**Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto
Departamento de Materiais Dentários e Prótese**

MAURÍCIO MALHEIROS BADARÓ

**AVALIAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL DE UMA SOLUÇÃO
EXPERIMENTAL À BASE DE *RICINUS COMMUNIS* EM
COMPARAÇÃO AO HIPOCLORITO DE SÓDIO PARA HIGIENE DE
PRÓTESES TOTAIS**

Ribeirão Preto

2013

MAURÍCIO MALHEIROS BADARÓ

**AVALIAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL DE UMA SOLUÇÃO
EXPERIMENTAL À BASE DE *RICINUS COMMUNIS* EM
COMPARAÇÃO AO HIPOCLORITO DE SÓDIO PARA HIGIENE DE
PRÓTESES TOTAIS**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre, junto ao Departamento de Materiais Dentários e Prótese.

Área de Concentração: Reabilitação Oral

Orientadora: Profa. Dra. Cláudia Helena Lovato da Silva.

VERSÃO CORRIGIDA

Ribeirão Preto

2013

AUTORIZO REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTES TRABALHOS, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pela Biblioteca Central do *Campus* USP – Ribeirão Preto

Badaró, Maurício Malheiros

Avaliação clínica e laboratorial de uma solução experimental à base de *Ricinus communis* em comparação ao hipoclorito de sódio para higiene de próteses totais. Ribeirão Preto, 2013.

140p. : il.; 30 cm

Versão corrigida da Dissertação/Tese. A versão original se encontra disponível na Unidade que aloja o Programa.

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Reabilitação Oral.

Orientadora: Silva-Lovato, Cláudia Helena

1. Biofilme. 2. Higienizadores de dentadura. 3. Prótese total. 4. Candidíase 5. Propriedade de superfície.

FOLHA DE APROVAÇÃO

MAURÍCIO MALHEIROS BADARÓ

Avaliação clínica e laboratorial de uma solução experimental à base de *Ricinus communis* em comparação ao hipoclorito de sódio para higiene de próteses totais.

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de
Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para a obtenção
do título de Mestre.

Área de Concentração: Reabilitação Oral

Data da defesa: ____/____/ 2013

Banca Examinadora

Prof.(a) Dr.(a) _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof.(a) Dr.(a) _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof.(a) Dr.(a) _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Dedicatória

À Deus e Nossa Senhora, por permitir realizar meus sonhos sempre me protegendo, guiando, dando força e me iluminando.

Aos meus pais, Júlia e Geraldo, minha fonte de amor constante, infinito apoio, estímulo, carinho e compreensão. Vocês fazem parte dessa conquista e reafirmo meu amor eterno!

Aos meus familiares Tia Alice, Juliatti, Tia Lolo e Tio Fialho pela força e torcida por cada momento da minha vida, dedico mais uma vitória a vocês.

À todos que colaboraram para tornar possível a realização desse trabalho.

Agradecimento Especial

À Profª Drª Cláudia Helena da Silva Lovato, minha orientadora ímpar, para a qual só tenho elogios e será tida sempre como referência de ser humano e profissional que levarei por toda vida. Minha imensa gratidão pelos ensinamentos, oportunidades, compreensão, paciência, amizade e dedicação.

Agradecimentos

À Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, por ter me acolhido, permitido e contribuído para minha formação e aprendizado.

À FAPESP (Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo), pela concessão da bolsa, auxílio e principalmente confiança na elaboração deste trabalho (nº do processo: 2012/08292-8).

*À coordenadora da Pós-Graduação na área de Reabilitação Oral, **Profa. Dra. Fernanda de Carvalho Panzeri Pires de Souza**, pela ajuda sempre que precisei.*

*À **Profª Drª Helena de Freitas Oliveira Paranhos**, pelas oportunidades, confiança, ensinamentos e suporte. Minha admiração está sempre em constante ascensão!*

*Ao **Prof. Dr. Raphael Freitas de Souza**, pelas oportunidades, confiança, ensinamentos e suporte. Corinthiano nota 1000!!!*

*Ao **Prof. Dr. Gilberto Orivaldo Chierice** (Instituto de Química de São Carlos) pelo fornecimento da solução de “*Ricinus communis*” para elaboração do trabalho e por sempre nos receber bem em seu departamento.*

*Aos **Professores do Departamento de Materiais Dentários e Prótese**, da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, pela contribuição e ajuda para minha formação como mestre.*

Às Funcionárias Regiane de C. Tirado Damasceno, Ana Paula Xavier e Fernanda Talita de Freitas, Ana Paula Macedo pela disponibilidade, informações e ajuda ao longo do curso.

À todos os colegas da Pós-Graduação, pela amizade, companheirismo, troca de experiências e brincadeiras.

À galerinha do laboratório, parceiros e amigos, Carolina N. F. Arruda, Tatiana R. Cunha, Maria Paula Della Vecchia, Adriana B. Ribeiro, Marina Vomero, Marcella Moreira Salles, Marina Pisani, Nathália Ramos, Vanessa M. F. Leite, Juliana B. Pinheiro, Danilo B. Sorgini, Flávia C. T. Coimbra, Raniel Peixoto, Cláudia Macedo, Viviane de Cássia Oliveira e Daniela G. Ribeiro. Obrigado por cada momento, risada, conversa, ajuda, companhia,..., por tudo!!!! Não daria nada certo sem a convivência diária com vocês!!!

Aos meus braços direitos no desenvolvimento da pesquisa, Marcella Moreira Salles, Vanessa M. F. Leite, Carolina N. F. Arruda e Viviane de Cássia Oliveira, minha imensa gratidão no empenho, ajuda, motivação, força de vontade, amizade e carinho em todas as etapas do trabalho.

À todos os pacientes que participaram da pesquisa, colaborando com cada etapa do trabalho e ao Hermano, pela ajuda e ensinamento de como tirar as fotografias do trabalho.

Aos funcionários Seu Zé, Verinha e Karina, sempre muito prestativos, receptivos e amigos, muito obrigado, sem a ajuda de vocês seria mais difícil realizar esta pesquisa.

Aos alunos da graduação, turma LXXXV, por permitirem trabalhar com seus pacientes durante seus horários de clínica, e sempre que possível ajudarem quando precisei, obrigado!!!!

À Profa. Dra. Sueli da Silva Kataoka, da minha graduação, por ter me ajudado a construir toda minha base científica e continuar sendo minha referência profissional.

Aos Professores do Centrinho – HRAC/USP (José Fernando Scarelli Lopes, João Henrique N. Pinto, Mônica M. W. Lopes, Rosângela G. Cerigatto, Rafael Tavano, Simone Soares e Caio M. Figueiredo) e funcionários (Maria Emília Dáliaqua, Adriana R. C. Leite, Ivone Macedo, Elisa Maria da Silva, Rosângela, Maurício e Seu Hélio) por serem minha família no período em que estive em Bauru e pela ajuda, incentivo e ensinamentos, em especial para seguir minha vida acadêmica e prestar a prova do mestrado na FORP/USP.

Ao Profº Drº. Pedro C. Garcia de Oliveira – FOB/USP, obrigado pela orientação e incentivo ao término da especialização e para prestar a prova do mestrado.

Aos Amigos da residência em Prótese do HRAC/USP, em especial Leticia Arantes, Larissa Thaís e Eduardo Santos, obrigado pelo incentivo quando prestei o mestrado, torcida, companhia e amizade.

Aos Amigos que sempre estiveram do meu lado em todos os momentos, torcendo, incentivando e comemorando minhas vitórias, especialmente na aprovação do mestrado na FORP/USP Fabíola Azevedo, Nádia Teixeira, Paula Karam, Priscilla Gonçalves, Rafael Tavano, Mônica G. Ribeiro, Roberta Domingues e Tânia Hashizume.

*Aos amigos Carla Moreno, Carlos Bassan, Eduardo Prudencio, Flávio Ginryu, Mário Junior
e Fernando Novais, valeu pela força!!!*

*À todos que colaboraram para realização desse trabalho e dos momentos vivenciados ao
longo do mestrado.*

Muito Obrigado!!!!

Resumo

BADARÓ, M.M. **Avaliação clínica e laboratorial de uma solução experimental à base de *Ricinus communis* em comparação ao hipoclorito de sódio para higiene de próteses totais.** Ribeirão Preto, 2013. 140p. Dissertação (Mestrado em Reabilitação Oral). Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

RESUMO

Este estudo clínico-laboratorial avaliou uma solução à base de *Ricinus communis* para higiene de próteses totais, comparando-a ao hipoclorito de sódio, quanto à efetividade na remoção do biofilme, remissão de Candidíase Atrófica Crônica, grau de satisfação dos pacientes e rugosidade superficial da resina acrílica termopolimerizada. Sessenta e quatro usuários de próteses totais com ausência (n=40) ou presença de Candidíase (n=24) foram selecionados e orientados a escovar as próteses com escova específica e sabão neutro por 3 minutos, 3 vezes ao dia e imergi-las nas soluções de higiene (Hipoclorito de sódio 0,25% - S1; e 0,5% - S2; *R. communis* 10% - S3; Salina – S4: controle) durante 20 minutos, por 7 dias. As soluções foram utilizadas de forma cruzada e randomizada com períodos de “wash out”. Para quantificação do biofilme (*software ImageTool 3.0*), a superfície interna foi evidenciada (vermelho neutro 1%) e fotografada ao final de cada período. A remissão da Candidíase foi avaliada por atribuição de escores antes e após o uso das soluções. A satisfação dos pacientes foi analisada por questionário. A rugosidade da superfície polida e não polida de 40 espécimes (90x30x4mm) de resina foi avaliada antes e após a exposição dos mesmos ao protocolo clínico de higiene por meio de rugosímetro e Microscopia Eletrônica de Varredura. A remoção do biofilme foi analisada como um “split-plot” com dois fatores de variação: presença de inflamação e soluções. A remissão da Candidíase foi analisada após ajuste dos dados por regressão logística multinomial. Para análise da satisfação dos pacientes os dados foram ajustados por regressões logísticas e foi adotada análise de simetria composta. Para avaliação da rugosidade das superfícies polida e não polida foi empregada análise de variância com dois fatores (período e solução). Todas as análises foram realizadas com nível de significância de 5%. Não houve diferença na porcentagem de biofilme entre pacientes com e sem inflamação (p=0,19), bem como na interação entre os fatores (p=0,85). Houve diferença entre soluções (p<0,0001), sendo que o Hipoclorito de sódio a 0,25 e 0,5% promoveu as menores médias de biofilme (4,41±7,98 e 2,93±5,23), seguido do *R. communis*(6,95±10,93) e Salina (11,07±11,99). Para remissão da Candidíase, as soluções mais eficientes foram *R. communis*(50%) e Hipoclorito de sódio 0,25% (46%). O questionário de satisfação não

indicou diferença entre as soluções. A rugosidade da superfície polida não foi alterada pelo período ($p=0,062$). Houve alteração em função das soluções ($p=0,00$) e da interação entre os fatores ($p=0,005$). Para S1 e S4, o período não influenciou na rugosidade. Para S2, houve alteração a partir de 07 dias, permanecendo estável após 14 dias. Para S3, houve alteração e estabilização a partir de 14 dias. Após 07 e 14 dias, S2 e S3 promoveram as maiores alterações, porém após 21 dias, não houve diferença entre as soluções, exceto a salina. A superfície não polida não foi influenciada pelos fatores período ($p=0,358$), solução ($p=0,120$) e interação ($p=0,204$). Concluiu-se que há viabilidade do uso do hipoclorito de sódio em menores concentrações e do *Ricinus communis* para remoção do biofilme, remissão da Candidíase e controle da rugosidade superficial.

Palavras-chave: 1. Biofilme. 2. Higienizadores de dentadura. 3. Prótese total. 4. Candidíase. 5. Propriedade de superfície.

Abstract

BADARÓ, M.M. **Clinical and laboratorial evaluation of an experimental solution based on *Ricinus communis* compared to sodium hypochlorite for denture cleansing.** Ribeirão Preto, 2013. 140p. Dissertation (Master's Degree in Oral Rehabilitation). Ribeirão Preto School of Dentistry, University of São Paulo, Brazil.

ABSTRACT

This clinical-laboratory study evaluated a solution based on *Ricinus communis* for denture cleansing, comparing it to sodium hypochlorite, regarding biofilm removal capacity, remission of atrophic chronic candidiasis, degree of patient satisfaction and surface roughness of heat-polymerized acrylic resin. Sixty-four denture wearers with absence ($n = 40$) or presence of Candidiasis ($n = 24$) were selected and oriented on how to brush their dentures with a specific brush and mild soap for 3 minutes, 3 times a day and immerse them in hygiene solutions (0.25% sodium Hypochlorite - S1 and 0.5% - S2, *R. communis* 10% - S3; Saline - S4: control) for 20 minutes. The solutions were used in a randomized and cross form with "washout" periods. To quantify biofilm (software ImageTool 3.0), the inner surface was disclosed (1% neutral red) and photographed at the end of each period. The remission of Candidiasis was assessed by assigning scores before and after using solutions. Patient satisfaction was assessed by questionnaire. The surface roughness of 40 polished and unpolished resin specimens (90x30x4mm) was evaluated before and after their exposure to clinical protocol hygiene by rugosimeter and scanning electron microscopy. The biofilm removal was analyzed as a "split-plot" with two variation factors: inflammation and solutions. The candidiasis remission was analyzed after adjustment using multinomial logistic regression. For patient satisfaction logistic regression analysis was adopted and compound symmetry. For evaluation of surface roughness polished and unpolished was employed analysis of variance with two factors (time and solution). All the analysis were performed with a significance level of 5 %. There was no difference in the percentage of biofilm between patients with and without inflammation ($p=0.19$), as well as the interaction between the factors ($p=0.85$). There were differences among the solutions ($p<0.0001$), having the Sodium Hypochlorite 0.25 % and 0.5% promoted the lowest average biofilm (4.41 ± 7.98 and 2.93 ± 5.23), followed by *R. communis* (6.95 ± 10.93) and Saline (11.07 ± 11.99) . For the remission of candidiasis, the most efficient solutions were *R. communis* (50%) and 0.25% sodium hypochlorite (46%). The satisfaction questionnaire indicated no difference among the solutions. The roughness of the polished surface was not affected by time ($p = 0.062$). There

was a change in function of the solutions ($p = 0.00$) and the interaction between factors ($p = 0.005$). For S1 and S4, the period did not influence the roughness. For S2, there was a change from 07 days, remaining stable after 14 days. For S3, there were changes and stabilization from 14 days. After 7 and 14 days, S2 and S3 promoted major changes, but after 21 days, there were no difference among the solutions except the saline. The unpolished surface is not influenced by factors: period ($p = 0.358$), solution ($p = 0.120$) and interaction ($p = 0.204$). It was concluded that there is feasibility for using sodium hypochlorite at lower concentrations and *Ricinus communis* for the removal of biofilm, remission of candidiasis and control of surface roughness.

Keywords: 1. Biofilm. 2. Denture cleansers. 3. Complete denture. 4. Candidiasis. 5. Surface Properties.

Sumário

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO	22
2. REVISÃO DA LITERATURA	27
2.1 Estudos clínicos	28
2.2 Estudos Laboratoriais	42
3. PROPOSIÇÃO	54
4. MATERIAL E MÉTODOS	56
4.1 Análise Clínica.....	57
4.1.1 Delineamento do Estudo Clínico	57
4.1.2 Seleção dos Pacientes	58
4.1.3 Obtenção do <i>Baseline</i> e Eliminação Total do Biofilme.....	59
4.1.4 Intervenções – Métodos de Higienização	62
4.1.5 Controle dos Vieses	64
4.1.6 Método de Quantificação do Biofilme.....	66
4.1.6.1 Evidenciação do Biofilme	66
4.1.6.2 Fotografia das Próteses	66
4.1.6.3 Quantificação Propriamente Dita	67
4.1.7 Influência na Remissão da Candidíase Atrófica Crônica	68
4.1.8 Avaliação das Soluções pelos Pacientes	69
4.2 Análise Laboratorial	70
4.2.1 Delineamento do Estudo Laboratorial	70
4.2.2 Confecção dos Corpos de Prova	70
4.2.3 Acabamento e Polimento dos corpos de prova.....	73
4.2.4 Leitura da Rugosidade Inicial – Análise Quantitativa	74
4.2.5 Formação dos Grupos	75
4.2.6 Escovação e Imersão dos Corpos de Prova	76
4.2.7 Avaliação da rugosidade superficial final.....	77

4.2.8 Avaliação da Rugosidade Superficial por Microscopia Eletrônica de Varredura – Análise Qualitativa.	77
4.3 Análise dos dados	80
5. RESULTADOS	82
5.1 Análise Clínica.....	83
5.1.1 Capacidade de Remoção do Biofilme.....	84
5.1.2 Influência na Remissão da Candidíase Atrófica Crônica	91
5.1.3 Avaliação das Soluções pelos Pacientes	96
5.2 Análise laboratorial	100
6. DISCUSSÃO	113
7. CONCLUSÕES.....	123
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	125
APÊNDICES	134
ANEXOS	138

1. Introdução

Uma reabilitação oral adequada com próteses totais envolve tanto as etapas laboratoriais e clínicas, como a necessidade do condicionamento positivo do paciente, no que se refere à assimilação de orientações e formação de hábitos permanentes quanto aos cuidados e higienização dos dispositivos protéticos e da própria cavidade bucal (manutenção regular e visitas periódicas ao dentista) (Shigli *et al.*, 2009; Peracini *et al.*, 2010; Takamiya *et al.*, 2011).

A higienização precária das próteses e cavidade bucal possibilita o acúmulo de detritos, biofilme, manchas e cálculo (Gornitsky *et al.*, 2002; Lima *et al.*, 2006; Andrade, 2011) com a aderência de microrganismos patogênicos como *Candida albicans* e bactérias orais.

O biofilme é uma densa camada microbiana, constituído por uma quantidade maior que 10^{11} microrganismos por grama, somado aos seus produtos metabólicos. A composição da microbiota do biofilme advindo de próteses totais assemelha-se aquela de origem dentária e diferencia-se apenas em relação ao aumento na quantidade de *Candida* spp., importante no desenvolvimento da Candidíase Atrófica Crônica (Nikawa; Hamada; Yamamoto, 1998), principal desordem bucal de portadores de próteses totais, caracterizada pela inflamação e eritema de áreas da mucosa recobertas pelos dispositivos protéticos, sendo frequentemente assintomáticos. Em alguns casos pode ocorrer dor, prurido e/ou queimação da região acometida. Primariamente, o diagnóstico pode ser realizado durante o exame clínico (Zissis *et al.*, 2000; Gendreau e Loewy, 2011).

Próteses totais mal higienizadas exercem a função de reservatórios de microrganismos patogênicos (*Streptococcus pneumoniae* e *Neisseria meningitidis*) que não estão normalmente associados com a microbiota oral, sendo dentre outros, responsáveis pelo desenvolvimento de doenças sistêmicas, como endocardite bacteriana, pneumonia por aspiração, infecção gastro intestinal e doença pulmonar obstrutiva crônica (Coulthwaite e Verran, 2007).

Yasui *et al.* (2012), demonstraram que o nível de higienização da cavidade bucal e das próteses totais utilizadas diminuiu a colonização por bactérias periodontopatogênicas, que foram detectadas em todas as áreas de amostragem (dorso da língua, mucosa bucal, palato duro e superfícies basal e dos dentes artificiais das próteses) dos pacientes edêntulos pesquisados. Portanto, verifica-se que quando instituído, os procedimentos de higiene propiciam considerável melhora e manutenção da saúde oral, reafirmando assim, sua grande importância na remoção e controle do biofilme (Tarbet, 1982; Barnabé *et al.*, 2004).

