embora borrachas como condicionadores de tecido e reembasadores resilientes estejam sujeitas apenas às forças compressão e cisalhamento, as propriedades tensionais são consideradas relevantes na análise geral do desempenho e qualidade desses materiais por estarem clinicamente relacionadas à capacidade do material em resistir à ruptura quando a prótese

reembasada apresenta-se em função, sob condições deletérias de umidade bucal (URBAN et al., 2006).

Outra propriedade que apresenta grande relevância, inclusive clínica, é a porosidade, considerada um fenômeno complexo, de origem multifatorial (BAYNE et al., 1975), que pode até mesmo enfraquecer as bases das próteses (GETTLEMAN; NATHANSON; MYERSON, 1977; PERO et al., 2011). As microporosidades existentes nas superfícies protéticas também podem facilitar a adesão e proliferação de microrganismos (GEDIK; OZKAN, 2009), interferindo com os procedimentos mecânicos e químicos de limpeza das próteses. Materiais resilientes são considerados mais propensos à adesão microbiana do que as resinas acrílicas termopolimerizáveis (SARAC et al., 2007) por apresentarem maior capacidade de interagir com microrganismos por sua textura superficial e afinidade físico-química com os mesmos (RADFORD; CHALLACOMBE; WALTER, 1999). Por ser uma característica indesejável, a presença de poros nos materiais de base para próteses tem sido investigada por meio de diversos métodos, entre os quais o que associa a porosidade com o volume de água absorvida pelo polímero (BAFILE et al., 1991; COMPAGNONI et al., 2004; PERO et al., 2008). Apesar da importância do efeito plastificante da água no comportamento clínico dos materiais a base de acrílico para prótese, esse fator não tem sido considerado nos estudos relacionados, que também utilizaram apenas a armazenagem em água para a avaliação da porosidade dos corpos de prova (BAFILE et al., 1991; COMPAGNONI et al., 2004; PERO et al., 2008). Assim, para a análise adequada da porosidade é necessário utilizar um método de sorção de água, considerando a eliminação do efeito plastificante da água na estrutura polimérica. A armazenagem da resina acrílica em soluções aquosas saturadas de sais permite variar a atividade de água, possibilitando estimar uma solução na qual o efeito plastificante da água não seja atuante (atividade de água ótima) (SCHMITZ; SMITH, 1988). Considerando esses aspectos, Pero et al. (2011) validaram um método de avaliação de porosidade por meio da sorção de água a partir da determinação de uma solução adequada de armazenagem (S) de resinas acrílicas para base de prótese. Os autores constataram que na água destilada o efeito plastificante não foi eliminado e que a a_w ótima variou de acordo

com o tipo de resina acrílica utilizada, mas não com o formato do corpo de prova para um mesmo material.

Apesar da relevância da resistência à tração e porosidade no desempenho clínico dos materiais resilientes temporários ao longo de sua vida útil, ainda não é conhecido o efeito da adição de fármacos antifúngicos em suas CIMs nestas propriedades, o que é relevante já que esta modificação tem se mostrado eficiente na inibição de biofilme de *C. albicans*, principal patógeno envolvido no desenvolvimento da estomatite protética.

Revisão de Literatura

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ESTOMATITE PROTÉTICA: ETIOLOGIA, PATOGÊNESE E TERAPÊUTICA

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

Ritchie et al. (1969) avaliaram a etiologia da estomatite protética, relacionando-a com fatores locais e sistêmicos. Foram selecionados 100 pacientes usuários de próteses removíveis superiores, parciais ou totais, com diagnóstico de estomatite protética segundo a classificação de Newton. A presença de trauma pelo uso das próteses foi clinicamente avaliada. Informações como idade, frequência de utilização e higienização das próteses foram coletadas dos pacientes. Foi também obtida sua história médica de alergias, discrasias sanguíneas, alterações hormonais, nutricionais e uso de medicamentos também foi obtida. Testes alérgicos e exames de sangue foram realizados nos pacientes com histórico de alergias ou que não responderam a tratamentos prévios. A mucosa palatina dos pacientes foi examinada quanto à presença de infecção por bactérias e fungos a partir de semeadura do material coletado dessa área por *swab* oral. A presença de *Candida* e/ou bactérias na mucosa palatina dos pacientes foi ainda analisada por exames citológicos por esfregaço e a avaliação histológica desse sítio foi realizada por biópsias. O tratamento dos pacientes com hiperemia inicial na mucosa palatina consistiu apenas

em substituição das próteses antigas. Aqueles com hiperemia difusa que apresentaram infecção fúngica na análise dos esfregaços foram tratados com nistatina tópica. Para os pacientes com hiperemia difusa que demonstraram nos exames de esfregaço outros patógenos além de fungos, o tratamento foi realizado com um agente tópico de ação antibiótica e antifúngica (Remiderm). Os pacientes com intolerância à nistatina foram tratados com anfotericina B e para os com queilite angular severa e infecção mista (bacteriana e fúngica), utilizou-se um creme preparado com várias substâncias ativas, incluindo nistatina, gramicidina, neomicina e triancinolona (Triadcortyl). Os pacientes foram avaliados após 1, 3, 6 e 12 meses da suspensão do tratamento. Os resultados demonstraram que os principais agentes etiológicos da estomatite protética foram o trauma causado pelas próteses e a infecção por *C. albicans*. Os pacientes com doenças debilitantes apresentaram maior predisposição à estomatite e a incidência foi maior em mulheres na fase de menopausa. A presença de alergias não demonstrou ser um fator etiológico para essa patologia. No entanto, segundo os autores, possíveis reações de hipersensibilidade na mucosa bucal podem ocorrer devido à presença de monômero residual nas resinas acrílicas das bases após a polimerização e à absorção de agentes de limpeza pelas irregularidades da superfície interna das próteses. Foi observado que 74% dos pacientes com estomatite protética não removiam as próteses da cavidade bucal no período noturno, o que foi associado a menor resistência dos tecidos bucais aos processos infecciosos. Os agentes antifúngicos utilizados (nistatina e anfotericina B) foram considerados efetivos para o tratamento da estomatite protética e a nistatina foi mais aceita quando administrada na forma de creme. O tratamento com anfotericina B foi considerado satisfatório para a maioria dos pacientes, com a vantagem de apresentar sabor mais agradável que a nistatina. O Triadcortyl foi sugerido como o tratamento mais efetivo para a queilite angular. A recorrência de infecção por *C. albicans* foi observada em 48% dos pacientes após 30 dias do término do tratamento. As avaliações após os tratamentos realizados também demonstraram que a infecção fúngica foi recorrente em cinco pacientes após 3 meses, em um paciente após 6 meses e em dois pacientes após 12 meses.

Em 1970, Davenport avaliou a distribuição e a concentração de *Candida* associadas à estomatite protética. Foram selecionados pacientes usuários de

próteses removíveis, 50 com estomatite protética e 50 sem alterações na mucosa como grupo controle. Exames citológicos por esfregaço foram obtidos da mucosa palatina e da superfície interna das próteses removíveis, parciais ou totais, de todos os pacientes. Para diferenciar a *C. albicans* de outras espécies, amostras de saliva estimulada dos pacientes foram cultivadas em ágar comercial e soro de cavalo. A presença de *Candida* na mucosa palatina e na superfície interna das próteses foi também avaliada por meio de culturas em placas de ágar Sabouraud. Foram realizadas biópsias da mucosa palatina inflamada de dez pacientes. A análise dos esfregaços das próteses revelou a presença de leveduras em 94% dos pacientes com estomatite protética e em 30% dos pacientes do grupo controle. A avaliação quantitativa dos esfregaços evidenciou maior número de células de *Candida* nos esfregaços obtidos das próteses em relação aos obtidos na mucosa palatina. As culturas das amostras de saliva demonstraram a presença de *C. albicans* em 70% dos pacientes com estomatite protética e 14% do grupo controle. As culturas em ágar Sabouraud evidenciaram o mesmo padrão de distribuição de *Candida* obtido com os esfregaços. Não foram observadas células de *Candida* em nenhuma das secções das biópsias obtidas. O autor sugeriu que a estomatite protética está relacionada à proliferação de *Candida*, a qual é primariamente associada à presença de placa na superfície interna das próteses.

A importância da *C. albicans* na patogenia da estomatite protética foi discutida por Budtz-Jørgensen (1974). Segundo o autor, a presença de próteses removíveis parciais ou totais na cavidade bucal é considerada um fator predisponente primário para o desenvolvimento dessa patologia. Sua patogenia pode ser agravada pela infecção por *C. albicans*, comumente associada à utilização de próteses com bases acrílicas. Apesar de a infecção fúngica ser facilmente tratada, as recorrências são frequentes e o comprometimento de outras áreas da cavidade bucal, como língua e comissura labial, é habitualmente verificado. Em indivíduos saudáveis, a estomatite protética não é considerada uma condição patológica grave. Entretanto, a candidose bucal pode evoluir para quadros de infecções sistêmicas em pacientes debilitados, principalmente quando submetidos a terapias prolongadas com antibióticos, corticosteróides ou medicamentos imunossupressores. Os efeitos patogênicos das espécies de *Candida* estão ligados

à degradação da superfície epitelial da mucosa pela ação de enzimas e ao desenvolvimento de resposta hipersensitiva tardia, não sendo observada a penetração tecidual na mucosa palatina de pacientes infectados. As endotoxinas produzidas por *Candida* spp. podem agravar as lesões decorrentes do uso de próteses removíveis. Considerando a significância das espécies de *Candida* no desenvolvimento da estomatite protética, o autor sugeriu ser imprescindível prevenir a colonização da mucosa palatina e da superfície protética por estes microrganismos. Entre as medidas de prevenção, foram citadas higienização adequada das próteses, cuidados com a higiene bucal, eliminação de traumas locais e remoção das próteses no período noturno. Para a recuperação das mucosas infectadas, a terapia antifúngica tópica pode ser recomendada, porém, para o tratamento de estomatite protética, é necessário que o método promova a eliminação de *Candida* spp. da superfície interna das próteses.

A eficácia antifúngica da nistatina, do acetato de clorexidina e de um polipeptídeo homólogo da histidina na superfície de uma resina acrílica para base de prótese foi avaliada in vitro por Spiechowicz et al. (1990). Trinta discos de resina acrílica termopolimerizável (20 mm x 1 mm) foram confeccionados e esterilizados com óxido de etileno para serem imersos nos antimicrobianos testados, simulando a armazenagem noturna das próteses removíveis em água. Metade (n=15) dos discos (pré-tratados) foi submetida aos tratamentos selecionados previamente à contaminação com *C. albicans*. Para isso, quatro discos foram armazenados por 8 h em 20 mL de um dos fármacos testados nas seguintes concentrações: nistatina de 100.000 U/mL (suspensão oral), gluconato de clorexidina a 0,12% (Peridex) e poli-L-histidina de 1 mg/mL solubilizada em ácido acético 0,04 M. Após esse período, os discos pré-tratados com os antimicrobianos juntamente com 15 discos adicionais sem tratamento prévio foram individualmente colocados em placas de Petri contendo *C. albicans* (10^7 células/mL) isolada de paciente com estomatite protética. Todos os discos inoculados foram mantidos em temperatura ambiente por 24 h. Após esse período, durante 8 h, seis discos pré-tratados foram expostos ao ar ambiente e seis armazenados em água destilada. Como controle, três discos pré-tratados e não contaminados foram também expostos ao ar por 8 h. Doze dos discos de resina acrílica não pré-tratados foram primeiramente inoculados com *C. albicans* e, após

enxague por 5 min, submetidos por 8 h aos mesmos procedimentos que os pré-tratados, ou seja, deixados ao ar, imersos em água destilada ou expostos a um dos antimicrobianos testados. Três discos não pré-tratados foram mantidos ao ar ambiente e serviram como controle. Para avaliar o efeito antifúngico dos fármacos, *swabs* orais foram friccionados na superfície de todos os discos de resina acrílica durante 1 min e, então, submetidos às diluições seriadas. O crescimento de *C. albicans* foi monitorado por um colorímetro em comprimento de onda de 600 nm. Foi evidenciado que, independentemente do momento do tratamento, a poli-L-histidina não inibiu a adesão e o crescimento de *C. albicans* tanto nos discos deixados ao ar quanto nos imersos em água por 8 h, o que foi atribuído à falta de aderência desse antimicrobiano à resina acrílica. Ao contrário desses resultados, a clorexidina aplicada nos discos antes ou após a contaminação com *C. albicans*, foi efetiva na prevenção da aderência e do crescimento fúngico à resina acrílica, mesmo após 8 dias. Tais resultados foram relacionados à rápida capacidade de união da clorexidina a esse substrato. O pré-tratamento com a nistatina apresentou resultados contraditórios haja vista que os discos secos ao ar demonstraram eficácia semelhante à da clorexidina. Entretanto, os discos pré-tratados e imersos em água não evidenciaram inibição fúngica efetiva, o que também foi observado quando a nistatina foi aplicada aos discos acrílicos após a contaminação com *C. albicans*. Segundo os autores, isso ocorreu porque a nistatina, durante o pré-tratamento provavelmente tenha formado uma fina camada sobre a superfície de resina acrílica, a qual foi removida com a imersão em água. Os autores concluíram que, entre os tratamentos testados e para todas as condições estudadas, o acetato de clorexidina a 0,12% foi o único capaz de eliminar a *C. albicans* da resina acrílica termopolimerizável para base de prótese.

O objetivo da revisão da literatura realizada por Lombardi e Budtz-Jørgensen (1993) foi discutir os principais procedimentos adotados para o tratamento da estomatite protética. Segundo os autores, o controle de biofilme microbiano na superfície interna das próteses removíveis, parciais ou totais, deve ser sempre indicado, independentemente da terapia adotada. A higienização inadequada das próteses é considerada um dos fatores etiológicos locais da estomatite protética. O uso contínuo das próteses também favorece o desenvolvimento da patologia, uma

vez que prolonga o trauma local sobre a mucosa de contato. As próteses antigas também podem traumatizar a mucosa bucal em decorrência da falta de suporte promovida pela reabsorção do rebordo alveolar. Até que possam ser substituídas, próteses com condições inadequadas de suporte e estabilidade devem ser periodicamente reembasadas. A confecção de novas próteses deve ser somente realizada quando a mucosa de suporte estiver saudável e houver boas condições de higiene bucal. Os pacientes devem ser instruídos a remover suas próteses durante a noite e higienizá-las após cada refeição. Vários agentes antifúngicos podem ser utilizados para o tratamento da estomatite protética. A escolha de um agente específico é determinada por diversos fatores, como interação medicamentosa, função dos órgãos vitais (toxicidade) e aceitação (tolerância) pelo paciente. A utilização de agentes sistêmicos deve ser limitada aos pacientes que não responderem à terapia tópica ou quando fatores sistêmicos predisponentes estiverem presentes (diabetes não controlada, neutropenia, disfunções imunológicas e endócrinas). Entre os agentes antifúngicos, a nistatina (Micostatin) deve ser utilizada apenas como tratamento tópico, pois é tóxica quando administrada parenteralmente. Devido ao gosto amargo, esse medicamento pode produzir efeitos colaterais como náuseas e intolerância. A anfotericina B pode ser administrada via intravenosa (candidose sistêmica) ou como agente tópico (candidose superficial). No entanto, esse fármaco pode produzir efeitos hepatotóxicos e náuseas. O cetoconazol (Nizoral) é administrado sistemicamente, sendo indicado para os casos de candidose mucocutânea crônica em pacientes com imunodeficiências. Esse antifúngico é pouco absorvido na ausência de acidez gástrica e pode reduzir a ação de alguns antibióticos. O miconazol (Daktarin) é amplamente utilizado para o tratamento de candidose por apresentar ação fungicida e bacteriostática para microrganismos gram-positivos, uma vez que bloqueia simultaneamente a síntese de esteroides e as proteínas das membranas das células microbianas. Esse fármaco também pode ser utilizado para o tratamento de lesões associadas à estomatite protética, como a queilite angular. O fluconazol (Diflucan) pode ser indicado para o tratamento de candidose bucal em pacientes HIV-positivos, entretanto, pode produzir efeitos colaterais como desconforto gástrico e cefaleia. Além disso, o fluconazol pode não apresentar o efeito terapêutico desejado por causa da

resistência desenvolvida por algumas espécies de *Candida*. Como tratamento adjunto, pode-se realizar a imersão das próteses em agentes de limpeza como hipoclorito de sódio, enzimas, peróxidos alcalinos e ácidos. A utilização de substâncias antimicrobianas como a clorexidina também pode ser uma alternativa para a redução da inflamação da mucosa acometida pela estomatite protética. De acordo com os autores, independentemente da terapia antifúngica e do tratamento adjunto selecionados, os pacientes devem ser instruídos quanto à importância da adoção dos procedimentos de higienização das próteses e remoção das mesmas no período noturno. Esses cuidados não atuam apenas no controle da infecção causada pela estomatite protética, mas também na sua prevenção.

Radford, Challacombe e Walter (1999) fizeram uma revisão de literatura para analisar o mecanismo e o significado clínico da adesão de *C. albicans* em materiais para bases de próteses em relação ao biofilme e à estomatite protética. Os autores discutiram a etiologia dessa patologia e relataram a participação de outros microrganismos além da *C. albicans*. Observaram que as taxas de prevalência da estomatite protética foram constantemente variáveis entre os estudos, o que pode ser explicado pelas diferentes metodologias utilizadas e pelos diversos fatores etiológicos relacionados a essa infecção. Em alguns casos, a causa da estomatite protética parece estar associada a um biofilme não específico em combinação à presença de *C. albicans*. Segundo os autores, a formação de qualquer placa microbiana, sua relação com as bases das próteses e a colonização dessas por microrganismos devem ser consideradas. Enfatizaram a importância da rugosidade superficial do substrato na adesão dos microrganismos, havendo maior aderência em superfícies protéticas menos polidas. Por meio dos estudos revisados, os autores concluíram que a aderência in vitro da *C. albicans* aos materiais para bases de próteses removíveis está relacionada à capacidade hidrofóbica do microrganismo e à rugosidade do substrato. Entretanto, relataram que o significado clínico para os resultados observados da literatura consultada e o mecanismo do desenvolvimento do biofilme formado por *C. albicans* ainda têm que ser entendidos.

Rogers (2002) revisou a literatura com o propósito de estudar os mecanismos de ação de antifúngicos disponíveis e discutir a resistência aos fármacos pelos microrganismos. Os antifúngicos da classe dos polienos, como a

nistatina, possuem um amplo espectro de ação, podendo ser fungicidas e fungistáticos e, por serem tóxicos, seu uso foi restringido à administração tópica. O efeito inibitório da nistatina é resultado da interação de seus polienos com os esteroides da membrana plasmática do fungo, em especial o ergosterol. Isso leva à formação de poros ou canais na membrana que ocasionam a liberação de potássio e de outros componentes citoplasmáticos, causando a morte celular. Uma explicação possível para o desenvolvimento de resistência aos polienos é uma menor quantidade de ergosterol na membrana celular, mas os mecanismos genéticos envolvidos nesse processo ainda não são totalmente definidos. Os antifúngicos azólicos, como o miconazol, o cetoconazol e o itraconazol também agem diretamente na membrana plasmática, porém interferem principalmente na biossíntese do ergosterol, inibindo o citocromo P-450. Embora os azólicos exibam atividade fungistática principalmente in vitro, podem ser fungicidas sob certas circunstâncias in vivo. A resistência a esse tipo de antifúngico pela *C. albicans* ocorre principalmente por uma mutação no gene ERG11, que impede ou diminui a ação do antifúngico na produção de ergosterol. De acordo com os achados da literatura, o autor sugeriu que a resistência aos medicamentos antifúngicos é de grande importância clínica e deve ser levada em consideração no tratamento específico de cada infecção.

Banting e Hill (2001) avaliaram a desinfecção de próteses totais por imersão em clorexidina ou irradiação em micro-ondas in vitro, como métodos adjuntos no tratamento de estomatite protética. Pacientes (n=34) portadores de próteses totais superiores com esfregaços positivos para pseudohifas de *C. albicans* foram selecionados para um dos seguintes tratamentos: irradiação da prótese em micro-ondas ou imersão da prótese em solução clorexidina a 0,2% (controle). Todos os pacientes receberam medicação antifúngica tópica (Nistatina 300000 IU 3 vezes ao dia) por 14 dias. As próteses selecionadas para o tratamento com as micro-ondas foram escovadas com sabão antisséptico e água e então irradiadas por 1 min a 850 W em 3 dias diferentes (1º, 5º e 10º dia). Para o grupo controle, as próteses foram imersas na solução de clorexidina durante a noite por 14 dias, com renovação da solução a cada 2 dias. Essas próteses também foram escovadas em 3 dias diferentes (1º, 5º e 10º dias), estabelecendo parâmetro para comparação entre os

grupos. Os resultados demonstraram que, após 14 dias, 53% das próteses irradiadas por micro-ondas apresentaram pseudohifas de *C. albicans* e que essa percentagem aumentou para 84% para aquelas imersas em clorexidina. Por outro lado, após esse mesmo período, os esfregaços citológicos referentes à mucosa palatina dos pacientes cujas próteses foram irradiadas apresentaram 1/4 do risco de infecção desses tecidos em relação aos esfregaços obtidos dos pacientes que tiveram suas próteses imersas em clorexidina. Três meses após o tratamento, o grupo controle foi considerado cinco vezes mais susceptível a apresentar pseudohifas de *C. albicans* quando em comparação com o grupo que recebeu tratamento com as micro-ondas. Os autores concluíram que a exposição das próteses às micro-ondas foi efetiva para uma adequada desinfecção nas próteses sem ocasionar efeitos deletérios aparentes nas propriedades das mesmas.

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

foi maior em pacientes do gênero feminino. O fluxo salivar dos pacientes variou de 0,02 mL/min a 1,66 mL/min e foi semelhante nas duas avaliações. Espécies de *Candida* foram identificadas em 84,4% dos pacientes na primeira avaliação e em 79,2% na segunda, sendo a maioria mulheres. Todos os portadores de estomatite protética apresentaram *Candida* spp. na saliva, e o número de UFC/mL da maioria desses pacientes foi superior a 400. A *C. albicans* foi a espécie mais comum em ambas as avaliações (50%), e a associação mais encontrada foi entre esse microrganismo e a *Candida tropicalis* (15,4%). Os autores concluíram que a substituição das próteses e a melhora da higiene bucal promoveram a resolução dos sinais clínicos de estomatite protética. Entretanto, a persistência de elevada contagem de *Candida* spp. na saliva dos pacientes deveria ser considerada como um fator importante na recorrência da patologia. Os autores sugeriram que a substituição periódica das próteses e as instruções adequadas de higiene bucal são fundamentais para prevenir o desenvolvimento da estomatite protética.

A relação entre a presença de *C. albicans* e a estomatite protética foi avaliada por Barbeau et al. (2003). Foram selecionados 68 usuários de próteses totais superiores. O tipo de estomatite protética foi determinado de acordo com a classificação de Newton, bem como por uma classificação modificada, desenvolvida pelos autores. Essa última classificação foi utilizada para determinar tanto o tipo quanto a extensão da inflamação nos tecidos acometidos por essa patologia. Para a avaliação clínica, foram realizadas 3 fotografias da região palatina de cada paciente. As leveduras foram coletadas da mucosa palatina e da superfície interna das próteses com swab oral. As culturas das suspensões obtidas dos swabs foram realizadas em ágar Sabouraud. Para isolar as leveduras, foi adicionado cloranfenicol aos meios de cultura Sabouraud e Lee, sendo as colônias isoladas congeladas a – 80°C. Para a identificação das espécies de *Candida*, alíquotas das suspensões das colônias isoladas foram cultivadas em meio cromogênico (ChromAgar). Para a diferenciação final das espécies, as suspensões também foram submetidas à avaliação por um sistema comercial de identificação (ID *Candida*). Os resultados demonstraram que a presença de leveduras nas próteses não foi associada à estomatite protética de acordo com a classificação de Newton. Os maiores números de colônias e índices de placa nas próteses foram associados à maior extensão de

inflamação, independentemente do tipo de estomatite protética segundo Newton. A presença de *C. albicans* e da associação de mais de uma espécie de *Candida* foi observada mais comumente nos usuários de próteses totais com estomatite protética. As espécies mais associadas com a *C. albicans* foram a *C. tropicalis* e a *Candida glabrata*. A utilização contínua das próteses e o fumo foram considerados fatores de risco associados à extensão da inflamação observada nos pacientes com estomatite protética. Os autores concluíram que a presença de leveduras nas próteses foi significativamente relacionada à extensão da inflamação e não ao tipo de estomatite protética segundo a classificação de Newton. Foi sugerido que a colonização por *Candida* spp. foi favorecida pelo processo de inflamação causado pela estomatite protética e que, portanto, deveria ser considerada no diagnóstico e tratamento dessa patologia.

Coelho et al. (2004) determinaram a frequência de lesões bucais associadas ao uso de próteses em 305 pacientes. Os autores também verificaram a relação entre a frequência das lesões e a idade e o gênero dos pacientes bem como o tipo, o tempo de uso e o método de limpeza das próteses. Essas informações foram registradas em um questionário respondido pelos pacientes, que foram divididos em sete grupos de acordo com o tempo de uso da prótese. O exame clínico da cavidade bucal foi realizado por três patologistas previamente treinados e calibrados. Os autores observaram maior prevalência de lesões no gênero feminino (72%) em relação ao masculino (56%) e que a maioria das mulheres (60 a 70 anos) era mais idosa que os homens (50 a 60 anos). Do total de 444 próteses, 302 eram totais e 142 eram parciais removíveis. A maior parte dos pacientes utilizava prótese total superior (43,24%) há pelo menos 20 anos. Os usuários de próteses totais estavam na 6ª década de vida, enquanto os portadores de próteses parciais removíveis estavam entre a 3ª e a 5ª década. As lesões bucais predominantemente encontradas em usuários de próteses totais foram as seguintes: estomatite protética (atrófica e hiperplásica), hiperplasia inflamatória fibrosa, úlcera traumática, queilite angular e flacidez de rebordo. A candidose atrófica crônica (estomatite protética) foi a lesão mais frequente, sobretudo nos pacientes com tempo de uso das próteses entre 16 a 20 anos. O método mais comum de higienização foi escovação com dentífrico e escova dental (80,1%). Segundo os autores, a maior frequência de

lesão em mulheres poderia ser atribuída à utilização das próteses por períodos maiores em relação aos homens devido a preocupações estéticas. Além disso, com a atrofia da mucosa bucal concomitante à diminuição da secreção ovariana durante ou após a menopausa, o epitélio bucal se torna mais susceptível a traumas e reações inflamatórias. Outro fator a ser considerado é que o tempo de uso das próteses é maior em idosos, que são mais relutantes em substituí-las. Essas próteses antigas podem promover maior acúmulo de placa microbiana, além de traumatizar a mucosa de suporte pela falta de adaptação. Os resultados obtidos sugeriram que as próteses removíveis, parciais ou totais, podem causar comumente vários tipos de lesões na mucosa bucal dos pacientes. De acordo com os autores, essas lesões poderiam ser prevenidas por meio de um programa de preservação que avalie as condições das próteses e forneça as informações de higiene e manutenção da saúde bucal.

O objetivo do estudo de Baena-Monroy et al. (2005) foi avaliar a prevalência de *C. albicans*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus mutans* na mucosa palatina e na superfície interna das próteses totais de pacientes com e sem estomatite protética bem como estabelecer fatores predisponentes dessa patologia. Para medir o pH salivar, amostras de 2 mL de saliva foram coletadas de 105 pacientes. Além disso, o material presente na mucosa palatina e na superfície interna das próteses totais superiores dos pacientes foi coletado com algodão estéril. Para o isolamento e a identificação de *C. albicans*, foi utilizado um meio cromogênico (CandiSelect) específico para crescimento fúngico. Os meios seletivos selecionados para o isolamento e a identificação de *S. aureus* foram ágar Chapman ou ágar manitol salgado. O *S. mutans* foi identificado por meio de semeadura em placas de Petri contendo ágar mitis salivarius. Todas as placas foram incubadas a 37°C por 48 h. Após essa identificação inicial das bactérias, foram realizadas as provas enzimáticas de catalase e coagulase. Os autores observaram colônias viáveis de *C. albicans* nas placas referentes à mucosa palatina de 54 pacientes, dos quais 43 apresentavam estomatite protética. As culturas em CandiSelect também demonstraram a presença desse microrganismo na superfície interna de 70 próteses. O *S. aureus* foi isolado da mucosa palatina de 55 pacientes, sendo 42 desses portadores de estomatite protética. Esse microrganismo também foi isolado da superfície interna de 52

próteses. As culturas da mucosa palatina de 71 pacientes demonstraram a presença de *S. mutans* e desses, apenas oito apresentaram estomatite protética. Os resultados também demonstraram elevada acidez do pH da saliva nos pacientes com estomatite protética bem como nos indivíduos que adotavam dieta rica em carboidratos. A presença simultânea de *C. albicans* e *S. aureus* foi observada na mucosa palatina de 39 pacientes do total de 50 que apresentavam estomatite protética. Essa infecção assim como a colonização microbiana da mucosa palatina e das próteses foram encontradas preferencialmente em indivíduos do gênero feminino e nos portadores de diabetes mellitus e hipertensão arterial, evidenciando a etiologia multifatorial desse tipo de candidose bucal. Os autores concluíram que o tratamento da estomatite protética deveria reduzir tanto a presença de fungos quanto a de bactérias uma vez que foi observada a presença de biofilmes mistos na mucosa palatina e superfície interna das próteses totais de pacientes com essa patologia.

Neppelenbroek et al. (2008) avaliaram a efetividade da desinfecção de próteses totais no tratamento de estomatite protética associada à *Candida* spp. Sessenta pacientes com estomatite protética foram divididos em quatro grupos de acordo com o tratamento instituído: Controle- foram orientados a escovarem suas próteses com sabão de coco e dentífrício, deixando-as imersas em água durante a noite; Mw- as próteses totais superiores dos pacientes foram irradiadas por micro-ondas (650 W/ 6 min), três vezes por semana, durante 30 dias; MwMz- os pacientes receberam o mesmo tratamento do grupo Mw associado à aplicação tópica de miconazol três vezes ao dia, por 30 dias; Mz- apenas receberam terapia antifúngica tópica com miconazol de acordo com a prescrição indicada ao grupo MwMz. Antes do início do tratamento, exames citológicos por esfregaço e culturas micológicas quantitativas foram obtidos da superfície interna das próteses totais superiores e da mucosa palatina de suporte de todos os pacientes. Os esfregaços e as culturas foram repetidos durante (dia 15), ao final do tratamento (dia 30) e após a sua suspensão (dias 60 e 90). Para a avaliação clínica, foram realizadas fotografias da mucosa palatina dos pacientes em cada consulta. A influência de fatores predisponentes na efetividade dos tratamentos também foi avaliada estatisticamente. Nos períodos durante (15 dias) e imediatamente após o tratamento

(30 dias), os esfregaços citológicos e culturas quantitativas referentes à mucosa palatina e a superfície interna das próteses dos pacientes dos grupos Mw e MwMz não demonstraram formas miceliais e colônias viáveis de *Candida* spp. Em até 90 dias de avaliação, não foram observadas formas miceliais na mucosa palatina dos pacientes desses dois grupos. No entanto, cinco pacientes do grupo Mw (33,33%) e seis do MwMz (40%) demonstraram recorrência de formas miceliais e colônias de *Candida* spp., e essa diferença não foi estatisticamente significativa. Para esses pacientes com recorrência de ambos os grupos, o tempo de uso da mesma prótese total superior foi significativamente superior (39,4 anos) em comparação com aqueles que não apresentaram reinfecção (15,1 anos). As fotografias da mucosa palatina dos pacientes dos grupos Mw e MwMz demonstraram uma evidente e progressiva redução da inflamação ao longo das avaliações clínicas. A aplicação tópica de miconazol (Mz) promoveu uma melhora considerável na inflamação palatina, mas não eliminou as formas miceliais e as colônias de *Candida* spp., exceto para dois pacientes. Os exames clínicos e micológicos do grupo controle não evidenciaram redução da infecção fúngica em até 90 dias de avaliação. Os autores concluíram que a desinfecção das próteses totais superiores por micro-ondas foi efetiva para o tratamento da estomatite protética associada à *Candida* spp. Independentemente da associação à terapia antifúngica tópica, a recorrência de formas miceliais das espécies de *Candida* na superfície interna das próteses após a suspensão do tratamento foi significativamente reduzida nos pacientes cujas próteses foram submetidas à desinfecção por micro-ondas.

Segundo Puri et al. (2008), as resinas acrílicas são propensas à aderência microbiana, especialmente por *Candida* spp., favorecendo o desenvolvimento de estomatite protética. Como a resistência aos antifúngicos utilizados para o tratamento dessa patologia está cada vez mais frequente, é recomendado prevenir a aderência fúngica às bases acrílicas. Os autores relataram que as estatinas salivares presentes na película adquirida sobre o esmalte dentário apresentam propriedades fungicidas. Essa diferença na composição de proteína da película adquirida sobre a prótese e o esmalte tem sido atribuída à ausência de grupos aniônicos, tais como fosfato, na resina acrílica. Portanto, o desenvolvimento de resinas acrílicas com grupos carregados negativamente tem o potencial para impedir

a adesão de *Candida*, com a inibição sendo diretamente proporcional à quantidade da carga negativa no polímero. Considerando esses aspectos, os autores realizaram um estudo para avaliar o efeito da incorporação de fosfato etileno glicol metacrilato (EGMP) sobre quatro propriedades mecânicas e físicas de uma resina acrílica para base de prótese. Para isso, uma resina termopolimerizável (Lucitone 199) foi utilizada como controle e como base para os quatro grupos experimentais utilizando o monômero com concentrações em volume de 10%, 15% e 20% de EGMP. A resina modificada ou não por EGMP foi avaliada quanto às propriedades de resistência ao impacto e à fratura, molhabilidade (ângulo de contato) e capacidade de união a dentes artificiais. Foi observado que a adição do EGMP não alterou significativamente a resistência ao impacto e à fratura, nem afetou a união da resina acrílica aos dentes artificiais. Houve diminuição do ângulo de contato da resina acrílica com o aumento da concentração de EGMP, indicando maior hidrofilicidade com a adição de fosfato. As superfícies polidas apresentaram menor ângulo de contato do que as superfícies não polidas. Os autores concluíram que a adição do monômero contendo fosfato não resultou em efeitos físicos adversos à resina acrílica termopolimerizável testada.

Em 2011, Marín Zuluaga, Gómez Velandia e Rueda Clauijo compararam os resultados do controle da estomatite protética por um condicionador tecidual (Coe-Confort) e um reembasador autopolimerizável rígido (Kooliner). Os autores se propuseram a buscar uma terapia alternativa para essa patologia e, ao mesmo tempo, obter informações sobre o tempo necessário para sua resolução. Quarenta e quatro usuários de prótese total superior com diagnóstico de estomatite protética foram selecionados. Um grupo de pacientes teve a prótese reembasada com Coe-Confort e outro com Kooliner, que foram substituídos semanalmente, durante 4 semanas. Inicialmente e a cada período de substituição dos materiais, foram realizadas fotografias oclusais digitais do palato de cada indivíduo. As imagens foram obtidas por um cirurgião-dentista e o diagnóstico clínico estabelecido de forma cega por outro profissional. O diagnóstico foi comparado com as imagens, que foram entregues a um patologista para análise final. Tanto o condicionador tecidual quanto o reembasador rígido foram eficazes no controle da estomatite protética. Entretanto, o condicionador de tecido necessitou de um período de tempo significativamente

maior para produzir os mesmos resultados que o reembasador. Em 26% dos casos, os pacientes com estomatite protética Tipo III de Newton tiveram os sinais de infecção resolvidos em até duas semanas. Os autores sugeriram que os materiais testados podem ser considerados como uma terapia alternativa para a estomatite protética e recomendaram estudos futuros para avaliar a mesma proposta com outros tipos materiais para base de prótese.

Salerno et al. (2011) fizeram uma revisão de literatura para descrever a associação de *Candida* com a estomatite protética. A *C. albicans* é uma levedura gram-positiva capaz de viver como comensal na cavidade bucal de indivíduos saudáveis, sendo a mais comumente encontrada em isolados clínicos. De acordo com alterações locais (traumas, pH da saliva, uso de próteses e presença de placa microbiana) e sistêmicas (diabetes, deficiências nutricionais, disfunções renais e xerostomia), as espécies de *Candida* podem se tornar virulentas, causando a infecção conhecida como candidose bucal. Tem sido demonstrado que a presença de próteses removíveis é um fator predisponente para o desenvolvimento desta infecção, visto que a *C. albicans* é capaz de se aderir à superfície protética tanto quanto à mucosa. Por isso o acúmulo de placa microbiana e uma higienização inadequada contribuem para a virulência dessa espécie de *Candida*, que é capaz de se proliferar em tecidos duros e moles da cavidade bucal, unindo-se a bactérias e formando um biofilme complexo e heterogêneo. Como estratégias terapêuticas, têm sido adotadas as medicações antifúngicas tópicas e/ou sistêmicas e a limpeza das próteses por ação mecânica e outros métodos como utilização de antissépticos, desinfetantes e irradiação por micro-ondas. A candidose pode se manifestar em diferentes sítios da cavidade bucal, estando presente em 60% dos usuários de prótese removível. Embora a *C. albicans* seja a espécie mais comumente associada a esta patologia, outras espécies como *Candida krusei*, *Candida dubliniensis*, *Candida parapsilosis*, *C. tropicalis* e, sobretudo, *C. glabrata* também têm sido encontradas com frequência em isolados clínicos. De acordo com os achados da literatura, os autores concluíram que o tratamento da candidose bucal e, em especial, a estomatite protética, é complexo devido a sua etiologia multifatorial, sendo necessária a atuação em cada fator etiológico.

Mima et al. (2012) desenvolveram um estudo clínico randomizado para comparar a eficácia clínica e micológica da terapia fotodinâmica (PDT) com a terapia antifúngica tópica no tratamento da estomatite protética bem como identificar a prevalência das espécies de *Candida* envolvidas com essa patologia. Foram selecionados pacientes usuários de prótese total e com diagnóstico de estomatite protética (Faculdade de Odontologia de Araraquara), classificados de acordo com os critérios de Newton. Os critérios de exclusão foram definidos com base nos fatores que pudessem influenciar a viabilidade da *Candida* spp.: diabetes, anemia, imunossupressão, radioterapia e/ou quimioterapia, administração de antibióticos, antifúngicos ou esteroides nos últimos três meses. Utilizou-se a randomização estratificada para a obtenção dos dois grupos de estudo (n=20) de forma semelhante em relação aos fatores de risco que poderiam influenciar no prognóstico (idade das próteses, tabagismo, uso de medicamentos, hábitos de higiene das próteses totais e uso noturno). Para os pacientes do grupo controle (NYT), foi administrada a suspensão oral de nistatina tópica (100.000 UI), 4 vezes ao dia, durante 15 dias. No grupo experimental (PDT), o palato e as próteses dos pacientes foram pulverizados com 500 mg/L de fotossensibilizador derivado da hematoporfirina (Photogem®) e, após 30 min de incubação, foram iluminados por um diodo emissor de luz a 455 nm, 3 vezes por semana, durante 15 dias. Adicionalmente, todos os pacientes foram orientados em relação à limpeza das próteses com escova e sabão de coco e à necessidade de remoção das mesmas durante a noite por todo o período do experimento (3 meses). Culturas micológicas quantitativas (UFC/mL) foram obtidas da mucosa palatina e da superfície interna das próteses totais e a severidade da infecção foi avaliada clinicamente por fotografias padronizadas dos palatos dos pacientes antes (0 dia), ao final (15 dias) e após 30, 60 e 90 dias do início do tratamento. Nesses mesmos períodos de avaliação, as espécies de *Candida* foram identificadas por testes bioquímicos nos dois grupos de tratamento. Os resultados demonstraram que ambas as terapias avaliadas reduziram significativamente os valores de UFC/mL de *Candida* spp. ao final do tratamento e após 30 dias do seu início. Apesar disso, a percentagem do sucesso clínico demonstrada com a avaliação das fotografias foi maior para o grupo NYT (53%) em relação ao grupo PDT (45%). A espécie isolada mais prevalente em todos os períodos investigados foi

a *C. albicans* (NYT=63,3%; PDT=54%), seguida respectivamente pela *C. tropicalis* e *C. glabrata*. Os autores sugeriram que a terapia fotodinâmica proposta demonstrou ser tão efetiva para o tratamento da estomatite protética quanto a terapia convencional com nistatina tópica.

A revisão sistemática realizada por Skupien et al. (2013) objetivou viabilizar um protocolo para prevenção da colonização por *Candida* spp. em materiais para reembasamento de prótese bem como para um tratamento efetivo nos casos de tal colonização ter ocorrido. A candidose bucal é um tipo de estomatite protética primariamente associada com a presença de espécies de *Candida*. Vários fatores podem influenciar o processo de adesão fúngica tais como a estrutura e composição da superfície dos materiais e propriedades físicas e químicas das superfícies celulares microbianas. Portanto, a colonização depende de numerosos fatores relacionados com as características do substrato que têm um papel importante na adesão dos microrganismos. Os autores constataram que a nistatina foi o fármaco mais incorporado aos condicionadores de tecidos e reembasadores, tendo sido relatado com menor frequência outros agentes como partículas de prata, fluconazol, clorexidina, anfotericina B, miconazol, peróxido de zinco, clotrimazol, itraconazol, cetoconazol, óxido de magnésio e triazine. A imersão em solução de hipoclorito de sódio foi o método mais descrito na literatura revisada pelos autores para a desinfecção dos materiais, sendo a concentração de 0,5% a mais recomendada. A irradiação por micro-ondas também foi descrita como um método alternativo para a desinfecção dos materiais. Devido a uma falta de padronização dos resultados, sobretudo em relação ao método utilizado para a contagem microbiana, uma meta-análise não pôde ser realizada. Em acordo com a literatura revisada, os autores sugeriram que o hipoclorito de sódio a 0,5% pode ser utilizado para tanto para a desinfecção dos reembasadores de prótese quanto de condicionadores de tecido e que a incorporação de nistatina nesses materiais pode ser viável para tratar e prevenir a estomatite protética. No entanto, segundo os autores, evidências confiáveis são insuficientes para recomendar um método de limpeza como ideal ou a validade da adição de agentes antifúngicos. Por isso, os autores concluíram que essas questões somente poderão ser resolvidas com a realização de estudos clínicos randomizados bem conduzidos.

Martori et al., em 2014, determinaram os fatores de risco (locais e sistêmicos) para lesões da mucosa bucal relacionadas ao uso de prótese em uma população geriátrica. Oitenta e quatro usuários de próteses totais com 60 anos ou mais foram entrevistados por meio de um questionário que incluía informações sócio demográficas, tais como idade, gênero, nível de escolaridade, renda e tipo de residência (institucionalizados ou não). Dados gerais de saúde, e comportamento, além de variáveis relacionadas ao uso das próteses também foram coletadas. Todos os participantes utilizavam pelo menos uma prótese removível, eram cognitivamente capazes de responder aos questionários e não estavam em tratamento com antifúngicos. O exame clínico foi realizado para avaliar as características de rebordo e mucosa, presença de lesões associadas às próteses e as características das mesmas: tipo (total ou parcial), material de confecção (resina acrílica e/ou metal) e qualidade (integridade, retenção, estabilidade, oclusão e índice de placa). A estomatite protética, quando presente, foi classificada de acordo com os critérios de Newton. A saliva não estimulada dos participantes foi coletada e o pH da saliva foi mensurado. As leveduras foram isoladas das próteses e cultivadas em placas de ágar Sabouraud, que foram incubadas a 37°C por 48 h. A idade média dos participantes foi de 83,7 anos, sendo 75% da amostra composta por mulheres. Sessenta e cinco por cento dos participantes utilizavam pelo menos uma prótese total e 63% eram totalmente desdentados. Entre os participantes, 54% apresentaram pelo menos uma lesão relacionada à prótese. A queilite angular foi encontrada em 29 participantes, úlceras traumáticas em 13 participantes e estomatite protética em 12 deles (14%). A presença de qualquer estágio de estomatite protética foi positivamente associada ao baixo pH salivar e à presença de *Candida*. Os participantes que utilizavam a(s) prótese(s) durante a noite apresentaram uma maior incidência de estomatite (25%) em relação àqueles que a(s) retiravam para dormir (10%). A presença de pelo menos uma lesão na mucosa foi encontrada em 45 participantes, estando relacionada positivamente a fatores tais como o voluntário ser institucionalizado, baixo pH salivar, rebordos reabsorvidos, presença de *Candida*, baixa eficiência mastigatória, falta de estabilidade e retenção das próteses e presença de biofilme protético. Os autores concluíram que várias características locais e sistêmicas relacionadas ao uso de próteses removíveis representaram

fatores de risco independentes para o desenvolvimento de lesões na mucosa bucal relacionadas ao uso de próteses na população idosa avaliada.

Considerando que a estomatite protética é uma condição crônica de difícil tratamento, Yarborough et al. (2016) realizaram uma revisão sistemática da literatura dos últimos 20 anos sobre as abordagens terapêuticas dessa patologia. Dentre os tratamentos investigados que tem se mostrado eficazes para reduzir a estomatite protética, foram discutidos aqueles que envolvem terapias antifúngicas locais e sistêmicas, métodos de redução ou erradicação de biofilme protético, laser terapia da mucosa afetada ou combinação de abordagens. Os autores concluíram que o foco da terapia deve incluir estratégias que atinjam a formação de biofilme protético bem como o tratamento da infecção fúngica dos tecidos de suporte da prótese. Estratégias clínicas comumente utilizadas são direcionadas a eliminar os microrganismos patogênicos, impedindo o restabelecimento do biofilme por meio de medidas de higiene preventivas. De acordo com os autores, uma frequente limitação dos estudos avaliados foi sua duração, pois o período de tempo necessário ao desenvolvimento de um biofilme protético patogênico ainda precisa ser determinado.

2.2 AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADES DOS MATERIAIS PARA BASE DE PRÓTESE

O trabalho publicado por Farrel (1975), afirma que condicionar um tecido recupera-o de um estado insalubre, deixando-o em estado de aptidão. Os tecidos moles de suporte de próteses removíveis frequentemente se distorcem, prejudicando o osso subjacente e levando a um agravamento continuado da deformação. Para rejuvenescer esse tecido, é preciso condicioná-lo. O autor observou que estudos prévios diferem a respeito dos métodos e da duração do tratamento com condicionadores de tecido, mas não há desacordo a respeito da necessidade de realizá-lo. Anomalias teciduais sob as próteses, de origem sistêmica ou local, devem ser reconhecidas e tratadas para voltarem ao estado de normalidade. Para os fatores locais, é necessário avaliar a higiene bucal do paciente, eliminar traumas oclusais, aliviar a pressão em áreas internas da prótese

total, orientar pacientes a dormirem sem as próteses, aumentar áreas de contato oclusal para distribuir melhor as forças, além de alterar a dieta para alimentos mais pastosos. A presença de lesões bucais é uma manifestação comum de síndromes generalizadas e pode ser resultado de deficiências metabólicas, dietas desequilibradas, alcoolismo ou senilidade. Segundo o autor, o médico deve tratar os problemas sistêmicos do paciente, enquanto o cirurgião dentista deve assegurar que o tratamento dentário não irá agravar as manifestações bucais de doenças sistêmicas. Como a prótese apoia-se em uma área associada à musculatura e à articulação temporomandibular, ao iniciar um tratamento reabilitador, qualquer condição anormal dos tecidos protéticos e paraprotéticos deve ser tratada. Além disso, o autor sugeriu que as estruturas anatômicas devem ser acondicionadas previamente para evitar que o problema detectado seja agravado, o que levaria ao insucesso das próteses.

As propriedades de sorção de água e solubilidade de materiais reembasadores resilientes para base de prótese foram avaliadas por Braden e Wright, em 1983. Os corpos de prova de onze materiais resilientes, sendo cinco à base de silicone (Flexibase, Simpa, Cardex Stabon, Per-Fit e Molloplast-B) e seis à base de resina acrílica (Coe Super-soft, Palasiv 62, Soft Nobiltone, Virina, Verno Soft e Cole Polymers) foram imersos em água destilada a $37^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ e pesados periodicamente em balança de precisão ($\pm 0,0001\text{g}$), sempre após secagem com papel absorvente. Verificado ou não o equilíbrio das massas, após um período estendido de mensurações de sorção de água, os corpos de prova foram transferidos para uma estufa bacteriológica a $37^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ contendo dessecante para novas pesagens serem realizadas periodicamente. De acordo com os autores, idealmente, ciclos adicionais de sorção e dessorção de água devem ser realizados até todos os componentes solúveis serem extraídos do material para que seu comportamento possa ser reproduzido em subsequentes processos de sorção e dessorção. Entretanto, essa situação ideal não foi observada para nenhum material estudado, mesmo após pesagens periódicas de sorção e dessorção durante o período de cinco anos. Os materiais auto polimerizáveis à base de silicone apresentaram o maior aumento de massa durante o primeiro ciclo de sorção de água (Flexibase=65, Simpa=46 e Cardex Stabon=32). Neste mesmo período, os

materiais termo polimerizáveis à base de silicone Per-Fit e Molloplast B apresentaram, respectivamente, perda (-2) e discreto aumento (1,3) de massa. Na dessorção, todos os materiais à base de silicone perderam rapidamente a água absorvida e atingiram massa constante em 24 h, sendo verificada maior perda de componentes solúveis para os autopolimerizáveis. O maior e o menor tempo para alcançar o equilíbrio durante, respectivamente, os processos de sorção e dessorção desses materiais foram atribuídos pelos autores ao tipo de carga e ao grau de união da mesma ao silicone. A menor sorção apresentada pelos materiais termopolimerizáveis de silicone foi relacionada ao seu maior grau de polimerização e à melhor união da carga na matriz polimérica. Em relação à solubilidade, os materiais autopolimerizáveis de silicone tem como subproduto da reação o álcool, que é rapidamente extraído pela água destilada. Além disso, o catalisador da reação (sal metálico) presente nesses materiais permanece inalterado durante a polimerização e também é rapidamente liberado na água. Os materiais termo polimerizáveis de silicone Per-Fit e Molloplast B apresentam, respectivamente, ácido acético como subproduto e peróxido de benzoíla como catalisador, ambos componentes com baixa solubilidade. Para os materiais à base de resina acrílica, o equilíbrio depende da quantidade de plastificante liberado na solução de armazenagem e absorção de água. Os materiais Coe Super-Soft e Soft Nobiltone, que possuem maiores quantidades de plastificantes (31,2 e 56,8%, respectivamente), em alguns ciclos, apresentaram maior perda desses componentes em relação ao ganho de água. Os demais materiais auto polimerizáveis à base de resina acrílica apresentaram um aumento estável de massa desde que o ganho de água sempre excedeu a perda de plastificante. Isso foi atribuído à baixa quantidade de plastificante apresentada pelos materiais Palasiv 62, Virina e Verno Soft e pelo plastificante polimerizável presente no Cole Polymers. A maior solubilidade observada pelos materiais de resina acrílica em relação ao de silicone foi correlacionada à presença de plastificante. As diferenças de solubilidade apresentadas pelos reembasadores de resina acrílica foram atribuídas à quantidade e ao tipo de plastificante presente em suas composições. Nenhum dos materiais à base de resina acrílica alcançou o estágio de equilíbrio e, dessa forma, seus coeficientes de difusão e equilíbrio não puderam ser calculados. Os autores

afirmaram que um material ideal deve conter componentes insolúveis e baixa sorção de água, o que não foi constatado para nenhum dos reembasadores resilientes estudados.

A revisão de literatura realizada por Brown (1988) discutiu sobre as propriedades de reembasadores resilientes e condicionadores de tecido. Segundo o autor, a resiliência desses materiais está relacionada à propriedade dos polímeros de atingirem a temperatura de transição vítrea. Abaixo dessa temperatura, os reembasadores são rígidos como a resina acrílica convencional e acima, tornam-se borrachóides. Alguns materiais resilientes como os de silicone atingem a temperatura de transição vítrea abaixo da temperatura intra-oral ou mesmo extra oral, apresentando aspecto constantemente macio. Já os reembasadores resilientes à base de resinas acrílicas de polimetil metacrilato ou polietil metacrilato possuem essa temperatura muito acima da observada no ambiente intra-oral, necessitando de agentes plastificantes para reduzi-la a níveis compatíveis com seu uso. Os condicionadores de tecido, embora compostos por polímeros de polietil metacrilato, não possuem monômero (metil metacrilato) em sua composição, que é basicamente à base de uma mistura de plastificante de éster e etanol. Entretanto, o plastificante é lixiviado ao longo do tempo, o que leva a redução de sua resiliência. Isso não é observado com os reembasadores de silicone, que não necessitam de agentes plastificantes, pois a resiliência é uma das propriedades intrínsecas desses polímeros.

O objetivo do estudo de Jones et al. (1991) foi identificar o tipo e quantificar a lixiviação de plastificantes de materiais resilientes de curta duração. Um total de 7 diferentes componentes foram quantitativamente identificados de oito materiais (Coe-Comfrot, Coe-Soft, FITT, G-C Soft Liner, Hydro-Cast, SR Ivoseal, Veltec e Visco-gel) por meio de cromatografia gasosa, cromatografia gasosa acoplada a espectrofotometria de massa e técnica do carbono-14 (álcool etílico). Os autores encontraram o plastificante dibutil ftalato em 6 de 8 líquidos. O nível do conteúdo de éster dos 8 líquidos variou entre 52 a 95%, com o equilíbrio sendo o álcool etílico. A perda de plastificante de éster variou de 0,30 a 8,7 mg/g no período de 14 dias de imersão em água. O único material bem diferente em sua formulação foi o SR Ivoseal, que apresentou significativamente maior quantidade de álcool etílico (48%)

que os demais materiais, além de um éster não aromático. A solubilidade em água dos ésteres de ftalatos não foi muito alta. No entanto, apesar disso, altas quantidades de éster foram lixiviadas desses materiais, sobretudo para os plastificantes de baixo peso molecular como o salicilato de benzila e benzoato de benzila. A técnica do carbono-14 demonstrou que todo o etanol foi completamente lixiviado dos materiais dentro das primeiras 24 h. A maior absorção de água foi observada para o material de maior conteúdo de álcool (SR Ivoseal). Os autores concluíram que um típico material resiliente temporário lixivia entre 10 a 40 vezes o nível de éster que normalmente seria obtido a partir de alimentos e do meio ambiente.

Graham, Jones e Sutow (1991) avaliaram *in vitro* e *in vivo* a perda de plastificantes de materiais resilientes à base de resina acrílica para base de prótese. Dois materiais para reembasamento temporário (Coe-Comfort e Veltec) foram selecionados com base nas diferenças de suas características de geleificação e de composição e potencial de liberação dos plastificantes. Ambos os materiais são constituídos pelo mesmo polímero de polietil metacrilato, mas com diferentes plastificantes. O líquido do Coe-Comfort é composto por 87,3% de benzoato de benzila, 4,5% dibutil ftalato e 8,2% de álcool etílico e o do Veltec por 71,7% butil ftalil butil glicolato, 12,6% dibutil ftalato e 15,7% de álcool etílico. As amostras de ambos os materiais foram imersas em água para a extração com hexano nos períodos correspondentes a 1-6, 6-24, 24-48, 48-72, 72-168, 168-336 e 336-672 h. Os extratos foram então diluídos para a realização da cromatografia gasosa. No estudo clínico, os materiais foram preparados, sendo uma parte separada para a análise quantitativa do conteúdo inicial de plastificante e a outra aplicada como reembasador das próteses de dez pacientes pelo período de 14 dias (Coe-Comfort) ou 30 dias (Veltec). Exceto por um, todos os pacientes utilizaram ambos os materiais resilientes em ocasiões separadas, para um total de 19 avaliações clínicas. Para cada material, as duas amostras obtidas (inicial e após utilização no paciente) foram dissolvidas em acetona e analisadas por cromatografia gasosa. Os resultados da análise *in vivo* foram comparados aos da análise *in vitro*. Os resultados indicaram que uma maior perda de plastificante ocorreu *in vivo* em comparação com os testes *in vitro* para 17 das 19 avaliações clínicas. A média de perda de plastificante *in vivo* para o Coe-

Comfort aos 14 dias foi de 122 ± 58 mg/g e para o Veltec aos 30 dias foi de apenas 33 ± 7 mg/g. Esses valores foram comparáveis aos da perda observada in vitro no mesmos períodos, que foram de $13,41 \pm 1,11$ mg/g para o Coe-Comfort e de $8,47 \pm 0,73$ mg/g para o Veltec. Os autores enfatizaram que não foi possível conhecer o quanto de plastificante lixiviado no estudo in vivo foi ingerido pelos pacientes. Esses foram alertados a não imergirem as próteses em qualquer solução, no entanto, não foi possível determinar o quanto foi perdido de plastificante devido aos procedimentos de limpeza. Os autores sugeriram que é necessário o desenvolvimento de materiais resilientes à base de resina acrílica para base de prótese com quantidade muito inferior de plastificante.

A pesquisa realizada por Kawano et al. (1994) foi conduzida para avaliar a sorção e solubilidade de doze reembasadores resilientes, sendo nove à base de resina acrílica (Durosoft, Super Soft, Pro Tech, Justi Soft, Verno-Soft, Velvesoft, Soft-Pak, Flexor e VinaSoft), dois à base de silicone (Prolastic e Molloplast-B) e um à base de fluorelastômero (Novus). Os testes de sorção e solubilidade foram realizados em acordo com a especificação n. 12 da ADA para polímeros para base de prótese. Cinco corpos de prova em forma de discos (50 mm x 0,5 mm) foram obtidos para cada material. Após a confecção, os corpos de prova foram levados para um dessecador contendo sulfato de cálcio anidro até atingirem uma massa constante (variação de $\pm 0,005$ g entre as pesagens). Os corpos de prova estabilizados foram imersos em água destilada a 37°C por 7 dias e, em seguida, novamente pesados para a determinação da absorção de água. Então, foram recondicionados em dessecador até atingirem novamente uma massa constante para a solubilidade ser calculada. Os processos de sorção e dessorção descritos foram repetidos nos períodos de 1 mês, 3 meses, 6 meses e 1 ano. Os resultados demonstraram que os valores de sorção de água dos materiais resilientes testados variaram de $0,05 \text{ mg/cm}^2$ em 1 ano de avaliação para o Molloplast-B a $35,65 \text{ mg/cm}^2$ para o VinaSoft após o mesmo período. Os valores de solubilidade dos reembasadores resilientes estudados variaram de $0,16 \text{ mg/cm}^2$ em 1 ano para o Flexor a $2,55 \text{ mg/cm}^2$ para o Velvesoft após o mesmo período. Para a maioria dos materiais, houve aumento da solubilidade e sorção de água após 1 ano de avaliação. Os reembasadores que apresentaram os menores valores de sorção de

água foram: Pro Tech, Flexor, Molloplast-B, Velvesoft e Prolastic. Os menores valores de solubilidade foram observados para os seguintes materiais resilientes: Molloplast-B, Novus, Flexor, Soft-Pak e Verno-Soft. Considerando a especificação n. 12 da ADA, os autores concluíram que, após 1 ano, valores desejáveis de sorção de água foram obtidos apenas com os reembasadores Molloplast-B e Prolastic (inferiores a 0,8 mg/cm²) e de solubilidade somente para o material Novus (0,03 mg/cm²).