As superfícies de uma prótese total são caracterizadas por apresentar sua porção externa, em contato com lábios, bochechas e língua, minuciosamente polida, minimizando assim, o acúmulo do biofilme. Já sua porção voltada para a fibromucosa do palato e rebordo, não apresenta polimento, proporcionando uma maior adesão e retenção de biofilme. O valor de rugosidade superficial limítrofe para que haja menor aderência microbiana, segundo Zissis *et al.*, (2000) deve ser 0,2 μ m. Portanto, alterações nesta propriedade afetam diretamente o acúmulo de biofilme, saúde dos tecidos e dos pacientes. A rugosidade da resina acrílica pode sofrer alteração em função dos métodos de higiene utilizados rotineiramente pelo paciente (Nikawa *et al.*, 2003; Lima *et al.*, 2006; Paranhos *et al.*, 2009a; Pisani *et al.*, 2010).

Assim, fatores deletérios aos tecidos orais, sistêmicos e material de base da prótese, decorrentes de uma inadequada higienização, evidenciam a importância e necessidade de se estabelecer um eficiente protocolo de higiene com viabilidade clínica, reduzidos custos e de fácil manuseio (Sartori *et al.*, 2006).

Os procedimentos que são empregados visando à limpeza de próteses recaem sobre métodos mecânicos, químicos ou associação de ambos (Nikawa *et al.*, 1999; Shay, 2000). Nos mecânicos se enquadram a escovação (com água, sabão, dentifrícios ou abrasivos) e ultrassom, enquanto que nos químicos, a imersão em agentes químicos classificados a partir de seus componentes e mecanismo de ação, os quais podem ser hipocloritos, peróxidos, peróxidos neutros com enzimas, enzimas, álcoois, ácidos, drogas brutas e enxaguatórios bucais (Shay, 2000; Sheen e Harrison, 2000; Gornitsky *et al.*, 2002; Nikawa *et al.*, 2003; Andrade, 2011). Contudo, atualmente a literatura tem empregado também a radiação de micro-ondas como método de higiene e desinfecção das próteses (Shay, 2000).

Segundo a literatura, mesmo que a escovação seja o método mais difundido para higienização de próteses dentárias, quando realizada de maneira isolada, não promove suficientemente a remoção do biofilme, sendo recomendada sua associação com outros métodos, como o de imersão em soluções químicas, cujo objetivo é facilitar a higiene por pacientes idosos e/ou com destreza motora limitada (Gornitsky *et al.*, 2002; Lima *et al.*, 2006; Shigli, 2009; Paranhos *et al.*, 2009b), promovendo a eliminação dos microrganismos de forma geral.

O agente higienizador ideal destinado às próteses deve ser eficaz na remoção de depósitos orgânicos e inorgânicos, apresentar propriedades bactericidas e fungicidas durante a eliminação do biofilme e ainda, ser compatível com os materiais estruturais das próteses, não

tóxico para seus usuários, pouco dispendioso e de fácil manuseio (Sheen e Harrison, 2000; Silva-Lovato *et al.*, 2010).

Em se tratando dos higienizadores existentes, tradicionalmente o hipoclorito de sódio é o mais comumente utilizado (Barnabé *et al.*, 2004; Yilmaz *et al.*, 2005; Buergers *et al.*, 2008) por apresentar ação bactericida e fungicida (Nikawa *et al.*, 1999; Barnabé *et al.*, 2004; Paranhos *et al.*, 2009a). No entanto, esta solução apresenta algumas desvantagens como alteração de propriedades físicas e mecânicas da resina acrílica e efeitos corrosivos sobre os materiais metálicos de próteses parciais removíveis, que estão relacionadas às concentrações empregadas e modo de utilização (Buergers *et al.*, 2008; Pisani *et al.*, 2010). A literatura apresenta estudos laboratoriais que analisaram a alteração de cor e rugosidade de resina acrílica após a imersão em hipoclorito de sódio a 1% (Davi *et al.*, 2010; Pisani *et al.*, 2010; Fernandes; Orsi; Villabona, 2012; Pisani *et al.*, 2012a), 2% e 5,25% (Silva *et al.*, 2011) e encontraram alterações significativas em função dessas concentrações.

Portanto, para que a eleição de um agente químico higienizador para dispositivos protéticos seja adequada e eficiente, deve-se considerar a sua capacidade de remover ou inibir a formação do biofilme e ainda, sua compatibilidade com os materiais estruturais que compõem as próteses, evitando assim efeitos deletérios, haja vista que a longevidade de uma prótese está diretamente relacionada com as propriedades físicas da resina acrílica (Pavarina *et al.*, 2003; Neppelenbroek *et al.*, 2005).

Dessa forma, na constante busca pelo agente higienizador ideal, encontra-se na literatura pesquisas com novos materiais cuja finalidade, em geral, recai na eliminação e controle do biofilme. Dentre estes novos materiais, pode-se destacar a solução de *Ricinus communis* a 2%, empregada nos estudos de Pisani *et al.* (2010, 2012a e 2012b), Malheiros-Segundo (2011), Andrade (2011) e Salles (2013). O óleo de *R. communis* é utilizado desde a Antiguidade e tem apresentado avanços nas pesquisas médicas e odontológicas. Os materiais derivados do *Ricinus communis* têm sido empregados para reconstrução óssea e reparo de defeitos intraósseos, elevação do assoalho de seio maxilar e preenchimento de alvéolo dental, visando à colocação de implantes e pinos metálicos (Meneghin *et al.*, 2006). Em endodontia, o detergente derivado do óleo de *R. communis* foi estudado para utilização como solução irrigante de canais radiculares. Este detergente tem ação antimicrobiana similar ao hipoclorito de sódio a 0,5% quando usado em canais radiculares com necrose. É biocompatível ao tecido

periapical, aumenta a permeabilidade dentinária e tem capacidade para remover “smear layer” dos canais radiculares semelhante ao EDTA 17% (Meneghin *et al.*, 2006).

Em se tratando da solução de *Ricinus communis*, estudos relacionados com sua aplicação como agente higienizador de uso diário para próteses são escassos, assim como pesquisas que avaliam o hipoclorito de sódio em baixas concentrações que poderiam apresentar eficácia clínica sem promover alteração dos materiais constituintes da prótese. Para o estabelecimento de protocolos adequados de higienização de próteses, estudos clínicos e laboratoriais controlados são necessários.

2. Revisão da Literatura

O levantamento bibliográfico teve como bases de dados o Pubmed, Scielo, Lilacs e Google acadêmico e foram selecionados artigos com as palavras chaves: dentaduras completas, biofilme, higiene, *R. communis*, hipoclorito de sódio e rugosidade. A apresentação dos trabalhos foi organizada em duas partes, sendo que a primeira envolve trabalhos clínicos e a segunda, trabalhos laboratoriais. Foram apresentados na revisão, os trabalhos diretamente relacionados com os objetivos desta dissertação e em período atualizado de 5 anos.

2.1 Estudos clínicos

Silva-Lovato *et al.* (2002) avaliaram a capacidade em corar, a facilidade de remoção e a ação antimicrobiana de evidenciadores de biofilme dental em prótese total. Para tanto, 28 voluntários foram selecionados para este estudo. As soluções evidenciadores utilizadas foram: S1: Azul de metileno, 0,05%; S2: Eosina aquosa a 1%; S3: Eritrosina aquosa a 5%; S4: Fluoresceína sódica a 1%; S5: Proflavina monossulfato 0,3%; S6: Replak; S7: Vermelho neutro a 1%. A capacidade em corar foi analisada por método visual aplicando-se evidenciadores sobre a superfície interna da prótese total superior e atribuindo escores, classificando-as em Excelente, bom e ruim. Após fotografia, as próteses coradas foram escovadas (escova e dentifrício específicos para prótese total) e novamente fotografadas. Os dispositivos foram projetados em folhas de papel (aumento de 10 X); as áreas total e corada das próteses contornadas com grafite, recortadas e pesadas, para obtenção, em porcentagem, dos resultados da facilidade de remoção. A ação antimicrobiana foi avaliada pelo método de difusão em ágar e os resultados obtidos pela medida dos aros e halos de inibição formados. A melhor capacidade em corar foi apresentada pelo azul de metileno, eritrosina, fluoresceína sódica, Replak e vermelho neutro. Eosina, fluoresceína sódica e eritrosina apresentaram a maior facilidade de remoção. Eosina, eritrosina, fluoresceína sódica, proflavina, Replak e vermelho neutro não apresentaram ação antimicrobiana. As soluções que apresentaram maior capacidade de corar, facilidade de remoção e ausência de ação antimicrobiana, requisitos necessários para auxiliar estudos que avaliam métodos de higiene e de orientação aos pacientes, foram eosina, vermelho neutro e eritrosina.

Pavarina *et al.* (2003) avaliaram a efetividade de um protocolo específico para higienização e desinfecção de próteses removíveis. A amostra foi composta por 64 dispositivos protéticos parciais removíveis ou totais, superior e/ou inferior, utilizados por 32 voluntários. Inicialmente, o biofilme da cavidade bucal dos pacientes e de suas próteses foi colhido para cultura e em seguida, as próteses foram escovadas (escova macia e solução de clorexidina a 4% - 1 minuto) e lavadas por 1 minuto em água destilada esterilizada para eliminação de qualquer material orgânico remanescente. As próteses dos voluntários foram então distribuídas em 4 grupos, variando o agente de desinfecção empregado para imersão (10 minutos): G1: Digluconato de clorexidina a 4% (n=8); G2: Hipoclorito de sódio a 1% (n=8); G3: Biocide a 0,48% – Bactericida (n=8); G4: Amosan a 3,78% - Peróxido alcalino (n=8). Os procedimentos de imersão foram associados ou não ao ultrassom, a fim de verificar se a eficácia das soluções de imersão poderia ser melhorada. As próteses foram imersas em água estéril por 3 minutos e as amostras incubadas. Os resultados demonstraram que todas as amostras obtidas da cultura inicial apresentaram crescimento de microrganismos, o qual foi reduzido após 10 minutos de imersão em gluconato de clorexidina a 4%, hipoclorito de sódio a 1% e solução de Amosan a 3,78%, diferentemente do Biocide, que não obteve a mesma eficiência. Em se tratando do uso associado do ultrassom com as soluções empregadas, não houve melhoria evidente. Por fim, concluiu-se que o protocolo proposto é viável na prevenção da contaminação cruzada envolvendo pacientes e profissionais.

Barnabé *et al.* (2004) avaliaram a redução de estomatite por dentadura e a atividade antimicrobiana do hipoclorito de sódio a 0,05% associado a escovação de próteses totais com sabão de coco, contra *Candida albicans* e *Streptococos mutans*. Sessenta pacientes usuários de próteses totais foram selecionados e distribuídos em dois grupos: G1 - Controle: (n=30) escovação das próteses com sabão de coco e imersão em uma solução de água filtrada (200ml) e água destilada (10ml) por 10 minutos; G2 – Experimental: (n=30) escovação das próteses e imersão em hipoclorito de sódio a 0,05%, por 10 minutos. Antes e após 15 dias de experimento, realizou-se coleta do biofilme para cultura microbiológica. Foi realizada também a análise clínica da estomatite de acordo com a classificação de Newton e o grau de higienização das próteses. Os resultados mostraram que o protocolo de higienização adotado promoveu significativa redução nas lesões de estomatite por dentadura em pacientes pertencentes a ambos os grupos, com ausência de diferenças entre os tratamentos. A associação da escovação com sabão de coco e imersão em hipoclorito de sódio a 0,05%, foi

efetiva no controle do biofilme. Quanto à análise microbiológica, houve uma leve redução do número de *Streptococcus mutans*, diferentemente de *Candida albicans*, com a qual o tratamento não obteve efeito, podendo ser explicado pelo fato deste microrganismo pertencer a microbiota bucal. Porém, notou-se uma redução na sua patogenicidade, verificada com a redução dos escores oriundos da Classificação de Newton.

Lima *et al.* (2006) avaliaram, por meio de um estudo clínico cruzado, o efeito de soluções higienizadoras de próteses totais sobre a rugosidade superficial da resina acrílica e acúmulo de biofilme. Para tanto, foram confeccionados aparelhos palatinos removíveis, os quais continham 4 espécimes de resina acrílica com valores de rugosidade inicial previamente conhecidos. Treze voluntários usaram os dispositivos durante 3 fases de 4 dias, adotando os seguintes tratamentos: T1: Controle (ausência de imersão em soluções higienizadoras); T2: Solução enzimática – Ortoform – imersão de 30 minutos; T3: Hipoclorito de sódio a 0,5% - imersão por 10 minutos. Para melhorar a formação de biofilme, o dispositivo foi imerso 8 vezes/dia em solução de sucrose, para então, ser submetido ao procedimento desinfetante. A quantidade de biofilme formada nos corpos de prova foi verificada pela extração da quantidade de proteína presente e a mensuração final da rugosidade superficial realizada. O estudo foi conduzido como um modelo cruzado com um período de 3 dias de “washout” entre os momentos de utilização dos produtos. Os resultados demonstraram que o hipoclorito de sódio promoveu maior remoção do biofilme ao ser comparado aos demais grupos ($p < 0,01$). Para rugosidade superficial, o efeito dos tratamentos de forma isolada e sua interação com o tempo não foram estatisticamente significativos. Contudo, o efeito do tempo (baseline x análise final) foi significativo ($p < 0,05$) com aumento dos valores médios de rugosidade para todos os tratamentos. Os autores concluíram que a efetividade na remoção do biofilme depende da solução empregada e que a rugosidade da resina acrílica não é afetada pelos produtos utilizados.

Fernandes *et al.* (2007) avaliaram a efetividade de três escovas específicas na remoção do biofilme presente nas superfícies interna e externa de próteses totais superiores e inferiores e o efeito da escovação na redução do número de unidades formadoras de colônia de leveduras de *Candida*. Foram selecionados 33 pacientes ($n=33$) que receberam como orientação realizar a escovação de suas próteses totais utilizando, em momentos distintos, três escovas específicas: E1: Bitufo; E2: Medic Denture; E3: Colgate, todas associadas ao uso de um dentífrico também específico (Corega Brite). O estudo foi dividido em duas etapas: 1)

Controle – três enxagues diários com água dentro de 1 semana; 2) três escovações diárias durante 3 semanas, para cada marca comercial de escova. O período experimental foi de 10 semanas. A cada 7 dias, as superfícies interna e externa das próteses totais superiores e inferiores foram evidenciadas com vermelho neutro a 1%, fotografadas, processadas (Adobe Photoshop 5.5) e o biofilme presente foi mensurado com o auxílio do *software* Image Tool 3.0. A porcentagem de biofilme foi estabelecida por meio da razão entre área total do biofilme corado pela área total da prótese, multiplicado por 100 (valores em porcentagem). A análise microbiológica (n=9) foi realizada de forma quantitativa por meio da contagem do número de unidades formadoras de colônia e qualitativa, por meio da identificação das espécies de leveduras com o auxílio de microscopia, empregando um código de cores para cada espécie. Os resultados evidenciaram que não houve diferença significativa entre as escovas quanto à remoção do biofilme e os estágios de escovação foram mais efetivos ao serem comparados ao controle. As próteses inferiores e as superfícies externas apresentaram os maiores valores médios de biofilme. Quanto à análise microbiológica, não houve significância entre as escovas em relação à frequência das espécies de leveduras. Portanto, foi concluído que todas as escovas utilizadas no estudo foram efetivas na remoção do biofilme.

Paranhos *et al.* (2007) avaliaram a eficácia de três métodos de higiene na remoção do biofilme presente em próteses totais. Para tanto, 36 voluntários foram orientados a realizar diferentes procedimentos de limpeza em seus dispositivos protéticos, ressaltando que por se tratar de um estudo clínico randomizado, todos os pacientes utilizaram todos os seguintes métodos de higienização: 1- Controle: enxague após as refeições e imersão em água corrente; 2- Químico: imersão em peróxido alcalino (5 minutos, 1 vez/dia) – Bonyplus; 3- Mecânico 1: Escovação, 3 vezes/dia (escova macia Johnson & Johnson) após as refeições com dentífrico específico Dentu creme; 4- Associação dos métodos 2 e 3 (mecânico-químico 1); 5- Mecânico 2: Escovação (escova macia Oral B) após as refeições com dentífrico específico Dentu creme, 3 vezes/dia; 6- Associação de métodos 2 e 5 (mecânico-químico 2). Cada um dos métodos foi utilizado durante um total de 21 dias. O biofilme foi quantificado por meio do *software* Image Tool 2.02. Os resultados demonstraram diferenças significativas entre os métodos. A escovação associada aos métodos químicos obteve os melhores resultados na promoção de uma adequada higienização, devendo, portanto, ser indicada durante a prática clínica.

Salles *et al.* (2007) compararam e correlacionaram, os níveis de biofilme em próteses totais superiores e inferiores após escovação associada com dentífrico específico ou sabão neutro. 45 usuários de próteses totais foram orientados a escovar suas próteses com escova Oral B 40 (cerdas macias) 3 vezes ao dia (após cada refeição) e a interromper o uso noturno das próteses. Foram utilizados três protocolos de higiene: escovação por 2 minutos, utilizando: somente água (Controle); dentífrico específico para próteses totais (Corega Brite); e sabão neutro. O período experimental foi de 9 semanas, sendo que cada produto foi usado por 21 dias (3 repetições de 7 dias). Este estudo se baseou em um modelo cruzado, sem inclusão de períodos de *washout*. A cada 7 dias, o biofilme das superfícies internas das próteses foi evidenciado com vermelho neutro, fotografado e posteriormente, quantificado por meio do método computadorizado Image Tool 2.0. Os produtos foram avaliados por meio de um questionário que abordava propriedades de higiene e aceitação dos pacientes. Os resultados demonstraram que as próteses totais inferiores apresentaram uma quantidade maior de biofilme frente às superiores e que a escovação com dentífrico específico foi mais efetiva do que o sabão neutro, e este foi melhor do que o grupo controle (água). Quanto à satisfação dos pacientes, todos os produtos tiveram boa aceitação, porém o dentífrico específico foi o preferido. Concluiu-se que os métodos de higienização utilizados promoveram controle do biofilme e podem ser usados de maneira preventiva para garantir a manutenção da saúde bucal dos usuários de próteses totais.

Boscato *et al.* (2009) avaliaram a formação do biofilme em reembasadores resilientes de próteses totais após a implementação de diferentes métodos de higiene bucal. Vinte usuários de próteses totais superiores foram distribuídos de forma aleatória em dois grupos distintos. Em ambos foram utilizadas escovas de cerdas macias associadas a um dentífrico (Colgate tripla ação) para higienização dos dispositivos protéticos, porém, para o grupo 2 foi associada à imersão em hipoclorito de sódio a 0,5% uma vez por semana, durante 20 minutos. Para avaliação da formação do biofilme, uma cavidade foi realizada na concavidade palatina de cada prótese total, a qual foi preenchida pelo material reembasador resiliente. Posteriormente, a eficiência dos métodos de higiene preconizados foi avaliada por meio da evidência do biofilme com vermelho neutro a 1% em quatro tempos distintos: 1- ao aplicar o reembasador; 2- ao término de 2 semanas de uso; 3- após 4 semanas; 4- após 6 semanas. A cada etapa de evidência, as próteses foram fotografadas e analisadas, recebendo escores de acordo com o biofilme apresentado. Os resultados indicaram que, independente do período de

tempo, o grupo que utilizou apenas a escovação com dentífrício apresentou os menores valores de escore médio de formação do biofilme no material reembasador e ao analisar o tempo, independentemente do grupo, os maiores escores de biofilme foram encontrados após 6 semanas. Os métodos utilizados influenciaram na formação do biofilme em materiais reembasadores resilientes.

De Souza *et al.* (2009), por meio de um estudo clínico cruzado e randomizado, avaliaram o efeito do uso caseiro de uma solução evidenciadora sobre a composição do biofilme de próteses totais. A presença de 22 espécies de microrganismos foi verificada a partir do método de hibridação de DNA checkerboard. Usuários de prótese total superior com biofilme presente foram selecionados e distribuídos de forma randomizada, aos seguintes grupos de intervenções: I. Orientações quanto à higienização oral e das próteses; II. Orientações associadas ao uso diário da solução evidenciadora de vermelho neutro a 1%, por 7 dias. Cada intervenção foi alternada quanto ao seu início (I seguida da II ou II da I) e contava com um período de 7 dias de “washout”. No início do experimento e após cada etapa de 7 dias, depósitos de biofilme foram coletados e removidos mecanicamente. As amostras de biofilme foram avaliadas pela técnica de hibridização do DNA checkerboard para detecção de *Candida* spp. e 17 espécies de bactérias. Os resultados demonstraram que não houve diferença estatisticamente significativa entre as intervenções e que a maioria das espécies bacterianas foram detectadas dentro da faixa de sensibilidade utilizada, ao menos uma vez. No entanto, *Candida* spp. não foi detectada na amostra. Portanto, a indicação do uso de um agente evidenciador de uso doméstico não influencia na composição microbiana do biofilme presente em próteses totais.

Uludamar *et al.* (2010) avaliaram a eficácia, in vivo, de pastilhas de peróxido alcalino e enxaguatórios bucais sobre *Candida albicans* presentes no biofilme de próteses totais. Noventa pacientes com evidência clínica de estomatite protética (Escala de Budtz-Jorgensen e Bertram) foram distribuídos de forma randomizada em 6 grupos (n=15; 5 experimentais e 1 controle), os quais foram distribuídos em 3 subgrupos (n=5), de acordo com os diferentes tempos dos procedimentos de desinfecção indicados (15, 30 e 60 minutos). As soluções empregadas foram: S1 - Peróxido alcalino 1 (Polident); S2 - Peróxido alcalino 2 (Efferdent); S3 - Peróxido alcalino 3 (Fittydent); S4 - Enxaguatório bucal 1 (CloSYS II, Clorexidina a 2%); S5 - Enxaguatório bucal 2 (Corsodyl, Dióxido de cloro); S6 - Água destilada (Controle). Para o uso das soluções S1, S2 e S3, indicou-se a imersão das próteses em água destilada

contendo a pastilha efervescente, onde as próteses permaneceram o tempo correspondente ao seu subgrupo (15, 30 e 60 minutos). Já as soluções S4 e S5 foram borrifadas sobre a superfície interna das próteses totais, permanecendo o tempo preconizado para seu subgrupo. O grupo controle foi imerso apenas em água destilada. Amostras do biofilme alojado na superfície interna das próteses totais foram colhidas antes e após 15, 30 e 60 minutos de uso dos higienizadores. Os resultados demonstraram que os enxaguatórios bucais obtiveram valores estatisticamente significativos para todos os períodos de tempo testados no que se refere à redução de *Candida albicans*, quando comparados ao grupo controle, que por sua vez foi correspondente ao Polident e Efferdent. Quanto ao Fittydent, somente após 60 minutos de tratamento causou considerável redução em seus valores, concluindo assim, que os enxaguatórios bucais são capazes de reduzir significativamente o número de microrganismos do biofilme de próteses totais.

Andrade (2011) avaliou a eficácia de uma solução experimental a base de *Ricinus communis* comparando-a ao hipoclorito de sódio e peróxido alcalino, quanto à remoção do biofilme de próteses totais. Cinquenta usuários de próteses totais participaram da pesquisa, adotando o seguinte protocolo de higienização: escovação das dentaduras com dentífrico específico (Corega) 3 vezes ao dia, por 2 minutos (após as refeições) e imersão em diferentes soluções 1 vez ao dia, durante 07 dias, de forma cruzada: S1 - Soro Fisiológico (controle); S2 - Peróxido Alcalino (Polident); S3 - Hipoclorito de Sódio a 1%; S4 - *Ricinus communis* a 2%. O tempo de imersão foi de 20 minutos, com exceção para a solução S2, que foi de 3 minutos. Todos os voluntários utilizaram todas as soluções (estudo randomizado cruzado com períodos de *washout* de 07 dias). Para a quantificação do biofilme, no *baseline* e nos retornos de 7 dias de uso de cada uma das soluções, as superfícies internas dos dispositivos protéticos superiores foram evidenciadas (vermelho neutro a 1%) e fotografadas, para posterior quantificação do biofilme corado, com o auxílio de um software (Image Tool 3.0). Os resultados indicaram que o uso Hipoclorito de Sódio a 1% promoveu os menores valores de biofilme e que tanto a solução de *Ricinus communis* como o Peróxido Alcalino, apresentaram resultados intermediários. A utilização do Soro fisiológico resultou nos maiores valores. Dessa forma, concluiu-se que há viabilidade da utilização da solução de mamona como higienizador de próteses totais visando à remoção de biofilme.

Cruz *et al.* (2011) avaliaram a efetividade clínica dos métodos químicos, mecânicos e associação de ambos na remoção de biofilme de próteses totais. Oitenta indivíduos foram

distribuídos aleatoriamente em 4 grupos: 1) Controle - escovação da prótese com escova específica (Bitufo) e água, 3 vezes ao dia; 2) G2 - escovação da prótese com escova específica (Bitufo) e água 3 vezes ao dia e imersão em solução efervescente (Corega Tabs) por 5 minutos; 3) G3 - escovação das próteses com escova específica (Bitufo) e água 3 vezes ao dia e uma aplicação em ultrassom por 15 minutos após 21 dias do início do experimento; 4) G4 - associação dos métodos 2 e 3. O biofilme das próteses foi coletado no instante do *baseline* e após 21 dias, sendo evidenciado com vermelho neutro a 1% e fotografado para sua quantificação com auxílio do *software* Image Tool 2.02. O biofilme foi mensurado e convertido em porcentagem, pela relação entre área do biofilme e a área total da superfície interna da prótese multiplicado por 100. Os resultados obtidos demonstraram que o grupo controle promoveu menor remoção do biofilme se comparado aos grupos experimentais, os quais não foram diferentes entre si. Os autores concluíram que para a adequada higienização de próteses totais, a escovação requer agentes auxiliares para alcançar melhores resultados.

Malheiros-Segundo (2011) avaliou a eficácia de três métodos de higiene na remoção do biofilme da superfície interna de próteses totais inferiores reembasadas com material resiliente à base de silicone. Foram selecionados 30 usuários de próteses totais inferiores, as quais foram submetidas aos procedimentos clínicos preconizados pelo fabricante para o reembasamento com Mucopren soft. Finalizada esta etapa, os pacientes foram distribuídos aleatoriamente em 3 grupos: G1 - Método mecânico: Escovação com dentífrício (Corega Brite) e escova, ambos específicos para próteses totais; G2 - Método químico: Imersão em uma solução experimental a base de *Ricinus communis* a 2%; G3 - Associação dos métodos G1 + G2. Após 15, 30 e 60 dias de utilização dos métodos, o biofilme da porção interna das próteses totais foi evidenciado (Fluoresceína sódica 1%) e fotografado para posterior quantificação com o *software* Image Tool 3.0. A análise microbiológica utilizou a técnica de hibridização do DNA *checkboard* e para avaliação qualitativa do material reembasador foram atribuídos escores de acordo com seu aspecto em cada período analisado. Dessa forma, os resultados demonstraram que o método mecânico obteve maior efetividade na higienização das próteses e menor nível de degradação do material reembasador, enquanto que o período de 60 dias apresentou maior acúmulo de biofilme. Quanto à análise microbiológica, das 38 espécies estudadas, 10 apresentaram diferenças estatísticas em função do método de higiene, sendo que o método de imersão promoveu os menores valores de contagem de micro-organismos entre os quais as espécies de *Candida albicans* e *S. mutans*.

Rossato *et al.* (2011) por meio de um estudo cruzado, compararam a eficácia de 6 métodos de higienização de próteses totais quanto à remoção de biofilme. Quinze estudantes voluntários receberam aparelhos ortodônticos removíveis superiores, os quais deveriam ser usados durante 24 horas, sem que houvesse qualquer higienização. Finalizado esse período, os voluntários foram distribuídos aleatoriamente em 6 grupos (3 deles com $n=3$ e outros 3 com $n=2$): P1 - enxágue em água corrente por 20 segundos; P2 e P3 - imersão em peróxido alcalino (Corega Tabs) durante 5 e 30 minutos, respectivamente; P4 - escovação com água e sabonete líquido por 40 segundos; P5 - imersão em hipoclorito de sódio a 0,5% por 10 minutos; P6 - imersão em solução de cloro de uso doméstico (Q'Boa) por 10 minutos, durante um período de 6 semanas. Após os procedimentos de higiene, os aparelhos ortodônticos foram corados e fotografados para mensuração da área coberta por biofilme. Os resultados indicaram que a imersão em hipoclorito de sódio a 0,5% por 10 minutos foi o melhor método na remoção de biofilme, seguido pela solução de cloro de uso doméstico por 10 minutos e escovação com água e sabonete líquido. Imersão em Corega Tabs por 30 minutos teve um efeito semelhante à escovação com água e sabonete. O enxágue da prótese apenas em água corrente resultou em um maior acúmulo de biofilme.

Uludamar *et al.* (2011) avaliaram o efeito de enxaguatórios bucais e de um condicionador tecidual quanto aos achados clínicos e flora microbiana de 60 pacientes com estomatite protética tipo II, de acordo com a Classificação de Newton. Os usuários de próteses totais selecionados foram distribuídos em três grupos distintos: G1: as próteses foram revestidas com condicionadores de tecido (Visco-gel) a cada 7 dias e os pacientes instruídos a retirá-las durante a noite, armazenando-as em um recipiente com água; G2: bochecho com dióxido de cloro a 0,8%, mantendo o fluido em contato com os tecidos durante 1 min, duas vezes ao dia e imersão das próteses na mesma solução durante a noite por 15 dias; G3: bochecho com Gluconato de Clorexidina a 0,2% por 1 minuto, duas vezes/dia e imersão das próteses durante a noite por 15 dias. Material microbiológico foi coletado das áreas com inflamação para análise quantitativa da presença de *C. albicans* por meio da contagem de unidades formadoras de colônia. Os exames clínicos (grau de estomatite) e laboratoriais (UFC) foram conduzidos nos períodos referentes ao *baseline* e após 15 dias, revelando que 40% dos pacientes ficaram curados e 25% obtiveram alguma melhoria (grupo 1); 85% do grupo 2 responderam ao tratamento; no grupo 3, 90% dos pacientes reagiram positivamente ao tratamento. Quanto à contagem de UFC de *C. albicans*, o grupo tratado com reembasador

apresentou ligeira diminuição nas UFC. Tanto o dióxido de cloro, quanto o gluconato de clorexidina mostraram uma melhora na inflamação do palato e diminuição na colonização de *C. albicans* em comparação ao reembasador. Por fim, concluiu-se que as soluções foram eficazes no tratamento de Estomatite por dentadura.

Andrade *et al.* (2012) avaliaram a eficácia na remoção do biofilme presente em próteses totais utilizando solução de clorexidina em duas concentrações diferentes: 0,12% e 2%. O período experimental foi de 21 dias e antes de iniciá-lo o biofilme foi totalmente eliminado por escovação com escova específica e sabão neutro. Sessenta participantes foram orientados a escovar suas próteses com água natural e escova Denture, três vezes/dia, após as refeições, por 2 minutos. Eles foram então, distribuídos de forma randomizada nos seguintes grupos (n=20): G1: Controle – Imersão em água durante o período noturno; G2: Imersão por 20 minutos em Clorexidina a 0,12% e posterior armazenamento em água (período noturno); G3: Imersão única em Clorexidina a 2% por 5 minutos ao término do período experimental, pelo pesquisador. O biofilme que recobria a superfície interna das próteses totais superiores foi quantificado no *baseline* e ao término dos 21 dias, por meio de evidenciação (vermelho neutro a 1%), para em seguida ser fotografado e encaminhado para mensuração do biofilme presente utilizando o *software ImageTool 3.0*. Os valores alcançados foram transformados em porcentagem pela razão entre a área total do biofilme corado sobre a área total da superfície interna da prótese, multiplicado por 100. Os resultados demonstraram inferioridade do grupo controle (média: 36%) e similaridade entre os grupos experimentais (G2: 5,3% e G3: 1,4%) na eficácia da remoção do biofilme. Por fim, concluiu-se que a imersão nas soluções de clorexidina a 0,12 e 2% podem ser usadas como métodos auxiliares na higienização de próteses totais.

Peracini (2012) avaliou a eficácia de soluções higienizadoras do tipo imersão no controle do biofilme de próteses totais e alterações nas propriedades da resina acrílica termopolimerizável (alteração de cor, rugosidade superficial e resistência à flexão). Para análise clínica, 32 usuários de próteses totais foram orientados a realizar escovação de seus dispositivos protéticos com escova específica (Denture) e sabão neutro 3 vezes/dia, por 2 minutos, após as refeições e imergi-los *overnight*, nas seguintes soluções: S1: Água natural – Controle; S2: Pastilha Corega Tabs; S3: Hipoclorito de sódio a 0,5%. Cada solução foi empregada por 3 ciclos de 7 dias, totalizando 3 semanas de uso. Ao término de cada ciclo, as superfícies internas das próteses foram evidenciadas com vermelho neutro a 1% e

fotografadas padronizadamente. A mensuração do biofilme foi realizada com auxílio do *software* Image Tool 3.0. Para os testes laboratoriais, 140 espécimes (60 circulares para ensaios de alteração de cor e 80 retangulares para rugosidade e flexão) em resina acrílica ativada termicamente (Lucitone 550) foram distribuídos em grupos (n= 20) e submetidos à imersão por 08 horas (*overnight*), nos agentes: A1: Controle – sem imersão; A2: Controle 2 – Água destilada; A3: Pastilha Corega Tabs; A4: Hipoclorito de sódio a 0,5%. Antes e após as imersões (1095 dias – 3 anos), os espécimes foram avaliados quanto às propriedades de cor, resistência à flexão e rugosidade superficial. Os resultados clínicos demonstraram os menores valores de biofilme decorrente da imersão em hipoclorito de sódio. Já os laboratoriais, obtiveram ausência de alterações dos valores médios da rugosidade superficial, diferentemente da flexão, que diminuiu após contato com água destilada, hipoclorito de sódio e pastilha, sendo que os dois últimos também promoveram alteração de cor nos corpos de prova, classificadas como perceptível.

Duyck *et al.* (2013) compararam o crescimento e composição do biofilme de próteses removíveis em acrílico após diferentes protocolos de armazenamento das próteses durante o período noturno (*overnight*). Foram selecionados 51 indivíduos institucionalizados, os quais foram distribuídos de forma randomizada em três grupos, considerando a estocagem noturna de seus respectivos dispositivos protéticos: G1: Água (n=18); G2: Meio seco (n=16); G3: Água com adição de pastilha de limpeza à base de peróxido alcalino (n=17). Previamente ao início do estudo, o biofilme foi eliminado por escovação com água e dentífrico, sendo sua análise realizada após 7 dias, tendo em vista seu desenvolvimento e depois de 14 dias, visando sua maturação. A análise do biofilme foi feita bilateralmente em uma região circular com 5 mm de diâmetro (um lado para 7 dias e outro para 14 dias), situada distalmente aos segundos pré molares das próteses totais inferiores. Durante a primeira semana de teste, todas as superfícies das próteses foram higienizadas diariamente por escovação com sabão, com exceção das duas regiões de interesse, onde foi permitido o acúmulo de biofilme. As manobras de higienização foram realizadas e controladas por um dos pesquisadores e os pacientes orientados a não efetuarem a limpeza de suas próteses durante o estudo, ou seja, somente o pesquisador efetuava os procedimentos de limpeza dos dispositivos protéticos. Amostras do biofilme foram analisadas por PCR quanto a 20 espécies de bactérias orais e *Candida albicans*, obtendo-se assim, informações da quantidade e qualidade do biofilme. Os resultados demonstraram que o uso de pastilhas de limpeza para desinfecção de próteses

removíveis em período noturno reduz a quantidade e patogenicidade do biofilme se comparado ao meio seco e água, e consequentemente contribuem para a saúde sistêmica de modo geral, uma vez que houve redução na quantidade de *C. albicans* e do nível bacteriano nos períodos de desenvolvimento e maturação do biofilme.

Paranhos *et al.* (2013b) compararam os níveis de biofilme presentes nas superfícies de próteses totais superiores e inferiores, após o uso de dois agentes auxiliares de escovação (dentifrício específico e sabão neutro líquido) e saliva artificial, assim como avaliaram quantitativa e qualitativamente a presença de leveduras nas superfícies das próteses posteriormente a aplicação de cada protocolo de limpeza. Inicialmente, foram selecionados 23 indivíduos usuários de próteses totais, com hipossalivação ou xerostomia. Previamente ao estudo, o biofilme da superfície interna das próteses superior e inferior foi evidenciado com vermelho neutro a 1%, para auxiliar na sua eliminação total (biofilme zero - início da pesquisa - *baseline*). Em seguida, os pacientes receberam escovas e instruções para realizar as escovações após as refeições por 2 minutos com os seguintes agentes auxiliares: A1: controle - água de torneira; A2: Dentifrício específico para próteses totais – Corega Brite; A3: Sabão líquido neutro – ph 12; A4: Corega Brite associada à saliva artificial. Os grupos foram formados de forma aleatória para o uso dos produtos durante 3 semanas, com períodos de “washout” de 7 dias entre um produto e outro, onde foi utilizado água de torneira. A cada retorno, as superfícies internas das próteses totais foram evidenciadas com solução de vermelho neutro a 1%, fotografadas e o biofilme foi novamente removido para iniciar o uso do agente seguinte. A quantificação do biofilme foi feita por meio do software Image Tool, onde as áreas referentes ao biofilme foram mensuradas e transformadas em porcentagem. A análise microbiológica foi realizada por meio de cultura do biofilme colhido das próteses, isolando as cepas de *Candida spp.*, para posterior contagem das unidades formadoras de colônia e identificação das espécies. Os resultados demonstraram que a porcentagem média de biofilme presente nas próteses inferiores foi significativamente maior do que nas superiores. Quanto aos agentes, o uso do Corega Brite associado à saliva artificial (Oral Balance) foi o mais eficaz. Para a análise microbiológica, não houve diferença significativa entre os protocolos de higiene para qualquer tipo de prótese. O uso dos produtos não demonstrou diferença no número de unidades formadoras de colônia de leveduras, haja vista que *C. albicans* foi a espécie mais frequentemente isolada, seguido por *C. glabrata* e *C. tropicalis*.

Pinelli *et al.* (2013) compararam a efetividade do *Ricinus communis* com Nistatina e Miconazol no tratamento de indivíduos com estomatite protética. Inicialmente foram examinados 150 pacientes, dos quais 30 foram selecionados a partir da classificação de Newton baseada no grau de acometimento de Estomatite: Tipo I, Inflamação simples e localizada ou hiperemia; Tipo II, inflamação generalizada simples; Tipo III, hiperplasia papilar inflamatória. Para quantificação de *Candida* spp., as áreas inflamadas foram raspadas com o auxílio de cotonetes estéreis, para que o material colhido fosse destinado à semeadura para processamento e posterior quantificação das unidades formadoras de colônia de *Candida* spp. Dessa forma, os participantes foram distribuídos aleatoriamente em três grupos: G1- tratamento por via oral com Miconazol gel, 4 vezes/dia; G2 - Aplicação de Nistatina sobre a língua com auxílio de conta gotas, 4 vezes/dia; G3 - Uso de antisséptico bucal a base de *Ricinus communis*, 4 vezes/dia. Todos os participantes foram instruídos quanto à higienização das próteses, incluindo sua retirada no período noturno e manutenção em imersão em água filtrada (200ml). O período experimental foi de 30 dias com dois acompanhamentos após 15 e 30 dias, para análise da resposta clínica ao tratamento instituído, por meio de fotografias padronizadas do palato e coleta de amostras das regiões acometidas pela lesão (palato). Portanto, as variáveis de resposta clínica (UFC e melhora da inflamação) foram comparadas quanto ao início do tratamento, após 15 e 30 dias. Os resultados evidenciaram ausência de diferenças estatísticas em todos os períodos analisados para Nistatina, diferentemente dos achados para Miconazol e *Ricinus communis*, que alcançaram melhorias na comparação entre o início e o término do tratamento, assim como entre 15 e 30 dias de tratamento. Os resultados microbiológicos demonstraram que nenhum dos grupos apresentou redução das unidades formadoras de colônia. Por fim, concluiu-se que o *Ricinus communis* pode melhorar a condição clínica da estomatite protética em idosos, mostrando resultados semelhantes ao Miconazol.