Ao longo de um ano, Parr e Rueggeberg (1999) investigaram a influência do tipo de polimerização (laboratorial ou clínico) e do tempo de armazenamento em água sobre a dureza, a absorção de água, a solubilidade e a temperatura de transição vítrea de um reembasador macio de longa duração para próteses removíveis (Permasoft). A avaliação da dureza foi realizada em corpos de prova em forma de disco de 31 mm x 10 mm, que foram produzidos de acordo com as instruções do fabricante quanto à proporção de pó e líquido e às condições de polimerização. O material do grupo de polimerização em consultório foi manipulado, colocado em moldes, recobertos em ambos os lados por filmes plásticos e pressionados entre duas lâminas de vidro. O conjunto foi imerso em banho-maria a 70°C por 15min. Para o grupo de polimerização em laboratório, os corpos de prova foram confeccionados da mesma forma, porém polimerizados sob pressão de 500psi a 100°C por 45min. Os corpos de prova dos grupos avaliados (n=4) foram armazenados em água destilada a 37°C por 1, 7 e 30 dias, 6 e 12 meses. Nesses tempos, a dureza Shore A foi mensurada, sendo os mesmos corpos de prova utilizados em todos os períodos. Três mensurações foram obtidas de cada corpo de prova e os valores médios de dureza determinados. Para os demais testes, corpos de prova de 44 mm x 8,5 mm x 1,2 mm foram confeccionados e armazenados da mesma forma como descrito. A absorção de água e a solubilidade do material foram avaliadas por pesagens dos corpos de prova inicialmente e após cada tempo de armazenamento. O peso foi obtido logo após a remoção da água e depois da secagem com papel absorvente. A temperatura de transição vítrea foi determinada após submeter os corpos de prova a um analisador térmico dinâmico, variando-se a temperatura entre -100 e 60°C a 2°C/min com frequência de 1 Hz e pico de amplitude de 0,8 mm. Os valores de dureza do material aumentaram

significativamente em um ano, mas o modo de polimerização não influenciou as alterações dessa propriedade, o que também foi observado nos resultados para os testes de absorção de água e solubilidade. Houve uma pequena diferença entre a temperatura de transição vítrea entre o grupo polimerizado em consultório (-10°C) e o polimerizado em laboratório (-15°C). De acordo com os resultados, os autores concluíram que não houve interferência do método de polimerização sobre as propriedades avaliadas do Permasoft.

Considerando que a estabilidade dimensional de condicionadores de tecido é caracterizada por sua capacidade de permitir moldagens funcionais na cavidade bucal, Murata et al. (2001), avaliaram as alterações dimensionais lineares de diferentes materiais em função do tempo de imersão bem como a relação entre essas alterações e as de peso. A absorção de água e a solubilidade destes materiais também foram avaliadas e comparadas. Dez corpos de prova (30 mm x 10 mm x 2 mm) foram confeccionados para cada condicionador de tecido testado (Coe-Comfort, FITT, GC Soft-Liner, Hydro-Cast, SR-Ivoseal e Visco-gel) utilizando uma matriz de teflon entre duas placas de vidro. Para a avaliação da estabilidade dimensional linear, dois indicadores metálicos (esferas de 0,5 mm de diâmetro) distando 20 mm entre si foram posicionados sobre as superfícies dos corpos de prova. A mensuração das alterações dimensionais lineares foi realizada por um microscópio portátil com a resolução de 0,001 mm. A distância entre os dois pontos de referência de cada corpo de prova foi mensurada pelo mesmo operador nos seguintes períodos de imersão em água destilada a 37°C : 2, 8 e 24 h e 2, 4, 7, 14 e 21 dias (após a confecção dos corpos de prova). Para a análise das alterações de peso, sorção de água e solubilidade, os corpos de prova foram pesados 2 h após a confecção, sendo então imersos em água destilada a 37°C pelos mesmos períodos descritos anteriormente para serem novamente pesados. Então, os corpos de prova foram secos em dessecador à vácuo até atingirem massa constante. Os resultados demonstraram que todos os materiais exibiram contração e perda de peso durante a imersão em água, exceto pelo SR-Ivoseal que apresentou expansão e aumento de peso. A maior percentagem de contração foi observada para o Coe-Comfort ao longo do período de avaliação. A maior e mais rápida perda de peso foi observada para o Coe-Comfort enquanto que a menor e mais gradual foi verificada com o

Visco-Gel. O material SR-Ivoseal apresentou as maiores porcentagens de sorção (51,9%) e solubilidade (18,8%) dos condicionadores de tecido avaliados. Não foram observadas diferenças significativas entre as porcentagens de sorção de água para os materiais FITT, GC Soft-Liner, Hydro-Cast e Visco-gel, que se apresentaram inferiores a 3,5%. A menor percentagem de solubilidade foi observada para o Visco-Gel (4,0%). As porcentagens de solubilidade dos condicionadores de tecido Coe-Comfort, FITT, GC Soft-Liner e Hydro-Cast foram significativamente superiores às de sorção de água. Por outro lado, a percentagem de solubilidade para o SR-Ivoseal foi inferior à de sorção de água, enquanto que não houve diferença entre esses valores para o Visco-Gel. Foi constatada uma relação linear positiva entre as alterações percentuais da dimensão linear e aquelas de peso (coeficientes de correlação variando entre 0,797 e 0,986). Os autores sugeriram que a contração dos condicionadores de tecido ocorre quando a perda de álcool etílico e plastificantes de baixo peso molecular (solubilidade) para o meio é superior à absorção de água (sorção). Para todos os materiais testados, as menores contrações lineares foram observadas entre 8 e 24 h, o que levaram os autores a recomendarem a utilização dos condicionadores de tecido com a finalidade de moldagem funcional por um período de até 24 h na cavidade bucal.

Em 2004, Dinçkal Yanikoglu e Yeşil Duymuş avaliaram a sorção de água e solubilidade de materiais resilientes de longa duração para base de prótese após a imersão em diferentes soluções. Cinco materiais foram testados, sendo dois a base de resina acrílica (Fixo-Gel e Visco-gel) e três de silicone (Mollosil Plus, Molloplast-B e Ufi-Gel P). Corpos de prova discoides (50 mm x 0,5 mm) dos materiais foram submetidos à dessorção até atingirem massa constante para, em seguida, serem imersos em grupos (n=5) em água destilada, saliva artificial (ajustada em pH de 4, 7 e 8) ou solução de limpeza (Dent Fitty) por 1, 4 e 16 semanas. Após cada período, os corpos de prova foram removidos das soluções e o excesso de água retirado com papel absorvente antes de serem pesados novamente. Então, os corpos de prova foram submetidos ao mesmo processo de dessorção descrito anteriormente. A porosidade superficial dos materiais nas diferentes condições experimentais foi avaliada visualmente em 1, 4 e 16 semanas. Os valores de solubilidade e absorção dos materiais avaliados não foram estatisticamente significantes para os diferentes

valores de pH de saliva artificial. Os materiais resilientes de resina acrílica demonstram valores de sorção de água superiores aos de solubilidade. Em relação ao Molloplast-B, os materiais de resina acrílica resultaram em maiores porcentagens de sorção e solubilidade ao final de 16 semanas. O Visco-gel foi o material que mais sofreu alteração pela solução de limpeza. Os níveis de porosidade dos reembasadores resilientes testados variou em acordo com o tempo e compatibilidade do polímero, sendo as maiores alterações observadas com os materiais à base de resina acrílica. Os autores concluíram que todos os materiais reembasadores resilientes testados, exceto o Molloplast-B, apresentaram maior solubilidade em saliva artificial do que em água destilada. A porcentagem de sorção de água para todos os materiais resilientes avaliados foi menor em saliva que em água.

Yilmaz et al. (2004) realizaram um estudo para avaliar os efeitos de diferentes soluções desinfetantes sobre as propriedades físicas de materiais resilientes temporários para base de prótese. Foram selecionados três materiais à base de resina acrílica (Tempo, Imediate e Flexacryl Soft) e um de silicone (Ufi gel P). Para a análise de sorção de água e solubilidade, os corpos de prova discoides (15 mm x 2 mm) de cada material (n=5) foram inicialmente dessecados até uma massa constante e, então, submetidos à imersão em uma das seguintes soluções: água destilada (controle), Deconex 5 e Savlex 3,5 por 10min e hipoclorito de sódio a 2 e 5,25 por 5min. Após a imersão nas soluções, os corpos de prova foram removidos e secos com o auxílio de um papel filtro e, em seguida, imersos em água destilada a 37°C. Os corpos de prova foram removidos da água para pesagem nos dias 4, 7, 11 e 15 e, após esses períodos, foram novamente dessecados e pesados. Corpos de prova discoides (15 mm x 4 mm) de cada material (n=3) foram obtidos para os testes de dureza. Os autores observaram valores de sorção de água variando de 0,01 mg/cm² (Ufi Gel P em hipoclorito de sódio a 5,25 no dia 15) a 0,89 mg/cm² (Tempo, em hipoclorito de sódio a 5,25 no dia 4). Os valores de solubilidade variaram de 0,25 mg/cm² para o reembasador Tempo (Deconex 5) no dia 4 até 0,73 mg/cm² para o Ufi Gel P (Savlex 3,5) no dia 15. Todos os materiais avaliados exceto o reembasador Tempo imerso em Deconex 5 (0,86 mg/cm²) e Savlex 3,5 (0,82 mg/cm²) e o grupo controle (0,89 mg/cm²) estiveram nos limites de sorção de água

preconizados pela especificação número 12 da ADA para resinas acrílicas termopolimerizáveis para base de prótese. Nenhum dos materiais avaliados apresentou valores aceitáveis de solubilidade de acordo com a mesma especificação. A sorção de água foi afetada com as soluções desinfetantes utilizadas, exceto para Flexacryl nos dias 7 e 15 e Ufi Gel P nos dias 4, 7 e 11. Os valores de solubilidade e de dureza foram influenciados de forma significativa pela imersão nas soluções desinfetantes. O menor valor de dureza foi observado para o reembasador Ufi gel P quando imerso em Savlex 3,5 (39,78 Shore A) e o maior valor para o reembasador Flexacryl Soft quando imerso em hipoclorito de sódio a 5,25 (90,11 Shore A). Os autores concluíram que as soluções desinfetantes testadas interferiram significativamente com as propriedades de sorção de água, solubilidade e dureza dos materiais resilientes temporários avaliados.

O estudo de Hong et al. (2008) comparou a influência de três tipos de métodos de armazenamento sobre a rugosidade superficial dos condicionadores teciduais GC Liner, Softone, Fictioner e Hydro-Cast. Foram confeccionados cinco corpos de prova de cada material para cada tipo de armazenagem: água destilada, ou Polident (solução usada na higienização de próteses removíveis). Os materiais foram manipulados, colocados em recipientes de polipropileno com 18 mm de diâmetro e 2,5 mm de espessura e pressionados por uma placa de vidro para produzir uma superfície lisa. As placas foram removidas após 2 h e os corpos de prova armazenados de acordo com uma das condições avaliadas. A rugosidade superficial foi mensurada no dia da confecção e após 1, 3, 7 e 14 dias. No período dos testes, os corpos de prova eram envolvidos por uma barreira de cera, dentro da qual era colocado gesso pedra manipulado. Após 1 h, os modelos dos corpos de prova eram removidos por 24 h a $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de 70. Para medir a rugosidade superficial dos modelos de gesso foi utilizado *cut off* de 0,8 mm e comprimento de medida de 2,5 mm. A porosidade de superfície dos condicionadores teciduais foi examinada e classificada após os tempos de armazenagem em escores, de acordo com a alteração, sendo: 0 (sem alteração), 1 (leve), 2 (moderada), 3 (acentuada) e 4 (grave). Diferenças significativas foram encontradas entre os três tipos de armazenagem. A rugosidade superficial dos materiais aumentou com período de imersão em água destilada e Polident. Quando

armazenados ao ar, os condicionadores de tecido avaliados demonstraram maior estabilidade da rugosidade ao longo do tempo, com redução significativa dos valores médios.

Elsemann et al. (2008) avaliaram a degradação de três condicionadores teciduais ao longo de 14 dias por meio da relação entre a dureza Shore A e a quantidade de plastificante. Foram selecionados nove pacientes saudáveis e usuários de prótese total, com média de idade de 63,4 anos. Na superfície interna da prótese superior de cada paciente, confeccionou-se três sulcos (5 mm x 15 mm x 2 mm), os quais foram preenchidos aleatoriamente com um dos condicionadores teciduais testados (Coe-Comfort, Dura Conditioner e Softone). Um corpo de prova (5 mm x 5 mm x 2 mm) de cada material de preenchimento dos sulcos foi recortado nos períodos de 3, 7 e 14 dias. A cada obtenção de amostra, o espaço na superfície interna de cada prótese era preenchido com resina acrílica autopolimerizável para que o paciente pudesse utilizá-la até a próxima consulta. Previamente aos testes nos dias estipulados, os corpos de prova foram novamente recortados na forma de discos com 4 mm de diâmetro. Nos períodos determinados, a dureza Shore A foi analisada com auxílio de um durômetro Teclock e a quantificação do plastificante (ftalato) do material foi avaliada por espectrofotometria de infravermelho. Uma interação estatisticamente significativa foi encontrada em relação ao tempo tanto para a dureza quanto para a quantidade de plastificante. O Coe-Comfort apresentou menor dureza que o Dura Conditioner e o Softone em todos os períodos avaliados, exceto o de 14 dias. Entre os condicionadores teciduais avaliados, a menor perda relativa de plastificante após 7 dias também foi observada para o Coe-Comfort. Para todos os materiais, as maiores alterações na concentração de ftalato e na dureza Shore A foram encontradas nos 3 primeiros dias. A regressão linear demonstrou que a redução da concentração de plastificante dos materiais foi proporcional ao aumento dos valores de dureza ao longo do tempo. Segundo os autores, isso pode ter ocorrido porque a liberação de plastificante facilita o aumento da sorção de água, levando à degradação hidrolítica e solubilização do polímero, o que provoca as alterações físicas e consequente degradação química. Após 14 dias, todos os materiais apresentaram valores de dureza similares bem como grande perda de plastificante e deterioração superficial visível. De acordo com os resultados

encontrados, os autores recomendaram o uso clínico dos condicionadores teciduais testados por até uma semana, com a ressalva da necessidade de substituição dos mesmos em 3 dias no caso de indicação de necessidade de manutenção de suas propriedades originais.

O estudo de Murata et al. (2010) avaliou a compatibilidade entre agentes de limpeza para próteses removíveis e condicionadores de tecido por meio do estudo de suas características superficiais. Para isso, a rugosidade e a porosidade de três condicionadores teciduais (Hydro-Cast, SR-Ivoseal e Visco-gel) foram analisadas antes e após a imersão em três agentes de limpeza de diferentes tipos: enzimático (Pika), peróxido neutro com enzimas (Polident) e peróxido alcalino (Steradent). Os materiais resilientes foram manipulados e vertidos em recipientes de polipropileno com 18 mm de diâmetro interno e 2 mm de espessura. Uma placa de vidro com rugosidade média de 0,008 μm foi pressionada sobre cada recipiente contendo os materiais, sendo removida 2 h após a mistura. Foram obtidos cinco corpos de prova para cada combinação de condicionador de tecido, solução e período de avaliação. Com o intuito de simular as condições de limpeza química de uma prótese durante o período noturno, os corpos de prova foram imersos nas soluções por 8 h a $23\pm 2^\circ\text{C}$. Um grupo controle de cada material foi colocado apenas em água destilada. Após as 8 h de imersão, todos os corpos de prova foram lavados e imersos em água destilada por 16 h a 37°C . Esse processo foi repetido durante 14 dias, sendo as soluções ou a água trocadas diariamente. Em cada recipiente contendo os corpos de prova foi confeccionado um encaixotamento com cera que permitiu vazar gesso pedra tipo IV sobre a superfície dos materiais. Após a presa do gesso, os modelos foram removidos e submetidos aos testes de rugosidade superficial (Ra) em um rugosímetro (Surfcorder SE-3000) calibrado com comprimento de amostragem ("cut-off") de 0,8 mm e extensão de tracejamento de 2,5 mm. Os testes de rugosidade superficial foram realizados nos períodos de 0, 1, 3, 7 e 14 dias após a obtenção dos corpos de prova. A porosidade superficial das amostras de cada condicionador de tecido foi classificada por três examinadores, de modo independente e às cegas. Essa classificação foi realizada para graduar a porosidade nos seguintes níveis: 0 (nenhuma), 1 (leve), 2 (moderada), 3 (acentuada) e 4 (severa). As características superficiais dos corpos de prova foram também analisadas por meio de microscopia

a laser. Os resultados mostraram que o tempo de imersão foi mais significativo em relação à rugosidade que o tipo de material, com tendência a aumento gradativo ao longo dos 14 dias. Quando imerso em água, o SR-Ivoseal apresentou maior rugosidade superficial entre os materiais avaliados, entretanto, nas mesmas condições, demonstrou a menor porosidade dentre eles. Assim, os autores sugeriram que os resultados de rugosidade não foram consistentes com os de porosidade. Em relação aos respectivos controles, o material Hydro-Cast e, especialmente o Visco-Gel, apresentaram alterações superficiais progressivas após a imersão nos agentes de limpeza, com aumento dos valores médios de rugosidade e do tamanho dos poros ao longo do período de avaliação. As superfícies desses dois materiais sofreram maior deterioração com a solução de Steradent em relação à de Polident, que por sua vez causou efeitos deletérios superiores àqueles verificados com a solução de Pika. Em contraste com os materiais Hydro-Cast e Visco-Gel, o condicionador tecidual SR-Ivoseal apresentou maiores alterações superficiais com a água destilada que com as soluções de limpeza testadas, o que foi atribuído à alta quantidade de álcool etílico em sua composição. De acordo com os resultados obtidos, os autores concluíram que o agente de limpeza à base de enzimas (Pika) foi mais adequado para a limpeza dos condicionadores teciduais testados, não causando deterioração superficial significativa em até 7 dias para os materiais Hydro-Cast e SR-Ivoseal e em até 3 dias para o Visco-Gel. Foi sugerido que a solução enzimática testada pode ser recomendada para a limpeza de próteses removíveis reembasadas com condicionadores de tecido por um período variável entre 3 e 7 dias de acordo com o tipo de material. Por outro lado, os autores não recomendaram o uso de peróxidos alcalinos e peróxidos neutros com enzimas como método químico para limpeza de condicionadores teciduais.

Segundo Hong et al. (2012a), a perda da viscoelasticidade caracteriza um dos principais problemas relacionados aos condicionadores de tecido e é ocasionada pela lixiviação do álcool etílico e dos plastificantes, ou seja, o fenômeno de solubilidade. Portanto, os autores avaliaram a viscoelasticidade dinâmica, lixiviação de plastificantes e relação de ambos nos condicionadores de tecido ao longo do tempo. Com esses intuitos, cinco marcas comerciais foram testadas: Coe-Comfort, Fit Softer, Hydro-Cast, Soft Conditioner e Visco-gel. Após plastificação, os

corpos de prova foram colocados em 100mL de água destilada a 37°C. A viscoelasticidade dinâmica foi analisada a partir de cinco amostras (10 mm x 10 mm x 2 mm) de cada material, após 1, 3, 7 e 14 dias, com um analisador dinâmico mecânico automático. Para avaliar a lixiviação de plastificantes, cinco corpos de prova (18 mm x 2 mm) eram diariamente removidos durante 14 dias da água destilada, secos em papel absorvente e novamente imersos em novo conteúdo de água. As amostras de água e papeis absorventes correspondentes foram extraídos em hexano. O conteúdo de plastificantes lixiviados de cada material foi determinado por cromatografia líquida de alta eficiência após 1, 3, 7 e 14 dias de imersão em água. Rápidas alterações em todos os parâmetros reológicos foram registradas em todos os materiais testados, mesmo após de 1 dia de imersão, exceto para Coe-Comfort, que demonstrou tais resultados entre os dias 3 e 7 de imersão em água. O Coe-Comfort apresentou maior lixiviação de benzoato de benzila comparado aos outros materiais. Os materiais Visco-gel e Coe-Comfort lixiviaram menos dibutil ftalato que os demais condicionadores de tecido. O Coe-Comfort lixiviou uma quantidade significativamente maior de benzoato de benzila que os outros materiais mesmo em 14 dias de imersão. A lixiviação de plastificantes de todos os materiais aumentou significativamente em até 7 dias de imersão em água, mas reduziu do 7º ao 14º dia. Todos os materiais apresentaram grandes alterações na viscoelasticidade dinâmica, mesmo com a pequena perda de plastificante observada no 1º dia. Após esse período, o nível de alteração da viscoelasticidade foi aumentado com o aumento da quantidade de plastificante lixiviado, exceto para Hydro-Cast e Fit Softer. De acordo com os resultados, os autores concluíram que a viscoelasticidade dinâmica é afetada pela lixiviação de plastificantes, sendo esse efeito limitado. Foi também sugerido que os condicionadores de tecido testados são aceitáveis para uso clínico no período de 14 dias.

Hong et al. (2012b) avaliaram o uso de diferentes plastificantes em materiais resilientes acrílicos com o intuito minimizar a concentração desses componentes e aumentar a longevidade dos condicionadores de tecido. As amostras (10 mm x 10 mm x 2 mm) foram preparadas de acordo com diferentes combinações de três tipos de pó de polímero/copolímero (PEMA: polietil metacrilato, P-n-BMA: poli (n-butil metacrilato) e P-n-BMA/i-BMA: copoli (n-butil/i-butil

metacrilato) e cinco tipos de plastificantes líquidos [DEHM: di(2-etilhexil) maleato, DIBA: diisobutil adipato, DAA: di-*n*-alquil adipato, DINA: diisononil adipato e EtOH: álcool etílico]. Foram avaliadas as propriedades de viscoelasticidade, absorção de água, solubilidade e alteração de peso dos materiais. As amostras contendo P-*n*-BMA apresentaram os módulos de armazenamento (G') e de perda (G'') em cisalhamento mais estáveis ao longo de 14 dias de imersão em água. Foi observado maior nível de absorção de água em relação ao de solubilidade nas amostras de PEMA comparadas às de P-*n*-BMA. Esse último polímero foi considerado o pó em combinação ao líquido DEHM mais adequado para um condicionador de tecido. Foi concluído que a combinação de diferentes polímeros e plastificantes pode melhorar a durabilidade dos condicionadores de tecido.

O estudo de Shylesh Kumar et al. (2013) objetivou identificar propriedades de dureza, perda de peso, deformação compressiva e alteração dimensional de três condicionadores de tecido para conhecer melhor seu uso clínico como materiais de moldagem. O condicionador tecidual tem como primordial função distribuir as tensões sobre a mucosa, devendo ser plástico no primeiro momento para se adaptar aos tecidos de suporte e elástico depois de um período inicial de cicatrização. Cinco amostras de três condicionadores teciduais (Coe-Comfort, Visco-gel e Softone) foram avaliadas em relação às propriedades estudadas. Para o teste de dureza Shore A, as amostras (65 mm x 10 mm x 2,5 mm) foram analisadas em durômetro após os intervalos de 15 min, 30 min, 1 h, 2 h e 24 h do início da mistura. Nestes mesmos períodos, amostras (50 mm x 0,5 mm) foram pesadas em balança de alta precisão para avaliação da perda de peso. A alteração dimensional foi avaliada em microscópio a partir de moldagem das amostras (31 mm x 31 mm) e obtenção dos modelos de gesso nos mesmos períodos. Os testes de deformação compressiva foram realizados em corpos de prova (12,5 mm x 19 mm) sob compressão em máquina universal de ensaios (INSTRON), sob força de 200 g/cm², durante 30 s por duas vezes em intervalo de 10 s. Os resultados demonstraram que todos os materiais perderam peso após 24 h e se tornaram mais rígidos. A plasticidade dos materiais Coe-Comfort e Visco-gel foi reduzida após 1 h e 2 h, respectivamente, voltando a aumentar após 24 h. Já para o condicionador tecidual Softone, houve redução da plasticidade no intervalo de 30 min até 24 h. Os materiais Softone e Coe-

Comfort mostraram melhor escoamento e mais plasticidade em relação ao Visco-gel em 30min. A alteração dimensional dos materiais Softone e Visco-gel em 30min foi melhor do que a observada para o Coe-Comfort. Os autores concluíram que, em 30min após a mistura, o condicionador tecidual Softone apresentou melhores propriedades de alteração dimensional, plasticidade e escoamento para a realização de moldagem funcional em comparação aos materiais Coe-Comfort e Visco-gel.

Visando determinar as alterações nas propriedades viscoelásticas dos condicionadores de tecido, Monzavi et al. (2013) avaliaram sua interação com materiais termoplásticos de moldagem. O material termoplástico em bastão (godiva) foi colocado, após seu aquecimento, em matrizes de aço inoxidável (18 mm x 2 mm), que foram mantidos em água destilada a 37°C por 10min. Então, os quatro condicionadores de tecido testados (Visco-gel, GC Soft-Liner, FITT e Coe-Comfort) foram misturados de acordo com a recomendação dos fabricantes e vertidos sobre os moldes de godiva, sendo mantidos sobre pressão de uma placa de vidro para extrusão dos excessos até sua plastificação. Dez amostras de cada um dos condicionadores de tecido foram produzidas sobre a godiva e dez amostras apenas dos materiais foram confeccionadas como controles. Cinco amostras de cada tipo (com e sem godiva) foram imersas em água destilada durante 1 ou 7 dias. As propriedades de viscoelasticidade dinâmica foram avaliadas com viscoelastômetro termomecânico dinâmico automático e a tangente de perda de energia foi calculada. Os condicionadores de tecido sem o material termoplástico apresentaram diferentes graus de viscosidade e essa propriedade não sofreu efeito ao longo do tempo de armazenagem em água, exceto para o Visco-gel. A baixa viscosidade inicial e as pequenas variações de viscosidade em até 7 dias de imersão sugerem que o Visco-gel seja um material adequado para condicionamento dos tecidos protéticos de suporte. Os resultados sugeriram que o Coe-Comfort seria apropriado para moldagens funcionais por apresentar baixa viscosidade inicial e alta redução da viscosidade ao longo do tempo. FITT e GC Soft-Liner foram considerados materiais adequados para reembasamento temporário por apresentarem elevada viscosidade inicial e alta elasticidade. Além disso, a comparação entre os quatro condicionadores teciduais sobre a godiva sugeriu que os materiais FITT e GC Soft-Liner seriam materiais adequados para moldagens funcionais por sua baixa viscosidade inicial e

grande aumento viscosidade ao longo do tempo. Sobre o material termoplástico, o Visco-gel foi considerado adequado para reembasamento temporário por causa de sua alta viscosidade inicial e pequena alteração dessa propriedade em até 7 dias de imersão em água, além do mais elevado nível de elasticidade. O maior efeito do material termoplástico para moldagem nas propriedades viscoelásticas dos quatro condicionadores teciduais foi a curto prazo, exceto para o Visco-gel que não apresentou efeito significativo ao longo do tempo. Os autores concluíram que a associação do material termoplástico de moldagem interferiu com as propriedades de viscoelasticidade dinâmica dos condicionadores de tecido testados.

Bail et al. (2014) aborda que, embora tenham obtido melhoras desde a sua criação, os materiais resilientes à base de resina acrílica ainda apresentam problemas relacionados à longevidade, porque se tornam rapidamente rígidos pela absorção de água e a lixiviação dos componentes de baixo peso molecular. Os materiais à base de silicone, embora não possuam tais componentes, apresentam dificuldade de união à base acrílica das próteses removíveis. Além disso, ambos os tipos de materiais resilientes são instáveis em soluções aquosas, como saliva e agentes de limpeza. A rugosidade superficial dos materiais para base de prótese pode levar à colonização microbiana e dificultar a manutenção da higiene da prótese, o que predispõe às infecções como estomatite protética. Assim, os autores avaliaram in vivo em um modelo animal as alterações de rugosidade superficial de materiais resilientes para base de prótese ao longo do tempo. Para isso, 40 ratos Wistar foram individualmente moldados para a confecção de placas acrílicas, simulando bases protéticas. As placas (n=40) foram reembasadas com um dos materiais resilientes testados, sendo dois reembasadores à base de resina acrílica (Dentuflex e Trusoft), um condicionador tecidual (Dentusoft) e um à base de silicone (Ufi Gel P). Para a avaliação da rugosidade superficial em rugosímetro, metade das placas de cada material (n=5) foi analisada imediatamente após o reembasamento e a outra metade, após 14 dias de uso dos aparatos nos animais. Houve aumento da rugosidade para todos os materiais ao longo do período de 14 dias. Não houve diferença significativa na rugosidade superficial entre os materiais Dentuflex e Dentusoft. O Trusoft se apresentou mais rugoso em relação ao Dentusoft e o Ufi Gel P foi o material com maior suavidade superficial entre todos os estudados. O

material Ufi Gel P também apresentou a menor alteração de rugosidade ao longo de 14 dias de uso. A rugosidade média da superfície de todos os materiais testados excedeu o parâmetro considerado como clinicamente ideal ($0,2\ \mu\text{m}$). Os autores concluíram que o período de utilização de 14 dias resultou em alterações na rugosidade superficial média de todos os materiais resilientes para base de prótese testados.