Salles (2013) avaliou clinico-laboratorialmente a eficácia de diferentes agentes higienizadores de próteses totais, considerando suas ações antimicrobianas frente a microrganismos específicos. Sessenta e quatro usuários de próteses totais maxilares foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos para utilização de escovação com sabão neutro 3 vezes/dia, por 3 minutos e imersão 1 vez/dia, por 20 minutos, nas seguintes soluções: S1: Hipoclorito de sódio a 0,25%; S2: Hipoclorito de sódio a 0,5%; S3: Solução experimental a base de *Ricinus communis* a 10%; S4: Salina – Controle. Cada solução foi utilizada durante 7

dias sendo intercaladas por 7 dias de “washout” onde o indivíduo utilizou somente escovação com sabão neutro. A contagem das unidades formadoras de colônias de *Streptococcus mutans*, *Candida spp.* e gram negativos foi realizada previamente (*Baseline*) e após 7 dias de uso dos produtos. Para o estudo laboratorial, 360 espécimes de resina acrílica termicamente ativada foram contaminados com cepas de microrganismos padrão e imersos, por 20 minutos, nas mesmas soluções higienizadoras destinadas a etapa clínica do estudo. Porém, foi acrescentado o grupo controle negativo, onde estavam contidos corpos de prova não contaminados, imersos em salina. Após os procedimentos de imersão, os corpos de prova foram submetidos à sementeira, para posterior contagem das colônias e cálculo dos valores de UFC/mL. Os resultados clínicos evidenciaram diferença significativa entre as soluções, sendo o hipoclorito de sódio a 0,5% o mais efetivo, enquanto o hipoclorito de sódio a 0,25% e o *Ricinus communis* apresentaram ação eficaz contra *S. mutans* e moderada contra *Candida spp.* Já os achados laboratoriais demonstraram que ambas as concentrações do hipoclorito de sódio eliminaram todos os microrganismos. A solução experimental por sua vez, foi a menos efetiva contra todas as cepas estudadas, porém apresentou ação antimicrobiana sobre *B. subtilis* e *S. mutans*.

Valentini *et al.* (2013) realizaram um estudo clínico randomizado, com o intuito de avaliar como a formação e composição do biofilme é afetada pelo tempo e tipo de material que constitui a prótese em usuários com e sem estomatite protética. Trinta participantes foram selecionados e de forma cruzada foram submetidos às duas fases de 21 dias do estudo, com um período de “washout” de 7 dias entre elas, ou seja, todos os pacientes participaram das duas etapas da pesquisa. Dessa forma, foram confeccionadas reentrâncias em suas próteses totais, de forma que pudessem armazenar 6 espécimes de resina acrílica e outros 6 de reembasador temporário (distribuição aleatória). Em cada fase, após 7, 14 e 21 dias de intervenções clínicas, 2 espécimes de cada material foram aleatoriamente escolhidos e removidos. O biofilme formado nos corpos de prova foi processado para análise da composição microbiológica e os resultados expressos em unidades formadoras de colônia. Os espécimes foram analisados por microscopia eletrônica de varredura. Os pacientes com estomatite foram selecionados a partir de avaliação pautada na Classificação de Newton para confirmação da doença. Os pacientes foram orientados a usar suas próteses rotineiramente, escovando-as 3 vezes/dia, com escova macia e creme dental (fornecido pelos pesquisadores), exceto para área que continha os espécimes. Quanto aos corpos de prova (5 x 5 x 2 mm), estes

tiveram seus valores médios de rugosidade previamente padronizados por meio de polimento (resina acrílica) e confecção sobre placa de vidro (materiais resilientes). A fim de observar as características de superfície de todos os materiais, amostras adicionais foram também acrescentadas às próteses de dois indivíduos de cada grupo, da mesma forma como anteriormente descrito para cada período de tempo e tipo de material ($n = 9$). Os resultados demonstram que espécies de *Candida* não *albicans*, foram maiores em pacientes com materiais reembasadores a base de silicone, enquanto que voluntários com estomatite protética obtiveram maiores níveis de *Streptococcus mutans*, após 7 dias. Os períodos mais longos de tempo para formação do biofilme não resultou em diferenças na composição do biofilme, entretanto, os materiais reembasadores avaliados acumularam maior quantidade de biofilme, o que determina que seu uso deva ser cuidadosamente planejado. Por fim, concluiu-se que o material reembasador a base de silicone deve ser utilizado com precaução em pacientes acometidos por estomatite protética, uma vez que houve acentuado aumento na contagem de espécies não *albicans*, conhecidas pela dificuldade de tratamento.

2.2 Estudos Laboratoriais

De acordo com Neves e Villela (1999), irregularidades na superfície da resina acrílica podem funcionar como um reservatório de microrganismos que mesmo após os procedimentos convencionais de limpeza de prótese permanecem aderidos a ela. Assim, objetivando avaliar a rugosidade superficial da resina acrílica termopolimerizável incolor após acabamento e polimento convencionais, foram confeccionados 30 espécimes, distribuídos aleatoriamente em 3 grupos ($n=10$): G1: Controle; G2: Corpos de prova com acabamento e polimento convencionais com o uso de lixa, pedra pomes e branco de Espanha; G3: Corpos de prova cujas superfícies foram recobertas com uma fina camada de verniz para acabamento. A rugosidade da superfície da resina acrílica dos três grupos foi examinada com o rugosímetro e posteriormente os dados submetidos à análise estatística. Os autores concluíram que as manobras convencionais de acabamento e polimento propiciaram superfícies mais lisas, ou seja, com reduzida rugosidade, em comparação com as superfícies que receberam aplicação do verniz.

Zissis *et al.* (2000) avaliaram a rugosidade superficial de 20 materiais empregados na confecção de próteses totais (4 resinas acrílicas, 9 forradores rígidos e 7 reembasadores resilientes). Foram confeccionados 5 corpos de prova de cada produto comercial, sem que houvesse qualquer tratamento superficial de acabamento e polimento. A rugosidade foi então analisada por meio do rugosímetro. Os valores médios de rugosidade alcançados para as resinas acrílicas variaram de 0,7 a 7,6 μm . Para os materiais forradores rígidos, de 0,7 a 4,4 μm e para os reembasadores resilientes, os valores variaram em torno de 0,7 a 4,1 μm , o que traduz a viabilidade de acúmulo de biofilme, uma vez que o valor limítrofe de rugosidade para que não haja aderência de microrganismos é de 0,2 μm .

Jin *et al.* (2003) avaliaram a rugosidade superficial e estabilidade de cor de materiais empregados em bases de próteses após imersão em limpadores químicos. Foram confeccionados três espécimes de cada material: 01 resina acrílica termopolimerizável (Bio resin); 02 reembasadores acrílicos autopolimerizáveis (Soften e Nissin Soft Reverse); 04 reembasadores de silicone autopolimerizáveis (Mollosil, Evatouch, Tokuyama Soft Relining e GC Denture Relining); 01 reembasador de silicone termopolimerizável (Moloplast B). Os corpos de prova foram submetidos à imersão em soluções desinfetantes classificadas em 5 grupos distintos: S1- peróxido alcalino (Steradent); S2 - peróxido neutro com enzima 1 (Correct); S3 - Peróxido neutro com enzima 2 (Polident); S4 - Peróxido neutro com enzima 3 (Pika DCE); S5 - Enzima (Clean soft). O período de imersão foi de 8 horas diárias, representando o regime noturno. Finalizadas as imersões, prosseguiu-se com a lavagem e armazenamento dos corpos de prova em água destilada a 37°C pelo tempo restante até completar 24 horas. O processo se repetiu durante 180 dias, com a troca diária das soluções e a análise da rugosidade superficial das amostras após 1, 3, 7, 14, 28, 60, 90 e 180 dias de imersão. A mensuração das diferenças de coloração foi realizada com um instrumento fotométrico (espectrofotômetro) e a alteração de cor das amostras testadas comparadas com um grupo controle que não passou pelos procedimentos de desinfecção. Os resultados indicaram aumento nos valores da rugosidade superficial de todas as amostras, em função do tempo de imersão e do tipo de agente químico utilizado. As alterações mais severas foram provocadas pelas soluções contendo enzimas, especialmente o peróxido neutro. As alterações de coloração foram consideradas mínimas nas amostras termopolimerizáveis e severas nas resinas soft autopolimerizáveis.

Orsi e Andrade (2004) avaliaram o efeito de imersão em diferentes desinfetantes químicos em períodos de tempo variáveis quanto à resistência flexural de 3 resinas acrílicas ativadas termicamente polidas mecânica e quimicamente. Foram confeccionados 630 espécimes retangulares (65 x 10 X 3 mm) a partir das resinas Lucitone 550 (n=210), QC-20 (n=210) e Clássico (n=210). Para cada grupo, 100 corpos de prova foram polidos mecanicamente e outros 100 quimicamente. Para o grupo controle (n=30), 15 espécimes, sendo 5 de cada marca comercial de resina, foram polidos quimicamente e o restante (n=15) mecanicamente. Dessa forma, simulando os lados de uma prótese total, os corpos de prova possuíam uma vertente face polida e outra não polida. Espécimes (n=25) de cada resina foram imersos em uma das seguintes soluções: hipoclorito de sódio em diferentes concentrações (1%, 2,5% e 5,25%), glutaraldeído a 2% e água destilada (Controle). Os períodos de imersão foram de 10, 20, 30, 45 e 60 minutos. Cinco corpos de prova foram usados para cada marca comercial da resina acrílica termopolimerizável, tipo de polimento, agente desinfetante e tempo de imersão. Os valores referentes à resistência a flexão foram diferentes estatisticamente quanto aos tipos de polimento, havendo inferioridade do método químico e a resina Lucitone 550 apresentou os maiores valores de resistência com ambos os polimentos. Os períodos de imersão nas soluções desinfetantes não alteraram os resultados.

Azevedo *et al.* (2006) investigaram os efeitos do hipoclorito de sódio a 1% e gluconato de clorexidina a 4% quanto à dureza e rugosidade superficial de duas resinas para reembasamento (Kooliner e Duraliner II) e uma resina para base de prótese ativada termicamente (Lucitone 550). Foram confeccionados 8 espécimes (12 x 12 x 8 mm) de cada material para as duas soluções analisadas, sendo submetidos a imersões diárias de 10 minutos, durante 7 dias. Os corpos de prova foram testados quanto à dureza Vickers e rugosidade superficial nos seguintes tempos: T1 - 1 hora após confecção; T2 - Após 48 horas imersos em água; T3 - Depois de dois ciclos de desinfecção; T4 - Após 7 ciclos de desinfecção; T5 - Depois de 7 dias imersos nas soluções desinfetantes; T6 - Após 7 dias imersos em água destilada. Ao término do experimento, verificou-se que as soluções desinfetantes não causaram danos aparentes aos materiais avaliados, uma vez que os valores médios de rugosidade não demonstraram nenhuma alteração estatisticamente significativa. Quanto à dureza, a resina Duraliner II obteve um pequeno, porém, significativo aumento quando imersa nos agentes de desinfecção por 7 dias. O mesmo ocorreu com os materiais Kooliner e Duraliner II ao serem imersos em água por 7 dias.

Kataoka (2007) avaliou os efeitos de agentes de limpeza quanto à rugosidade superficial de uma resina acrílica termoativada (Clássico) utilizada em bases de próteses. Foram confeccionados 20 corpos de prova, que tiveram uma de suas faces submetidas aos processos de acabamento e polimento, enquanto que a outra se manteve rugosa. Os espécimes foram então, distribuídos em 5 grupos distintos (n=4) e imersos nos seguintes agentes de higienização: S1 - solução à base de Álcool; S2 - Gluconato de Clorexidina a 0,12%; S3 - Perborato de Sódio a 3,78%; S4 -Hipoclorito de sódio a 1%. O grupo controle foi mantido em água destilada. O período de imersão foi de 7 e 30 dias, com 8 horas de imersão, efetuando a substituição diária das soluções. As mensurações da rugosidade superficial foram realizadas nos períodos iniciais e após 7 dias, para então dar sequência nos procedimentos de imersão por mais 23 dias, totalizando 1 mês, e novas leituras serem efetuadas (finais). Quando completados os 30 dias de exposição, os corpos de prova foram submetidos à análise em microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os resultados revelaram que os corpos de prova de resina acrílica polida não sofreram alterações superficiais aparentes, enquanto que, as superfícies não polidas, apresentaram redução na rugosidade. Os produtos à base de álcool e Hipoclorito de sódio a 1% foram os agentes que causaram as alterações superficiais mais aparentes, uma vez que ocasionaram redução dos valores médios da rugosidade superficial não polida.

Braga e Badaró (2008) avaliaram, in vitro, o efeito sobre a rugosidade superficial de uma resina acrílica termopolimerizável exposta a diferentes agentes de limpeza por 1 e 8 horas/dia. Cinquenta corpos de prova em resina acrílica ativada termicamente (VIPI-CRIL) com superfícies polidas e não polidas foram distribuídos em 10 grupos (n=5), em função do agente de limpeza, tempo de imersão e tipo de superfície. As soluções empregadas para imersão foram: S1 - água destilada (controle); S2 - hipoclorito de sódio a 1%; S3 - perborato de sódio a 3,78%; S4 - gluconato de clorexidina a 0,12%; S5 - solução à base de álcool etílico. Os espécimes foram imersos por 1 e 8 horas diárias, durante 30 dias. A rugosidade superficial dos corpos de prova foi analisada qualitativamente por microscopia eletrônica de varredura - MEV (ampliação de 100x), após imersões nos agentes de limpeza e, quantitativamente, em rugosímetro, antes e após as imersões. Valores médios de Ra foram obtidos. Os resultados indicaram um aumento, tempo-dependente, nos valores médios de Ra em todos os corpos de prova, polidos e não polidos, independente do agente de limpeza utilizado. Esses valores foram maiores nas amostras imersas em hipoclorito de sódio, nos dois tempos testados. Por

outro lado, menores valores foram observados após imersão em gluconato de clorexidina a 0,12%, apresentando-se estatisticamente significativos somente no tempo de imersão de 8 horas. Concluiu-se, portanto, que valores médios da rugosidade superficial frente aos efeitos dos agentes testados foram menores após a desinfecção diária com gluconato de clorexidina a 0,12% com o tempo de imersão de 1 hora.

Paranhos *et al.* (2009a) avaliaram a rugosidade superficial, resistência à flexão e estabilidade de cor de uma resina acrílica após desinfecção diária em hipoclorito de sódio, durante 20 minutos, ao longo de 180 dias. Para tanto, confeccionaram-se 40 espécimes circulares (15 x 4 mm) e outros 40 retangulares (65 x 10 x 3 mm) em resina acrílica polimerizada por micro-ondas (Onda-Cryl). Os corpos de prova foram distribuídos em quatro grupos (n=20 – 10 circulares e 10 retangulares) e imersos em uma das seguintes soluções: S1 - Hipoclorito de sódio a 0,5%; S2 - Hipoclorito de sódio a 1%; S3 - Clorox/ Calgon; S4 - Água destilada (Controle). Após cada ciclo de imersão, os espécimes foram lavados em água corrente e secos com papel absorvente. Leituras iniciais e finais da rugosidade superficial dos corpos de prova foram realizadas em três sítios diferentes (linhas paralelas entre si), separados por 1 mm de distância. A medição da resistência à flexão adotou um teste de flexão por 3 pontos em uma máquina universal de ensaios e as medidas de cor em um espectrocolorímetro portátil. Os resultados demonstraram que os valores obtidos não apresentavam diferenças estatisticamente significativas entre as soluções para cor, rugosidade superficial e resistência à flexão. Dessa forma, concluiu-se que o uso diário de curta duração das soluções de hipoclorito de sódio por 180 dias, não influencia nas variáveis estudadas em se tratando de resina acrílica ativada por micro-ondas.

Davi *et al.* (2010) simularam 180 dias uso por imersão de uma resina acrílica de micro-ondas (Onda Cryl) em agentes de desinfecção, com o intuito de avaliar os efeitos sobre a estabilidade de cor, rugosidade superficial e resistência à flexão. 40 espécimes circulares (15 x 4 mm) e 40 retangulares (65 x 10 x 3 mm) foram confeccionados e destinados à imersão por 8 horas nas seguintes soluções: S1: Hipoclorito de sódio a 0,5%; S2: Hipoclorito de sódio a 1%; S3: Clorox/Calgon; S4: Água destilada. Ao término dos procedimentos não houve diferença estatística entre as soluções quanto à rugosidade superficial. O hipoclorito de sódio a 1% provocou menor resistência à flexão ao ser comparado com o grupo controle e maior alteração de cor, classificada como leve. Por fim, concluiu-se que, em se tratando de um período de 180 dias, com imersão por 8 horas em hipoclorito de sódio a 1%, haverá influência

na estabilidade de cor e resistência flexural da resina acrílica polimerizada por micro-ondas analisada.

Peracini *et al.* (2010) avaliaram a rugosidade superficial, alteração de cor e resistência à flexão de uma resina acrílica ativada termicamente, posteriormente a imersão em agentes de limpeza de próteses. 30 corpos de prova circulares (15 x 4 mm) e 30 retangulares (65 x 10 x 3,3 mm) foram confeccionados e destinados à imersão em Corega Tabs (CT), Bony Plus (BP) e água destilada (AD - grupo controle), objetivando simular 180 dias de uso. A alteração de cor foi avaliada por meio de um espectrocolorímetro, enquanto que a rugosidade foi alcançada com a obtenção dos valores iniciais e finais da mensuração superficial e a resistência à flexão, em uma Máquina Universal de Ensaio. Os resultados evidenciaram redução significativa da resistência à flexão da resina acrílica, causado pelas pastilhas efervescentes (CT e BP). A rugosidade superficial obteve aumento significativo em seus valores médios, decorrente da imersão em BP. As alterações de cor foram maiores para o grupo CT.

Pisani *et al.* (2010) avaliaram o efeito da imersão em soluções higienizadoras após longos períodos sobre a dureza (Knoop), rugosidade superficial, estabilidade de cor e força flexural de resina acrílica ativada termicamente e por micro-ondas. Foram confeccionados trinta espécimes de conformação circular de cada uma das resinas, destinados para os testes de dureza e alteração de cor. Para análise da resistência flexural e rugosidade superficial, foram confeccionados 60 corpos de prova retangulares para cada material. Em seguida, os espécimes foram distribuídos nos seguintes grupos: G1: Água destilada – Controle; G2: Hipoclorito de sódio a 1%; G3: *Ricinus communis* a 2%. Os ensaios foram efetuados anteriormente as imersões (*Baseline*), após 15 dias (durante 20 minutos), com o intuito de simular 3 anos de imersão e por 183 dias (8 horas de duração do procedimento), reproduzindo 18 meses de uso. Os corpos de prova em resina acrílica termoativada, após 15 dias, apresentaram maior variação da dureza quando imersos em água, enquanto que para os confeccionados com resina para micro-ondas a variação foi decorrente do *Ricinus communis*, solução esta responsável também pelos maiores valores médio de rugosidade superficial. A alteração de cor não foi significativa. Quanto à resistência flexural, houve redução provocada pelo hipoclorito de sódio a 1%. Após 183 dias, verificou-se que o Hipoclorito de sódio e *Ricinus communis* causaram redução nos valores de dureza e resistência flexural dos espécimes ativados termicamente. Para esta resina, a maior alteração de cor ocorreu após imersão em R.

communis. Já os corpos de prova em resina para micro-ondas obtiveram as maiores variações de rugosidade quando em contato com os dois agentes de limpeza empregados.

Felipucci *et al.* (2011) avaliaram a ação de agentes de higienização na superfície dos componentes que constituem uma prótese parcial removível. Para tanto, confeccionaram-se 5 corpos de prova formados por um disco metálico (12x3 mm) centralizado em uma tira de resina (38 x 18 x 4 mm) para cada situação experimental (liga metálica x solução de higienização). Duas ligas de cobalto cromo (DeguDent e Vera PDI) e 6 soluções (Periogard, Cepacol, Corega Tabs, Medical Interporous, Polident e hipoclorito de sódio a 0,05%), além de água destilada (Controle) foram utilizados. Um total de 70 espécimes foi empregado, simulando imersões de 180 dias. Análises da perda de massa em balança de alta precisão e da rugosidade superficial em rugosímetro foram efetuadas antes e após as imersões. Procedeu-se com análises ópticas e qualitativas por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectrometria de energia dispersiva de raios – x (EDS). Visualmente, puderam ser verificadas manchas nas superfícies metálicas quando utilizados hipoclorito de sódio a 0,05% e Medical Interporous, assim como alterações superficiais verificadas por meio das fotomicrografias e presença de oxigênio por EDS, sugerindo pontos de corrosão nas ligas metálicas. A rugosidade não obteve alterações em seus valores médios pelas soluções ($p < 0,05$), tanto para metal, quanto para resina. Para alteração de massa, Corega Tabs e Medical Interporous (entre soluções), e Vera PDI (entre ligas) apresentaram os maiores valores. Por meio da MEV pode-se verificar corrosão generalizada causada pelo hipoclorito de sódio e localizada por Medical Interporous. Por fim, concluiu-se que o Cepacol, Periogard e Polident não apresentaram efeitos deletérios, podendo ser usados como meios auxiliares na escovação de próteses parciais removíveis.

Machado *et al.* (2011), avaliaram o efeito da desinfecção por imersão em solução de perborato de sódio e irradiação de micro-ondas na rugosidade superficial de uma resina acrílica termopolimerizável (Lucitone 550), 3 resinas rígidas para reembasamento (Tokuyama Rebase II-TR; New Truliner-NT; Ufi Gel hard-UH) e 3 materiais reembasadores resilientes (Trusoft-T; Sofreliner-S; Dentusil-D). Trinta espécimes de cada um dos materiais foram confeccionados e distribuídos em 3 grupos ($n=10$): G1- Controle – sem desinfecção, ficando imersos em água (4 semanas); G2: desinfecção diária por imersão em perborato de sódio a 3,78%, por 8 horas durante 4 semanas; G3: desinfecção por micro-ondas, 3 vezes por semana, durante 1 mês, (6 minutos/ 650w). As mensurações da rugosidade superficial foram realizadas

após polimerização (*baseline*) e após 1, 3 e 28 dias de exposição dos espécimes aos procedimentos. Os resultados evidenciaram que anteriormente as imersões, Trusoft obteve os maiores valores médios de rugosidade, sendo reduzida de forma significativa após 28 dias de imersão em Perborato de sódio. Lucitone 550, Tokuyama Rebase II, Sofreliner e Dentusil não tiveram alterações significativas nos valores da rugosidade superficial, diferentemente do Ufi Gel Hard e New Truliner, cujas alterações foram significativas, uma vez que, ambos foram afetados pelos métodos de desinfecção e água. Severas modificações superficiais no Trusoft foram causadas com o uso do micro-ondas.

Sorgini (2011) avaliou a rugosidade superficial e perda de massa decorrentes da associação da escovação (método mecânico) e imersão em agentes desinfetantes (métodos químico) na higienização de próteses totais. 72 espécimes (90 x 30 x 3 mm) de plex-glass foram confeccionados e distribuídos em 6 grupos, sendo, G1: Controle – Escovação e imersão em água destilada; G2: escovação com água; G3: escovação com dentifrício Sorriso; G4: escovação com dentifrício Colgate; G5: escovação com Polident; G6: escovação com Corega brite. Todos os grupos após as escovações, com exceção do G1, eram imersos em hipoclorito de sódio a 0,5%. O método mecânico utilizou uma máquina de escovação (50 minutos – 17800 ciclos) e o químico imersão (20 minutos – total de 121,5 horas de imersão), ambos simulando 1 ano de uso. A perda de massa foi avaliada pelo método gravimétrico, por meio de pesagens e a rugosidade superficial com rugosímetro antes dos procedimentos de higiene, após escovação e após imersão. Os resultados alcançados demonstraram maiores perdas de massa após escovação para os grupos G2, G3 e G5, e menores para G4. Quanto ao método combinado, G3 e G3 obtiveram os maiores valores e G4 os menores. O método combinado teve maior perda de massa que o mecânico, exceto pra o G5. A rugosidade superficial apresentou os menores valores, após o método mecânico, para G1 e G4 e maiores para os demais; para o combinado, G2 e G5 tiveram os maiores valores e G1 os menores. Não houve diferença entre os tratamentos. Portanto, concluiu-se que tanto a escovação com dentifrícios somente, como sua associação com a imersão em hipoclorito de sódio a 0,5% desencadearam maior perda de massa e alterações na rugosidade quando comparados à escovação ou imersão em água.

Leite (2012) desenvolveu um dentifrício experimental à base de *Ricinus communis* para higiene de próteses totais. Foram analisadas características físico-químicas, abrasividade e microbiológicas frente aos microrganismos *Staphylococcus aureus* (S.a), *Escherichia coli*

(*E.c.*), *Streptococcus mutans* (*S.m.*), *Enterococcus faecalis* (*E.f.*), *Candida albicans* (*C.a.*), *Candida glabrata* (*C.g.*), *Bacillus subtilis* (*B.s.*). Inicialmente, foi verificada a concentração inibitória mínima (CIM) do *R. communis* puro a uma concentração máxima de 2,5%. A CIM de 0,0781% foi eficaz contra os microrganismos, exceto *E.c.* Em seguida, foram obtidos os dentifrícios experimentais a 1, 2, 5 e 10%, cuja ação antimicrobiana foi avaliada pelo método do poço difusão em Ágar em comparação com dentifrícios comerciais (Colgate, Trihydrall, e Corega Brite). Os resultados foram considerados positivos quando da presença da formação de halo. Os ensaios físico-químicos foram realizados com base na medida da densidade, pH, consistência e características reológicas. A abrasividade foi avaliada por ensaio gravimétrico e rugosidade em 30 espécimes de resina acrílica (90x30x4mm) antes e após a escovação em máquina de escovação artificial, com A – Colgate, B – Experimental a 10%, C – Dentu-Creme, D – Trihydral e Água (controle). A ação antimicrobiana do dentifrício experimental a 10% foi analisada pelo método de formação de biofilme sobre espécimes de resina acrílica. Após a contaminação, os espécimes foram escovados manualmente por 60s com água e dentifrícios A, B, C e D (n=10) e imersos em meio de cultura líquido, o qual foi resuspenso para semeadura em meio de cultura sólido. Foram empregados controles positivo (contaminado e não escovado) e negativo (sem contaminação). Para o método poço difusão em ágar os dentifrícios experimentais não foram efetivos contra *E.c.*, *C.a.* e *C.g.* Os dentifrícios comerciais não apresentaram ação antimicrobiana somente contra *E.c.* O dentifrício B promoveu perda de peso similar ao C e D. O dentifrício A promoveu a maior perda de peso. Os dentifrícios B e A promoveram a maior rugosidade superficial se comparados ao C e D. A escovação com Água promoveu menores valores de rugosidade e perda de peso. A atividade antimicrobiana do dentifrício B variou em função da cepa e apresentou semelhança a alguns dos dentifrícios comerciais. Para a *E.c.* e *B.s.* todos os dentifrícios apresentaram atividade antimicrobiana semelhante. Para o *B.s.*, os dentifrícios também foram semelhantes ao Controle positivo e Água. Contra *S.m.*, o dentifrício B, apresentou-se semelhante somente ao Controle positivo e Água. Os autores concluíram que novos estudos buscando a diminuição da abrasividade e aumento da ação antimicrobiana do dentifrício Experimental, são necessários.

Pisani *et al.* (2012a) avaliaram a estabilidade de cor, dureza shore A e rugosidade superficial de reembasadores resilientes para próteses totais após imersões em agentes de limpeza. Trinta espécimes de Elite Soft Relining e Mucopren Soft foram distribuídos de forma randomizada em três grupos distintos: G1: Controle, cuja imersão foi feita em água

destilada a 37°C; G2: Controle positivo, utilizando o hipoclorito de sódio a 1%; G3: Grupo experimental, com a solução de *Ricinus communis*. Inicialmente, os espécimes foram imersos em cada uma das três soluções por um período de 7, 15 e 183 dias, simulando 18 meses e 3 anos de uso (20 minutos de imersão), e 1 ano e meio (8 horas de imersão), respectivamente. Ao término, verificou-se que o reembasador Elite Soft Relining obteve os maiores valores de alteração de cor em comparação ao Mucopren Soft, que por sua vez demonstrou um aumento de dureza. Quanto às soluções administradas, o hipoclorito de sódio foi o responsável pela maior instabilidade de cor dos espécimes, que tiveram menores alterações quando imersos no *Ricinus communis*. Após 7 dias, o Mucopren soft sofreu um aumento de rugosidade; Elite Soft relining decresceu. O *R. communis* promoveu a menor variação na rugosidade. Depois de 15 dias, ambos os materiais apresentaram aumento nos valores de rugosidade. Por fim, após 183 dias, Elite Soft relining obteve as maiores alterações e o hipoclorito de sódio foi a solução responsável pelas maiores rugosidades. Portanto, foi concluído, que a simulação de 18 meses com imersões de 20 minutos ao dia alcançou melhores resultados.

Pisani *et al.* (2012b) avaliaram dureza Knoop, rugosidade superficial e alteração de cor em dentes artificiais de resina acrílica após imersão em diferentes soluções. Noventa incisivos centrais superiores de 3 marcas comerciais distintas (Vipi, Biolux e Trilux) foram distribuídos aleatoriamente em 3 grupos (n=30). As variáveis de resposta dureza, rugosidade e cor foram mensurados imediatamente após a obtenção dos espécimes (*Baseline*) e após a imersão dos mesmos por 15 dias (simulando 3 anos de imersão por 20 minutos/dia) e 183 dias (18 meses, com imersão de 8 horas/dia), em água destilada, solução a base de *Ricinus communis* a 2% e hipoclorito de sódio a 1%. Os resultados indicaram aumento na dureza e rugosidade dos corpos de prova após 15 dias de imersão em *Ricinus communis*. As demais soluções promoveram diminuição nos valores médios das variáveis. A alteração de cor foi dependente da marca dos dentes, sendo que Biolux apresentou os menores valores. Quanto à análise após 183 dias, a rugosidade e cor não apresentaram variação significativa em função das soluções, porém, para dureza, o *Ricinus communis* causou as menores variações se comparado à água e hipoclorito de sódio. Por fim, concluiu-se que todas as soluções causaram modificações nas propriedades dos espécimes, em ambos os protocolos de imersão empregados.

Sorgini *et al.* (2012) analisaram a perda de massa e alteração da rugosidade superficial decorrente da escovação mecânica com dentifrícios convencionais e específicos para higienização de próteses totais. 36 espécimes retangulares (90 x 30 x 4 mm) de plex-

glass foram confeccionados e divididos em 6 grupos (n=6): G1: Controle com água destilada; G2: Dentifrício Sorriso; G3: Dentifrício Colgate; G4: Dentifrício Close up; G5: Dentifrício Dentu Creme; G6: Dentifrício Corega. A escovação foi realizada em máquina de escovação com escovas macias e suspensões de dentifrícios ou água destilada, considerando períodos de escovação distintos: 50, 100, 200 e 250 minutos, correspondente a 18000, 36000, 72000 e 90000 ciclos (1, 2, 4 e 5 anos respectivamente). Em todos os tempos analisados a água destilada não promoveu alterações significativas, diferindo, portanto, dos dentifrícios utilizados. Quanto à perda de massa, os maiores valores foram decorrentes do dentifrício Corega, seguido do Close up, em todos os períodos analisados. Com relação à rugosidade superficial, para 50 minutos de escovação, todos os grupos experimentais obtiveram valores médios semelhantes ao controle. No entanto, nos demais tempos, Sorriso, Colgate e Corega causaram maior rugosidade superficial, quando comparados à água destilada. Por fim, concluiu-se que os dentifrícios específicos para próteses totais (Corega e Dentu Creme) promovem menores alterações de rugosidade perante os dentifrícios convencionais (Sorriso, Colgate e Close up). Fato este que se inverte em se tratando da perda de massa.

Fernandes *et al.* (2013) avaliaram a rugosidade superficial e estabilidade de cor de resinas acrílicas termopolimerizáveis e ativadas por micro-ondas após imersão em desinfetantes químicos em diferentes períodos de imersão. Sessenta espécimes circulares foram confeccionados e distribuídos em 3 grupos (n=20), de acordo com a marca comercial de cada resina acrílica (QC-20, Lucitone e Vipi-Wave), para em seguida, originarem 2 subgrupos (n=10), considerando as soluções desinfetantes: S1 - Hipoclorito de sódio a 1%; S2- Ácido paracético a 2%. As imersões tiveram duração de 30 e 60 minutos. As mensurações da rugosidade superficial e estabilidade de cor foram realizadas nos seguintes períodos: inicial - *baseline*, após 30 e 60 minutos. Dessa forma, os resultados demonstraram que não houve significância estatística entre a rugosidade e alteração de cor na comparação entre soluções. Os maiores valores médios de rugosidade foram apresentados pela resina QC-20 após 30 e 60 minutos de imersão, enquanto que os menores pela Vipi-Wave. Quanto à alteração de cor, as maiores alterações decorreram após 60 minutos de imersão, no entanto, não há significância clínica. Por fim, concluiu-se que a desinfecção com hipoclorito de sódio a 1% e ácido paracético a 2% alteraram a rugosidade e cor das resinas.

Paranhos *et al.* (2013a) avaliaram a rugosidade superficial, alteração de cor e resistência flexural de corpos de prova de resina acrílica termopolimerizável (Lucitone 550)

após imersão em hipoclorito de sódio e peróxido alcalino, simulando a imersão noturna por 18 meses. 80 espécimes retangulares (65 x 10 x 3,3 mm – para rugosidade e flexão) e 60 circulares (16 x 4 mm – para alteração de cor) foram confeccionados e divididos em 4 grupos (n=20): G1: Sem imersão – Controle 1; G2: Imersão em água destilada por 8 horas – Controle 2; G3: Imersão em peróxido alcalino por 8 horas; G4: Imersão em hipoclorito de sódio a 0,5% por 8 horas. Foram feitas avaliações iniciais (*Baseline*) e após os procedimentos de imersão, simulando 1 ano e meio (548 dias). Os resultados demonstraram que o hipoclorito de sódio a 0,5% causou aumento significativamente maior dos valores médios de rugosidade quando comparado aos demais grupos. A resistência à flexão não apresentou alterações significativas entre as soluções e a alteração de cor foi maior para a imersão em Peróxido alcalino, sendo superior ao hipoclorito de sódio e controle 2. A média dos valores foi classificada como perceptível para o peróxido alcalino e hipoclorito de sódio.

3. Proposição

O objetivo deste estudo foi avaliar soluções higienizadoras de próteses totais do tipo imersão à base de Hipoclorito Alcalino em diferentes concentrações (0,25%; 0,50%) e *Ricinus communis* a 10% quanto aos seguintes aspectos:

- **Clínico:**

- Capacidade de remoção do biofilme da superfície interna de próteses totais;
- Influência na remissão da Candidíase atrófica crônica;
- Avaliação da satisfação do paciente em relação às soluções utilizadas, por meio de questionário.

- **Laboratorial:**

- Avaliação do efeito das soluções sobre a rugosidade superficial de uma resina acrílica termopolimerizável.

4. Material e Métodos

4.1 Análise Clínica

4.1.1 Delineamento do Estudo Clínico

O estudo foi desenvolvido com base em um modelo clínico randomizado e controlado. Os grupos foram cruzados para eliminação da grande variação existente entre indivíduos em resposta a um tratamento, tendo em vista que se atribuiu todos os tratamentos a todos os pacientes, proporcionando uma diminuição no número de indivíduos necessários para se testar diferentes tratamentos. Foi estabelecido também um período de “washout” de 07 dias entre a utilização de uma solução e outra com o objetivo de eliminar o efeito residual do tratamento anterior (efeito “carry over”).

Todos os pacientes utilizaram todas as soluções por um período de 07 dias. A aleatorização da ordem dos voluntários quanto ao recebimento dos produtos foi realizada em uma sequência de 04 possibilidades, para que assim, o processo de distribuição de alocações fosse obtido ao acaso. O período experimental total do estudo compreendeu 07 semanas.

Tabela 1. Ordens adotadas na sequência de distribuição das soluções de higienização.

Paciente	Sequência			
	1ª semana	2ª semana	3ª semana	4ª semana
1	A	B	C	D
2	B	C	D	A
3	C	D	A	B
4	D	A	B	C

Todos os pesquisadores, voluntários e esteticista envolvidos com o desenvolvimento do estudo estiveram sob condições de “cegamento”, ou seja, não possuíam conhecimento a respeito da identificação de cada produto destinado à imersão das próteses totais.

4.1.2 Seleção dos Pacientes

O desenvolvimento desta pesquisa teve início após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (CAAE-0013.0.138.000-07) (Anexo A).

Setenta e seis pacientes destinados ao atendimento na disciplina clínica de Prótese Total da FORP/USP (amostra de conveniência) foram avaliados de acordo com os critérios de inclusão e exclusão do estudo. O recrutamento só foi possível após a compreensão da natureza deste protocolo, explicado de forma individualizada para cada paciente e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A).

Os critérios de inclusão adotados consideravam pacientes de ambos os sexos, com boa saúde geral, fazendo uso prévio e regular de próteses totais superiores, com base e dentes artificiais confeccionados em resina acrílica. As próteses deveriam estar em uso por no mínimo um ano e em condições adequadas; evidências de problemas na adaptação, reembasamento, reparos ou fraturas levaram à exclusão do participante.

Ainda como fator de inclusão, as próteses totais foram avaliadas quanto à presença de biofilme, as quais deveriam apresentar escore igual ou maior que 1, de acordo com o Índice Aditivo. Para avaliação/quantificação da presença de biofilme contido na superfície interna das próteses totais superiores dos participantes, o Índice Aditivo (Ambjørnsen *et al.*, 1982) foi empregado da seguinte forma:

- A. As próteses totais foram removidas da cavidade oral dos pacientes e enxaguadas em água corrente por 5 segundos para remoção do excesso de saliva e secas com um jato de ar por 10 segundos;
- B. A superfície interna foi visualmente dividida em cinco áreas: papila incisiva; duas áreas localizadas lateralmente a 1 cm da linha mediana e área posterior de ambas as tuberosidades (Figura 1);
- C. Cada área foi visualmente limitada com um círculo de 1 cm de diâmetro e o exame realizado sob iluminação do refletor de luz do equipamento odontológico;
- D. Realizou-se a quantificação do biofilme das próteses totais por meio da atribuição de escores para cada área, os quais variaram de 0 a 3:
 - **Escore 0:** sem biofilme;

- **Escore 1:** biofilme visível ao raspar a superfície com instrumento rombo;
- **Escore 2:** acúmulo de biofilme moderado, visível na presença de luz;
- **Escore 3:** acúmulo abundante de biofilme.

Figura 1. Representação da aplicação do Índice Aditivo.