De Andrade Lima Chaves et al. (2014) realizaram um estudo com objetivo de avaliar in vitro os efeitos de quatro materiais reembasadores resilientes, sendo dois à base de silicone (Ufi Gel P e Sofreliner) e dois à base de acrílico (Durabase Soft e Trusoft) e dois condicionadores de tecido (Softone e Coe Comfort) em diferentes linhas celulares (L929, HaCat e RAW 264.7), por meio de análise de viabilidade celular (ensaio de MTT), morfologia celular (Microscopia Eletrônica de Varredura) e padrões de morte celular (citometria de fluxo). Os ensaios foram realizados tanto após as células serem expostas aos eluatos dos materiais resilientes quanto em contato direto com os materiais para 24 h ou 48 h. Os controles foram células cultivadas em meio de cultura sem eluatos ou corpos de prova dos materiais. Para as células L929 e RAW 264.7, nenhuma diferença significativa foi encontrada entre os materiais testados ou entre os dois períodos de extração. As células HaCat, expostas aos eluatos de 48 h, apresentaram porcentagens significativamente mais baixas de viabilidade celular em relação aos eluatos de 24 h, independentemente dos materiais resilientes. Não houve nenhuma alteração significativa na morfologia das células L929 após incubação por 24 h e 48 h com os eluatos de todos os materiais testados. Foram observadas mitoses após a exposição das células HaCat aos eluatos de 24 h dos materiais Coe Comfort, Durabase Soft e Trusoft. Resultados semelhantes foram observados quando células HaCat foram incubadas com os eluatos de 48 h. A morfologia normal das células foi mantida e mitoses foram observadas após a exposição aos eluatos de Ufi Gel, Softone e Durabase Soft. Após exposição aos eluatos de 24 h de Coe Comfort e Durabase Soft, a morfologia das células RAW 264.7 não se mostrou bem definida e remanescentes das membranas citoplasmáticas de células letalmente danificadas foram observados no substrato. O tipo de morte celular (apoptose ou necrose) como avaliado pelo fluxo de citometria mostrou que, para as células L929, as porcentagens de morte celular por apoptose

induzida pelos eluatos de 24 h dos materiais Ufi Gel P e Sofreliner S e pelo eluato de 48 h do material Durabase Soft foram significativamente maiores em relação aos controles. As porcentagens de células L929 necróticas após a exposição à eluatos de 24 h e 48 h para todos os materiais resilientes avaliados foram superiores em comparação ao controle, exceto para Trusoft. Para as células HaCat, não houve diferenças estatisticamente significativas entre as porcentagens de apoptose ou necrose induzidas pelos eluatos de 24 h ou 48 h para todos os materiais testados em relação aos seus respectivos controles. O teste do MTT mostrou que, em comparação ao período de 24 h, todos materiais resilientes resultaram em uma redução significativa na viabilidade das células após 48 h de contato direto com as células L929. Em ambos os períodos, os materiais Ufi Gel P e Sofreliner S resultaram em maiores porcentagens de viabilidade celular, enquanto as menores porcentagens foram obtidas para os materiais Durabase Soft e Coe Comfort. O condicionador tecidual Softone apresentou percentagem intermediária de viabilidade celular, a qual não foi significativamente diferente daquela observada para Trusoft em 48 h de incubação. Resultados semelhantes foram observados para células HaCat, sendo as porcentagens de viabilidade celular em 24 h significativamente superior àquelas observadas em 48 h. As maiores médias foram observadas após o contato direto das células HaCat com os materiais Ufi Gel P, Sofreliner S, sendo a menor média obtida para Durabase Soft, independentemente do período de contacto. Os materiais Softone e Coe Comfort apresentaram valores intermediários em ambos os períodos de incubação para as células HaCat. Para as células RAW 264.7, independentemente do período, o contato direto de células RAW 264.7 com Ufi Gel P e Sofreliner S resultou em maiores porcentagens de viabilidade celular. As menores médias percentuais foram encontradas para os materiais Durabase Soft, Softone e Coe Comfort, enquanto que o contato direto com o Trusoft resultou em um valor intermediário de viabilidade celular, o qual foi significativamente diferente daqueles obtidos para os demais materiais. Pôde concluir-se que os eluatos de 24 h e 48 h de todos os materiais testados não foram citotóxicos para as três linhagens celulares avaliadas. Contudo, foram induzidas alterações na morfologia dos macrófagos RAW 264.7. Observou-se também que os fibroblastos e queratinócitos mostraram sensibilidades diferentes aos eluatos dos materiais resilientes em ambos

os períodos de incubação, com os fibroblastos mostrando percentuais mais elevados de necrose celular em ambos os períodos de extração. Nos testes de contato direto, os efeitos sobre a viabilidade celular foram superiores para os reembasadores à base de acrílico e os condicionadores de tecido em relação aos materiais à base de silicone.

O recente estudo de Yang et al. (2015) consistiu em desenvolver um condicionador de tecido com melhores propriedades viscoelásticas ao longo do tempo. Para isso, os autores levaram em consideração três principais estudos prévios que objetivaram métodos para melhoria da viscoelasticidade desses materiais. O primeiro método usou a adição poli metil metacrilato ao polietil metacrilato como um retardador. A adição de uma concentração de 10 de poli metil metacrilato ao polietil metacrilato assegurou a maior estabilidade de viscoelasticidade dinâmica e a menor lixiviação de plastificantes entres as concentrações testadas. O segundo método utilizou a alteração do plastificante, sendo demonstrado que a substituição do pó convencional e do plastificante por poli n-butil metacrilato e 2-etil hexil maleato melhorou a durabilidade dos condicionadores de tecido. O terceiro método demonstrou que condicionadores teciduais sem álcool apresentaram melhores propriedades viscoelásticas em relação aos convencionais. Dessa forma, os autores desenvolveram um novo condicionador tecidual utilizando um novo poliéster hiper-ramificado (TAH), acetil tributil citrato (ATBC) e tributil citrato (TBC) como plastificantes adicionados ao polímero convencional de polietil metacrilato. Dois condicionadores comerciais (Shofu e GC) foram utilizados para comparações (controles). Os plastificantes ATBC, TBC, TAH, butil ftalil butil glicolato (BPBG), dibutil ftalato (DBP), benzoato de benzila (BB) e os materiais Shofu e GC foram testados em nove combinações (ATBC+TAH, TBC+TAH, ATBC, TBC, BPBG, DBP, BB, Shofu e GC), com tempos de geleificação variando entre 120 e 180 s. Após 24 h em água destilada a 37°C, seis amostras (25 mm x 1,5 mm) de cada formulação tiveram sua viscoelasticidade dinâmica determinada por um reômetro em modo de cisalhamento nos períodos de 0, 1, 3, 7, 14 e 28 dias de imersão. Outras seis amostras de cada material foram confeccionadas para determinação da hidrofobicidade superficial por meio da mensuração do ângulo de contato formado entre a superfície da amostra e a gota de

água. A sorção de água e a solubilidade foram determinadas por meio da pesagem de seis amostras (35 mm x 1,5 mm) de cada formulação após a imersão em água destilada (50 mL a 37°C) durante 1, 3, 7, 14 e 28 dias. Para avaliar a citotoxicidade, seis amostras da formulação ATBC+TAH foram confeccionadas e mantidas em cultura de fibroblastos gengivais. A adição de TAH aumentou a estabilidade da viscoelasticidade e reduziu a solubilidade dos materiais produzidos, mas reduziu o ângulo de contato e aumentou a sorção de água dos mesmos. A combinação ATBC+TAH apresentou propriedades viscoelásticas mais estáveis em relação aos condicionadores de tecido convencionais durante a imersão em água por 28 dias. Com relação à biocompatibilidade, a formulação ATBC+TAH apresentou resultados similares aos dos controles. Os autores concluíram que o plastificante formulado na combinação ATBC+TAH possui aplicações em potencial como um novo condicionador tecidual, porém, pesquisas in vivo são necessárias para provar a sua eficácia clínica.

2.3 ADIÇÃO DE ANTIMICROBIANOS EM MATERIAIS PARA BASE DE PRÓTESE

Em 1981, Addy realizou um estudo in vitro sobre o potencial de liberação de clorexidina em resinas acrílicas para base de próteses. Foram confeccionados corpos de prova circulares (25 mm x 3 mm) de duas resinas acrílicas termopolimerizáveis (Trevalon e Croform) e um condicionador de tecido (Visco-gel), com ou sem incorporação de acetato de clorexidina nas concentrações de 2, 5 e 10%. Inicialmente, foi realizado um estudo piloto com clorexidina a 5% incorporada ao pó dos materiais, os quais demonstraram liberação do fármaco em nível antibacteriano (*S. mutans* em 24 h, de acordo com o método dos halos de inibição). Após esse período inicial, os corpos de prova foram reinoculados diariamente nas placas de Petri até que não houvesse mais inibição do crescimento bacteriano. A liberação de fármaco foi também observada em água, simulando sua liberação na cavidade bucal em presença de saliva. Corpos de prova dos mesmos materiais foram obtidos com ou sem adição de fármaco, sendo três amostras de cada condição deixadas separadamente em frascos contendo 10 mL de água destilada a

37°C. Diariamente, a água da liberação dos fármacos era analisada espectrofotometricamente para comparação com os resultados obtidos em 24 h. A cada semana, uma amostra de 150 µL da água destilada que continha os corpos de prova era inoculada em placas contendo *S. mutans* para incubação por 24 h a 37°C. Após esse período, os diâmetros dos halos de inibição eram mensurados. Também foram realizadas análises das superfícies dos corpos de prova em microscópio eletrônico de varredura (MEV) após polimento com lixa de granulação 1200 e irrigação com água destilada. Os resultados dos testes de halos de inibição de *S. mutans* mostraram que a liberação de clorexidina se manteve nas resinas acrílicas por até 32 dias e para o condicionador de tecido por 39 dias. Nenhuma inibição bacteriana foi observada nos grupos sem adição do fármaco. Nas leituras espectrofotométricas, observou-se que o nível de clorexidina liberada sofreu uma queda progressiva para todos os materiais avaliados. No entanto, os períodos de liberação aumentaram com maiores concentrações de fármaco de modo que a adição de acetato de clorexidina a 10% apresentou ação antibacteriana por um período superior a 100 dias. As análises em MEV demonstraram a presença do fármaco em toda a matriz polimérica para os corpos de prova não imersos em água e em apenas em suas superfícies para aqueles que foram imersos.

Addy e Handley, em 1981, estudaram algumas propriedades de uma resina acrílica termopolimerizável (Croform) e um condicionador tecidual (Visco-gel) após a incorporação de acetato de clorexidina. Concentrações de 2, 5 e 10% desse fármaco foram incorporadas ao pó dos materiais, que foram manipulados seguindo as recomendações do fabricante. Grupos controles sem adição de clorexidina foram obtidos nas condições avaliadas. Para a análise de perda de peso e absorção de água, os corpos de prova discoides (25 mm x 3 mm) foram submetidos a secagem até atingirem massa constante e depois imersos em água destilada para serem pesados três vezes por semana durante 87 dias. Para os testes de dureza e resistência à flexão, os corpos de prova dos materiais (70 mm x 2,5 mm e 10 mm) foram submetidos a cargas crescentes até o momento da fratura. As cargas de fratura e deflexão obtidas foram analisadas e, desses valores, obteve-se o módulo de elasticidade. Para a resina acrílica (controle), a percentagem de ganho de peso foi mais acentuada nos dez primeiros dias e, após 30 dias, praticamente não houve

mais alterações. Nos corpos de prova de resina acrílica contendo clorexidina, o ganho de peso máximo também ocorreu nos dez primeiros dias, sendo verificada perda gradativa de peso após esse período. Todos os corpos de prova do condicionador tecidual apresentaram um progressivo aumento de peso ao longo do período de avaliação, embora o aumento tenha sido mais considerável durante 60 dias. A dureza e o módulo de elasticidade foram significativamente reduzidos na resina acrílica com adição de clorexidina. De acordo com os autores, as mudanças observadas seriam coerentes com o padrão de incorporação de clorexidina na matriz polimérica. Apesar dos resultados, a incorporação de clorexidina nos materiais avaliados é válida para reembasamento de próteses já existentes.

Schneid (1992) investigou a viabilidade de um sistema de liberação de quatro agentes antifúngicos (clorexidina, clotrimazol, fluconazol e nistatina) para o tratamento da estomatite protética. Os antifúngicos foram adicionados ao material nas concentrações de 250, 500 e 1000 mg para a clorexidina, o clotrimazol e o fluconazol e de 125, 250 e 500 mg para a nistatina. Os fármacos foram incorporados ao líquido (4 mL), sendo a manipulação com o pó (1,6 g) realizada de acordo com as instruções do fabricante. Como controle, utilizou-se o material sem adição de fármaco. Os corpos de prova constituíram-se de discos confeccionados com uma camada de 6 mm de condicionador tecidual sobre 2 mm de resina acrílica termopolimerizável para base de prótese. A mensuração da dureza foi realizada diariamente por um durômetro Shore A, durante 14 dias. Nesse período, os corpos de prova ficaram armazenados em saliva artificial a 37°C. Para os testes de resistência à tração, foram confeccionadas barras cilíndricas do condicionador tecidual (5 mm) com resina acrílica aderida às suas extremidades. Utilizou-se uma máquina de ensaio universal para os ensaios dos corpos de prova e os valores foram obtidos em megapascal (MPa). As falhas resultantes da tração foram classificadas em adesivas ou coesivas. A avaliação da atividade antifúngica consistiu de placas de Petri contendo uma camada de condicionador tecidual impregnado com um dos antifúngicos, coberta por outra camada de ágar Sabouraud. Diariamente, por 16 dias, e semanalmente, por 42 dias, essas amostras eram inoculadas com suspensões de *C. albicans* contendo 10^2 células/mL para o fluconazol ou 10^5 células/mL para os demais fármacos. Avaliações quantitativas do

crescimento fúngico eram realizadas cinco dias após cada inoculação. A dureza de todos os grupos experimentais aumentou proporcionalmente com a concentração de fármaco e o tempo de avaliação, entretanto, os valores obtidos foram considerados aceitáveis clinicamente (Shore A $\leq$ 49). As médias de resistência à tração aumentaram em todos os grupos experimentais e foram significativamente superiores às obtidas com o controle. Todas as falhas foram caracterizadas como coesivas. Os fármacos testados demonstraram inibição do crescimento de *C. albicans*, o que não ocorreu no grupo controle. Essa inibição foi mais acentuada com maiores concentrações dos fármacos, sendo reduzida ao longo do tempo de avaliação. Os autores concluíram que os quatro antifúngicos testados poderiam ser combinados com o condicionador tecidual para inibição fúngica. Foi sugerido que a modificação do material pelos fármacos não alterou clinicamente sua dureza e que, apesar de ter aumentado sua resistência à tração, não interferiu com a união à resina acrílica termopolimerizável.

Truhlar, Shay e Sohnle (1994) avaliaram a atividade antifúngica de reembasadores resilientes temporários para base de próteses removíveis modificados pela adição de nistatina, bem como o comportamento a longo prazo desse sistema em um ambiente aquoso. O pó da nistatina foi incorporado às proporções de pó dos materiais Lynal e Visco-gel, nas seguintes dosagens: 0 (controle), 100.000, 300.000, 500.000 e 1.000.000 UI. O líquido dosado (5 mL) de cada material foi adicionado à mistura de pós em uma placa de Petri. Após a plastificação dos materiais, o meio de cultura ágar Sabouraud dextrose contendo cloranfericol e ciclohexamina foi dispensado sobre os mesmos em uma inclinação que permitiu espessuras de ágar variáveis entre 1 e 9 mm. A superfície do ágar foi inoculada com swab estéril contendo *C. albicans* (10^4 células/mL) e todas as placas foram incubadas por 48 h a 37°C. Então, a profundidade máxima na qual se observou inibição de *C. albicans* foi mensurada com sonda periodontal. Após esse procedimento, o ágar de cada placa foi removido da superfície do material, sendo repostado, reinoculado e novamente mensurado. Esse processo foi repetido aos 7, 10 e 14 dias. Para cada concentração de nistatina de ambos os materiais, três placas foram confeccionadas, sendo obtidas seis mensurações por placa. Para avaliar o efeito da exposição em condições aquosas, amostras dos materiais modificados

com as mesmas concentrações de nistatina foram preparadas da forma como descrito previamente, cobertas com 40 mL de água destilada e incubadas a 37°C. Decorridos 4 dias, a água foi removida e sobre os materiais secos, o ágar inclinado foi aplicado, inoculado e as mensurações obtidas. Água destilada foi novamente dispensada sobre as mesmas placas e, após 14 dias a 37°C, o ágar foi substituído e inoculado para que novas mensurações fossem efetuadas ao final de um novo período de incubação de 48 h. Com o intuito de simular a constante alteração do ambiente bucal, foi realizado outro experimento com substituição da água das placas em 2, 4, 7, 10 e 14 dias. Ao final do tempo de exposição ao ambiente aquoso, a água foi removida das placas e o material resiliente presente no fundo das mesmas foi seco ao ar. Uma alíquota de 25 mL de ágar inclinado foi dispensada sobre o material de cada placa e, então, inoculada com *C. albicans*. Após 48 h a 37°C, o crescimento fúngico presente nas placas foi mensurado. A média das mensurações de todos os experimentos foi expressa em valores máximos de profundidade de inibição em ágar (mm). Em cada condição, uma placa controle sem adição de nistatina foi confeccionada. A atividade antifúngica da água removida das placas também foi avaliada. Para isso, 1 mL da água de cada amostra foi colocado em tubos de ensaio contendo 1 mL de caldo Sabouraud inoculado com 0,1 mL de *C. albicans* (10^3 células/mL). Posteriormente à incubação por 24 h, os tubos foram centrifugados e visualmente avaliados quanto à turvação, indicativa de crescimento fúngico. Para expressar as profundidades de ágar mensuradas em unidades disponíveis de nistatina, utilizou-se o método de calibração do dimetilsulfóxido (DMSO). Para ambos os materiais, os resultados revelaram significativa perda inicial da atividade antifúngica das amostras, com a maior redução observada entre os dias 0 e 2. Entretanto, comparado ao Lynal, o material Visco-gel demonstrou menor perda inicial da atividade antifúngica até o dia 4. Entre os dias 7 e 14, os dois reembasadores demonstraram similarmente constantes efeitos inibitórios. Maiores concentrações de nistatina evidenciaram maior inibição do crescimento de *C. albicans*. Os controles de ambos os materiais apresentaram atividade antifúngica insignificante ao longo da avaliação. Quando expostos ao meio aquoso por 14 dias, os materiais demonstraram perda ainda maior das propriedades antifúngicas em relação às condições a seco, sobretudo para as concentrações de nistatina de

300.000 U e 500.000 U. No entanto, amostras de Lynal e Visco-gel contendo 1.000.000 U de nistatina não foram acentuadamente afetadas pelo ambiente aquoso. A análise visual da água removida das amostras de ambos os materiais com 1.000.000 U de nistatina revelou inibição de *C. albicans* até o dia 2, com perda de efetividade antifúngica após o dia 4. Foi concluído que a incorporação de nistatina nos materiais resilientes reembasadores testados permitiu a liberação de fármaco em até 14 dias. Com base nos resultados, os autores sugeriram que a metodologia empregada no estudo poderia ser considerada como uma modalidade terapêutica promissora para a estomatite protética, com a vantagem de menor necessidade participação ativa dos pacientes, sobretudo os idosos e institucionalizados.

Ueshige et al. (1999) realizaram um estudo para avaliar as propriedades viscoelásticas de condicionadores de tecido modificados por zeólito de prata (ZP), um composto com alta capacidade antimicrobiana devido ao seu efeito contínuo de liberação de pequenas quantidades íons de prata na água ao longo do tempo. Corpos de prova (10 mm x 10 mm x 5 mm) de cinco condicionadores teciduais: Visco-gel (VG), GC Soft-Liner (SL), FITT (FT), Sr-Ivoseal (IV) e Shofu Tissue Conditioner (TC) foram confeccionados contendo umas das seguintes concentrações de ZP: 0 (controle), 2, 5 e 10%. As partículas de ZP foram incorporadas ao pó de cada condicionador de tecido o qual foi então misturado com o respectivo líquido, de acordo com as instruções dos fabricantes. Dos 20 corpos de prova produzidos para cada material nas concentrações determinadas, dez foram imersos em água destilada e dez em saliva artificial a 37°C por 1 ou 28 dias. Nestes períodos, as propriedades viscoelásticas dinâmicas dos materiais foram mensuradas com o auxílio de um viscoelâmetro (Rheovibron), utilizando-se os parâmetros de módulo complexo dinâmico e de tangente de perda. Os resultados mostraram que os valores de módulo complexo do SL diminuíram significativamente com o aumento da concentração de ZP, enquanto os valores de tangente de perda dos materiais FT e IV aumentaram. Os valores de tangente de perda do material VG contendo 10% de ZP foram inferiores aos obtidos com o controle. Não houve alteração dos valores de módulo complexo e tangente de perda com a incorporação de ZP nas concentrações avaliadas apenas para o material TC. Nos materiais FT e TC

contendo 2% de ZP, esses valores não foram significativamente diferentes nos períodos de 1 e 28 dias em ambas as soluções de imersão (água e saliva). Como as propriedades viscoelásticas de todos os condicionadores de tecido testados, exceto o TC, foram afetadas pela adição de ZP, os autores sugeriram que esse composto parece influenciar na estrutura dos materiais. O ZP possivelmente influencia a penetração dos plastificantes no material e, conseqüentemente, suas propriedades viscoelásticas. Entretanto, os autores afirmaram que a magnitude desta influência difere entre os materiais testados e que isso pode ser explicado pela diferença entre os pesos moleculares dos plastificantes. Essa diferença bem como os distintos pesos moleculares dos polímeros foram fatores atribuídos às alterações observadas para os materiais VG e SL após a incorporação de ZP. De acordo com os autores, as alterações das propriedades viscoelásticas ao longo do tempo para os materiais IV e FT provavelmente foram resultantes da liberação do etanol, que se difunde facilmente devido ao seu baixo peso molecular, causando grande perda aos condicionadores de tecido, o que influencia as propriedades viscoelásticas durante o armazenamento. Por apresentar plastificante de menor peso molecular e a menor concentração de etanol dentre os materiais avaliados, o TC modificado por ZP não apresentou alterações em suas propriedades viscoelásticas dinâmicas, sendo recomendado como condicionador de tecido com efeito antimicrobiano.

Urban et al. (2006) estudaram a resistência à tração de um condicionador de tecido (Dura Conditioner) com e sem incorporação de nistatina, após 24 h e 7 dias de armazenagem em água. Corpos de prova em forma de haltere com área útil central retangular (33 mm x 6 mm x 3 mm) foram divididos em três grupos de estudo (n= 7) em cada período de armazenagem 37°C: G I (controle – sem nistatina), G II (Nistatina 500.000 UI ou 82,25 mg) e G III (Nistatina 1.000.000 UI ou 164,5 mg). Então, os corpos de prova foram submetidos aos testes de tração em um extensômetro com velocidade de 40 mm/min. Em 24 h, os resultados para os grupos I, II e III foram de 634,29 gf, 561,92 gf e 547,30 gf, respectivamente. Em 7 dias foram de 536,68 gf pra G I, 467,50 pra G II e 500,62 para G III. Diferenças significativas foram observadas entre os períodos de armazenagem, mas não entre os grupos controle e os grupos experimentais. Em relação ao período de 24 h, a imersão em água por 7 dias causou redução na resistência à tração do material,

independentemente da adição de nistatina. De acordo com os condições estudadas, foi possível concluir que, a incorporação de nistatina em até 1.000.000 UI não afetou a de resistência à tração do Dura Conditioner.

O padrão de incorporação de agentes antimicrobianos em um condicionador tecidual foi avaliado por Urban et al. (2009). Os autores utilizaram MEV para analisar se a adição dos fármacos em diferentes concentrações poderia promover mudanças morfológicas na superfície do material. Além disso, foi utilizada a espectroscopia por energia dispersiva de raios X (EDX) para identificar os antimicrobianos (nistatina, miconazol, cetoconazol e diacetato de clorexidina) e os componentes do condicionador tecidual (Softone). Ao pó do material, foram acrescentadas duas concentrações de cada fármaco testado: nistatina (500.000 e 1.000.000 U), miconazol (125 e 250 mg), cetoconazol (100 e 200 mg) e diacetato de clorexidina (5% e 10%). Para possibilitar comparações, um grupo sem adição de fármaco (controle) foi obtido. O líquido do material foi adicionado à mistura de pós e procedeu-se a manipulação de acordo com as recomendações do fabricante. Em seguida, o material modificado ou não pela adição de fármaco foi colocado em matrizes de teflon de 36 mm x 7 mm x 6 mm e prensado entre duas placas de vidro até sua plastificação (10 min). Três áreas aleatórias dos corpos de prova de cada grupo (n=5) foram selecionadas para as análises em MEV e EDX. Os corpos de prova contendo nistatina apresentaram distribuição uniforme de partículas com formas e tamanhos aleatórios, variando de 10 a 50 µm. As partículas de miconazol dispersas no material se mostraram irregulares, com dimensões entre 25 e 50 µm, enquanto as de cetoconazol eram esféricas e uniformes, variando entre 10 e 25 µm. A análise em MEV exibiu partículas disformes de clorexidina de até 50 µm. A presença de íons de enxofre e cálcio na matriz do condicionador tecidual foi observada na análise em EDX do controle e, conseqüentemente, em todos os demais grupos de estudo. Íons cloro foram também identificados nos grupos contendo miconazol e clorexidina. A quantidade de agentes antimicrobianos dispersos nas superfícies do material não foi significativamente alterada quando diferentes concentrações foram incorporadas. Os autores concluíram que o condicionador tecidual modificado demonstrou diferenças quanto à distribuição e tamanho das partículas dos agentes antimicrobianos adicionados à sua matriz

plastificada, mas as concentrações dos fármacos não causaram mudanças morfológicas superficiais no material.

A investigação de Falah-Tafit et al. (2010) teve por objetivo avaliar a eficácia in vitro da combinação de dois antifúngicos (nistatina e fluconazol) com um condicionador de tecido (Acrosoft) na adesão e colonização de *C. albicans*. Foram confeccionados oito corpos de prova (5 mm x 1 mm) do material para a adição dos agentes antifúngicos em uma das concentrações testadas (1, 3, 5 e 10%). Um grupo controle negativo, composto apenas pelo condicionador de tecido, também foi obtido. O inóculo de *C. albicans* foi produzido a uma concentração de 10^6 células/mL e colocado em poços de placas de cultura, nos quais foram imersos os corpos de prova para a incubação a 35°C por 48 h sob agitação de 150 rpm. Após esse período, os corpos de prova foram lavados cinco vezes com água estéril para remoção das células não aderidas e, então, imersos individualmente em tubos contendo solução salina. Os tubos foram deixados em ultrassom por 5 min para remover os microrganismos aderidos à superfície do material. Do líquido de cada tubo foram realizadas dez diluições seriadas e 100 µL de cada suspensão foram semeados em duplicata em placas contendo ágar Sabouraud. As placas foram incubadas por 48 h previamente à contagem de colônias de *C. albicans*. Todas as concentrações de nistatina foram eficazes na inibição da adesão celular e do crescimento de *C. albicans* na superfície do condicionador tecidual. Para o fluconazol, apenas a concentração de 10% promoveu completa inibição. De acordo com as condições do estudo, os autores concluíram que, quando incorporadas ao condicionador de tecido, as concentrações 1 a 10% de nistatina e de 10% do fluconazol foram capazes de inibir a adesão e o crescimento fúngico.

Em 2012, Alcântara et al. avaliaram o efeito da adição de antimicrobianos na resistência de união ao descolamento de um reembasador resiliente temporário (Soft Confort) a uma resina acrílica termopolimerizável para base de prótese (QC 20). Os corpos de prova de resina acrílica (75 mm x 10 mm x 3 mm) foram obtidos (n=9) e armazenados em água destilada a 37°C por 48 h. As concentrações de fármacos determinadas (nistatina 500.000 U-G2; nistatina 1.000.000 U-G3; miconazol 125 mg-G4; miconazol 250 mg-G5; cetoconazol 100 mg-G6; cetoconazol 200 mg-G7; diacetato de clorexidina 5%-G8 e diacetato de clorexidina 10%-G9) foram

incorporados ao pó do reembasador antes da adição do líquido. Um grupo (G1) sem a incorporação de antimicrobiano foi utilizado como controle. Então, os corpos de prova de resina acrílica foram reembasados com o material resiliente modificado ou não pelos fármacos até sua plastificação em acordo com as instruções do fabricante. Os corpos de prova reembasados (n=9) (75 mm x 10 mm x 6 mm) foram imersos em água destilada a 37°C por 24 h para então serem submetidos ao teste de resistência de união ao descolamento a 180° sob velocidade de 10 mm/min. Os resultados (MPa) foram avaliados pela análise de variância ($\alpha=0,05$) e os tipos de falhas classificados visualmente. Não foram encontradas diferenças significantes entre os grupos de estudo avaliados. Falhas coesivas localizadas no material resiliente foram predominantemente observadas entre os grupos testados. De acordo com os resultados obtidos, os autores concluíram que a resistência de união ao descolamento entre a resina de base e o reembasador resiliente testados não foi adversamente afetada pela adição dos agentes antimicrobianos estudados.

O estudo de Bueno et al. (2012) avaliou a dureza Shore A de dois materiais resilientes temporários (Trusoft e Softone) para base de prótese modificados pela incorporação da CIM para o biofilme de *C. albicans* (SC 5314) de cinco fármacos utilizados no tratamento de estomatite protética. Corpos de prova retangulares (36 mm x 7 mm x 6 mm) dos materiais resilientes (n= 8) foram confeccionados sem (controle) ou com incorporação dos fármacos em suas CIMs (nistatina= 0,032 g/mL; clorexidina= 0,064 g/mL; cetonaazol= 0,128 g/mL; miconazol= 0,256 g/mL; itraconazol= 0,256 g/mL). Após armazenamento em água destilada a 37°C por 24 h, 7 e 14 dias, foram realizados os testes de dureza em durômetro Shore A (Woltest, GSD-709A). A adição dos antimicrobianos em ambos os materiais não alterou os valores de dureza ou resultou na sua diminuição em relação ao controle, exceto para a incorporação de miconazol ao Softone, que demonstrou significativamente maiores médias após 14 dias. Em todas as condições, as médias de dureza do Softone foram inferiores àsquelas observadas para o Trusoft. Os autores concluíram que a adição de todos os fármacos testados, exceto o miconazol no Softone, não causou alterações deletérias à dureza dos materiais resilientes no período avaliado.

Chopde et al. (2012) compararam a atividade antifúngica para *C. albicans* de dois condicionadores de tecido modificados com miconazol, nistatina e fluconazol.

Placas de ágar Mueller-Hitton foram inoculadas com uma suspensão de *C. albicans* ajustada ao padrão 0,5 da escala de McFarland. Quatro placas serviram como indicador do crescimento de *C. albicans* pura. Discos dos antifúngicos foram colocados sobre outras 12 placas. Os condicionadores de tecido (GC Soft e Visco-gel) foram misturados e os discos foram completamente incorporados à mistura para serem então levados às placas inoculadas. Essas foram incubadas a 37°C por 24 h para mensuração dos halos de inibição. A inibição fúngica máxima foi observada com o fluconazol seguido, respectivamente, pelo miconazol e pela nistatina. Quando testados isoladamente, os condicionadores de tecido não demonstraram atividade antifúngica. Os grupos de GC Soft mostraram atividade antifúngica levemente superior aos grupos de Visco-gel. Os autores concluíram que a incorporação dos fármacos testados nos condicionadores teciduais apresentou uma adequada atividade antifúngica para *C. albicans*.

Neppelenbroek et al. (2012) avaliaram o efeito da incorporação de CIMs de agentes antimicrobianos para biofilme o biofilme de *C. albicans* (SC 5314) na rugosidade superficial de materiais resilientes temporários para base de próteses. Corpos de prova retangulares (36 mm x 7 mm x 6 mm) dos materiais resilientes (n= 8) foram confeccionados sem (controle) ou com incorporação dos fármacos em suas CIMs (nistatina= 0,032 g/mL; clorexidina= 0,064 g/mL; cetonaazol= 0,128 g/mL; miconazol= 0,256 g/mL; itraconazol= 0,256 g/mL). Após armazenamento em água destilada a 37°C por 24 h, 7 e 14 dias, os corpos de prova foram submetidos à análise da rugosidade superficial em rugosímetro (Surftest SJ-301). A incorporação de nistatina aos dois materiais, de clorexidina ao Trusoft e de cetonaazol ao Softone não alterou os valores de rugosidade em relação ao controle após 7 e 14 dias. Nesses períodos, o itraconazol aumentou a rugosidade dos materiais. Em relação às 24 h iniciais, o período de 14 dias mostrou que a rugosidade com a adição de nistatina, miconazol e cetonaazol foi reduzida para o Trusoft e não apresentou alteração para o Softone. Foi concluído que, no período final de avaliação, a adição de nistatina, miconazol e cetonaazol em ambos os reembasadores e de clorexidina no Trusoft não resultou em efeitos adversos à rugosidade superficial.

Segundo Sánchez-Aliaga et al. (2013), a adição de fármacos antimicrobianos em reembasadores resilientes tem demonstrado ser efetiva e viável para o tratamento da estomatite protética. As características morfológicas e a distribuição destes fármacos na matriz polimérica têm implicações na sua liberação. Por isso, os autores realizaram um estudo para avaliar o padrão de incorporação dos fármacos (nistatina-Ni, miconazol-Mc, cetozonazol-Ce, itraconazol-It e clorexidina-Cl) e a morfologia de superfície dos reembasadores temporários Softone-S e Trusoft-T modificados, por microscopia eletrônica de varredura. Os grupos avaliados foram: S e T (controles); Ni-S; Ni-T; Mc-S; Mc-T; Ce-S; Ce-T; It-S; It-T; Cl-S; Cl-T. Amostras (n=3; 30 mm x 5 mm x 4 mm) dos materiais foram confeccionadas, sendo que os antimicrobianos foram adicionados em suas CIMs para o biofilme de *C. albicans*. Após sua confecção, os espécimes foram armazenados em água destilada a 37°C por 24 h, 7 ou 14 dias e, na sequência, submetidos às análises de superfície. Foi observado que Softone apresentou morfologia superficial mais irregular que o Trusoft. Menores e maiores tamanhos de partículas foram observados para Ni e Ce; e It e Cl, respectivamente. Todos os espécimes modificados apresentaram características superficiais diferentes dos controles. Foi notada alteração superficial em ambos os materiais, principalmente naqueles contendo fármacos, com o aumento do tempo de imersão. Os autores sugeriram que reembasadores apresentaram potencial para servirem como matrizes para transporte de fármacos no interior da cavidade bucal.

O objetivo do trabalho de Bueno et al. (2015) foi avaliar a ação antimicrobiana e as CIMs de cinco fármacos utilizados no tratamento de estomatite protética incorporados a reembasadores resilientes temporários. Um biofilme de *C. albicans* (SC 5314) foi formado sobre corpos de prova circulares (10 mm x 1 mm) dos materiais (Trusoft e Softone) modificados (experimentais) ou não (controle) pelos fármacos (nistatina, miconazol, cetozonazol, itraconazol e diacetato de clorexidina). Diferentes concentrações foram testadas para cada condição (n= 6) e a viabilidade celular determinada espectrofotometricamente pelo ensaio de redução de sais de tetrazólio- XTT, nos períodos de 24 h, 48 h, 7 e 14 dias. Foram definidas como CIMs as concentrações que inibiram 90% ou mais do crescimento fúngico. A confirmação da susceptibilidade fúngica às CIMs foi realizada pela análise em

microscópio confocal de varredura a laser. As CIMs dos fármacos incorporados aos materiais resilientes foram: 0,032, 0,256, 0,128, 0,256 e 0,064 g/mL para nistatina, miconazol, cetoconazol, itraconazol e clorexidina, respectivamente. As imagens microscópicas das CIMs de nistatina, clorexidina e cetoconazol não evidenciaram células fúngicas viáveis. Os antimicrobianos incorporados aos materiais resilientes inibiram o crescimento fúngico em até 14 dias, sendo as menores CIMs obtidas com nistatina e clorexidina.

Urban et al. (2015), avaliaram o efeito da adição de agentes antimicrobianos para tratamento de estomatite protética na rugosidade superficial e dureza Shore A de materiais resilientes temporários para base de prótese (Softone e Trusoft). Foram confeccionados oito corpos de prova (36 mm x 7 mm x 6 mm) dos dois materiais sem ou com a incorporação dos fármacos nas seguintes concentrações: nistatina (500.000 e 1.000.000 U), miconazol (125 e 250 mg), cetoconazol (100 e 200 mg), itraconazol (100 e 200 mg) e diacetato de clorexidina (5% e 10%). A dureza (Shore A) e rugosidade (Ra) foram avaliadas após a imersão das amostras em água destilada a 37°C durante 24 h, 7 e 14 dias. Os resultados demonstraram um aumento na dureza dos materiais modificados pelos fármacos ao longo do tempo, exceto para o itraconazol. A rugosidade dos materiais não foi alterada pela adição dos fármacos testados, com exceção do miconazol e da clorexidina no Softone, que levaram ao aumento dessa propriedade. Em comparação aos controles, apenas a clorexidina e o itraconazol promoveram diferença de rugosidade para ambos os materiais. Os autores concluíram que as menores alterações de dureza e de rugosidade ao longo dos 14 dias de avaliação foram observadas com a adição de itraconazol nos dois materiais resilientes temporários avaliados.

O objetivo da revisão sistemática de Iqbal e Zafar (2016) foi realizar um levantamento atual sobre os estudos acerca da incorporação de agentes antifúngicos em condicionadores de tecidos para o tratamento de estomatite protética. De acordo com a literatura pertinente, várias investigações relataram a eficácia da adição de fármacos orgânicos como antifúngicos convencionais (nistatina, azólicos) e antimicrobianos (clorexidina), agentes não-orgânicos (zeólito de prata, nano-partículas de prata, foto-catalisadores e de óxidos metálicos) e antimicrobianos derivados de óleos naturais e ervas quando incorporados a vários

condicionadores de tecido para base de prótese. Além disso, tem sido relatado que esse protocolo não resulta ou causa efeitos deletérios mínimos nas propriedades físicas e mecânicas desses materiais. Diante disso, os autores concluíram que a incorporação de diferentes fármacos antifúngicos em condicionadores de tecido pode ser recomendada como tratamento da estomatite protética.

Além de atuar como um possível método adjunto ao tratamento da estomatite protética, a incorporação de fármacos antifúngicos em suas CIMs a reembasadores resilientes temporários apresenta também a vantagem de prolongar a longevidade clínica do material. No entanto, esse protocolo pode interferir com as propriedades físicas e mecânicas dos materiais modificados. Considerando esses aspectos, Lima et al. (2016) avaliaram o efeito da adição das CIMs de agentes antifúngicos para biofilme de *C. albicans* na sorção de água e solubilidade de materiais resilientes temporários para reembasamento de próteses removíveis. Para isso, foram confeccionados corpos de prova circulares (n=10; 50 mm × 0,5 mm) de um condicionador de tecido (Softone) e um reembasador resiliente (Trusoft) sem (controle) ou com a incorporação de um dos três fármacos em suas CIMs: nistatina (Ni, 0,032 g/mL), diacetato de clorexidina (Cl, 0,064 g/mL) e cetozonazol (Ce, 0,128 g/mL). As amostras foram dessecadas, imersas em água por 24 h, 7 ou 14 dias, pesadas, dessecadas e pesadas novamente. Foi possível concluir que, após 14 dias de imersão em água, somente a adição de Cl aumentou a sorção de água do condicionador de tecido quando comparado ao grupo controle. Para todos os períodos avaliados, a solubilidade de ambos os materiais temporários testados aumentaram com a adição de Cl e Ce em comparação ao grupo controle.

Sánchez-Aliaga et al. (2016), avaliaram o efeito da incorporação dos fármacos nistatina-Ni, miconazol-Mc, cetozonazol-Ce, itraconazol-It e clorexidina-Cl em reembasadores temporários Softone-S e Trusoft-T sobre a resistência da união ao descolamento a uma resina acrílica para base de prótese. Os grupos avaliados foram: S e T (controles); Ni-S; Ni-T; Mc-S; Mc-T; Ce-S; Ce-T; It-S; It-T; Cl-S; Cl-T, sendo que os fármacos foram adicionados em suas CIMs para o biofilme de *C. albicans*. Amostras (n=7; 75 mm x 10 mm x 6 mm) foram confeccionadas e armazenadas em água destilada a 37°C por 24 h, 7 e 14 dias. Os resultados demonstraram que não houve diferença significativa nos valores de resistência ao

descolamento entre os grupos Ni-S, Ce-S, Cl-S e Ni-T, Mc-T, Ce-T em relação aos controles. Foi notado um aumento nos valores de resistência ao descolamento com o tempo de imersão para ambos os materiais. A maioria das falhas foi coesiva dos materiais resilientes, entretanto, falhas mistas e adesivas também foram observadas após 7 e 14 dias para todos os grupos experimentais. Os autores concluíram que a adição dos fármacos nos materiais resilientes, exceto o itraconazol, não resultou em valores inferiores aos sugeridos para resistência da união ao descolamento (0,045 MPa) após 7 e 14 dias de imersão em água.

Proposição

3 PROPOSIÇÃO

O presente estudo in vitro teve como objetivo avaliar o efeito da adição de agentes antifúngicos em suas CIMs para biofilme de *C. albicans* na resistência à tração e porosidade de um condicionador de tecido e um reembasador resiliente temporário para base de prótese.

A hipótese nula investigada neste estudo foi que a incorporação das CIMs dos fármacos não afetaria as propriedades avaliadas para ambos os materiais resilientes temporários ao longo de sua vida útil.

É importante ressaltar que nos capítulos seguintes, as propriedades de resistência à tração e porosidade estão descritas separadamente segundo os dois artigos resultantes desta tese de Doutorado:

- 1) Parte I- Resistência à tração: Effect of incorporation of antifungal agents on the ultimate tensile strength of temporary soft denture liners. J Prosthodont. 2016- Em revisão final – 11/16 (JOPR-16-220).
- 2) Parte II- Porosidade: Porosity of temporary denture soft liners containing antifungal agents. J Appl Oral Sci. 2016 Sep-Oct;24(5):453-461.

Material e Métodos

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

Os materiais resilientes de curta duração selecionados para este estudo estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Nome comercial, tipo, fabricante e número de lote dos materiais resilientes selecionados.

Material	Tipo	Fabricante	Lote
Softone	Condicionador tecidual	Bosworth Company, Skokie, IL, EUA	1108-346
Trusoft	Reembasador resiliente temporário	Bosworth Company, Skokie, IL, EUA	1110-450

Os materiais resilientes Softone e Trusoft são apresentados na forma de pó e líquido. Segundo o fabricante, o pó desses materiais consiste de um pré-polímero de polietil metacrilato e o líquido apresenta plastificante com grupamento éster e etil álcool em sua composição.

Para o estudo da resistência à tração, foram selecionados cinco fármacos recomendados para o tratamento da estomatite protética, sendo um antifúngico poliênico (nistatina, Pharmacia Specífica Ltda, Bauru, SP, Brazil), três antifúngicos azólicos (cetoconazol, miconazol e itraconazol, Galena Química e Farmacêutica Ltda., Campinas, SP, Brazil) e um antimicrobiano (diacetato de clorexidina a 98%, Acros Organics, New Jersey, NY, USA). Com os resultados obtidos para a propriedade de resistência à tração, descritos mais adiante nesta tese, determinou-se que apenas os fármacos nistatina, diacetato de clorexidina e cetoconazol seriam utilizados para o estudo da porosidade dos materiais resilientes temporários modificados. Com o objetivo de facilitar a incorporação ao pó do material, os fármacos também foram utilizados na forma de pó (ALCÂNTARA et al., 2012;

URBAN et al., 2006; URBAN et al., 2009). Os fármacos foram adicionados em suas CIMs (grama de fármaco por grama de material resiliente), a saber: nistatina (0,032 g), diacetato de clorexidina (0,064 g), cetoconazol (0,128 g), miconazol (0,256 g) e itraconazol (0,256 g) (BUENO et al., 2015).

4.2 PARTE I: METODOLOGIA DE RESISTÊNCIA À TRAÇÃO

4.2.1 OBTENÇÃO DOS CORPOS DE PROVA

Os corpos de prova dos materiais resilientes temporários modificados ou não (controle) pela adição de fármacos foram confeccionados na forma de halteres com dimensões úteis de 33 mm x 6 mm x 3 mm (ASTM D412) (Figura 1), a partir de matrizes metálicas em alumínio.

FIGURA 1 - Representação esquemática do corpo de prova para análise de resistência à tração.

Os corpos de prova (33 mm x 6 mm x 3 mm) (ASTM D412) foram individualmente confeccionados a partir de matrizes de alumínio (Figura 2-A). O pó do material (7 g) e o pó de cada agente antifúngico em sua CIM foram proporcionados (Figura 2-B) e incorporados até a obtenção de uma mistura homogênea (Figura 2-C) (URBAN et al., 2006; URBAN et al., 2009). O líquido dos materiais foi adicionado à mistura de pós (Figura 2-D) sendo espatulado de acordo com as instruções do fabricante (Figura 2-E). O material manipulado, modificado ou não (controle) pela adição de fármacos, foi inserido na matriz vazada previamente posicionada sobre uma lâmina de vidro. Então, outra lâmina de vidro foi posicionada

sobre a matriz contendo o material, o qual foi mantido sob pressão digital à temperatura ambiente durante os tempos de plastificação recomendados pelo fabricante (Figura 2-F). Após esse período, os corpos de prova (Figura 2-G) foram cuidadosamente deslocados da matriz e os excessos dos materiais removidos com um esculpador de Lecron (SSWhite/Duflex Artigos Dentários Ltda., Rio de Janeiro, RJ, Brazil). Então, os corpos de prova foram armazenados em água destilada em estufa de cultura bacteriológica (MA 0324, Marconi Equipamentos Laboratoriais Ltda., Piracicaba, SP, Brasil) a 37°C durante 24 h, 7 ou 14 dias, previamente aos testes de resistência à tração. É importante ressaltar que todos os corpos de prova foram confeccionados individualmente para simular condições clínicas e não diluir erros em relação à proporção e manipulação do material.

FIGURA 2 - Confeção dos corpos de prova: (A) Matriz de alumínio; (B) Proporção de pó e CIM do fármaco; (C) Incorporação do fármaco ao material; (D) Adição do líquido do material; (E) Manipulação; (F) Plastificação entre lâminas de vidro; (G) Corpo de prova finalizado.

4.2.2 TESTE DE RESISTÊNCIA À TRAÇÃO

Após os devidos períodos de imersão em água destilada, os corpos de prova foram submetidos à tração em uma máquina de ensaios universal EMIC DL-500 (EMIC Equipamentos e Sistemas de Ensaio Ltda, São José dos Pinhais, PR, Brazil) a uma velocidade de 40 mm/min (Figura 3-A) (URBAN et al., 2006). Uma garra específica para este ensaio foi confeccionada para que somente a área central do corpo de prova fosse exposta durante o teste em tensão, enquanto que as demais partes ficassem confinadas no interior da mesma (URBAN et al., 2006). Um extensômetro EE04 (EMIC Equipamentos e. Sistemas de Ensaio Ltda, São José dos Pinhais, PR, Brazil) foi acoplado à máquina de ensaios durante os testes para mensurar o alongamento dos corpos de prova (Figura 3-B). Os resultados da resistência à tração foram obtidos em MPa e os valores de alongamento foram obtidos em porcentagem (%) em relação ao comprimento do corpo de prova (33 mm). A média das mensurações foi obtida para cada corpo de prova nos períodos de avaliação para a análise dos dados.

FIGURA 3 – Teste de resistência à tração: (A) EMIC; (B) Corpo de prova sob tração acoplado às garras da EMIC com extensômetro. A garra superior se movimenta constantemente a 40 mm/min até a ruptura do corpo de prova.

4.3 PARTE II: METODOLOGIA DE POROSIDADE

4.3.1 OBTENÇÃO DOS CORPOS DE PROVA

Os corpos de prova dos materiais resilientes modificados ou não (controle) pela incorporação de fármacos foram obtidos em acordo com a especificação 1567 da International Organization for Standardization (ISO, 1998), apresentando dimensões 65 mm x 10 mm x 3,3 mm, a partir de uma matriz metálica em aço inoxidável. A seleção do padrão ISO para polímeros para base de prótese foi realizada com base no fato de não haver uma especificação para as dimensões de corpos de prova em análise de porosidade de materiais resilientes temporários e de longo prazo para próteses removíveis. Da mesma forma, não há um método definido pela ISO para a avaliação de porosidade neste tipo de material.

Inicialmente, para a determinação da solução adequada de armazenagem (*aw* ótima) de cada material, foi obtido um total de 80 corpos de prova não modificados pela adição de fármacos, sendo 40 para o Trusoft e 40 para o Softone. Para a obtenção de cada corpo de prova, a proporção de 3,5 g de pó do material testado foi misturada a 3,5 mL do líquido, mensurado com auxílio de uma pipeta de Pasteur (Cralplast, CRAL Artigos para Laboratório Ltda., Cotia, SP, Brazil) (URBAN et al., 2006; URBAN et al., 2009) (Figura 4).

A manipulação foi realizada conforme as instruções do fabricante e, em seguida, o material foi vertido na matriz de aço inoxidável (Figura 5A) que foi pressionada entre duas placas de vidro, sendo o conjunto mantido sobre pressão digital até a plastificação nos tempos determinados pelo fabricante (4-5 min) (Figura 5B). Em seguida, cada corpo de prova obtido foi deslocado da matriz e os excessos removidos com um esculpador Lecron (SSWhite/Duflex Artigos Dentários Ltda., Rio de Janeiro, RJ, Brazil). Todos os corpos de prova foram confeccionados individualmente para simular condições clínicas e não diluir erros em relação à proporção e manipulação do material.

FIGURA 4 - Mensuração dos materiais: (A) Pesagem do pó; (B) Mensuração do líquido com o auxílio de uma pipeta.

FIGURA 5 - Confeção dos corpos de prova. (A) Material manipulado sendo acomodado na matriz; (B) Material sob pressão digital entre placas de vidro. Para a estabilização das placas durante a pressão digital, uma segunda matriz sem material foi interposta.

Em seguida, os excessos de cada corpo de prova foram removidos com um esculpidor Lecron (SSWhite/Duflex Artigos Dentários Ltda., Rio de Janeiro, RJ, Brazil) (Figura 6A). Então, os corpos de prova finalizados foram deslocados das matrizes (Figura 6B).

FIGURA 6 - (A) Remoção dos excessos com o auxílio de um esculpidor Lecron. (B) Corpo de prova com os excessos removidos. (C) Corpo de prova finalizado.

4.3.2 DETERMINAÇÃO DO TEMPO PARA SECAGEM E SORÇÃO DE ÁGUA

Segundo o método validado por Pero et al. (2011), as pesagens para determinação do momento de estabilização das massas dos corpos de prova foram realizadas em duas etapas experimentais, sendo uma durante a fase de secagem e a outra durante a fase de sorção. Os 80 corpos de prova foram submetidos à secagem em dessecador (Modelo 08010-250, Alquilabor Comercial Ltda., São Jose dos Campos, SP, Brazil) contendo sílica sob vácuo (Figura 7A). Então, foram pesados diariamente em uma balança analítica com capacidade de mensuração de 0,0001 g (UMark 210 A, BEL Engineering, Monza, MI, Italy) até que atingissem um peso constante, indicando o estágio de equilíbrio (PERO et al., 2011) (Figura 7B). O registro dessas pesagens possibilitou a obtenção, para cada material, das respectivas curvas temporais de dessorção, caracterizadas pela diminuição temporal das massas dos corpos de prova referente à eliminação dos líquidos presentes no interior dos mesmos até haver estabilidade (equilíbrio aparente) (PERO et al., 2011). Após o estágio de equilíbrio ser estabelecido, 10 corpos de prova de cada material foram individualmente imersos em uma das diferentes soluções (Tabela 2) correspondentes aos valores de atividade de água distintos (a_w), sendo mantidos a 37°C em uma estufa bacteriológica (Mod. MA 033, Marconi Equipamentos Laboratoriais Ltda., Piracicaba, SP, Brazil) (KALACHANDRA; TURNER, 1989) (Figura 7C). Os corpos de prova foram removidos diariamente das soluções, secos cuidadosamente com papel absorvente e pesados até que se verificasse a estabilização da massa (Figura 7D).

FIGURA 7 - Processos de dessorção e sorção de água: (A) Dessorção dos corpos de prova em dessecador à vácuo. (B) Pesagem em balança de precisão até a estabilização da massa inicial dos corpos de prova secos (M_0). (C) Armazenagem dos corpos de prova imersos nas soluções em estufa a 37°C. (D) Pesagem em balança de precisão até atingirem equilíbrio das massas após sorção em água (M_{eq}).

Tabela 2 - Soluções de armazenagem testadas no estudo.

Atividade de água (a_w)	Descrição
0,25	93,5 g de cloreto de cálcio anidro em 100 g de água destilada
0,50	55 g de cloreto de cálcio anidro em 100 g de água destilada
0,75	33 g de cloreto de cálcio anidro em 100 g de água destilada
1	Água destilada pura

Todas as pesagens (repetidas sempre por três vezes) foram realizadas de maneira controlada e em temperatura ambiente ($\pm 25^\circ\text{C}$) na mesma balança de

precisão. Foram admitidas diferenças menor ou igual a 0,0002 g entre as pesagens para que o peso fosse considerado constante.

4.3.3 DETERMINAÇÃO DA *aw* ÓTIMA

Para determinar uma solução adequada de armazenamento dos corpos de prova (*aw* ótima), com base na exclusão do efeito plastificante da água, as isotermas de sorção de água foram obtidas (SCHMITZ; SMITH, 1988). Nessas isotermas, o eixo das abscissas *x* é representado pela atividade de água (*aw*), e o eixo das ordenadas *y* representa a percentagem de água absorvida no equilíbrio, a saber:

$$\% \text{ de água absorvida} = \frac{M_{eq} - M_0}{M_0} \times 100$$

Sendo:

M_{eq} = massa do corpo de prova no equilíbrio após sorção de água

M_0 = massa inicial do corpo de prova seco

Para a determinação da *aw* ótima, no gráfico *aw* x % de água absorvida (isoterma de sorção), a formação de uma reta representa ausência do efeito plastificante da água no interior do material. Do ponto onde se inicia uma curva (desvio positivo em relação à reta), está caracterizada a presença do efeito plastificante (PERO et al., 2011; SCHMITZ; SMITH, 1988). Assim, para a determinação da *aw* ótima de cada material, foi admitido no gráfico *aw* x % de água absorvida o ponto onde se inicia uma curva.

A Figura 8 ilustra esquematicamente o ponto onde o efeito plastificante da água passa a existir e, a partir dessas considerações, para a determinação da *aw* ótima, foi considerado no gráfico *aw* x % de água absorvida o ponto onde se inicia uma curva, o qual foi projetado no eixo das abscissas *x* de forma que o ponto coincidente representou a *aw* ótima (PERO et al., 2011).

FIGURA 8 - Representação esquemática do ponto onde o efeito plastificante da água passa a existir em uma resina acrílica (Fonte: Pero et al., 2011)

4.3.4 GRUPOS DE ESTUDO

Determinadas as *aw ótimas* para os materiais Trusoft e Softone, os grupos de estudo foram obtidos. Para isso, corpos de prova sem (controle) e com a adição de fármacos (clorexidina, cetozonazol e nistatina) foram produzidos. A confecção dos corpos de provas dos grupos controles foi realizada como descrito previamente para a determinação das *aw ótimas*. Para a obtenção dos corpos de prova experimentais, previamente à manipulação dos materiais, a CIM em pó do fármaco foi incorporada ao pó do reembasador (TRUHLAR; SHAY; SOHNLE, 1994; URBAN et al., 2009). Para cada corpo de prova, a proporção de 3,5 g de pó do material testado foi misturada ao pó do fármaco na CIM determinada em um béquer até a obtenção de uma mistura homogênea. Então, 3,5 mL do líquido do material foram adicionados à mistura, sendo o material manipulado e plastificado como realizado para os controles.

Os mesmos procedimentos descritos para as pesagens até a estabilização da massa a seco foram realizados com os corpos de prova em dessecador à vácuo. Então, após o equilíbrio aparente a seco, os corpos de prova foram imersos por 24 h, 7 e 14 dias (TRUHLAR; SHAY; SOHNLE, 1994; URBAN et al., 2009) na *aw ótima*

determinada para o material ou em água destilada pura para o cálculo do fator de porosidade (FP). Dez corpos de prova foram produzidos para cada condição experimental formada em função do material (Trusoft ou Softone), tipo de fármaco (sem fármaco – controle, clorexidina, cetoconazol e nistatina), solução testada (água destilada e *aw ótima*) e período de armazenagem (24 h, 7 e 14 dias).

4.3.5 CÁLCULO DO FATOR DE POROSIDADE (FP)

O cálculo do FP foi realizado com base nos estudos que avaliaram a porosidade por meio de sorção de água (BAFILE et al., 1991; COMPAGNONI et al., 2004; PERO et al., 2008; PERO et al., 2011). Assim, foram realizadas duas etapas de pesagem: uma pesagem inicial obtida com o corpo de prova seco, e outra final, com o corpo de prova úmido, após o armazenamento na *aw ótima* e também dentro da condição de armazenagem em água destilada pura. Todas as pesagens para cada corpo de prova foram realizadas três vezes para que fosse obtida uma média de peso em cada ocasião.

Como essa análise de porosidade é baseada no Princípio de Arquimedes, em cada condição experimental (corpo de prova a seco e corpo de prova úmido) uma pesagem adicional foi realizada com o corpo de prova imediatamente imerso em água (Figura 9).

FIGURA 9 – (A) Pesagem com o corpo de prova no ar; (B) Pesagem com o corpo de prova imerso em água.

O FP foi calculado a partir das seguintes fórmulas aritméticas (BAFILE et al., 1991; COMPAGNONI et al., 2004; PERO et al., 2008; PERO et al., 2011):

$$V_s = \frac{m_s - m_s'}{\rho_{\text{água}}}$$

$$V_u = \frac{m_u - m_u'}{\rho_{\text{água}}}$$

$$FP = \frac{(V_u - V_s)}{V_s} \times 100$$

Onde:

V_s = volume do corpo de prova seco,

m_s : massa do corpo de prova seco registrada no ar;

m_s' : massa do corpo de prova seco registrada com o corpo de prova imerso imediatamente em água;

$\rho_{\text{água}}$ = densidade da água (1000 Kg/m³);

V_u : volume do corpo de prova úmido;

m_u : massa do corpo de prova registrada no ar;

m_u' : massa do corpo de prova úmido registrada com o mesmo imerso imediatamente na água.

Os resultados de FP foram obtidos em percentagem (%), sendo a média das mensurações obtida para cada corpo de prova nos períodos de avaliação para a análise dos dados.

4.4 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

A análise da propriedade mecânica foi realizada quantitativamente para a resistência à tração. Foram estabelecidos os seguintes fatores de variação: material,

em dois níveis (Softone e Trusoft); tipo de fármaco, em seis níveis (nistatina, cetoconazol, clorexidina, miconazol, itraconazol e controle) e período de avaliação, em três níveis (24 h, 7 e 14 dias). Em cada condição experimental, um corpo de prova independente foi avaliado nos diferentes períodos de armazenagem haja vista que o teste de tração inviabiliza o reaproveitamento da amostra. Foram confeccionadas sete análises para cada condição experimental, perfazendo o modelo fatorial $2 \times 6 \times 3$, em um total de 252 corpos de prova.

A análise da propriedade física foi realizada quantitativamente para a porosidade. Foram estabelecidos os seguintes fatores de variação: material, em dois níveis (Softone e Trusoft); tipo de fármaco, em quatro níveis (nistatina, clorexidina, cetoconazol e controle), período de avaliação, em três níveis (24 h, 7 e 14 dias) e solução de armazenagem, em dois níveis (água destilada ou S50). Em cada condição experimental, o mesmo corpo de prova foi avaliado nos diferentes períodos de armazenagem. Como dez repetições foram realizadas para cada condição experimental, um total de 160 corpos de prova foi produzido para essa análise.