4.1.3 Obtenção do *Baseline* e Eliminação Total do Biofilme

Previamente à utilização dos métodos de higiene, procedeu-se ao registro do *Baseline* e à higienização das próteses, de forma a promover a total remoção do biofilme, e assim, garantir uma condição padrão a todos os aparelhos protéticos. Para isso, realizaram-se os seguintes procedimentos (Figura 2):

- As próteses foram removidas da cavidade oral do paciente, enxaguadas em água corrente por 5 segundos e secas com jato de ar por 10 segundos (Figura 2A);
- As superfícies internas das próteses totais superiores foram inteiramente evidenciadas com Vermelho neutro a 1% por meio de um cotonete (Figuras 2B e 2C). Em seguida, foram enxaguadas por 5 segundos, para remoção do excesso de evidenciador e secas por 10 segundos (Figura 2D);

Figura 2. A - Aspecto inicial da prótese sem qualquer intervenção; B - Evidenciação da Prótese Total com vermelho neutro a 1%; C. Uniformização da solução de vermelho neutro a 1% por toda superfície interna da prótese total; D - Aspecto final da Prótese Total com o biofilme presente evidenciado.

- As próteses coradas foram então fotografadas com uma câmera fotográfica digital (Canon EOS Digital Rebel EF-S 18-55, Canon Inc., Tokyo, Japão) e flash (Canon MR-14 EX, Canon Inc., Tokyo, Japão) com distância filme-objeto (foco na região central do palato) e tempo de exposição padronizado, com o posicionamento da máquina fotográfica em estativa (CS-4 Copy Stand, Testrite Inst. Co., Inc., Newark, NJ, USA) e a objetiva voltada para a superfície interna da prótese, de forma que estivesse em um ângulo de 45°. A prótese evidenciada era posicionada sobre um campo de papel branco e ambos eram colocados na mesa de estativa. Na porção anterior da prótese era posicionada uma régua milimetrada que auxiliava na calibração da unidade de medida a ser empregada na quantificação pelo software (cm²) (Figura 3).

Figura 3. Câmera posicionada na estativa para realização da fotografia da Prótese Total evidenciada. Prótese em angulação de 45° em relação a máquina e régua para calibração.

- Obtida a fotografia, a higienização das próteses evidenciadas foi realizada, por meio de escovação (escova Denture - Condor S.A., Santa Catarina, Brasil) e sabão líquido (JOB Química, Produtos para limpeza Ltda., Monte Alto, SP, Brasil) pelo pesquisador. Em seguida, as próteses eram devolvidas adequadamente limpas aos pacientes (Figura 4). Dessa forma, garantiu-se que todas as próteses estariam em uma condição padrão de limpeza imediatamente antes do início de utilização dos métodos de higienização preconizados (biofilme eliminado).

Figura 4. A – Higienização da prótese evidenciada por escovação; B – Aspecto final da prótese com biofilme zerado.

- O procedimento de evidenciação, fotografia e eliminação total do biofilme foi realizado também em todas as etapas correspondentes ao término do uso de cada agente de higienização empregado, ou seja, após 7 dias de utilização dos produtos.

4.1.4 Intervenções – Métodos de Higienização

Para o estudo, formou-se 04 grupos de soluções, aos quais os pacientes foram submetidos em momentos distintos e de forma aleatória:

- **Grupo 1 (S1)** - Solução de Hipoclorito de Sódio 0,25% (solução manipulada, Da Terra-Farmácia de Manipulação, Ribeirão Preto, SP – Figura 5);
- **Grupo 2 (S2)** - Solução de Hipoclorito de Sódio 0,5% (solução manipulada, Da Terra-Farmácia de Manipulação, Ribeirão Preto, SP – Figura 6);
- **Grupo 3 (S3)** - Solução de *Ricinus Communis* a 10% (Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP – Figura 7);
- **Grupo 4 (S4)** - Solução de Cloreto de Sódio a 0,9% - Salina (Controle – Figura 8);

Todas as soluções foram utilizadas seguindo o protocolo de imersão em 200 ml, por 20 minutos, uma vez ao dia, após a última refeição (jantar), durante 7 dias.

Os pacientes receberam como orientação, escovar suas próteses com escova específica para próteses totais (Denture - Condor S.A., Santa Catarina, Brasil – Figura 9) e sabonete líquido neutro (solução manipulada, DATERRA-Farmácia de Manipulação- Ribeirão Preto-SP; Figura 10) por 3 minutos após as refeições (café da manhã, almoço e jantar – 3 vezes/dia) e, após a última escovação do dia, imergi-las por 20 minutos em um recipiente contendo 200 mL das soluções estabelecidas. Após as imersões, antes de inserir as próteses na cavidade oral, os pacientes deveriam enxaguá-las abundantemente em água corrente (Apêndice B).

O procedimento de escovação propriamente dito consistiu:

- Apreensão das próteses na palma da mão sobre um reservatório repleto de água;
- Deposição de cerca de 2 gotas de sabão líquido neutro sobre a superfície interna da prótese total superior;
- Escovação dos dispositivos protéticos: 1. Região da escova com menor conjunto de cerdas para a área referente ao rebordo alveolar; 2. Região com maior conjunto de cerdas para as demais áreas (superfícies internas e externas);

Os pacientes foram orientados a dormir sem as próteses e deixá-las em um recipiente com água limpa.

Figura 5. Solução de hipoclorito de sódio a 0,25%.

Figura 6. Solução de hipoclorito de sódio a 0,5%.

Figura 7. *Ricinus communis* a 10%.

Figura 8. Cloreto de sódio a 0,9% para realização da solução controle.

Figura 9. Escova específica para Próteses Totais – Denture.

Figura 10. Sabonete líquido neutro.

4.1.5 Controle dos Vieses

Com o intuito de controlar os vieses, o sabonete neutro líquido era distribuído em frascos próprios (Figura 11A), os quais permitiam dosar a quantidade que seria dispensada no momento da escovação; as soluções de hipoclorito de sódio a 0,25% (Figura 11B), 0,5% (Figura 11C), *Ricinus communis* a 10% (Figura 11D) e Salina (Figura 11E) foram depositadas em frascos iguais, escuros e identificadas com letras por um pesquisador não envolvido na distribuição das soluções e análise dos resultados.

Todos os produtos foram dosados suficientemente para o uso durante 7 dias.

Figura 11. A - Sabonete líquido; B - Solução de hipoclorito de sódio a 0,25%; C - Solução de hipoclorito de sódio a 0,5%; D - Solução de *Ricinus communis* a 10 %; E - Solução de cloreto de sódio 0,9% - Salina.

Cada participante recebeu os produtos para higienização de suas próteses totais de forma aleatória. Um pesquisador (P1) que não estava envolvido com as demais etapas operacionais do desenvolvimento da pesquisa, a partir do programa *Microsoft Excel 2010*, gerou uma lista de aleatorização da ordem de uso das soluções. Um segundo pesquisador (P2), portando a lista de aleatorização, distribuiu os produtos, juntamente com as orientações necessárias para o uso e recolheu as próteses, enviando-as ao laboratório para evidencição, fotografia e higienização das mesmas por outro pesquisador (P3). Enquanto as próteses permaneceram no laboratório, o pesquisador P2 efetuou a aplicação dos questionários de satisfação.

O pesquisador P2, posteriormente, continuando na condição de “cegamento” perante os produtos empregados, realizou a mensuração do biofilme presente nas superfícies internas das próteses, calculando a área total do biofilme e da prótese, por meio do *software ImageTool 3.0*. De posse dos valores numéricos, os mesmos foram transformados em porcentagem.

Dando continuidade, o pesquisador P2 processou as fotos no programa *Microsoft PowerPoint 2010* e atribuiu os escores para cada imagem referente ao grau de inflamação do palato duro dos pacientes diagnosticados com Candidíase Atrófica Crônica.

4.1.6 Método de Quantificação do Biofilme

Para avaliar a eficácia das soluções quanto à remoção do biofilme, a quantificação do mesmo foi realizada sempre posteriormente à utilização de cada produto (após 7 dias), por meio do método de quantificação computadorizado (Paranhos e Silva-Lovato, 2004), para o qual foram necessários os seguintes procedimentos:

4.1.6.1 Evidenciação do Biofilme

Finalizado o uso de cada solução, os pacientes retornavam à clínica da FORP/USP e as próteses totais eram recolhidas e armazenadas em um recipiente plástico devidamente etiquetado, individualizado e encaminhado ao laboratório.

Inicialmente, o biofilme foi evidenciado como descrito no item 1.3 (Eliminação Total do Biofilme). As próteses foram enxaguadas em água (5 segundos) e secas por um jato de ar (10 segundos). A superfície interna da prótese total superior foi corada com Vermelho neutro a 1% com o auxílio de um cotonete seco. Em seguida, as próteses foram novamente enxaguadas para remoção do excesso de evidenciador e secas (10 segundos).

4.1.6.2 Fotografia das Próteses

As próteses coradas foram então fotografadas seguindo a mesma padronização de procedimentos como descrito no item “1.3. Eliminação Total do Biofilme”.

4.1.6.3 Quantificação Propriamente Dita

As fotografias foram transferidas para um computador (Intel S478 P4 2.8) e processadas no *Image Tool* 3.0. (Windows, versão 2.02, The University of Texas Health Science Center in San Antonio), para mensuração do biofilme. Para quantificação em porcentagem do biofilme era necessário obter as medidas da área total da superfície interna das próteses e da área corada contendo o biofilme.

A delimitação da área total da prótese superior era iniciada a partir da região correspondente ao freio labial superior (Figura 12), partindo em direção aos flancos labial e bucal esquerdo, sulco hamular esquerdo, margem posterior, seguindo em direção as mesmas regiões do lado oposto, finalizando ao encontrar o ponto inicial da delimitação (Figura 13).

As áreas evidenciadas na superfície interna das próteses, ou seja, ocupadas pelo biofilme eram medidas uma a uma e registradas, para ao final, serem somadas e originarem um valor total referente à área da superfície recoberta pelo biofilme (Figura 14).

Figura 12. Início da delimitação do contorno da área total da superfície interna.

Figura 13. Término da delimitação do contorno da área total.

Figura 14. Delimitação do contorno da área do biofilme.

Finalizadas as medições das áreas (total e biofilme), a porcentagem da superfície recoberta pelo biofilme (X) pôde ser calculada como sendo a relação entre a área do biofilme multiplicado por 100 e área da superfície total da base interna da prótese (Andrucioli *et al.*, 2004; da Silva e Paranhos *et al.*, 2006; Paranhos *et al.*, 2007; Salles *et al.*, 2007).

$$X = \frac{\text{área da superfície recoberta pelo biofilme}}{\text{Área da superfície total da base interna da prótese}} \times 100$$

Após a obtenção das fotografias para quantificação do biofilme, as próteses foram escovadas com escovas específicas e sabão neutro para eliminação total do biofilme e devolvidas aos pacientes, que entravam em período de “washout” de 7 dias.

4.1.7 Influência na Remissão da Candidíase Atrófica Crônica

Para avaliar a eficiência dos métodos na remissão da Candidíase, 24 pacientes selecionados e diagnosticados com a inflamação, após criteriosa análise com espátula de madeira e luz do refletor, tiveram o palato fotografado padronizadamente com câmera fotográfica digital (Canon DS6041 EOS Digital Rebel, Canon Inc., Taiwan, China) e flash (Canon MR-14 EX, Canon Inc., Tokyo, Japão), considerando as seguintes regiões:

- Limite posterior: região do selado posterior e tuberosidades;
- Limites laterais: rebordos residuais referentes aos flancos bucais;
- Limite anterior: rebordo residual referente ao flanco labial e papila incisiva;
- Foco da máquina: direcionado para o centro do palato duro, na rafe palatina.

. As fotos referentes ao *Baseline* e após 7 dias de uso de cada solução e após o “washout” para então serem classificadas por meio de escores de acordo com a Classificação de Newton (Bloem e Razoog, 1982), visando dessa forma, quantificar a inflamação presente no palato dos pacientes (Andrucioli *et al.*, 2004). Este procedimento foi realizado pelo pesquisador em condições de “cegamento” com relação às soluções que cada paciente

utilizou. A tabela seguinte explicita os critérios de avaliação juntamente com os escores correspondentes:

Tabela 2. Escores destinados à avaliação das condições apresentadas pela mucosa do palato dos pacientes com Candidíase atrófica crônica, no *Baseline*, após administração das soluções de higiene e posterior a cada período de *washout*.

Escores	Características da mucosa do palato acometido por Candidíase atrófica crônica
0 (Excelente)	Rosa, vascularização normal e aspecto fosco.
1 (Satisfatório)	Avermelhada, focos puntiformes de hiperemia e aspecto fosco.
2 (Regular)	Avermelhada, focos hiperêmicos múltiplos e aspecto brilhante.
3 (Insatisfatório)	Nitidamente vermelho ou vermelho para azul e aspecto brilhante.

4.1.8 Avaliação das Soluções pelos Pacientes

Sempre ao término da utilização de cada solução por 07 dias, os pacientes responderam um questionário objetivando avaliar a satisfação com o uso das soluções empregadas. Este questionário foi aplicado pelo pesquisador em condição de “cegamento” quanto às soluções.

Questionário

1. Você acha que o produto utilizado esta semana limpou sua prótese?
() sim () não;
2. Você achou o cheiro do produto:
() agradável () desagradável () não tem cheiro;
3. Você acha que o produto deixou sabor em sua prótese?
() sim () não;
4. Você achou o produto fácil de ser usado?
() sim () não;
5. Você usaria o produto diariamente?
() sim () não;
6. Você indicaria o produto para algum amigo?
() sim () não.

4.2 Análise Laboratorial

4.2.1 Delineamento do Estudo Laboratorial

O procedimento laboratorial, à semelhança do protocolo de higiene estabelecido para a análise clínica, preconizou a escovação e imersão de corpos de prova em resina acrílica termicamente ativada, com uma superfície polida e outra não polida.

A escovação foi realizada manualmente com escova específica para próteses totais (Denture - Condor S.A., Santa Catarina, Brasil) e sabonete líquido neutro (solução manipulada, DATERRA-Farmácia de Manipulação, Ribeirão Preto, SP), três vezes ao dia, por 3 minutos e imersão nas soluções de higiene, uma vez ao dia durante 20 minutos, de acordo com seu respectivo grupo/produto de limpeza.

A análise quantitativa da rugosidade superficial (Ra) de cada superfície foi realizada a partir da média de rugosidade de cada corpo de prova, em micrometros (μm), nos períodos iniciais (*Baseline*), após 7, 14 e 21 dias (final), por meio do uso de um rugosímetro (SurfTest SJ – 201P, Mitutoyo Corporation, Tokyo, Japão).

A análise qualitativa por sua vez, foi efetuada por Microscopia Eletrônica de Varredura (Modelo EVO 50, CARL ZEISS, Cambridge, UK), para os corpos de prova referentes aos períodos iniciais (*Baseline*) e após 21 dias de escovação e imersão, considerando seu lado polido e não polido.

4.2.2 Confeção dos Corpos de Prova

Para análise do efeito das soluções sobre a rugosidade superficial da resina acrílica termopolimerizável (Clássico, Artigos Odontológicos Clássico Ltda. São Paulo, SP, Brasil) confeccionaram-se 44 corpos de prova, dos quais 4 foram separados para Microscopia Eletrônica de Varredura, para exercer a função de parâmetro inicial de comparação, com os espécimes submetidos aos protocolos de higiene por 21 dias.

Os corpos de prova foram obtidos a partir de matrizes acrílicas de “plex-glass”, com dimensão de 90 mm de comprimento x 30 mm de largura x 4 mm de espessura e conformação retangular (Figura 15).

Figura 15. Matriz de “plex-glass”.

As matrizes de “plex-glass” foram incluídas em muflas convencionais número 7 (Jon, Jon Indústria Brasileira, São Paulo, Brasil – Figura 16), utilizando gesso pedra tipo III (Gesso Rio, Orlando Antônio Bussioli ME, Rio Claro, SP, Brasil) e na superfície em contato com a matriz (porção mais superficial), gesso especial tipo IV (Durone, Dentisply, Ind. e Com. Ltda., Petrópolis, RJ, Brasil).

Figura 16. Inclusão da matriz de “plex-glass”.

Após a presa do gesso, a mufla foi aberta e a matriz removida (Figura 17). Em seguida, a resina acrílica termopolimerizável (Figura 18A e 18B) foi manipulada de acordo com as recomendações do fabricante, adotando a proporção de 3:1 entre o polímero (pó - 21 mg) e monômero (líquido - 7 ml). Ao alcançar a fase plástica, a resina foi removida do pote de manipulação e acomodada no molde da matriz presente na mufla em gesso, de forma que pudesse preencher todo o espaço presente.

Figura 17. Molde obtido em Gesso especial tipo IV.

Figura 18. Resina acrílica termopolimerizável Clássico – A. Monômero; B. Polímero.

A mufla foi então fechada e posicionada sob uma prensa hidráulica (Prensa Hidráulica Protecni, Protecni Equip. Med., Araraquara, SP, Brasil), sob pressão inicial de 500kg, para promover o escoamento contínuo da resina acrílica, e final de 1000 kg, durante 30 minutos (Figura 19). Posteriormente, a mufla foi acomodada em uma prensa individual para a fase de polimerização (polimerizadora elétrica – Termocicler 100, Oficina de Precisão da Prefeitura do Campus da USP de Ribeirão Preto), de acordo com as instruções do fabricante. A imersão da mufla em água foi realizada inicialmente à temperatura ambiente, sendo então elevada a 73°C e permanecendo nestas condições por 90 minutos. Em seguida, foi promovida fervura durante 30 minutos, aguardando por fim, o esfriamento completo da água para retirada da mufla e desinclusão dos corpos de prova

Figura 19. Prensa hidráulica contendo a mufla com resina acrílica termoativada sob pressão de 1000 kg.

4.2.3 Acabamento e Polimento dos corpos de prova

O acabamento dos espécimes iniciou-se com desgaste visando à eliminação das rebarbas com micromotor e fresa destinada ao recorte da resina acrílica, submetida em seguida a politriz horizontal (Struers – DP 9, Copenhagen, Dinamarca) utilizando lixas d'água de diferentes granulações (números 150, 220, 400, 600, 1200, 2000; Norton Indústria Brasileira, São Paulo, Brasil). O acabamento foi efetuado em apenas uma das superfícies (Figura 20), de forma que os corpos de prova apresentassem uma face polida e outra não polida.

Figura 20. Acabamento de uma das faces dos corpos de prova – face polida.

O polimento realizado em apenas uma face de cada corpo de prova utilizou pano para polimento e branco de Espanha (Orlando Antônio Bussioli ME, Rio Claro, SP, Brasil), em baixa velocidade na politriz horizontal (Figura 21). A seguir, para cada face, foram confeccionadas marcações com broca: a primeira na região central (marcação de orientação para face polida), correspondendo à metade da distância de seu comprimento total e a outra da mesma maneira, porém em local distinto (marcação de orientação para face não polida). Tal manobra permitiu a padronização do local de leitura da rugosidade superficial. Por meio de desgaste, os corpos de prova receberam também, um número de identificação na superfície não polida, o qual permitiu a aleatorização durante a escolha dos corpos de prova utilizados para formação dos 4 grupos (n=10) (Figura 22).

Figura 21. Polimento com pano de uma das faces dos corpos de prova – face polida.

Figura 22. Corpos de prova com uma das faces polida e outra não polida, devidamente identificados por número e marcados para padronização da leitura da rugosidade superficial.

4.2.4 Leitura da Rugosidade Inicial – Análise Quantitativa

Finalizadas as marcações, todos os espécimes foram armazenados em água destilada a 37°C para eliminação do monômero residual. Em seguida, realizaram-se três leituras (velocidade 0,5mm/s; distância percorrida: 4,8mm; comprimento de leitura: 4,0mm) de 5 “cutofs” de 0,8 μm em cada superfície (polida e não polida) dos corpos de prova, utilizando-se um rugosímetro (Surftest SJ-201P, Mitutoyo Corporation, Japan), (Figura 23 e 24). As leituras foram realizadas sobre a marcação central e a 5 mm de distância para direita e esquerda para obtenção da média dos três valores. A análise em Ra significa o cálculo da média aritmética entre picos e vales de uma dada superfície.