Resultados

5 RESULTADOS

5.1 PARTE I: RESISTÊNCIA À TRAÇÃO

Para a resistência à tração, análises do poder da amostra foram realizadas para os materiais resilientes utilizando o software IBM SPSS 19 (SPSS Inc., IBM Company, Armonk, NY, EUA). Por essas análises, determinou-se que o número de corpos de prova adequado para cada condição experimental seria sete. Nas interações “material x fármaco x tempo”, o poder amostral ($n=7$) para o Trusoft foi de 95% e, do Softone, foi de 96% ($\alpha=0,05$).

Inicialmente, um modelo de regressão múltipla foi aplicado para avaliar a normalidade de distribuição dos dados originais de resistência à tração e percentagem de alongamento, utilizando o software SAS 8.0 for Windows (SAS Institute Inc., Cary, EUA). Ambos os dados apresentaram uma distribuição de probabilidades e, por conseguinte, optou-se pela análise estatística pelo teste paramétrico de análise de variância para três fatores de variação. O teste complementar de Tukey HSD foi aplicado para que possíveis diferenças estatísticas fossem detectadas entre as condições experimentais. Adotou-se um intervalo de confiança de 95% ($\alpha=0,05$).

Os resultados da ANOVA para os dados de resistência à tração demonstraram significância para a interação material x fármaco x tempo ($P<0,0001$) e para detectar a diferença entre as condições experimentais foi aplicado o teste complementar de Tukey.

As médias e os respectivos desvios-padrão relativos à resistência à tração (MPa) em função dos tempos de avaliação para os materiais Trusoft e Softone modificados ou não pelos fármacos estão expostos na Tabela 3.

Tabela 3 - Valores de médias e desvios-padrão de resistência à tração (MPa) para os materiais Trusoft e Softone modificados ou não pelos fármacos nos diferentes períodos de imersão em água.

		Trusoft	Softone
24 h	Controle	0,146 ± 0,034 Aa	0,124 ± 0,030 Aa
	Nistatina	0,140 ± 0,028 Aa	0,145 ± 0,044 Aa
	Miconazol	0,071 ± 0,006 Ba	0,078 ± 0,003 Ba
	Cetoconazol	0,157 ± 0,025 Aa	0,131 ± 0,013 Aa
	Clorexidina	0,131 ± 0,024 Aa	0,132 ± 0,028 Aa
	Itraconazol	0,089 ± 0,010 Ba	0,077 ± 0,008 Ba
7 dias	Controle	0,122 ± 0,025 Aa	0,131 ± 0,016 Aa
	Nistatina	0,118 ± 0,021 Aa	0,135 ± 0,035 Aa
	Miconazol	0,081 ± 0,012 Ba	0,076 ± 0,007 Ba
	Cetoconazol	0,140 ± 0,014 Aa	0,155 ± 0,028 Aa
	Clorexidina	0,141 ± 0,026 Aa	0,133 ± 0,019 Aa
	Itraconazol	0,073 ± 0,005 Ba	0,066 ± 0,009 Ba
14 dias	Controle	0,129 ± 0,018 Aa	0,167 ± 0,038 Aa
	Nistatina	0,131 ± 0,015 Aa	0,168 ± 0,026 Aa
	Miconazol	0,078 ± 0,010 Ba	0,074 ± 0,007 Ba
	Cetoconazol	0,142 ± 0,019 Aa	0,179 ± 0,030 Aa
	Clorexidina	0,135 ± 0,025 Aa	0,185 ± 0,041 Aa
	Itraconazol	0,085 ± 0,011 Ba	0,069 ± 0,006 Ba

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

Horizontalmente, para cada grupo dentro do mesmo período, diferentes letras minúsculas indicam diferenças entre os materiais ($P < 0,05$).

Pela Tabela 3 é possível observar que, em todos os períodos de imersão em água, foi observado para ambos os materiais resilientes uma redução significativa da resistência à tração para os grupos modificados por miconazol e itraconazol em relação ao controle ($P < 0,0001$), o qual se apresentou estatisticamente semelhante aos demais ($P > 0,05$). A comparação da resistência à tração entre os materiais avaliados não mostrou diferença estatisticamente significativa entre eles

considerando a mesma condição experimental (tempo x fármaco) ($P>0,05$). A Tabela 3 também mostra que os valores médios de resistência à tração não variaram de forma significativa entre os períodos de 24 h, 7 e 14 dias para a mesma condição experimental (material x fármaco) ($P>0,05$).

As análises do poder da amostra para as porcentagens de alongamento também demonstraram que o número adequado de corpos de prova seria sete, sendo encontrado um poder amostral de 95% para ambos os materiais resilientes ($\alpha=0,05$). Os resultados da ANOVA para os dados de alongamento demonstraram significância para a interação material x antifúngico x tempo ($P=0,0057$), razão pela qual foi aplicado o teste complementar de Tukey.

As médias e os respectivos desvios-padrão relativos às porcentagens de alongamento (%) para os grupos testados em função dos tempos de avaliação para os materiais Trusoft e Softone estão expostos na Tabela 4.

Tabela 4 - Valores de médias e desvios-padrão de alongamento (%) para os materiais Trusoft e Softone modificados ou não pela adição de fármacos nos diferentes períodos de imersão em água

		Trusoft	Softone
1 dia	Controle	331,7 ± 51,7 Aa	262,9 ± 32,7 Aa
	Nistatina	338,7 ± 35,7 Aa	292,6 ± 82,3 Aa
	Miconazol	185,2 ± 19,9 Ba	141,2 ± 11,4 Ca
	Cetoconazol	314,0 ± 32,2 Aa	269,6 ± 30,1 Aa
	Clorexidina	318,1 ± 38,5 Aa	255,0 ± 46,4 Aa
	Itraconazol	256,8 ± 34,6 Ba	206,2 ± 22,5 Ba
7 dias	Controle	370,5 ± 102,7 Aa	266,3 ± 37,7 Aa
	Nistatina	367,0 ± 105,7 Aa	266,3 ± 60,4 Aa
	Miconazol	212,0 ± 16,9 Ba	175,9 ± 16,9 Ba
	Cetoconazol	298,7 ± 39,6 Aa	295,2 ± 51,8 Aa
	Clorexidina	380,4 ± 91,1 Aa	332,6 ± 37,0 Aa
	Itraconazol	257,6 ± 29,3 Ba	217,8 ± 45,7 Ba
14 dias	Controle	434,3 ± 42,5 Aa	364,3 ± 57,4 Aa
	Nistatina	418,4 ± 66,7 Aa	404,9 ± 47,8 Aa
	Miconazol	212,5 ± 33,7 Ba	148,8 ± 29,0 Cb
	Cetoconazol	367,7 ± 52,1 Aa	359,2 ± 40,1 Aa
	Clorexidina	431,4 ± 64,4 Aa	398,0 ± 48,6 Aa
	Itraconazol	306,1 ± 19,9 Ba	228,6 ± 42,1 Bb

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

Horizontalmente, para cada grupo dentro do mesmo período, diferentes letras minúsculas indicam diferenças entre os materiais ($P < 0,05$).

A Tabela 4 mostra que, para o Trusoft em todos os períodos de avaliação, a adição de miconazol e itraconazol causou redução significativa da percentagem média de alongamento ($P = 0,0004$) em relação aos demais grupos de estudo, que não se apresentaram estatisticamente diferentes entre si ($P > 0,05$). Esse resultado também foi observado para o Softone aos 7 dias de imersão em água. Após 24 h e

14 dias de avaliação, os menores valores de alongamento percentual do Softone foram observados com a adição de miconazol ($P < 0,0001$). Nestes períodos, o itraconazol também reduziu as porcentagens médias de alongamento do Softone em relação aos demais grupos de estudo, que não foram diferentes entre si ($P > 0,05$) (Tabela 4). A comparação do alongamento percentual entre os materiais avaliados mostrou que não houve diferença estatisticamente significativa entre ambos considerando a mesma condição experimental (tempo x fármaco) ($P > 0,05$), exceto pelos grupos modificados por miconazol ($P = 0,0011$) e itraconazol em 14 dias ($P = 0,0002$), que apresentaram menores valores para o Softone (Tabela 4).

5.2 PARTE II: POROSIDADE

De acordo com os valores médios obtidos pelas pesagens realizadas no item 4.3.2 dos Materiais e Métodos, pôde-se determinar o tempo mínimo de estabilização das massas dos corpos de prova do Trusoft e Softone durante os períodos de dessorção e sorção de água nas diferentes soluções de armazenagem. Foram necessários 8 dias para a dessorção e 9 dias para a sorção de água dos corpos de prova, independentemente do material resiliente e da solução de armazenagem.

A partir da obtenção das isotermas de sorção de água para ambos os materiais resilientes nas diferentes soluções de armazenamento, foi possível determinar a a_w ótima.

As Tabelas 5 e 6 mostram, respectivamente para o Trusoft e o Softone, as massas iniciais dos corpos de provas secos (M_0) e as massas no equilíbrio após sorção de água (M_{eq}) bem como os valores médios e os desvios-padrão da porcentagem de água absorvida no equilíbrio nas diferentes soluções testadas.

Tabelas 5: Massas iniciais (μg) dos corpos de provas de Trusoft secos (M_0), massas (μg) no equilíbrio após sorção de água (Meq) e valores médios com os respectivos desvios-padrão (DP) da porcentagem de água absorvida (%) no equilíbrio nas diferentes soluções testadas (a_w).

	0,25			0,50			075			1		
	M0	Meq	%	M0	Meq	%	M0	Meq	%	M0	Meq	%
TRUSOFT	2,4659	2,4722	0,2554	2,3935	2,4005	0,2916	2,4936	2,5190	1,0186	2,4134	2,3057	-4,4625
	2,4480	2,4542	0,2532	2,4657	2,4669	0,0486	2,4681	2,5009	1,3289	2,5547	2,6084	2,1020
	2,5195	2,5275	0,3175	2,4068	2,4124	0,2321	2,4217	2,4301	0,3468	2,4545	2,5089	2,2163
	2,5174	2,5182	0,0317	2,5431	2,5459	0,1099	2,4912	2,5104	0,7707	2,4526	2,5039	2,0916
	2,5891	2,6033	0,5484	2,5302	2,5431	0,5072	2,5711	2,5837	0,4900	2,5533	2,6114	2,2754
	2,5430	2,5504	0,2909	2,5565	2,5605	0,1562	2,4662	2,4877	0,8717	2,4928	2,2537	-9,5916
	2,5073	2,5199	0,5025	2,5235	2,5333	0,3868	2,5494	2,5707	0,8354	2,5595	2,6228	2,4731
	2,4919	2,4974	0,2207	2,4934	2,4961	0,1081	2,4649	2,4750	0,4097	2,5095	2,5810	2,8491
	2,4738	2,4874	0,5497	2,4966	2,5001	0,1399	2,4710	2,4970	0,8093	2,4803	2,5355	0,8972
	2,4833	2,5010	0,7127	2,5704	2,5759	0,2135	2,5895	2,6113	0,8418	2,4912	2,5374	1,8545
Média	2,5039	2,5131	0,3674	2,4979	2,5034	0,2197	2,4986	2,5185	0,7964	2,4961	2,5068	0,4286
DP	0,0412	0,0422	0,2032	0,0603	0,0606	0,1415	0,0537	0,0549	0,0865	0,0490	0,1276	4,0626

Tabelas 6: Massas iniciais (μg) dos corpos de provas de Softone secos (M_0), massas (μg) no equilíbrio após sorção de água (Meq) e valores médios com os respectivos desvios-padrão (DP) da porcentagem de água absorvida (%) no equilíbrio nas diferentes soluções testadas (a_w).

	0,25			0,50			075			1		
	M0	Meq	%	M0	Meq	%	M0	Meq	%	M0	Meq	%
SOFTONE	2,3488	2,2832	-0,1489	2,3295	2,2906	-1,6982	2,3572	2,3538	-0,1444	2,3618	2,4231	2,5954
	2,3502	2,3467	-0,1491	2,3904	2,3890	-0,0586	2,4568	2,4660	0,3744	2,2690	2,3020	1,4543
	2,3380	2,3219	-0,6886	2,3863	2,3841	-0,0922	2,4612	2,4716	0,4207	2,3424	2,3815	1,6692
	2,3199	2,3034	-0,7163	2,3170	2,3171	0,0043	2,3168	2,3139	-0,1251	2,3741	2,3954	0,8971
	2,3504	2,3172	-1,4125	2,3645	2,3579	-0,2791	2,3593	2,3583	-0,0424	2,3634	2,4261	2,6529
	2,0095	1,9987	-0,5403	2,3752	2,3775	0,0883	2,3343	2,3398	0,2356	2,3260	2,3721	1,9819
	2,3426	2,3243	-0,7873	2,3827	2,3728	-0,4154	2,3342	2,3294	-0,2060	2,2937	2,3473	2,3368
	2,3230	2,3121	-0,4692	2,2644	2,2598	-0,2035	2,3960	2,3884	0,3171	2,3693	2,4138	1,8781
	2,3665	2,3589	-0,3221	2,3426	2,3349	-0,3286	2,3165	2,3123	-0,1816	2,3510	2,3895	1,6376
	2,3608	2,3354	-1,0876	2,4227	2,4176	-0,2109	2,3450	2,3342	0,4605	2,2213	2,2551	1,5216
Média	2,3109	2,2901	-0,9000	2,3575	2,3501	-0,3138	2,3677	2,3667	-0,0422	2,3272	2,3705	1,8606
DP	0,1069	0,1046	0,4012	0,0453	0,0490	0,5086	0,0534	0,0582	0,2741	0,0506	0,0552	0,5481

Os valores das Tabelas 5 e 6 foram utilizados para a construção das Figuras 10 e 11 para determinação da a_w ótima de cada material resiliente.

FIGURA 10 - Isoterma de sorção representativa para a determinação da a_w ótima para o Trusoft. A seta indica o ponto a partir do qual passa a existir o efeito plastificante.

FIGURA 11 - Isoterma de sorção representativa para a determinação da a_w ótima para o Trusoft. A seta indica o ponto a partir do qual passa a existir o efeito plastificante.

É importante verificar que, para ambos os materiais resilientes, o ponto a partir do qual passa a existir o efeito plastificante foi mais próximo da *aw* ótima 0,5, ou seja, da solução de cloreto de cálcio anidro 50% (S50). Após a determinação da *aw* ótima, foi possível o cálculo do FP em percentagem. As médias e os desvios-padrão dos FPs (%) de ambos os materiais resilientes temporários estudados para todas as condições experimentais estão apresentados na Tabela 7.

Para a porosidade, as análises do poder da amostra foram realizadas para os materiais resilientes temporários utilizando o software IBM SPSS 19 (SPSS Inc., IBM Company, Armonk, NY, EUA). Por essas análises, determinou-se que o número de corpos de prova adequado para cada condição experimental seria dez. Nas interações “material x fármaco x tempo x solução”, o poder amostral ($n=10$) para o Trusoft foi de 97% e, do Softone, foi de 95% ($\alpha=0,05$).

Inicialmente, um modelo de regressão múltipla foi aplicado para avaliar a normalidade de distribuição dos dados originais de porosidade, utilizando o software SAS 8.0 for Windows (SAS Institute Inc., Cary, EUA). Os dados de FP apresentaram uma distribuição de probabilidades e, portanto, optou-se pela análise estatística pelo teste paramétrico de análise de variância de medidas repetidas para quatro fatores de variação (“material”, “fármaco”, solução de armazenagem” e “tempo”), já que os mesmos corpos de prova foram avaliados em cada período de avaliação (24 h, 7 e 14 dias). Uma vez que os resultados da ANOVA demonstraram significância para os fatores estudados, foi aplicado o teste post-hoc Tukey HSD para que possíveis diferenças estatísticas fossem detectadas entre as condições experimentais. Adotou-se um intervalo de confiança de 95% ($\alpha=0,05$).

Os resultados da ANOVA demonstraram que houve diferença estatisticamente significativa entre os materiais resilientes, entre os fármacos incorporados aos materiais, entre os períodos de avaliação, entre as soluções de armazenagem dos corpos de prova e entre todas as interações possíveis de todos os fatores (2 a 2, 3 a 3 e todos entre si) ($P<0,05$).

Tabela 7 – Médias e desvios-padrão de FP (%) para as condições experimentais.

Material	Solução	Fármaco	Tempo	Média±DP
Softone	Água	Controle	24 h	1,3056±0,6263 (J,K,L,M,N,O,P,Q)
		Controle	7 d	2,3636±0,7355 (O,P,Q)
		Controle	14 d	5,4969±1,1767 (R)
	Água	Nistatina	24 h	1,0245±0,7547 (H,I,J,K,L,M,N,O,P)
		Nistatina	7 d	2,8333±0,9002 (P,Q,R)
		Nistatina	14 d	8,5627±0,8821 (S)
	Água	Clorexidina	24 h	1,3321±0,6453 (K,N,O,P,Q)
		Clorexidina	7 d	1,5467±3,4518 (L,M,N,O,P,Q)
		Clorexidina	14 d	11,5219±2,0875 (T)
	Água	Cetoconazol	24 h	1,6519±1,0175 (M,N,O,P,Q)
		Cetoconazol	7 d	2,7116±0,7885 (P,Q)
		Cetoconazol	14 d	5,1151±1,3841 (R)
Trusoft	Água	Controle	24 h	0,2857±0,1101 (E,F,G,H,I,J,K,L,M,N,O,P)
		Controle	7 d	0,4307±0,2023 (F,G,H,I,J,K,L,M,N,O,P)
		Controle	14 d	1,4310±0,8509 (J,K,L,M,N,O,P,Q)
	Água	Nistatina	24 h	-0,9898±0,8831 (D,E,F,G,H,I)
		Nistatina	7 d	-1,8326±0,8159 (B,C,D,E,F,G)
		Nistatina	14 d	-0,0185±0,3211 (E,F,G,H,I,J,K,L,M,N,O,P)
	Água	Clorexidina	24 h	1,7215±1,1011 (M,N,O,P,Q)
		Clorexidina	7 d	-0,3818±1,0176 (D,E,F,G,H,I,J,K,L,M,O)
		Clorexidina	14 d	6,1581±0,6295 (R,S)
	Água	Cetoconazol	24 h	0,9929±0,8091 (H,L,M,N,O,P,Q)
		Cetoconazol	7 d	-1,2857±0,7547 (C,D,E,F,G,I,J,K)
		Cetoconazol	14 d	1,6355±0,4346 (L,M,N,O,P,Q)
Softone	S50	Controle	24 h	0,5918±0,4720 (G,J,K,L,M,N,O,P)
		Controle	7 d	-1,4705±1,0535 (C,D,E,F, H,I)
		Controle	14 d	0,0872±0,0998 (E,F,G,H,I,J,K,L,M,N,O,P)
	S50	Nistatina	24 h	-0,0746±0,0531 (E,F,G,H,I,J,K,L,M,N,O)
		Nistatina	7 d	-2,9376±1,6410 (B,C,D)
		Nistatina	14 d	-1,1049±0,9633 (C,D,E,F,G,H,I,J,K,L)
	S50	Clorexidina	24 h	0,3866±0,3692 (F,G,H,I,J,K,L,M,N,O,P)
		Clorexidina	7 d	-3,0844±1,6763 (B,C,D)
		Clorexidina	14 d	-1,1004±0,9661 (C,D,E,F,G,H,I,J,K,L)
	S50	Cetoconazol	24 h	0,1614±0,1554 (F,G,H,I,J,K,L,M,N,O,P)
		Cetoconazol	7 d	-2,4322±1,0137 (B,C,D,E)
		Cetoconazol	14 d	-0,8200±0,6757 (D,E,F,G,H,I,J,K,L,M)
Trusoft	S50	Controle	24 h	-0,0789±0,0143 (E,F,G,H,I,J,K,L,M,N,O)
		Controle	7 d	-0,5098±0,1510 (D,E,F,G,H,I,J,K,L,M,N)
		Controle	14 d	0,5663±0,1914 (F,G,H,I,J,K,L,M,N,O,P)
	S50	Nistatina	24 h	-1,5900±0,3926 (C,D,E,F)
		Nistatina	7 d	-1,9904±0,4427 (A,B,C,D,E)
		Nistatina	14 d	-0,7907±0,3912 (D,E,F,G,H)
	S50	Clorexidina	24 h	0,6542±0,2699 (F,G,H,I,J,K,L,M,N,O,P)
		Clorexidina	7 d	-0,3440±0,1395 (D,E,F,G,H,I,J,K,L,M,O)
		Clorexidina	14 d	1,9363±1,2703 (N,P,Q)
	S50	Cetoconazol	24 h	-0,1100±0,1033 (E,F,G,H,I,J,K,L,M,N,O)
		Cetoconazol	7 d	-1,7586±1,0185 (C,D,E,F,G)
		Cetoconazol	14 d	1,0845±0,8091 (H,I,J,K,L,M,N,O,P,Q)

Verticalmente, diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre as condições experimentais (solução, fármaco e tempo) ($P < 0,05$).

A comparação entre os grupos modificados por fármacos em cada período de avaliação mostrou que, comparado ao controle, a adição de cetozonazol não causou alteração significativa do PF para o Softone imerso em água em até 14 dias ($P>0,05$). Em relação ao controle, a modificação por nistatina e clorexidina causou aumento significativo do PF do Softone aos 14 dias de imersão em água ($P<0,05$), não sendo observada essa diferença nos períodos de 24 h e 7 dias ($P>0,05$) (Tabela 7). Independentemente da adição de antifúngico, a imersão em água por 14 dias causou aumento do PF do Softone em relação aos períodos de 24 h e 7 dias ($P<0,05$) que não foram diferentes entre si ($P>0,05$) (Tabela 7).

A comparação entre os grupos modificados por antifúngicos e o controle em cada período de avaliação não mostrou diferença significativa para as médias de PF ($P>0,05$) do Trusoft ao longo do tempo de imersão em água, exceto pela adição de clorexidina em 14 dias, onde se verificou um aumento significativo dos valores médios ($P<0,05$) (Tabela 7). A imersão em água não causou alteração significativa do PF para o Trusoft sem modificação (controle) ou modificado por cetozonazol ou nistatina em até 14 dias em água ($P>0,05$). A adição de clorexidina resultou em um aumento significativo do FP do Trusoft em água aos 14 dias de avaliação ($P<0,05$) em comparação aos períodos de 24 h e 7 dias, que foram significativamente semelhantes entre si ($P>0,05$).

Em cada período de imersão na S50, a adição de fármacos no Softone não causou alteração significativa do PF em relação ao controle ($P>0,05$). Independentemente da adição de fármaco, a imersão na S50 por 7 dias causou redução do PF do Softone em relação ao período de 24 h de experimentação ($P<0,05$). Não houve diferença entre os valores médios de PF nas comparações entre os períodos de 7 e 14 dias e 24 h e 14 dias para todos os grupos de estudo do Softone imerso em S50 ($P>0,05$) (Tabela 7).

A Tabela 7 mostra que, quando o Trusoft foi imerso na S50, a adição dos fármacos não causou alteração significativa no PF em comparação ao controle para cada período de avaliação ($P>0,05$). Nos grupos controle e modificados por nistatina e cetozonazol, a imersão na S50 não resultou em alteração significativa do PF para o Trusoft durante os 14 dias de avaliação ($P>0,05$). Houve aumento significativo do FP do Trusoft modificado pela adição de clorexidina em 14 dias de imersão na S50

em relação ao período de 7 dias ($P<0,05$). Entretanto, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os valores médios de PF para os períodos de 24 h e 14 dias ($P>0,05$). Em outras palavras, a porosidade do Trusoft ao final dos 14 dias de avaliação não foi alterada pela clorexidina em relação ao período inicial, que por sua vez não se diferiu significativamente do controle.

Considerando o fator “material” de forma isolada, pôde-se observar que o Softone apresentou FP percentual médio significativamente superior ao do Trusoft ($P<0,05$). Para o fator isolado “fármaco”, a adição de nistatina resultou significativamente em menor FP percentual médio relação aos demais fármacos e ao controle ($P<0,05$). O controle não apresentou diferença significativa em comparação aos grupos modificados por cetozonazol e clorexidina ($P>0,05$), que se mostraram diferentes entre si ($P<0,05$), com valores médios de PF superiores para o segundo. Considerando o fator isolado “solução”, foi possível observar uma diminuição significativa do FP quando os materiais foram imersos na S50 em relação à imersão em água destilada ($P<0,05$).

Discussão

6 DISCUSSÃO

6.1 PARTE I: RESISTÊNCIA À TRAÇÃO

Segundo Farrel (1975), condicionar um tecido é recuperar um tecido em um estado insalubre, devolvendo-o a um estado de aptidão. Idealmente, os reembasadores resilientes devem promover distribuição dos estresses funcionais sobre o rebordo alveolar, absorvendo a energia sobre a mucosa durante a mastigação (BRADEN, 1970). Esses materiais podem sofrer deformação permanente e, apesar de pequenas modificações serem benéficas para permitir que o reembasador se adapte às alterações naturais dos tecidos de suporte, qualquer mudança significativa pode levar à instabilidade da prótese (HERMANN et al., 2008).

Previamente à utilização do protocolo utilizado neste estudo como meio alternativo terapêutico em pacientes portadores de estomatite protética, é necessário se obter uma matriz polimérica modificada pela adição de antimicrobianos que, além de ser eficaz na inibição do crescimento dos microrganismos relacionados ao desenvolvimento da patologia, também não apresente efeitos deletérios às propriedades estruturais, físicas e mecânicas dos materiais resilientes.

A resistência à tração refere-se à resistência máxima do material sob tensão, sendo considerada segundo Waters e Jagger (1999) uma propriedade fundamental para os materiais a base de borracha. Apesar destes materiais estarem sujeitos apenas à compressão e ao cisalhamento, como acontece com os condicionadores de tecido e reembasadores resilientes, as propriedades tensionais funcionam como um guia geral para a análise da qualidade desses materiais. A significância clínica é então associada com a habilidade do material em resistir à ruptura durante o uso clínico, sob as condições deletérias promovidas pelo meio ambiente úmido da cavidade bucal (URBAN et al., 2006).

A deformação plástica máxima que resulta da aplicação das forças de tração é o alongamento. Durante um teste de tração, o alongamento de um material pode ser dividido em duas partes: 1) o aumento do comprimento da amostra abaixo do limite de proporcionalidade, o qual não é permanente e é proporcional à tensão

aplicada, e 2) O alongamento além do limite de proporcionalidade até a resistência à tração, que é permanente (ANUSAVICE; ZHANG; SHEN, 2006). Quanto maior a flexibilidade do material, maior é sua capacidade de absorver impactos, todavia essa mesma flexibilidade entra em ação no movimento de tração, na mesma direção, mas em sentido oposto. Portanto, o alongamento de um reembasador resiliente idealmente não deve ser muito baixo para não acarretar em aumento significativo da dureza e perda das funções de conforto e absorção de impacto e, ao mesmo tempo, não muito baixo ao ponto de interferir com a deformação elástica do material (OGUZ et al., 2007; WATERS; JAGGER, 1999). Considerando a importância da resistência à tração e do alongamento para os materiais resilientes para base de prótese, um dos objetivos deste estudo foi avaliar se a incorporação de fármacos antifúngicos em suas CIMs iria interferir com essas propriedades.

A manutenção de uma resiliência satisfatória é um dos fatores mais complicados quando da utilização de reembasadores resilientes à base de resina acrílica haja vista que os mesmos não são estáveis em meio aquoso (PARR; RUEGGERBERG, 2002). Durante seu uso, esses materiais estão em contato com a saliva, alimentos, água e soluções de higiene, que são responsáveis pela solubilização de seus componentes ou absorção de água (FRANGOU; KANELAKI, 2001; KAZANJI; WATKINSON, 1988; LEITE et al., 2010; PAVAN et al., 2007; PISANI et al., 2009; POLYZOIS et al., 2013). O balanço entre a perda de componentes e a absorção de fluidos afeta o desempenho e a estabilidade dimensional desses materiais (PARKER; MARTIN; BRADEN, 1999), uma vez que esses fenômenos são associados com expansão, distorção, aumento da dureza, odor indesejável, aderência e colonização microbiana e alterações de cor (ANIL; HEKIMOGLU; SAHIN, 1999; MANCUSO et al., 2009; PISANI et al., 2009). A perda da viscoelasticidade dos reembasadores macios pode irritar as áreas de suporte das próteses, causando danos aos tecidos edêntulos, além de acelerar a deterioração desses materiais (JONES et al., 1988).

Os reembasadores resilientes à base de resina acrílica quimicamente ativada consistem em um pó, geralmente de polietil metacrilato ou copolímero, e um líquido contendo etanol e plastificantes. O agente plastificante é comumente formado por moléculas grandes como ocorre no éster aromático dibutil ftalato, que é

amplamente utilizado nos líquidos dos reembasadores resilientes (BRADEN, 1970; SINGH et al., 2010), 1970. A distribuição das largas moléculas de plastificante minimiza o entrelaçamento das cadeias poliméricas e, assim, permite que cadeias individuais deslizem umas sobre as outras. Essa movimentação promove alterações rápidas na forma dos materiais resilientes autopolimerizáveis, levando ao efeito de amortecimento aos tecidos de suporte das próteses (BRADEN, 1970). Os líquidos dos materiais utilizados com essa finalidade clínica não contêm monômeros acrílicos. Por conseguinte, esses reembasadores são considerados temporários, diferentemente daqueles termopolimerizáveis, que são mais duráveis e podem ser utilizados em longo prazo (PARR; RUEGGEBERG, 2002; SINGH et al., 2010).

Para aumentar a durabilidade dos reembasadores resilientes temporários, tem sido proposta a incorporação de agentes antimicrobianos nestes materiais (BUENO et al., 2015; SCHNEID, 1992; TRUHLAR; SHAY; SOHNLE, 1994). Essa combinação pode funcionar como uma terapêutica lógica para a estomatite protética, pois o material resiliente promover readaptação das próteses aos tecidos de suporte, reduzindo o trauma que agrava a infecção e funcionando como uma barreira que evita a reinfecção da mucosa pela base acrílica (GEERTS; STUHLINGER; BASSON, 2008). Ao mesmo tempo, o fármaco incorporado ao material é liberado aos poucos aos tecidos infectados, sem a necessidade de cooperação do paciente, ao longo de toda a vida útil do material (TRUHLAR; SHAY; SOHNLE, 1994). No entanto, a adição de uma substância em material resiliente temporário para base de prótese como um condicionador de tecido pode impedir a penetração dos plastificantes nas cadeias poliméricas, resultando na formação de um gel pouco coeso (UESHIGE et al., 1999), o que pode alterar de forma deletéria as propriedades do material. Por essas razões, neste estudo, a resistência à tração e o alongamento percentual foram testados após a modificação por baixas concentrações de fármacos (CIMs), com o intuito de minimizar o efeito indesejável dessas substâncias sobre tais propriedades. Ainda, os materiais modificados foram avaliados ao longo de 14 dias, que é o tempo médio de vida útil dos reembasadores temporários bem como do tratamento para estomatite protética com antifúngico tópico convencional.

No período de 14 dias de imersão em água, as CIMs dos fármacos nistatina, clorexidina e cetoconazol não resultaram em alteração da resistência à tração e

percentagem de alongamento de ambos os materiais resilientes temporários. Entretanto, a presença de miconazol e itraconazol em suas CIMs nos dois materiais testados reduziu a resistência à tração e aumentou o alongamento percentual durante período de 14 dias de avaliação. Dessa forma, a hipótese nula que a incorporação das CIMs dos fármacos não afetaria tais propriedades foi parcialmente aceita. Há pouca informação sobre o efeito da adição de fármacos em concentrações comercialmente disponíveis sobre a resistência à tração de condicionadores teciduais (SCHNEID, 1992; URBAN et al., 2006). No entanto, não foram encontrados estudos disponíveis na literatura pertinente sobre as propriedades de resistência à tração e alongamento percentual de materiais resilientes temporários modificados por CIMs de fármacos, o que dificulta a comparação com os resultados obtidos nesta investigação.

Os resultados do presente estudo para a nistatina corroboram com os obtidos por Urban et al. (2006), onde a incorporação desse fármaco em um condicionador de tecido (Softone) em concentrações de até 1.000.000 U não interferiu com sua resistência à tração ao longo de 7 dias de imersão em água. No período de 14 dias, Schneid (1992) observou apenas falhas coesivas quando o teste de resistência à tração foi aplicado na união entre uma resina acrílica termopolimerizável para base de prótese e um condicionador tecidual (Lynal) modificado por concentrações comerciais de clorexidina (0,250, 0,500 e 1 g) e nistatina (0,125, 0,250 e 0,500 g). Isso significa que a resistência à tração da união do material não sofreu alteração ou até mesmo foi melhorada pela adição desses fármacos (SCHNEID, 1992), concordando com os achados deste estudo para nistatina e clorexidina.

Por outro lado, nesta investigação, a incorporação de miconazol e itraconazol em todos os períodos avaliados promoveu redução da resistência à tração e alongamento percentual de ambos os materiais avaliados em relação aos demais grupos de estudo. Esse resultado pode ser atribuído fundamentalmente à quantidade de fármaco incorporada a esses materiais já que as CIMs de miconazol e itraconazol (0,256 g de fármaco por g de material) foram bem superiores às dos demais antifúngicos testados. Durante a confecção dos corpos de prova, houve dificuldade de incorporação de tais fármacos aos pós dos materiais bem como na

manipulação, resultando em atraso da plastificação. Srivatstava et al. (2013) observaram plastificação incompleta de um condicionador de tecido após a incorporação de óleo de *Origanum*, o que resultou em significativamente menores valores de resistência à tração. Ainda, segundo os autores, o menor conteúdo de plastificante com a incorporação do agente antimicrobiano poderia ter diminuído o desemaranhamento das pérolas do polímero, promovendo uma fraca coesão entre as cadeias poliméricas (SRIVATSTAVA et al., 2013). Schneid (1992) também observou a redução da resistência média à tração com o aumento da concentração de fluconazol em um condicionador tecidual. Apenas sugestões poderão ser estabelecidas para discutir os resultados obtidos neste estudo para a redução da percentagem de alongamento pelos fármacos miconazol e itraconazol uma vez que não foram encontradas informações disponíveis para essa propriedade em materiais resilientes modificados por fármacos. É provável que os materiais, quando modificados pela maior quantidade (maior CIM) de miconazol e itraconazol, tenham se tornado mais borrachóides, o que levou ao menor percentual do comprimento do espécime sob tração, no momento da ruptura (FRANGOU; KANELLAKI, 2001; LAI et al., 2004). Apesar de estudos prévios estabelecerem valores médios aceitáveis clinicamente para a resistência de tração da união de materiais resilientes a resinas para base de prótese, não há referências de valores adequados para essa propriedade apenas do material nem para seu alongamento. Por isso, estudos adicionais sobre as referidas propriedades, sobretudo para materiais resilientes temporários, ainda são necessários.

Em estudo anterior de Urban, et al. (2005), foi observado aumento da dureza Shore A do Softone modificado com a MCI do miconazol no período de 14 dias de imersão em água. Esse resultado foi atribuído ao peso molecular do miconazol, o qual é inferior ao dos fármacos nistatina, cetoconazol e clorexidina (URBAN et al., 2009). As pequenas partículas do miconazol apresentam maior difusibilidade dentro da matriz polimérica. Isso leva a um maior nível de solvatação (JONES et al., 1988) o que pode ter contribuído para o aumento da dureza do Softone contendo miconazol. Assim, é possível supor que, além da redução da resiliência, a maior solvatação causada pelo miconazol pode ter resultado em menor resistência à tração para os materiais resilientes avaliados.

Já os resultados obtidos com o itraconazol podem estar associados ao processamento deste fármaco, que se apresenta comercialmente disponível na forma de pellets. Mesmo moído e processado em peneira ultrafina, é provável que o pó final do itraconazol ainda tenha apresentado resquícios de pellets, o que pode ter favorecido a redução da resistência à tração. Os resultados divergentes encontrados neste estudo para o itraconazol e miconazol podem também ser explicados pela diferente distribuição de cada fármaco na matriz do material e pelo tamanho distinto de suas partículas (URBAN et al., 2009). Outros aspectos que podem ter interferido com os diferentes resultados obtidos para tais antifúngicos possivelmente estão associados à fragilidade da matriz polimérica modificada e da porosidade do material após sua incorporação (BROOK; VAN NOORT, 1985). Ao final de 14 dias, a imersão em água (para um mesmo grupo ao longo do tempo) não resultou em diferenças significativas para a resistência a tração dos materiais avaliados nos diversos grupos de estudo, exceto pelo itraconazol no Softone, que causou redução dessa propriedade. Isso também pode ser atribuído aos fatores previamente mencionados. Futuras investigações devem ser conduzidas para avaliar essas hipóteses segundo as condições adotadas neste estudo.

Nesta investigação, similarmente ao observado para a resistência à tração, a adição de clorexidina, nistatina e cetonaazol não promoveu diferenças estatisticamente significantes nas porcentagens de alongamento em relação ao controle para ambos os materiais avaliados nos três períodos de avaliação. Da mesma forma que para a resistência à tração, foi observado que a adição do miconazol e itraconazol, após 7 e 14 dias de imersão em água, reduziu significativamente o alongamento dos materiais resilientes estudados em relação ao controle. Não há estudos disponíveis na literatura pertinente sobre o alongamento percentual de materiais resilientes para reembasamento de prótese modificados com fármacos. Assim, apenas comparações indiretas poderão ser realizadas.

Os resultados demonstraram que, na maioria das condições experimentais (grupo x tempo), a resistência à tração e a porcentagem de alongamento não foram estatisticamente diferentes entre os dois materiais avaliados. Apesar das composições desses materiais serem semelhantes, é esperado, de acordo com a literatura (BRADEN, 1970; SINGH et al., 2010), que o Softone, sendo um

condicionador de tecido, apresente maior quantidade de plastificante que o Trusoft, que é um reembasador resiliente temporário. No entanto, isso não foi suficiente para promover diferenças para as propriedades avaliadas de ambos os materiais dentro da maioria das condições testadas neste estudo.

Considerando apenas os resultados da presente investigação *in vitro*, é possível sugerir que, dos fármacos testados para o tratamento de estomatite protética, a nistatina (antifúngico poliênico), a clorexidina (antimicrobiano) e o cetonaazol (antifúngico azólicos) incorporados em ambos os materiais resilientes temporários não interferiram de forma deletéria com suas propriedades de resistência à tração e alongamento em até 14 dias de imersão em água. Como os reembasadores temporários e condicionadores de tecido são utilizados por curtos períodos de tempo, as alterações de pequenas dimensões em suas propriedades como as observadas no presente estudo não contraindicam seu uso mesmo com a adição de fármacos em suas composições (ADDY, M.; HANDLEY, R., 1981; DOUGLAS; WALKER, 1973; THOMAS; NUTT, 1978; URBAN et al., 2006). Isso é válido especialmente tanto para minimizar traumas aos tecidos de suporte por próteses antigas e/ou instáveis durante o período em que novas próteses estão sendo confeccionadas quanto para o tratamento de estomatite protética.

Apesar de favoráveis, os resultados desta pesquisa *in vitro* devem ser aplicados às condições clínicas com cautela. As limitações do presente estudo incluem que fatores clínicos como o ambiente bucal e a conformação da base da prótese não foram considerados na metodologia. Além disso, apenas uma marca comercial de cada tipo de material (condicionador de tecido e reembasador resiliente temporário) foi avaliada, não podendo, dessa forma, estender os resultados a outras marcas. Portanto, para indicar a adição de fármacos antifúngicos/antimicrobianos em materiais resilientes temporários para base de próteses, são necessários estudos futuros *in vitro* com diferentes marcas comerciais envolvendo outros fatores como biocompatibilidade, porosidade, deformação permanente e resistência ao rasgamento. Além disso, durante seu uso na cavidade bucal, os reembasadores resilientes podem sofrer estresses adicionais como alterações térmicas, variações de pH e deformação pela carga oclusal. Por isso, uma avaliação final do

desempenho dos materiais resilientes modificados somente poderia ser determinada por meio de estudos clínicos in vivo.

6.2 PARTE II: POROSIDADE

Como um dos objetivos dos materiais resilientes temporários no tratamento da estomatite protética é remover a superfície contaminada da base da prótese dos tecidos infectados, é imprescindível prevenir a formação de biofilme nos mesmos durante sua vida útil. Por serem mais porosos, os materiais temporários são facilmente permeados em profundidade pelas substâncias nutritivas presentes no ambiente bucal, funcionando como um incubador para a colonização microbiana, incluindo as espécies de *Candida* (RADFORD; CHALLACOMBE; WALTER, 1999). Por isso, este estudo avaliou o efeito da adição de CIMs de antifúngicos consideradas como efetivas para inibição do biofilme de *C. albicans* sobre a porosidade de materiais resilientes temporários. A hipótese nula testada foi parcialmente aceita, pois as CIMs dos três antifúngicos testados interferiram com a porosidade dos dois materiais resilientes temporários testados em algumas das condições experimentais avaliadas. É importante ressaltar que foram testados apenas três antifúngicos (nistatina, clorexidina e cetoconazol) ao invés de cinco como no estudo de resistência à tração e alongamento uma vez que o miconazol e o itraconazol afetaram tais propriedades quando incorporados nos mesmos materiais resilientes temporários testados na avaliação de porosidade.

A porosidade das resinas acrílicas para base de prótese tem sido investigada principalmente por análise a olho nu ou microscopia (LAI et al., 2004; NOVAIS et al., 2009; RIZZATTI-BARBOSA; RIBEIRO-DASILVA, 2009; WOLFAARDT; CLEATON-JONES; FATTI, 1986; YANNIKAKIS et al., 2002) e pelo método que utiliza o volume de água absorvido pelo material (BAFILE et al., 1991; COMPAGNONI et al., 2004; GANZAROLLI et al., 2007; PERO et al., 2008; PERO et al., 2011). Já a porosidade dos reembasadores resilientes temporários têm sido graduada em escores por microscopia (GOLL; SMITH; PLEIN, 1983; HARRISON; BASKER; SMITH, 1989; HONG et al., 2008; MURATA et al., 2010; NIKAWA et al.,

1994), método limitado por avaliar os poros apenas forma superficial, mesmo quando os espécimes são seccionados (ARIKAN et al., 2005). Essa propriedade está relacionada à estrutura do material sólido e é expressa na presença de vazios (poros), ou seja, a fração em volume livre no interior do polímero. Neste sentido, o método que calcula a porosidade mensurando a massa do corpo de prova antes e após sua imersão em água é mais preciso por avaliar a amostra como um todo (ARIKAN et al., 2005). Em meio aquoso, a resina acrílica sofre sorção de água pelo mecanismo primário de difusão; portanto, parte dessa água ocupa espaços existentes na estrutura do material e outra parte é absorvida, ocupando seus poros verdadeiros (ARIKAN et al., 2005).

Idealmente, um reembasador resiliente deve possuir componentes insolúveis e baixa sorção em água (EL-HADARY; DRUMMOND, 2000; KAZANJI; WATKINSON, 1988). Entretanto, ao longo de sua vida útil, esses materiais são imersos em saliva, alimentos, água e soluções de higiene (CANAY et al., 1999; FRANGOU; KANELAKI, 2001; KAZANJI; WATKINSON, 1988; LEITE et al., 2010; MURATA et al., 2010; PAVAN et al., 2007; PISANI et al., 2010; POLYZOIS et al., 2013). Como essa exposição ao meio aquoso resulta concomitantemente em sorção de água e perda de plastificantes e outros componentes solúveis (GRAHAM; JONES; SUTOW, 1991; PARKER; BRADEN, 1989), o comportamento e longevidade dos materiais resilientes temporários dependem do equilíbrio desses dois mecanismos (BRADEN; WRIGHT, 1983; PARKER; BRADEN, 1989).

Na presente pesquisa, comparado aos respectivos controles, a adição dos fármacos não alterou significativamente o PF percentual de ambos os materiais resilientes temporários nos diferentes períodos de imersão em água ou S50, exceto pela clorexidina e nistatina no Softone e clorexidina no Trusoft em até 14 dias em água. Além disso, a análise do fator isolado “fármaco” demonstrou que a adição de nistatina resultou, para ambos os materiais, nos menores percentuais médios de FP em relação aos demais fármacos e controles. Os processos de sorção de água e lixiviação dos componentes sofrem influência do nível de difusão dos antifúngicos pelos canais dos polímeros, que por sua vez depende da temperatura e do meio de extração bem como do peso molecular, do tamanho de partícula e da distribuição,

solubilidade e concentração do fármaco (BROOK; VAN NOORT, 1985; QUINN, 1985; URBAN et al., 2009).

O nível de difusão das moléculas de um fármaco através de uma matriz polimérica é aumentado com a redução do seu peso molecular (BROOK; VAN NOORT, 1985; MARK SALTZMAN et al., 1993). Os antifúngicos cetoconazol e clorexidina apresentam pesos moleculares semelhantes (531,44 e 625,56 g/mol, respectivamente), mas inferiores ao da nistatina (926,11 g/mol). Entre os antifúngicos testados, a clorexidina tem a maior solubilidade em água (19 mg/mL), seguida pela nistatina e pelo cetoconazol, que são praticamente insolúveis em água (4 e 0,017 g/mL, respectivamente). A baixa solubilidade do fármaco em água permite sua lenta liberação da matriz polimérica (BROOK; VAN NOORT, 1985), resultando em níveis constantes e efetivos para terapias sustentadas. Foi demonstrado por análise de microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia por energia dispersiva que a nistatina incorporada a um condicionador tecidual exibiu pequenas partículas (10-50 μm) com formas e tamanhos aleatórios, porém mais uniformemente distribuídas se comparadas com aquelas do cetoconazol e da clorexidina (URBAN et al., 2009). A análise microscópica também demonstrou que os corpos de prova contendo cetoconazol apresentaram pequenas partículas esféricas (10-25 μm) com ligeira distribuição em toda a matriz do condicionador de tecido. Entretanto, os espécimes modificados por clorexidina exibiram partículas irregulares de até aproximadamente 50 μm , as quais estavam dispersas aleatoriamente dentro da matriz. Em relação às concentrações dos fármacos testados nos reembasadores resilientes temporários deste estudo, a nistatina apresentou a menor CIM (0,032 g), seguida pela clorexidina (0,064 g) e o cetoconazol (0,128 g) (BUENO et al., 2015). Assim, é razoável supor que a baixa CIM, a baixa solubilidade em água, o alto peso molecular e a distribuição uniforme da nistatina na matriz polimérica resultou em menor formação de espaços vazios no interior dos materiais resilientes temporários testados e, conseqüentemente, em menor FP percentual em relação aos demais fármacos. Já os resultados favoráveis obtidos com cetoconazol podem ser atribuídos às suas pequenas partículas esféricas e relativa insolubilidade em água. Finalmente, a maior solubilidade da clorexidina em água e suas maiores e irregulares partículas dispersas

aleatoriamente podem ter contribuído para o aumento da porosidade do Softone e Trusoft modificados por esse fármaco em 14 dias de imersão em água.

Independentemente da adição de fármaco, aos 14 dias de imersão em água, houve aumento do PF do Softone em comparação aos períodos de 24 h e 7 dias, que foram semelhantes entre si. Já o Trusoft, exceto quando modificado por clorexidina, não apresentou alteração significativa do PF até 14 dias. Além disso, Softone apresentou maior FP percentual médio comparado ao Trusoft, independentemente da adição de fármaco e da solução de armazenagem. Esses resultados podem ser atribuídos às diferenças na composição e concentrações dos componentes presentes nesses reembasadores. O fabricante de ambos os reembasadores de curto prazo testados neste estudo não especifica a composição nem a concentração dos agentes plastificantes presentes nos líquidos. De acordo com a literatura, Softone e Trusoft são compostos pelo mesmo polímero (polietil metacrilato), o qual é dissolvido em uma mistura de plastificante de ftalato e etanol (HONG et al., 2008; MACHADO et al., 2011). Além disso, ambos os materiais resilientes possuem a mesma proporção pó-líquido (BUENO et al., 2015). Entretanto, é esperado que o Softone, sendo um condicionador tecidual, apresente maior quantidade de plastificante e álcool que o Trusoft, que é um reembasador resiliente temporário. Clinicamente, condicionadores teciduais, como o Softone, devem ser utilizados idealmente por 3-4 dias, não sendo recomendado seu uso por mais de 14 dias (HONG et al., 2008; MURATA et al., 2001), que corresponde ao tempo médio de vida útil para um reembasador resiliente temporário, como o Trusoft (BAL; YAVUZYILMAZ; YÜCEL, 2008; CHOW; MATEAR; LAWRENCE, 1999; NIKAWA et al., 1994; SCHNEID, 1992; TRUHLAR; SHAY; SOHNLE, 1994). De acordo com o fabricante, pela baixa concentração de plastificantes do Trusoft, esse material pode ser utilizado clinicamente por até 30 dias.

Embora ambos os materiais resilientes temporários testados neste estudo possuam plastificantes de ftalato, o líquido do Softone contém dibutil ftalato e butil benzoato ao passo que o do Trusoft possui alquil ftalato (HONG et al., 2008). O peso molecular do dibutil ftalato presente no Softone (194,19 g/mol) é inferior ao apresentado pelo alquil ftalato do Trusoft (334,44 g/mol) e, provavelmente, sua concentração de etanol (8,3% em volume) é mais elevada (HONG et al., 2008). Tem

sido relatado que a redução da concentração do plastificante de baixo peso molecular (ftalato) presente no Softone é rápida, sendo as maiores alterações observadas nos três primeiros dias, o que resulta na perda de sua integridade superficial (ELSEMANN et al., 2008). Foi demonstrado que o álcool etílico presente nos condicionadores teciduais é completamente lixiviado após 24 h de armazenagem em água a 37°C. Nesse primeiro momento, a lixiviação do etanol é maior que a perda do plastificante (JONES et al., 1988). Apesar dos condicionadores teciduais apresentarem alta maciez inicial, a rápida perda de etanol e plastificante resulta em aumento significativo da dureza (URBAN et al., 2015), limitando a vida útil desses materiais a um período relativamente curto. Essas diferenças entre os materiais resilientes temporários estudados ajudam a explicar a estabilidade em relação à porosidade do Trusoft em água durante todo o período de imersão e os menores valores percentuais de PF em relação ao Softone nas diversas condições experimentais. Ainda, o aumento de porosidade do Softone após 7 dias reforça que sua vida útil deva ser idealmente limitada a uma semana.

Os resultados deste estudo demonstraram que, quando os materiais resilientes temporários foram imersos na solução ótima (S50), a adição dos fármacos não causou alteração do PF em relação ao controle para cada período de avaliação. Além disso, houve redução significativa do FP percentual médio de ambos os materiais imersos na S50 em relação à imersão em água destilada. Os materiais resilientes acrílicos são conhecidos por absorverem a água lentamente no decorrer do tempo devido às propriedades polares das moléculas poliméricas (MIETTINEN; VALLITTU; DOCENT, 1997). Esses materiais não atingem um estágio de equilíbrio de absorção de água mesmo após longos períodos de tempo (até 6 anos) (CANAY, et al. 1999) e, por isso, é difícil caracterizá-los segundo a teoria clássica de difusão, como ocorre com as resinas acrílicas rígidas para base de prótese (BRADEN; WRIGHT, 1983). É bem estabelecido na literatura que a absorção de água causa uma ligeira expansão da massa polimerizada e, ao mesmo tempo, interfere no entrelaçamento da cadeia polimérica agindo como um plastificante, o que altera as características físicas do material (ANUSAVICE; ZHANG; SHEN, 2006). A absorção de água de uma resina acrílica tem sido atribuída principalmente à hidrofiliabilidade do polímero, característica que aumenta de acordo

com o número de grupos de hidrocarbonetos que ele possui. Tem sido observado maior nível de absorção de água em relação ao de lixiviação de componentes em materiais de polietil metacrilato comparado a outros polímeros, tais como poli (n-butil metacrilato) (KAZANJI; WATKINSON, 1988). Alguns estudos também demonstraram que reembasadores resilientes à base de acrílico apresentam valores de sorção de água superiores aos de solubilidade (DINCKAL YANIKOGLU; YESIL DUYMUS, 2004; EL-HADARY; DRUMMOND, 2000; KAZANJI; WATKINSON, 1988). Além da hidrofiliidade, outros fatores relacionados ao polímero como densidade da matriz e porosidade podem interferir com o grau de absorção de água. Diferentemente das resinas acrílicas com alto grau de polimerização, os materiais resilientes como os testados neste estudo apresentam matriz com baixa densidade devido ao menor entrelaçamento das cadeias poliméricas o que, apesar de aumentar a flexibilidade, resulta em maior difusão de água para seu interior (BRADEN; WRIGHT, 1983). Ao mesmo tempo, a manipulação dos polímeros acrílicos e plastificantes pode levar à incorporação de bolhas de ar, com consequente formação de microporos no interior da matriz, facilitando a sorção de água (BRADEN; WRIGHT, 1983). Todos esses achados demonstram que o mecanismo primário envolvido na sorção é a absorção de água. Apesar disso, essa propriedade envolve também o mecanismo da adsorção, cujo grau refere-se à formação de pontes de hidrogênio entre a água e os grupos carboxílicos, mesmo esterificados, sendo dependente da composição química do polímero (CANAY et al, 1999) que, no caso desta investigação, para ambos os materiais, é o polietil metacrilato.

Tendo em vista a grande absorção de água apresentada por esses materiais de polietil metacrilato, o presente estudo utilizou um método de avaliação de porosidade, excluindo-se o efeito plastificante da água (PERO et al., 2011). Assim, essa propriedade foi avaliada não apenas em relação à imersão em água destilada, mas também em uma solução de armazenagem ideal (S50), previamente determinada para cada material resiliente temporário. A armazenagem da resina acrílica em soluções aquosas saturadas de sais como a S50, a qual permite variar a atividade de água, possibilita estimar uma solução na qual o efeito plastificante da água não seja atuante (atividade de água ótima) (SCHMITZ; SMITH, 1988). Foi demonstrado que a velocidade de entrada da água foi mais rápida quando os

materiais foram armazenados em água destilada. Isto destaca o fato de que a água plastifica a estrutura polimérica, resultando em espaços criados entre as cadeias poliméricas e facilitando a entrada de água (ARIMA; MURATA; HAMADA, 1996). Isso pode explicar as menores médias percentuais de PF para os materiais resilientes testados quando imersos em S50 em comparação à água destilada. A exclusão do efeito plastificante da água também pode estar relacionada o fato de que, quando os materiais foram imersos na S50, não houve alteração do PF pela adição do fármaco. Tais resultados sugerem que os valores de porosidade podem ser irreais quando os materiais à base de acrílico são armazenados em água destilada, o que reforça a armazenagem da amostra em solução adequada.

Dentro das condições *in vitro* avaliadas nesta pesquisa, a nistatina, além da vantagem de apresentar a menor CIM dos fármacos testados, foi o que resultou em menor PF percentual para ambos os materiais resilientes temporários, podendo representar um protocolo promissor para o tratamento de estomatite protética. A nistatina possui o mais largo espectro de ação entre os antifúngicos disponíveis, sendo considerados fungicidas. Apesar do cetoconazol não ter alterado a porosidade dos materiais testados, a ampla ação antifúngica da nistatina associada à CIM quatro vezes inferior àquela do cetoconazol são aspectos importantes a serem considerados na escolha do antifúngico para a modificação dos materiais resilientes de curta duração. Entretanto, o biofilme protético é complexo, formado não apenas por fungos, mas por bactérias, as quais favorecem a adesão de células fúngicas às superfícies internas das próteses por congregação (NEPPELENBROEK et al., 2008). Assim, apesar dos resultados favoráveis demonstrados neste estudo com nistatina e cetoconazol, a adição da CIM de clorexidina nos reembasadores temporários e condicionadores teciduais deve ser levada em consideração nos estudos futuros sobre terapia alternativa para o tratamento de estomatite protética por várias razões, entre as quais: 1) esse fármaco possui ação antimicrobiana de grande espectro, atingindo bactérias e fungos presentes no biofilme das próteses; 2) clorexidina apresenta significativa substantividade, o que resulta em efetividade em períodos maiores de avaliação (HENNESSEY, 1973; REDDING et al., 2009; SPIECHOWICZ et al., 1990); 3) alterações de pequenas dimensões nas propriedades físicas e mecânicas como as observadas com a clorexidina em 14 dias

de imersão em água no presente estudo não contraindicam a adição de fármacos nos materiais resilientes temporários já que estes são utilizados por curtos períodos de tempo (URBAN et al., 2006); 4) quando foram imersos na solução ótima, não houve alteração significativa da porosidade dos materiais resilientes modificados por clorexidina até 14 dias.

Os resultados deste estudo in vitro devem ser extrapolados para as situações clínicas com precaução, considerando as seguintes restrições: a) apenas uma marca comercial de cada tipo de material (condicionador de tecido e reembasador resiliente temporário) foi avaliada; b) embora seja mais objetivo para avaliação da porosidade, o método de sorção de água utilizado neste estudo apresenta a limitação de não oferecer informações detalhadas sobre as dimensões e localizações dos poros no material (YANNIKAKIS et al., 2002); c) clinicamente, os reembasadores resilientes podem sofrer estresses adicionais como alterações térmicas, variações de pH e deformação pela carga oclusal; d) a imersão em água destilada ou outras soluções não reproduz a magnitude e velocidade das alterações das propriedades observadas clinicamente (JEPSON; MCCABE; STORER, 1993; YILMAZ et al., 2004); e) a perda dos componentes lixiviáveis ocorre de forma mais acelerada em razão do próprio ambiente bucal, alimentação e métodos de limpeza adotados pelo paciente (GRAHAM; JONES; SUTOW, 1991). Por isso, uma avaliação final do desempenho dos materiais resilientes modificados somente poderá ser determinada por meio de estudos clínicos in vivo.

Conclusões

7 CONCLUSÕES

7.1 PARTE I: RESISTÊNCIA À TRAÇÃO

Com base na metodologia empregada para a avaliação da resistência à tração e considerando as limitações deste estudo in vitro, foi possível concluir que:

- em relação ao grupo controle (sem adição de fármaco), a adição de nistatina, clorexidina e cetozonazol em suas CIMs para o biofilme de *C. albicans* não afetou adversamente a resistência à tração e o alongamento percentual dos materiais resilientes testados ao longo de todo o período de avaliação (14 dias);
- ao final de 14 dias de imersão em água, a resistência à tração e o alongamento percentual dos materiais resilientes estudados foram significativamente reduzidos em comparação ao controle após a incorporação de miconazol e cetozonazol;
- na maioria das condições experimentais testadas, os materiais resilientes Trusoft e Softone se comportaram de forma semelhante para ambas as propriedades avaliadas.

7.2 PARTE II: POROSIDADE

Com base na metodologia empregada para a avaliação da porosidade e considerando as limitações deste estudo in vitro, foi possível concluir que:

- a adição dos fármacos não afetou significativamente a porosidade de ambos os materiais resilientes temporários em diferentes períodos de imersão em água, exceto para clorexidina e nistatina no Softone e clorexidina no Trusoft aos 14 dias;
- a porosidade dos materiais resilientes de curta duração não foi significativamente alterada pela adição de fármacos em até 14 dias de imersão na solução ótima de armazenagem;

- nas condições experimentais avaliadas, o Softone apresentou maior porosidade quando comparado ao Trusoft;
- dentre os fármacos testados, a adição de nistatina promoveu significativamente a menor porosidade em ambos os materiais resilientes temporários testados.