Figura 23. Análise da rugosidade superficial inicial.

Regiões onde foram realizadas
as leituras da rugosidade

Figura 24. Representação esquemática das demarcações a serem realizadas no corpo de prova para leitura da rugosidade.

4.2.5 Formação dos Grupos

Os grupos foram constituídos de 10 corpos de prova cada, distribuídos aleatoriamente, em condição de cegamento, considerando as soluções de higienização empregadas para imersão (Figura 25):

Figura 25. A - Grupo 1 – Hipoclorito de sódio a 0,25%; B - Grupo 2 – Hipoclorito de sódio a 0,5%; C - Grupo 3 – *Ricinus communis* a 10%; D - Grupo 4 – Salina.

4.2.6 Escovação e Imersão dos Corpos de Prova

Com os valores médios da rugosidade inicial mensurados, instituíram-se os procedimentos de escovação e imersão de cada corpo de prova. As escovações foram realizadas de forma manual, com sabão neutro e escova específica para próteses totais (Figura 26), por 3 minutos, 3 vezes ao dia.

Ao término de cada escovação diária, imersões foram realizadas em um recipiente que permitia o posicionamento dos corpos de prova de forma que a solução empregada entrasse em contato com suas duas faces (polida e não polida – Figura 27), durante todo o período de 20 minutos. Nos intervalos entre as escovações e imersões, os espécimes foram armazenados em um recipiente com saliva artificial (Farmácia Escola da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP) e mantidos em estufa (Odontobrás Ind. e Com. Equip. Med. Odont. Ltda., Ribeirão Preto, SP, Brasil) a 37°C.

Figura 26. Escovação dos corpos de prova.

Figura 27. Imersão dos corpos de prova por 20 minutos.

4.2.7 Avaliação da rugosidade superficial final

Mensurações da rugosidade superficial foram realizadas após 7, 14 e 21 dias do protocolo de higiene, seguindo as mesmas condições aplicadas para a mensuração inicial (Item 4.2.4), tanto na face polida, como na não polida (Figura 28).

Figura 28. Análise da rugosidade superficial final.

4.2.8 Avaliação da Rugosidade Superficial por Microscopia Eletrônica de Varredura – Análise Qualitativa.

Depois de finalizado o período de 21 dias de escovações e imersões, foram obtidos dois fragmentos de 1x1 cm de um corpo de prova de cada grupo, bem como de um espécime

Maurício Malheiros Badaró

sem exposição ao protocolo de higiene, para análise por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Um fragmento foi analisado do lado polido e o outro, do lado não polido (Figura 29).

Figura 29. Corpo de prova polido e não polido destinado a Microscopia Eletrônica de Varredura.

Para viabilizar a análise foi realizado o processo de metalização, onde os corpos de prova foram fixados sobre porta amostras de alumínio (Figura 30A), por meio de uma fita condutora adesiva dupla face (Nisshin Em. Co., Ltda., Japão). Os porta amostras receberam identificação de acordo com o grupo que os espécimes pertenciam, período de tempo (inicial e 21 dias) e características da superfície – polida ou não polida. Sequencialmente, as amostras foram posicionadas dentro da máquina para metalização (BAL – TEC – Modelo SCD 050, Sputter Coater, Liechtenstein; Figura 30B) sendo recobertas com ouro, pelo processo de *Sputtering* (pulverização), por um período de 120 segundos (Figura 30C), formando uma camada de ouro de aproximadamente 100nm (Figura 30D).

Figura 30. A – Corpos de prova fixados sobre porta amostras; B – Máquina BAL-TEC, SCD 050, para metalização da amostra; C – Metalização, formação da camada de ouro sobre os espécimes; D – Amostra metalizada.

Finalizada a metalização, as amostras foram acopladas em um dispositivo (Figura 31A) para ser posicionado e encaixado no Microscópio Eletrônico de Varredura (Modelo EVO 50, CARL ZEISS, Cambridge, UK; Figura 31 B/C), para obtenção de quatro imagens de cada amostra sob aumentos de 100x, 500x, 2000x e 5000x.

Figura 31. A – Corpos de prova acoplados para leitura no MEV; B – Dispositivo posicionado para a leitura no MEV; C – Microscópio Eletrônico de Varredura modelo EVO 50.

4.3 Análise dos dados

Para avaliar se houve diferença entre as soluções testadas na capacidade de remoção do biofilme, os dados foram analisados como um “split-plot”, no qual o paciente foi considerado a unidade experimental de presença ou não de Candidíase. Este experimento se caracteriza por ter dois fatores de variação e dois tamanhos diferentes de unidades experimentais. Nesse caso, os dois fatores são: presença de inflamação e soluções. As unidades experimentais foram os pacientes, sendo 40 sem Candidíase e 24 com Candidíase.

A análise da influência dos tratamentos na remissão da Candidíase Atrófica Crônica foi realizada após o ajuste dos dados por regressão logística multinomial. Nos modelos analisados o escore no *Baseline* ou no “washout” foi analisado como uma covariável e o escore após tratamento correspondeu a uma escala ordenada de quatro pontos:

- 0 = cura;
- 1 = inflamação leve;
- 2 = inflamação moderada;
- 3 = inflamação severa.

Para avaliar a satisfação dos pacientes quanto às soluções testadas, os resultados obtidos por meio dos questionários foram ajustados por regressões logísticas. A estrutura de correlação adotada para esta análise foi a de simetria composta. Nestes modelos foram testados, para cada pergunta, o efeito das 4 soluções, a presença ou não da inflamação por Candidíase e da interação entre solução e inflamação.

A análise da rugosidade superficial da resina acrílica após exposição aos procedimentos de escovação e imersão foi realizada por meio de análise de variância com dois fatores de variação, ou seja, período e solução. As superfícies polidas e não polidas foram avaliadas em modelos separados uma vez que o padrão de rugosidade inicial eram muito diferentes.

As análises das fotomicrografias advindas da microscopia eletrônica de varredura foram analisadas por meio de método descritivo.

Todas as análises foram realizadas com um nível de significância de 5%.

5. Resultados

5.1 Análise Clínica

Inicialmente, 76 candidatos usuários de prótese total convencional receberam as devidas informações a respeito de como proceder a realização da pesquisa. Após avaliação, segundo critérios de inclusão e exclusão, 70 voluntários que preenchiam os critérios de inclusão do estudo deram o Consentimento Livre e Esclarecido para participação da pesquisa. Ao final do estudo a amostra foi constituída por 64 participantes, sendo 14 do gênero masculino e 50 do gênero feminino, idade média de 68 anos. O fluxograma 1 apresenta a evolução da amostra ao longo do estudo.

5.1.1 Capacidade de Remoção do Biofilme

As tabelas 3 e 4 apresentam a porcentagem do biofilme quantificado no *Baseline* e após o uso das 4 soluções de higiene de pacientes com mucosa sadia e com mucosa inflamada, respectivamente.

Tabela 3. Porcentagem de biofilme sobre a superfície interna da prótese total superior de paciente sem Candidíase no *Baseline* e após a utilização das 4 soluções de higiene.

N=40	<i>Baseline</i>	S1	S2	S3	S4
7	13,776	1,799	0,109	1,296	0,156
13	12,326	4,014	0	0,674	0,755
25	1,078	4,110	2,620	2,032	0,558
20	8,247	0	0,403	0	1,659
18	58,760	0,048	0,049	0,953	1,373
19	7,497	1,237	0,768	3,645	2,035
63	22,661	0	0	0	4,550
62	43,186	2,751	2,106	3,368	3,635
53	3,666	0,480	0,398	1,674	2,457
43	0	0,042	0,435	0,260	1,504
36	4,701	6,959	0,226	5,844	3,085
52	10,370	0,321	4,401	5,323	1,485
58	0,719	0,066	0	0	0,298
41	19,97	12,418	8,287	4,896	14,832
49	29,529	13,652	24,976	23,043	18,08
56	0,126	0,064	0,161	1,620	2,020
3	8,702	2,217	0,142	0	10,500
4	1,631	5,086	9,348	1,987	0
6	82,171	3,717	2,420	2,902	14,984
9	0	0,757	0	0	0
10	30,517	0	0	18,509	23,918
11	29,663	1,959	0,172	4,316	16,547
12	32,391	13,501	10,198	18,004	24,298
24	23,109	0	0	0	7,279
27	24,096	31,897	1,408	0	14,934
28	28,343	2,312	2,571	3,446	5,182
29	28,199	2,843	10,332	9,622	8,330
35	17,310	3,169	0,751	10,873	9,422
37	13,226	1,578	0,567	4,930	6,687
40	38,417	2,507	1,494	20,506	29,039
42	8,917	1,043	0	5,969	5,857
45	58,473	3,289	1,050	6,25	37,910
47	0	0,895	0	0	4,899
51	40,568	0	0	1,286	12,273
55	32,862	0,227	0,745	2,124	26,530
57	28,150	0,182	1,432	6,417	18,996
59	50,817	3,839	0	19,224	30,579
60	14,015	0,171	0	4,904	16,275
61	19,265	1,970	0	20,564	18,097
64	11,841	0,819	0,418	7,304	10,484

Tabela 4. Porcentagem de biofilme sobre a superfície interna da prótese total superior de paciente com Candidíase, no *Baseline* e após a utilização das 4 soluções de higiene.

N=24	<i>Baseline</i>	S1	S2	S3	S4
5	1,252	0,891	0,152	0,624	0,606
16	1,770	0,703	0	0	0,056
26	52,476	5,688	0,569	6,364	27,217
21	11,520	0,572	0,403	2,919	5,283
8	11,768	0	0,110	1,518	0,649
48	10,506	10,387	4,841	1,868	8,230
44	6,55	2,178	1,573	1,626	3,186
46	30,717	0,827	0,237	8,143	12,962
38	9,981	8,941	7,481	9,900	15,01
1	57,635	2,219	4,676	1,079	3,971
2	29,117	2,311	0	18,585	8,222
14	6,555	0	0	0	0,301
15	2,698	0	8,530	3,398	1,491
17	5,680	0	0	0,645	3,345
22	8,783	2,155	9,593	0	5,778
23	43,802	9,101	17,162	30,640	31,613
30	42,275	22,919	23,991	19,832	30,550
31	5,965	0	0	2,576	2,569
32	48,507	23,589	2,190	12,901	27,044
33	16,372	0,537	0,907	0,464	8,841
34	10,066	7,657	4,603	6,360	4,323
39	8,436	4,010	7,119	8,964	17,675
50	74,989	45,090	3,907	72,879	64,550
54	22,738	0,793	1,765	10,254	14,292

A tabela 5 apresenta a estatística descritiva da porcentagem de biofilme quantificado sobre a superfície interna da prótese total superior no *Baseline* e após a utilização das soluções. As figuras 32, 33, 34, 35 e 36 apresentam a frequência de participantes em função da porcentagem do biofilme antes (*Baseline*) e após a utilização das soluções S1, S2, S3 e S4, respectivamente.

Tabela 5. Estatística descritiva da porcentagem de biofilme quantificado sobre a superfície interna das 64 próteses totais superiores no *Baseline* e após a utilização das soluções.

Descritiva	<i>Baseline</i>	S1	S2	S3	S4
Média	21,55	4,41	2,93	6,95	11,07
Desvio padrão	19,46	7,98	5,23	10,93	11,99
Erro padrão	2,43	0,99	0,65	1,36	1,49
Mínimo	0	0	0	0	0
Máximo	82,17	45,09	24,97	72,87	64,55
Quartil (75%)	30,66	4,01	6,58	8,75	16,47
Mediana (50%)	13,89	1,87	0,56	3,38	6,98
Quartil (25%)	6,79	0,19	0	0,74	2,02

Figura 32. Frequência de pacientes (N=64) em função da porcentagem do biofilme para o *Baseline*.

Figura 33. Frequência de pacientes (N=64) em função da porcentagem do biofilme após o uso da S1.

Figura 34. Frequência de pacientes (N=64) em função da porcentagem do biofilme após o uso da S2.

Figura 35. Frequência de pacientes (N=64) em função da porcentagem do biofilme após o uso da S3.

Figura 36. Frequência de pacientes (N=64) em função da porcentagem do biofilme após o uso da S4.

Com o intuito de verificar a distribuição da % de área coberta por biofilme no *Baseline* e após o uso das soluções nos grupos com e sem Candidíase, as tabelas 6 e 7 apresentam um resumo da análise descritiva. As figuras 37 e 38 mostram a distribuição da frequência de participantes de cada grupo em função da % de biofilme.

Tabela 6. Análise descritiva da % de biofilme do grupo sem Candidíase (n=40).

Soluções	Mediana	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
<i>Baseline</i>	18,3	21,5	18,9	0,0	82,2
S1	1,7	3,3	5,8	0,0	31,9
S2	0,4	2,2	4,7	0,0	25,0
S3	3,4	5,6	6,7	0,0	23,0
S4	7,0	10,3	9,9	0,0	37,9

Tabela 7. Análise descritiva da % de biofilme do grupo com Candidíase (n=24).

Soluções	Mediana	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
<i>Baseline</i>	11,0	21,7	20,8	1,3	75,0
S1	2,2	6,3	10,6	0,0	45,1
S2	1,7	4,2	6,0	0,0	24,0
S3	3,2	9,2	15,6	0,0	72,9
S4	7,0	12,4	15,0	0,0	64,6

Figura 37. Frequência de participantes sem Candidíase em função da porcentagem do biofilme, independente do momento.

Figura 38. Frequência de participantes com Candidíase em função da porcentagem do biofilme, independente do momento.

A tabela 8 apresenta os resultados da análise dos dados apresentados anteriormente. Não há evidência de efeito significativo na porcentagem de biofilme medida entre os pacientes com e sem inflamação ($p=0,19$), porém há diferença significativa entre as soluções ($p<0,0001$), sendo que as soluções S1 e S2 promoveram a maior redução de biofilme, seguidas pela solução S3. Todas foram diferentes da solução salina. A interação entre os fatores (inflamação e solução) também não foi significativa ($p=0,85$).

Tabela 8. Análise de variância dos dados da % de biofilme sobre a superfície interna das próteses totais superiores.

Fatores de variação	GL	Type III SS	Quad. Médio	Valor de F	P
Solução	3	0,979	0,326	24,78	<. 0001
Inflamação*Solução	3	0,011	0,004	0,27	0,8481
Inflamação	1	0,124	0,124	1,77	0,1878

As figuras 39 e 40 apresentam as figuras com as comparações das médias (Desvio-padrão) das 4 soluções e dos dois grupos (com e sem Candidíase).

Figura 39. Comparação das médias (DP) de % de biofilme após o uso das 4 soluções (Cores iguais indicam igualdade estatística).

Figura 40. Comparação das médias (DP) de % de biofilme nos grupos com e sem Candidíase (Cores iguais indicam igualdade estatística).

5.1.2 Influência na Remissão da Candidíase Atrófica Crônica

A tabela 9 apresenta os escores atribuídos a cada paciente no *Baseline*, após a utilização das soluções (S1 = hipoclorito de sódio a 0,25%; S2 = hipoclorito de sódio a 0,5%; S3 = *R. communis* a 10% e S4 = Salina) e após cada período de *washout* (WO), na sequência aleatorizada.

Tabela 9. Escores atribuídos ao grau de inflamação por Candidíase, respeitando a sequência de utilização dos produtos na primeira semana de tratamento de cada paciente.

N		1ª semana	WO	2ª semana	WO	3ª semana	WO	4ª semana
	<i>BASELINE</i>	S1	WO 1	S2	WO 2	S3	WO 3	S4
39	2	2	1	1	1	0	1	1
50	3	2	2	2	1	1	2	3
14	3	1	1	0	0	0	0	2
30	2	2	2	0	1	0	1	1
34	1	1	1	1	1	1	1	1
22	2	0	1	0	1	1	1	1
17	2	1	2	2	1	1	2	2
	<i>BASELINE</i>	S2	WO 1	S3	WO 2	S4	WO 3	S1
32	3	3	2	1	2	2	1	1
44	2	1	1	0	1	1	1	0
48	3	0	0	0	2	2	1	1
15	3	3	2	2	2	1	2	1
26	1	2	2	2	2	1	1	1
1	3	3	2	2	3	3	3	0
	<i>BASELINE</i>	S3	WO 1	S4	WO 2	S1	WO 3	S2
54	2	3	3	2	2	2	2	2
46	2	1	2	1	1	0	0	0
31	3	2	2	2	2	2	2	2
21	3	2	1	2	0	0	2	2
2	3	2	1	2	2	0	1	1
23	2	1	1	2	2	2	2	2
8	3	1	1	3	2	2	2	2
16	3	2	2	2	2	2	2	1
	<i>BASELINE</i>	S4	WO 1	S1	WO 2	S2	WO 3	S3
38	2	1	2	1	2	1	2	1
33	3	3	3	2	0	0	0	0
5	2	2	1	1	0	1	1	0

Participaram desta análise apenas os pacientes que iniciaram a sequência de tratamento com algum nível de inflamação (24 pacientes). Para estes pacientes foram atribuídos escores com base na seguinte escala: 1= satisfatório, 2= regular e 3= insatisfatório. Se ao longo da

sequência de utilização das soluções a inflamação não foi identificada, o escore 0 (excelente) foi registrado para identificar os casos de “cura”. Na tabela 10 é apresentada a frequência de escore por solução para os 24 pacientes, no momento inicial (*Baseline* ou *washout*) e na Tabela 11, após a utilização de cada solução.

Tabela 10. Frequência de escore (%) de inflamação no *Baseline* ou no *Washout*.

Soluções	Escore no <i>Baseline</i> ou <i>washout</i>				
	0	1	2	3	Total
S1 - HS 0,25%	1 4,2%	7 29,2%	12 50,0%	4 16,7%	24 100%
S2 - HS 0,5%	3 12,5%	6 25,0%	11 45,8%	4 16,7%	24 100%
S3 - RC	3 12,5%	8 33,3%	8 33,3%	5 20,8%	24 100%
S4 - SALINA	1 4,2%	9 37,5%	11 45,8%	3 12,5%	24 100%
Total	8	30	42	16	96
%	8,3%	31,3%	43,8%	16,7%	100,0%

Tabela 11. Frequência do escore de inflamação após o uso das soluções.

Soluções	Escore após tratamento				
	0	1	2	3	Total
S1- HS 0,25%	6 25,0%	9 37,5%	9 37,5%	0 0,0%	24 100%
S2 - HS 0,5%	6 25,0%	7 29,2%	8 33,3%	3 12,5%	24 100%
S3 - RC	6 25,0%	10 41,7%	7 29,2%	1 4,2%	24 100%
S4 - SALINA	0 0,0%	9 37,5%	11 45,8%	4 16,7%	24 100%
Total	18	35	35	8	96
%	18,8%	36,5%	36,5%	8,3%	100,0%

Comparando a distribuição dos escores entre as tabelas 10 e 11, verifica-se uma movimentação para os escores 0 (cura) e 1 (satisfatório). Na Tabela 12 é possível avaliar esta movimentação para cada solução.

Tabela 12. Evolução do escore de inflamação por solução.

Soluções	Evolução dos escores				
	Piorou	Manteve	Melhorou	Curou	Total
S1 - HS 0,25%	0 0,0%	13 54,2%	6 25,0%	5 20,8%	24 100%
S2 - HS 0,5%	2 8,3%	15 62,5%	3 12,5%	4 16,7%	24 100%
S3 - RC	1 4,2%	11 45,8%	9 37,5%	3 12,5%	24 100%
S4 - SALINA	6 25,0%	13 54,2%	5 20,8%	0 0,0%	24 100%
Total	9	52	23	12	96
%	9,4%	54,2%	24,0%	12,5%	100%

As soluções que apresentaram maiores porcentagens das categorias “melhorou” e “curou” foram *R. communis* a 10% e Hipoclorito de Sódio a 0,25% iguais a 50% e 46%, respectivamente.