7.3 CONCLUSÕES GERAIS

Com base nas metodologias empregadas para a avaliação da resistência à tração, alongamento e porosidade e nos resultados in vitro obtidos, foi possível concluir que:

- a nistatina, em sua CIM da para biofilme de *C. albicans*, seria o fármaco de escolha para a incorporação no condicionador tecidual Softone e reembasador de curta duração Trusoft em até 7 dias de imersão em água, uma vez que, em tal período, essa modificação não alterou nenhuma das propriedades avaliadas para ambos os materiais resilientes temporários;
- em até 14 dias de imersão em água, o Trusoft modificado pela CIM da nistatina seria o protocolo mais indicado para o tratamento de estomatite protética sem substituição de material, considerando sua menor porosidade em relação ao Softone e manutenção das propriedades avaliadas neste período;
- se considerada exclusão do efeito plastificante da água na determinação da porosidade, tanto o Trusoft quanto o Softone modificados pelas CIMs de nistatina, clorexidina e cetozonazol poderiam ser utilizados como alternativa ao tratamento de estomatite protética pelo período de 14 dias haja vista que, neste período, tal protocolo não interferiu adversamente com a resistência à tração e alongamento dos espécimes imersos em água nem com a porosidade dos corpos de prova armazenados na solução ótima.

Referências

REFERÊNCIAS

American Society for the Testing of Materials. Standard Test Methods for Vulcanized Rubber and Thermoplastic Elastomers—Tension [Astm D 412-98a]. American National Standards Institute. West Conshohocken, Pa.: Annual book of ASTM Standards 2002. p. 43-55.

Abelson JA, Moore T, Bruckner D, Deville J, Nielsen K. Frequency of Fungemia in Hospitalized Pediatric Inpatients over 11 Years at a Tertiary Care Institution. *Pediatrics*. 2005 Jul;116(1):61-7.

Addy M. In Vitro Studies into the Use of Denture Base and Soft Liner Materials as Carriers for Drugs in the Mouth. *Journal of Oral Rehabilitation*. 1981 8(2):131-42.

Addy M, Handley R. The Effects of the Incorporation of Chlorhexidine Acetate on Some Physical Properties of Polymerized and Plasticized Acrylics. *Journal of Oral Rehabilitation*. 1981 8(2):155-63.

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

Alcantara CS, de Macedo AF, Gurgel BC, 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*. 2012 Nov-Dec;20(6):607-12.

Amin WM, Al-Ali MH, Salim NA, Al-Tarawneh SK. A New Form of Intraoral Delivery of Antifungal Drugs for the Treatment of Denture-Induced Oral Candidosis. *Eur J Dent*. 2009 Oct;3(4):257-66.

Anil N, Hekimoglu C, Sahin S. Color Stability of Heat-Polymerized and Autopolymerized Soft Denture Liners. *J Prosthet Dent*. 1999 Apr;81(4):481-4.

Anusavice KJ, Zhang NZ, Shen C. Controlled Release of Chlorhexidine from UDMA-TegDMA Resin. *J Dent Res*. 2006 Oct;85(10):950-4.

Arendorf TM, Walker DM. Denture Stomatitis: A Review. *J Oral Rehabil*. 1987 May;14(3):217-27.

Arikan A, Ozkan YK, Arda T, Akalin B. An in Vitro Investigation of Water Sorption and Solubility of Two Acetal Denture Base Materials. *Eur J Prosthodont Restor Dent*. 2005 Sep;13(3):119-22.

Arima T, Murata H, Hamada T. The Effects of Cross-Linking Agents on the Water Sorption and Solubility Characteristics of Denture Base Resin. *J Oral Rehabil*. 1996 Jul;23(7):476-80.

Baena-Monroy T, Moreno-Maldonado V, Franco-Martinez F, Aldape-Barrios B, Quindos G, Sanchez-Vargas LO. Candida Albicans, Staphylococcus Aureus and Streptococcus Mutans Colonization in Patients Wearing Dental Prosthesis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2005 10 Suppl 1(E27-39).

Bafile M, Graser GN, Myers ML, Li EK. Porosity of Denture Resin Cured by Microwave Energy. *J Prosthet Dent*. 1991 Aug;66(2):269-74.

Bail M, Jorge JH, Urban VM, Campanha NH. Surface Roughness of Acrylic and Silicone-Based Soft Liners: In Vivo Study in a Rat Model. *J Prosthodont*. 2014 Feb;23(2):146-51.

Bal BT, Yavuzyilmaz H, Yücel M. A Pilot Study to Evaluate the Adhesion of Oral Microorganisms to Temporary Soft Lining Materials. *J Oral Sci*. 2008 Mar;50(1):1-8.

Banting DW, Hill SA. Microwave Disinfection of Dentures for the Treatment of Oral Candidiasis. *Spec Care Dentist*. 2001 21(1):4-8.

Barbeau J, Seguin 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 Jan;95(1):51-9.

Bayne SC, Lautenschlager EP, Compere CL, Wildes R. Degree of Polymerization of Acrylic Bone Cement. *J Biomed Mater Res*. 1975 Jan;9(1):27-34.

Braden M. Tissue Conditioners. I. Composition and Structure. *J Dent Res*. 1970 Jan-Feb;49(1):145-8.

Braden M, Wright PS. Water Absorption and Water Solubility of Soft Lining Materials for Acrylic Dentures. *J Dent Res*. 1983 Jun;62(6):764-8.

Brook IM, van Noort R. Drug Release from Acrylic Polymers Via Channels and Cracks: In Vitro Studies with Hydrocortisone. *Biomaterials*. 1985 Jul;6(4):281-5.

Brown D. Resilient Soft Liners and Tissue Conditioners. *Br Dent J*. 1988 Jun;164(11):357-60.

Budtz-Jorgensen E. The Significance of *Candida Albicans* in Denture Stomatitis. *Scand J Dent Res*. 1974 82(2):151-90.

Budtz-Jorgensen E. Etiology, Pathogenesis, Therapy, and Prophylaxis of Oral Yeast Infections. *Acta Odontol Scand*. 1990 Feb;48(1):61-9.

Budtz-Jorgensen E, Bertram U. Denture Stomatitis. I. The Etiology in Relation to Trauma and Infection. *Acta Odontol Scand*. 1970 Mar;28(1):71-92.

Bueno MG, Lima JFM, Sousa EJB, Soares S, Urban VM, Neppelenbroek KH, editors. Hardness of Temporary Liners Modified by Antimicrobial Mics for *C.Albicans*. In: IADR 90th General Session; 2012; Foz do Iguaçu, PR [anais eletrônicos]. Bauru: USP; 2012 [acesso em 2013 jun 28].

Bueno MG, Urban VM, Barberio 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 diseases*. 2015 Jan;21(1):57-65.

Canay S, Hersek N, Tulunoglu I, Uzun G. Evaluation of Colour and Hardness Changes of Soft Lining Materials in Food Colorant Solutions. *J Oral Rehabil*. 1999 Oct;26(10):821-9.

Carter GM, Kerr MA, Shepherd MG. The Rational Management of Oral Candidosis Associated with Dentures. *N Z Dent J*. 1986 Jul;82(369):81-4.

Chaves CA, Machado AL, Carlos IZ, Giampaolo ET, Pavarina AC, Vergani CE. Cytotoxicity of Monomers, Plasticizer and Degradation by-Products Released from Dental Hard Chairside Reline Resins. *Dent Mater*. 2010 Oct;26(10):1017-23.

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 2012 Sep-Oct;13(5):695-8.

Chow CK, Matear DW, Lawrence HP. Efficacy of Antifungal Agents in Tissue Conditioners in Treating Candidiasis. *Gerodontology*. 1999 Dec;16(2):110-8.

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 Oct;23(5):377-83.

Coelho CM, Sousa YT, Dare AM. Denture-Related Oral Mucosal Lesions in a Brazilian School of Dentistry. *J Oral Rehabil*. 2004 Feb;31(2):135-9.

Colombo AL, Nucci M, Salomao R, Branchini ML, Richtmann R, Derossi A, et al. High Rate of Non-Albicans Candidemia in Brazilian Tertiary Care Hospitals. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 1999 Aug;34(4):281-6.

Compagnoni MA, Barbosa DB, de Souza RF, Pero AC. The Effect of Polymerization Cycles on Porosity of Microwave-Processed Denture Base Resin. *J Prosthet Dent*. 2004 Mar;91(3):281-5.

Costa SF, Marinho I, Araujo EA, Manrique AE, Medeiros EA, Levin AS. Nosocomial Fungaemia: A 2-Year Prospective Study. *J Hosp Infect*. 2000 May;45(1):69-72.

Dahiya MC, Redding SW, Dahiya RS, Eng TY, Kirkpatrick WR, Coco BJ, et al. Oropharyngeal Candidiasis Caused by Non-Albicans Yeast in Patients Receiving External Beam Radiotherapy for Head-and-Neck Cancer. *International journal of radiation oncology, biology, physics*. 2003 Sep 1;57(1):79-83.

Davenport J. The Denture Surface. *British dental journal*. 1972 133(3):101.

Davenport JC. The Oral Distribution of *Candida* in Denture Stomatitis. *Br Dent J*. 1970 Aug 18;129(4):151-6.

DE ANDRADE LIMA CHAVES C, DE SOUZA COSTA CA, VERGANI CE, CHAVES DE SOUZA PP, MACHADO AL. Effects of soft denture liners on L929 fibroblasts, HaCaT keratinocytes, and RAW 264.7 macrophages. *Biomed Res Int*. 2014;2014:840613. doi: 10.1155/2014/840613. Epub 2014 Sep 11

Dimopoulos G, Karabinis A, Samonis G, Falagas ME. Candidemia in Immunocompromised and Immunocompetent Critically Ill Patients: A Prospective Comparative Study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2007 Jun;26(6):377-84.

Dinckal Yanikoglu N, Yesil Duymus Z. Comparative Study of Water Sorption and Solubility of Soft Lining Materials in the Different Solutions. Dent Mater J. 2004 Jun;23(2):233-9.

Dinçkal Yanikoglu N, Yeşil Duymuş Z. Comparative Study of Water Sorption and Solubility of Soft Lining Materials in the Different Solutions. Dent Mater J. 2004 Jun;23(2):233-9.

Dorocka-Bobkowska B, Zozulinska-Ziolkiewicz D, Wierusz-Wysocka B, Hedzelek W, Szumala-Kakol A, Budtz-Jorgensen E. Candida-Associated Denture Stomatitis in Type 2 Diabetes Mellitus. Diabetes Res Clin Pract. 2010 Oct;90(1):81-6.

Douglas WH, Walker DM. Nystatin in Denture Liners--an Alternative Treatment of Denture Stomatitis. Br Dent J. 1973 Jul 17;135(2):55-9.

El-Hadary A, Drummond JL. Comparative Study of Water Sorption, Solubility, and Tensile Bond Strength of Two Soft Lining Materials. J Prosthet Dent. 2000 Mar;83(3):356-61.

Elsemann RB, Cosme DC, Souto AA, da Silva DF, de Mello JS, Shinkai RS. Degradation of Tissue Conditioners in Complete Dentures: An in Situ Study. Int J Prosthodont. 2008 Nov-Dec;21(6):486-8.

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. Dental research journal. 2010 7(1):18.

Farrell DJ. Tissue Conditioning and Tissue Conditioners. Dent Clin North Am. 1975 Apr;19(2):255-68.

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 Jun;34(6):448-55.

Frangou J, Kanellaki M. The Effect of Local Application of Mitomycin-C on the Development of Capsule around Silicone Implants in the Breast: An Experimental Study in Mice. Aesthetic Plast Surg. 2001 Mar-Apr;25(2):118-28.

Ganzarolli SM, de Mello JA, Shinkai RS, Del Bel Cury AA. Internal Adaptation and Some Physical Properties of Methacrylate-Based Denture Base Resins Polymerized

by Different Techniques. Journal of biomedical materials research Part B, Applied biomaterials. 2007 Jul;82(1):169-73.

Gedik H, Ozkan YK. The Effect of Surface Roughness of Silicone-Based Resilient Liner Materials on the Adherence of Candida Albicans and Inhibition of Candida Albicans with Different Disinfectants. Oral Health Prev Dent. 2009 7(4):347-53.

Geerts GA, 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 Sep;35(9):664-9.

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

Gettleman L, Nathanson D, Myerson RL. Effect of Rapid Curing Procedures on Polymer Implant Materials. J Prosthet Dent. 1977 Jan;37(1):74-82.

Goll G, Smith DE, Plein JB. The Effect of Denture Cleansers on Temporary Soft Liners. J Prosthet Dent. 1983 Oct;50(4):466-72.

Graham BS, Jones DW, Sutow EJ. Clinical Implications of Resilient Denture Lining Material Research. Part II: Gelation and Flow Properties of Tissue Conditioners. J Prosthet Dent. 1991 Mar;65(3):413-8.

Harrison A, Basker RM, Smith IS. The Compatibility of Temporary Soft Materials with Immersion Denture Cleansers. Int J Prosthodont. 1989 May-Jun;2(3):254-8.

Hennessey T. Some Antibacterial Properties of Chlorhexidine. Journal of Periodontal Research. 1973 8(s12):61-7.

Hermann C, Mesquita MF, Consani RL, Henriques GE. The Effect of Aging by Thermal Cycling and Mechanical Brushing on Resilient Denture Liner Hardness and Roughness. J Prosthodont. 2008 Jun;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. 2008 Mar;27(2):153-8.

Hong G, Maeda T, Murata H, Sasaki K. The Dynamic Viscoelasticity and Plasticizer Leachability of Tissue Conditioners. Gerodontology. 2012a Dec;29(4):284-91.

Hong G, Tsuka H, Maeda T, Akagawa Y, Sasaki K. The Dynamic Viscoelasticity and Water Absorption Characteristics of Soft Acrylic Resin Materials Containing Adipates and a Maleate Plasticizer. *Dent Mater J*. 2012b Feb;31(1):139-49.

Iacopino AM, Wathen WF. Oral Candidal Infection and Denture Stomatitis: A Comprehensive Review. *J Am Dent Assoc*. 1992 Jan;123(1):46-51.

Iqbal Z, Zafar MS. Role of Antifungal Medicaments Added to Tissue Conditioners: A Systematic Review. *J Prosthodont Res*. 2016 Apr 13;

ISO. Dentistry: Denture Base Polymers. Iso 1567: 1998. Switzerland 1998.

Jepson NJ, McCabe JF, Storer R. Age Changes in the Viscoelasticity of a Temporary Soft Lining Material. *J Dent*. 1993 Aug;21(4):244-7.

Jones DW, Sutow EJ, Hall GC, Tobin WM, Graham BS. Dental Soft Polymers: Plasticizer Composite and Leachability. *Dent Mater*. 1988 Feb;4(1):1-7.

Kalachandra S, Turner DT. Water Sorption of Plasticized Denture Acrylic Lining Materials. *Dent Mater*. 1989 May;5(3):161-4.

Kawano F, Dootz ER, Koran A, Craig RG. Sorption and Solubility of 12 Soft Denture Liners. *J Prosthet Dent*. 1994 Oct;72(4):393-8.

Kazanji MN, Watkinson AC. Soft Lining Materials: Their Absorption of, and Solubility in, Artificial Saliva. *Br Dent J*. 1988 Aug;165(3):91-4.

Kulak-Ozkan Y, Sertgoz A, Gedik H. Effect of Thermocycling on Tensile Bond Strength of Six Silicone-Based, Resilient Denture Liners. *J Prosthet Dent*. 2003 Mar;89(3):303-10.

Lai CP, Tsai MH, Chen M, Chang HS, Tay HH. Morphology and Properties of Denture Acrylic Resins Cured by Microwave Energy and Conventional Water Bath. *Dent Mater*. 2004 Feb;20(2):133-41.

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 : official journal of the Multinational Association of Supportive Care in Cancer*. 2010 Aug;18(8):985-92.

Leite VM, Pisani MX, Paranhos HF, Souza RF, Silva-Lovato CH. Effect of Ageing and Immersion in Different Beverages on Properties of Denture Lining Materials. J Appl Oral Sci. 2010 Jul-Aug;18(4):372-8.

Lima JF, Maciel JG, Arrais CA, 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 May;115(5):611-6.

Lombardi T, Budtz-Jorgensen E. Treatment of Denture-Induced Stomatitis: A Review. Eur J Prosthodont Restor Dent. 1993 Sep;2(1):17-22.

Machado AL, Giampaolo ET, Vergani CE, Souza JF, 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 Oct;19(5):521-8.

Mancuso DN, Goiato MC, Zuccolotti BC, Moreno A, dos Santos DM. Evaluation of Hardness and Colour Change of Soft Liners after Accelerated Ageing. Prim Dent Care. 2009 Jul;16(3):127-30.

Marín Zuluaga DJ, Gomez Velandia OC, Rueda Clauijo DM. Denture-Related Stomatitis Managed with Tissue Conditioner and Hard Autopolymerising Reline Material. Gerodontology. 2011 Dec;28(4):258-63.

Marín Zuluaga DJ, Gomez Velandia OC, Rueda Clauijo DM. Denture-Related Stomatitis Managed with Tissue Conditioner and Hard Autopolymerising Reline Material. Gerodontology. 2011 Dec;28(4):258-63.

Mark Saltzman W, Sheppard NF, McHugh MA, Dause RB, Alan Pratt J, Dodrill AM. Controlled Antibody Release from a Matrix of Poly(Ethylene-Co-Vinyl Acetate) Fractionated with a Supercritical Fluid. Journal of Applied Polymer Science. 1993 48(8):1493-500.

Martori E, Ayuso-Montero R, Martinez-Gomis J, Vinas M, Peraire M. Risk Factors for Denture-Related Oral Mucosal Lesions in a Geriatric Population. J Prosthet Dent. 2014 Apr;111(4):273-9.

Mathaba L, Davies G, Warmington J. The Genotypic Relationship of Candida Albicans Strains Isolated from the Oral Cavity of Patients with Denture Stomatitis. Journal of medical microbiology. 1995 42(5):372-9.

Matsuura T, Abe Y, Sato Y, Okamoto K, Ueshige M, Akagawa Y. Prolonged Antimicrobial Effect of Tissue Conditioners Containing Silver-Zeolite. J Dent. 1997 Sep;25(5):373-7.

McMullan-Vogel CG, Jude 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 Jun;14(3):183-9.

Miettinen VM, Vallittu PK, Docent DT. Water Sorption and Solubility of Glass Fiber-Reinforced Denture Polymethyl Methacrylate Resin. J Prosthet Dent. 1997 May;77(5):531-4.

Milton Rocha Gusmao J, Pereira RP. Treatment Protocol for Denture Stomatitis, Prior to Anatomical Molding. Gerodontology. 2013 Sep;30(3):232-5.

Mima EG, Vergani CE, Machado AL, Massucato EM, 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 Oct;18(10):E380-8.

Monzavi A, Siadat H, Atai M, Alikhasi M, Nazari V, Sheikhzadeh S. Comparative Evaluation of Physical Properties of Four Tissue Conditioners Relined to Modeling Plastic Material. J Dent (Tehran). 2013 Nov;10(6):506-15.

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 Aug;29(4):446-53.

Murata H, Kawamura M, Hamada T, Saleh S, Kresnadi U, Toki K. Dimensional Stability and Weight Changes of Tissue Conditioners. J Oral Rehabil. 2001 Oct;28(10):918-23.

Neppelenbroek KH, Bueno MG, Sousa EJB, Hotta J, Soares S, Urban VM, editors. Incorporation of fungal MICs on Roughness of Denture Liners. In: IADR 90th General Session; 2012; Foz do Iguaçu, PR: [anais eletrônicos]. Bauru: USP; 2012 [acesso em 2013 jun 28].

Neppelenbroek KH, Galitesi LL, Bueno MG, Soares S, Freitas R, Oliveira PCG, et al., editors. Ultimate Tensile Strength of Temporary Liners after Addition of Antimicrobials. In: Sixth International Association for Dental Research Pan-European

Region Meeting (IADR/PER); 2012b; Helsinki, HEL [anais eletrônicos]. Bauru: USP; 2012b [acesso em 2013 jun 28]

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 Nov;35(11):836-46.

Newton A. 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. The Journal of Prosthetic Dentistry. 1994 72(6):657-62.

Novais PM, Giampaolo ET, Vergani CE, Machado AL, Pavarina AC, Jorge JH. The Occurrence of Porosity in Reline Acrylic Resins. Effect of Microwave Disinfection. Gerodontology. 2009 Mar;26(1):65-71.

Oguz S, Mutluay MM, Dogan OM, Bek B. Effect of Thermocycling on Tensile Strength and Tear Resistance of Four Soft Denture Liners. Dent Mater J. 2007 Mar;26(2):296-302.

Parker S, Braden M. Water Absorption of Methacrylate Soft Lining Materials. Biomaterials. 1989 Mar;10(2):91-5.

Parker S, Martin D, Braden M. Soft Acrylic Resin Materials Containing a Polymerisable Plasticiser II: Water Absorption Characteristics. Biomaterials. 1999 Jan;20(1):55-60.

Parr GR, Rueggeberg FA. Physical-Property Comparison of a Chairside- or Laboratory-Polymerized Permanent Soft-Liner During 1 Year. J Prosthodont. 1999 Jun;8(2):92-9.

Parr GR, Rueggeberg FA. In Vitro Hardness, Water Sorption, and Resin Solubility of Laboratory-Processed and Autopolymerized Long-Term Resilient Denture Liners over One Year of Water Storage. J Prosthet Dent. 2002 Aug;88(2):139-44.

Pavan S, Arioli Filho JN, Dos Santos PH, Nogueira SS, Batista AU. Effect of Disinfection Treatments on the Hardness of Soft Denture Liner Materials. J Prosthodont. 2007 2007 Mar-Apr;16(2):101-6.

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 Mar-Apr;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. J Prosthet Dent. 2005 Mar;93(3):288-93.

Pero AC, Barbosa DB, Marra J, Ruvolo-Filho AC, Compagnoni MA. Influence of Microwave Polymerization Method and Thickness on Porosity of Acrylic Resin. J Prosthodont. 2008 Feb;17(2):125-9.

Pero AC, Marra J, Paleari AG, de Souza RF, Ruvolo-Filho A, Compagnoni MA. Reliability of a Method for Evaluating Porosity in Denture Base Resins. Gerodontology. 2011 Jun;28(2):127-33.

Pires FR, Santos EB, Bonan PR, De Almeida OP, Lopes MA. Denture Stomatitis and Salivary Candida in Brazilian Edentulous Patients. J Oral Rehabil. 2002 Nov;29(11):1115-9.

Pisani MX, Bruhn JP, Paranhos HF, Silva-Lovato CH, de Souza RF, Panzeri H. Evaluation of the Abrasiveness of Dentifrices for Complete Dentures. J Prosthodont. 2010 Jul;19(5):369-73.

Pisani MX, Silva-Lovato CH, Malheiros-Segundo Ade L, Macedo AP, Paranhos HF. Bond Strength and Degree of Infiltration between Acrylic Resin Denture Liner after Immersion in Effervescent Denture Cleanser. J Prosthodont. 2009 Feb;18(2):123-9.

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 Jun;30(2):150-6.

Puri G, Berzins DW, Dhuru VB, Raj PA, Rambhia SK, Dhir G, et al. Effect of Phosphate Group Addition on the Properties of Denture Base Resins. J Prosthet Dent. 2008 Oct;100(4):302-8.

Quinn DM. The Effectiveness, in Vitro, of Miconazole and Ketoconazole Combined with Tissue Conditioners in Inhibiting the Growth of Candida Albicans. J Oral Rehabil. 1985 Mar;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. Crit Rev Oral Biol Med. 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, Tomsett K, Wickes BL, Lopez-Ribot JL, Redding SW. Denture Stomatitis: A Role for Candida Biofilms. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2004 Jul;98(1):53-9.

Redding S, Bhatt B, Rawls HR, Siegel G, Scott K, Lopez-Ribot J. Inhibition of Candida Albicans Biofilm Formation on Denture Material. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2009 May;107(5):669-72.

Ritchie GM, Fletcher AM, Main DM, Prophet AS. The Etiology, Exfoliative Cytology, and Treatment of Denture Stomatitis. J Prosthet Dent. 1969 Aug;22(2):185-200.

Rizzatti-Barbosa CM, Ribeiro-Dasilva MC. Influence of Double Flask Investing and Microwave Heating on the Superficial Porosity, Surface Roughness, and Knoop Hardness of Acrylic Resin. J Prosthodont. 2009 Aug;18(6):503-6.

Rogers TR. Antifungal Drug Resistance: Does It Matter? International journal of infectious diseases. 2002 6(S47-S53).

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.

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 2013 jun 28].

Sanita PV, Pavarina AC, Giampaolo ET, Silva MM, Mima EG, Ribeiro DG, et al. Candida Spp. Prevalence in Well Controlled Type 2 Diabetic Patients with Denture Stomatitis. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2011 Jun;111(6):726-33.

Santarpia RP, Pollock JJ, Renner RP, Spiechowicz E. An in Vivo Replica Method for the Site-Specific Detection of Candida Albicans on the Denture Surface in Denture Stomatitis Patients: Correlation with Clinical Disease. J Prosthet Dent. 1990 Apr;63(4):437-43.

Sarac AS, Gencturk A, Schulz B, Gilsing HD, Serantoni M. Nanoscale Surface Morphology and Monomer Concentration Dependence on Impedance of Electrocoated 2,2-Dimethyl-3,4-Propylene-Dioxythiophene on Carbon Fiber Microelectrode. J Nanosci Nanotechnol. 2007 Oct;7(10):3543-52.

Schmitz HH, Smith MC. Information Management Systems. Topics in health record management. 1988 Dec;9(2):1-9.

Schneid TR. An in Vitro Analysis of a Sustained Release System for the Treatment of Denture Stomatitis. Spec Care Dentist. 1992 Nov-Dec;12(6):245-50.

Shylesh KB, Hallikerimath RB, Rajeev VV, Ganesh S, Meenakshi S. Evaluation of Physical Properties of Tissue Conditioning Materials as Used in Functional Impression - a Lab Study. J Int Oral Health. 2013 Jun;5(3):20-7.

Singh K, Chand P, Singh BP, Patel CB. Study of the Effect of Surface Treatment on the Long Term Effectiveness of Tissue Conditioner. J Oral Sci. 2010 Jun;52(2):261-5.

Skupien JA, Valentini F, Boscato N, Pereira-Cenci T. Prevention and Treatment of Candida Colonization on Denture Liners: A Systematic Review. J Prosthet Dent. 2013 Aug;

Spiechowicz E, Santarpia RP, Pollock JJ, Renner RP. In Vitro Study on the Inhibiting Effect of Different Agents on the Growth of Candida Albicans on Acrylic Resin Surfaces. Quintessence Int. 1990 Jan;21(1):35-40.

Srivastava A, Ginjupalli K, Perampalli NU, Bhat N, Ballal M. Evaluation of the Properties of a Tissue Conditioner Containing Origanum Oil as an Antifungal Additive. J Prosthet Dent. 2013 Oct;110(4):313-9.

Thomas CJ, Nutt GM. The in Vitro Fungicidal Properties of Visco-Gel, Alone and Combined with Nystatin and Amphotericin B. J Oral Rehabil. 1978 Apr;5(2):167-72.

Torres SR, Peixoto CB, Caldas DM, Silva EB, Akiti T, Nucci M, et al. Relationship between Salivary Flow Rates and Candida Counts in Subjects with Xerostomia. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2002 Feb;93(2):149-54.

Truhlar MR, Shay K, Sohnle P. Use of a New Assay Technique for Quantification of Antifungal Activity of Nystatin Incorporated in Denture Liners. *The Journal of Prosthetic Dentistry*. 1994 71(5):517-24.

Ueshige M, Abe Y, Sato Y, Tsuga K, Akagawa Y, Ishii M. Dynamic Viscoelastic Properties of Antimicrobial Tissue Conditioners Containing Silver-Zeolite. *J Dent*. 1999 Sep;27(7):517-22.

Urban VM, de Souza RF, Arrais CA, Borsato KT, Vaz LG. Effect of the Association of Nystatin with a Tissue Conditioner on Its Ultimate Tensile Strength. *J Prosthodont*. 2006 Sep-Oct;15(5):295-9.

Urban VM, Lima TF, Bueno MG, Giannini M, Arioli Filho JN, de Almeida AL, et al. Effect of the Addition of Antimicrobial Agents on Shore a Hardness and Roughness of Soft Lining Materials. *J Prosthodont*. 2015 Apr;24(3):207-14.

Urban VM, Seo RS, Giannini M, Arrais CA. Superficial Distribution and Identification of Antifungal/Antimicrobial Agents on a Modified Tissue Conditioner by Sem-Eds Microanalysis: A Preliminary Study. *J Prosthodont*. 2009 Oct;18(7):603-10.

Vanden Abbeele A, de Meel H, Ahariz M, Perraudin JP, Beyer I, Courtois P. Denture Contamination by Yeasts in the Elderly. *Gerodontology*. 2008 Dec;25(4):222-8.

Waters MG, Jagger RG. Mechanical Properties of an Experimental Denture Soft Lining Material. *J Dent*. 1999 Mar;27(3):197-202.

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 Feb;43(1):45-50.

Wolfaardt JF, Cleaton-Jones P, Fatti P. The Occurrence of Porosity in a Heat-Cured Poly (Methyl Methacrylate) Denture Base Resin. *J Prosthet Dent*. 1986 Mar;55(3):393-400.

Wright PS. Composition and Properties of Soft Lining Materials for Acrylic Dentures. *J Dent*. 1981 Sep;9(3):210-23.

Yang TC, Cheng KC, Huang CC, Lee BS. Development of New Tissue Conditioner Using Acetyl Tributyl Citrate and Novel Hyperbranched Polyester to Improve Viscoelastic Stability. *Dent Mater*. 2015 Jun;31(6):695-701.

Yannikakis S, Zissis A, Polyzois G, Andreopoulos A. Evaluation of Porosity in Microwave-Processed Acrylic Resin Using a Photographic Method. J Prosthet Dent. 2002 Jun;87(6):613-9.

Yarborough A, Cooper L, Duqum I, Mendonca G, McGraw K, Stoner L. Evidence Regarding the Treatment of Denture Stomatitis. J Prosthodont. 2016 Jun;25(4):288-301.

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 Nov-Dec;35(10):826-34.