Os resultados obtidos por meio da regressão logística multinomial estão apresentados na tabela 13, onde se pode verificar que o efeito da solução ($p=0,007$) foi estatisticamente significativo na remissão da Candidíase. A ordem de utilização das soluções ($p=0,66$), bem como a sequência ($p=0,54$) de uso ao longo das 4 semanas não influenciaram os resultados.

Tabela 13. Análise dos efeitos dos fatores de variação sobre a remissão da Candidíase.

Efeito	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
Baseline e washout	3	61	4,51	0,0064
Solução	3	61	4,44	0,0069
Ordem	3	61	0,52	0,6691
Sequência	3	20	0,74	0,5412

Na tabela 14 estão apresentados os intervalos de confiança simultâneos para as proporções, para cada uma das soluções, considerando o nível de significância de 5%.

Tabela 14. Intervalo de confiança para as frequências por solução.

	Grau de inflamação	Frequência	% estimada	Limite inferior	Limite superior
S3	Cura	6	25	9	53
	Inflamação leve	10	42	19	68
	Inflamação moderada	7	29	11	57
	Inflamação severa	1	4	0	30
S1	Cura	6	25	9	53
	Inflamação leve	9	38	16	65
	Inflamação moderada	9	38	16	65
	Inflamação severa	0	0	0	25
S2	Cura	6	25	9	53
	Inflamação leve	7	29	11	57
	Inflamação moderada	8	33	14	61
	Inflamação severa	3	13	3	41
S4	Cura	0	0	0	25
	Inflamação leve	9	38	16	65
	Inflamação moderada	11	46	22	72
	Inflamação severa	4	17	5	45

As figuras abaixo exemplificam o grau de estomatite de alguns pacientes no *Baseline* e após a primeira semana de utilização das soluções.

Figura 41. A: Aspecto inicial do palato e rebordo acometido por Candidíase Atrófica Crônica no *Baseline* – Grau 3; B: Aspecto final após uso da solução de *Ricinus communis* – Grau 0.

Figura 42. A: Aspecto inicial do palato e rebordo do paciente acometido por Candidíase Atrófica Crônica no *Baseline* – Grau 2; B: Aspecto final após uso da solução de *Ricinus communis* – Grau 0.

Figura 43. A: Aspecto inicial do palato e rebordo acometido por Candidíase Atrófica Crônica no *Baseline* – Grau 3; B: Aspecto final após uso da solução de Hipoclorito de sódio a 0,25% – Grau 1.

Figura 44. A: Aspecto inicial do palato e rebordo acometido por Candidíase Atrófica Crônica no *Baseline* – Grau 3; B: Aspecto final após uso da solução de Hipoclorito de sódio a 0,25% – Grau 1.

Figura 45. A: Aspecto inicial do palato e rebordo acometido por Candidíase Atrófica Crônica no *Baseline* – Grau 3; B: Aspecto final após uso da solução de Hipoclorito de sódio a 0,5% – Grau 0.

Figura 46. A: Aspecto inicial do palato e rebordo acometido por Candidíase Atrófica Crônica no *Baseline* – Grau 2; B: Aspecto final após uso da solução de Hipoclorito de sódio a 0,5% – Grau 0.

Figura 47. A: Aspecto inicial do palato e rebordo acometido por Candidíase Atrófica Crônica no *Baseline* – Grau 3; B: Aspecto final após uso da solução Salina – Grau 3.

Figura 48. A: Aspecto inicial do palato e rebordo do paciente acometido por Candidíase Atrófica Crônica no *Baseline* – Grau 3; B: Aspecto final após uso da solução Salina – Grau 2.

5.1.3 Avaliação das Soluções pelos Pacientes

A tabela 15 apresenta o resultado da avaliação das soluções pelos participantes com e sem Candidíase.

Tabela 15. Resultados da avaliação das soluções pelos participantes (n=64) (%).

Solução	Pergunta 1		Pergunta 2			Pergunta 3		Pergunta 4		Pergunta 5		Pergunta 6	
	Sim	Não	Agradável	Desagradável	Não tem cheiro	Sim	Não	Sim	Não	Sim	Não	Sim	Não
S1	98,4	1,6	35,9	15,6	48,4	31,3	68,8	95,3	4,7	90,6	9,4	93,8	6,3
S2	98,4	1,6	32,8	20,3	46,9	20,3	79,7	100,0	0,0	93,8	6,3	93,8	6,3
S3	93,8	6,3	26,6	10,9	62,5	17,2	82,8	98,4	1,6	90,6	9,4	90,6	9,4
S4	93,8	6,3	23,4	7,8	68,8	18,8	81,3	100,0	0,0	93,8	6,3	93,8	6,3

Tabela 16. Resultados da avaliação das soluções em função da presença ou não de Candidíase (%).

Candidíase	Pergunta 1		Pergunta 2			Pergunta 3		Pergunta 4		Pergunta 5		Pergunta 6	
	Sim	Não	Agradável	Desagradável	Não Tem Cheiro	Sim	Não	Sim	Não	Sim	Não	Sim	Não
SIM	97,9	2,1	8,3	64,6	27,1	17,7	82,3	97,9	2,1	91,7	8,3	90,6	9,4
NÃO	95,0	5,0	16,9	51,9	31,3	24,4	75,6	98,8	1,3	92,5	7,5	94,4	5,6

As tabelas de 15 a 16 apresentam os resultados dos efeitos das soluções para cada uma das perguntas do questionário, em função da presença ou não de inflamação.

Tabela 17. Análise dos efeitos das soluções frente à pergunta 1.

Fator de variação	GL	Qui-quadrado	P
Inflamação	1	0,32	0,5692
Solução	2	3,27	0,1947

Os efeitos das soluções ($p=0,1947$) e da inflamação ($p=0,5692$) não foram estatisticamente significantes para a pergunta 1. Não foi possível avaliar o efeito da interação inflamação/solução, pois não houve variabilidade nas respostas para esta situação.

Tabela 18. Análise dos efeitos das soluções frente à pergunta 2.

Fator de variação	GL	Qui-quadrado	P
Inflamação	1	0,08	0,7815
Solução	3	0,6	0,8955
Inflamação*Solução	3	0,34	0,9521

Os efeitos das soluções ($p=0,8955$), da inflamação ($p=0,7815$) e da interação (0,9521) não foram estatisticamente significantes para a pergunta 2.

Tabela 19. Análise dos efeitos das soluções frente à pergunta 3.

Fator de variação	GL	Qui-quadrado	P
Inflamação	1	1,56	0,2116
Solução	3	4,6	0,2035
Inflamação*Solução	3	2,24	0,5237

Os efeitos das soluções ($p=0,2035$), da inflamação ($p=0,2116$) e da interação (0,5237) não foram estatisticamente significantes para a pergunta 3.

Tabela 20. Análise dos efeitos das soluções frente à pergunta 4.

Fator de variação	GL	Qui-quadrado	P
Inflamação	1	0,25	0,615

O efeito da inflamação ($p=0,615$) não foi estatisticamente significativo para a pergunta 4. Para esta pergunta, como não houve variabilidade na resposta entre as soluções, não foi possível avaliar seu efeito, nem o da interação inflamação/solução.

Tabela 21. Análise dos efeitos das soluções frente à pergunta 5.

Fator de variação	GL	Qui-quadrado	P
Inflamação	1	0,06	0,8049
Solução	3	1,19	0,7557
Inflamação*Solução	3	6,82	0,0780

Os efeitos das soluções ($p=0,7557$), da inflamação ($p=0,8049$) e da interação (0,0780) não foram estatisticamente significantes para a pergunta 5.

Tabela 22. Análise dos efeitos das soluções frente à pergunta 6.

Fator de variação	GL	Qui-quadrado	P
Inflamação	1	0,36	0,5510
Solução	3	1,98	0,5756
Inflamação*Solução	3	4,64	0,2005

Os efeitos das soluções ($p=0,5756$), da inflamação ($p=0,5510$) e da interação (0,2005) não foram estatisticamente significantes para a pergunta 6.

5.2 Análise laboratorial

A tabela 23 apresenta os valores médios da rugosidade inicial e após 7, 14 e 21 dias de escovação e imersão nas soluções.

Tabela 23. Rugosidades das superfícies polidas (SP) e não polidas (SNP) dos espécimes, antes e após 7, 14 e 21 dias da utilização das soluções associada à escovação.

Soluções	Rugosidade Inicial	Superfície Polida			Rugosidade Inicial	Superfície não polida		
		7 dias	14 dias	21 dias		7 dias	14 dias	21 dias
		Final	Final	Final		Final	Final	Final
S1	0,09	0,08	0,08	0,08	1,67	1,15	1,05	2,09
	0,06	0,05	0,05	0,04	3,31	1,09	0,81	1,14
	0,09	0,07	0,07	0,07	3,17	3,95	2,94	1,48
	0,08	0,08	0,08	0,08	1,48	2,86	2,2	2,78
	0,05	0,06	0,06	0,06	1,58	1,46	2,07	2,64
	0,05	0,05	0,06	0,06	1,01	2,66	1,47	1,35
	0,05	0,05	0,05	0,06	3,18	1,03	1,37	3,11
	0,08	0,06	0,06	0,06	2,59	2,94	2,73	1,52
	0,08	0,08	0,08	0,08	2,65	2,75	2,07	1,73
	0,09	0,08	0,08	0,08	2,29	2,67	2,49	2,48
Média	0,07	0,07	0,07	0,07	2,29	2,26	1,92	2,03
DP	0,02	0,01	0,01	0,01	0,78	0,95	0,68	0,65
S2	0,08	0,09	0,08	0,07	1,64	1,65	1,87	2,02
	0,06	0,07	0,08	0,09	1,56	1,76	1,3	1,94
	0,08	0,08	0,09	0,08	1,82	0,96	1,25	1,38
	0,06	0,06	0,06	0,06	1,75	1,86	1,74	1,76
	0,06	0,07	0,08	0,09	1,81	1,91	2,01	1,82
	0,06	0,07	0,06	0,06	1,99	1,97	1,99	1,74
	0,06	0,07	0,08	0,08	1,95	1,75	1,8	2,01
	0,06	0,07	0,08	0,08	1,57	1,47	1,34	1,46
	0,06	0,07	0,08	0,08	1,37	1,59	1,55	1,48
	0,06	0,07	0,07	0,06	1,92	1,85	2,14	2,1
Média	0,06	0,07	0,08	0,08	1,74	1,68	1,70	1,77
DP	0,01	0,01	0,01	0,01	0,19	0,28	0,30	0,24
S3	0,05	0,06	0,07	0,07	2,48	2,15	1,81	1,43
	0,04	0,06	0,07	0,07	2,34	1,44	1,42	1,75
	0,05	0,07	0,07	0,08	1,82	1,25	1,57	1,45
	0,06	0,05	0,07	0,08	2,4	2,8	2,51	2,03
	0,05	0,05	0,07	0,07	4,79	0,95	1,65	2,52
	0,05	0,07	0,06	0,07	1,84	1,95	1,77	1,05
	0,04	0,05	0,06	0,07	1,17	1,98	2,09	1,04

	0,05	0,06	0,06	0,06	3,04	0,78	0,86	1,43
	0,06	0,06	0,07	0,07	3,02	2,89	3,08	4,12
	0,06	0,07	0,07	0,07	2,31	2,1	2,29	1,39
Média	0,05	0,06	0,07	0,07	2,52	1,83	1,91	1,82
DP	0,01	0,01	0,00	0,01	0,92	0,68	0,59	0,88
S4	0,05	0,06	0,06	0,05	1,52	0,8	0,81	1,5
	0,05	0,04	0,05	0,06	3,6	1,28	1,35	1,02
	0,06	0,06	0,06	0,05	1,91	2,35	2,22	1,6
	0,06	0,05	0,06	0,04	2,74	2,19	2,45	1,46
	0,06	0,06	0,06	0,05	3,53	2,51	3,28	1,92
	0,05	0,05	0,06	0,04	3,12	1,14	2,62	1,66
	0,04	0,04	0,05	0,06	0,92	2,95	3,4	2,11
	0,06	0,07	0,06	0,07	0,93	0,86	1,81	2,25
	0,09	0,08	0,06	0,05	3,46	0,72	1,12	2,65
	0,05	0,06	0,06	0,04	2,27	4,43	3,91	1,08
Média	0,06	0,06	0,06	0,05	2,40	1,92	2,30	1,73
DP	0,01	0,01	0,00	0,01	0,99	1,13	0,98	0,49

Os dados das superfícies polidas e não polidas foram estudados separadamente. A análise dos dados da superfície polida (Tabela 24) mostra que não houve alteração significativa na rugosidade dos corpos de prova em função do período ($p=0,062$). A rugosidade sofreu alteração em função das soluções ($p=0,00$) e da interação entre os fatores ($p=0,005$).

Tabela 24. Análise da rugosidade da superfície polida dos corpos de prova em função do período de escovação e soluções.

Fatores de variação	Soma dos Quad.	DL	Quad. médios	F	Sig.
Período	,001	3	,000	2,498	,062
Solução	,006	3	,002	17,173	,000
Período * solução	,003	9	,000	2,806	,005
Erro	,016	144	,000		
Total	,690	160			

As figuras 49 e 50 apresentam a comparação das médias para os fatores isolados (período e soluções), respectivamente. A tabela 25 e a figura 51 apresentam a comparação das médias para a interação entre os fatores. Para as soluções S1 e S4, o período de tempo não

influenciou a rugosidade dos espécimes. Para a solução S2, a rugosidade sofreu alteração a partir de 07 dias de imersão, permanecendo igual após 14 e 21 dias. Para a solução S3, a rugosidade apresentou alteração a partir de 14 dias e não houve diferença após 21 dias de imersão. Após 07 e 14 dias as soluções S2 e S3 promoveram as maiores alterações da rugosidade, porém ao final de 21 dias, não houve diferença entre as soluções, exceto a salina.

Figura 49. Médias (DP) de Rugosidade da superfície polida dos espécimes em função do período de escovação (Cores iguais indicam igualdade estatística).

Figura 50. - Comparação das médias de Rugosidade da superfície polida dos espécimes em função das soluções. Cores diferentes indicam diferença estatística.

Tabela 25. Comparação das medias (DP) de rugosidade da superfície polida em função da interação entre os fatores.

Soluções	Período (Dias)			
	Inicial	Sete	Catorze	Vinte e um
S1	0,07 <i>Aa</i> 0,017	0,066 <i>ABa</i> 0,0013	0,067 <i>Aa</i> 0,012	0,067 <i>Aa</i> 0,013
S2	0,064 <i>Aa</i> 0,008	0,072 <i>Bab</i> 0,007	0,076 <i>Cb</i> 0,009	0,075 <i>Ab</i> 0,012
S3	0,051 <i>Aa</i> 0,007	0,06 <i>ABa</i> 0,008	0,067 <i>Ab</i> 0,005	0,071 <i>Ab</i> 0,006
S4	0,057 <i>Aa</i> 0,013	0,057 <i>Aa</i> 0,012	0,058 <i>Ba</i> 0,004	0,051 <i>Ba</i> 0,01

Letras maiúsculas = comparação entre linhas; Letras minúsculas = comparação entre colunas. Letras iguais = igualdade estatística.

Figura 51. Comparação das médias de Rugosidade da superfície polida dos espécimes em função das interações. Cores diferentes indicam diferença estatística.

Para a superfície não polida, a análise dos dados (Tabela 26) não indicou diferença estatística na rugosidade dos espécimes frente aos fatores de variação (período, solução e interação). As médias dos fatores isolados estão apresentadas nas figuras 52 e 53, e as da interação podem ser analisadas na tabela 23.

Tabela 26. Análise dos dados de rugosidade da superfície não polida.

Fatores de variação	Soma dos Quad.	DL	Quad. médios	F	Sig.
Período	4,074	3	1,358	2,009	,115
Solução	4,004	3	1,335	1,974	,120
Período* solução	6,565	9	,729	1,079	,382
Erro	97,332	144	,676		
Total	747,702	160

Figura 52. Médias (DP) de Rugosidade da superfície não polida dos espécimes em função do período de escovação (Cores iguais indicam igualdade estatística).

Figura 53. Comparação das médias de Rugosidade da superfície não polida dos espécimes em função das soluções. (Cores iguais indicam igualdade estatística).

As figuras de 54 a 61 apresentam imagens da microscopia eletrônica de varredura da superfície polida e não polida dos espécimes de cada grupo de solução antes de serem expostos ao protocolo de higiene e após 21 dias.

Figura 54. Fotomicrografias da superfície polida dos corpos de prova em resina acrílica antes (A) e após 21 dias (B) de escovação associada à imersão em Hipoclorito de sódio a 0,25%.

Analisando as fotomicrografias das superfícies polidas dos espécimes em resina acrílica termopolimerizável, no período inicial e após 21 dias de imersão em hipoclorito de sódio a 0,25%, foi observada a presença de alterações superficiais aparentes (figura 54).

Figura 55. Fotomicrografias da superfície não polida dos corpos de prova em resina acrílica antes (A) e após 21 dias (B) de escovação associada à imersão em Hipoclorito de sódio a 0,25%.

Analisando as fotomicrografias das superfícies não polidas dos espécimes em resina acrílica termopolimerizável, no período inicial e após 21 dias de imersão em hipoclorito de sódio a 0,25%, foi observada ausência de alterações superficiais aparentes (figura 55).

Figura 56. Fotomicrografias da superfície polida dos corpos de prova em resina acrílica antes (A) e após 21 dias (B) de escovação associada à imersão em Hipoclorito de sódio a 0,5%.

Analisando as fotomicrografias das superfícies polidas dos espécimes em resina acrílica termopolimerizável, no período inicial e após 21 dias de imersão em hipoclorito de sódio a 0,5%, foi observada a presença de alterações superficiais aparentes (figura 56).

Figura 57. Fotomicrografias da superfície não polida dos corpos de prova em resina acrílica antes (A) e após 21 dias (B) de escovação associada à imersão em Hipoclorito de sódio a 0,5%.

Analisando as fotomicrografias das superfícies não polidas dos espécimes em resina acrílica termopolimerizável, no período inicial e após 21 dias de imersão em hipoclorito de sódio a 0,5%, foi observada ausência de alterações superficiais aparentes (figura 57).

Figura 58. Fotomicrografias da superfície polida dos corpos de prova em resina acrílica antes (A) e após 21 dias (B) de escovação associada à imersão em *Ricinus communis* a 10%.

Analisando as fotomicrografias das superfícies polidas dos espécimes em resina acrílica termopolimerizável, no período inicial e após 21 dias de imersão em *Ricinus communis* a 10%, foi observada a presença de alterações superficiais aparentes (figura 58).

Figura 59. Fotomicrografias da superfície não polida dos corpos de prova em resina acrílica antes (A) e após 21 dias (B) de escovação associada à imersão em *Ricinus communis* a 10%.

Analisando as fotomicrografias das superfícies não polidas dos espécimes em resina acrílica termopolimerizável, no período inicial e após 21 dias de imersão em *Ricinus communis* a 10%, foi observada ausência de alterações superficiais aparentes (figura 59).

Figura 60. Fotomicrografias da superfície polida dos corpos de prova em resina acrílica antes (A) e após 21 dias (B) de escovação associada à imersão em Salina.

Analizando as fotomicrografias das superfícies polidas dos espécimes em resina acrílica termopolimerizável, no período inicial e após 21 dias de imersão em salina, foi observada ausência de alterações superficiais aparentes (figura 60).

Figura 61. Fotomicrografias da superfície não polida dos corpos de prova em resina acrílica antes (A) e após 21 dias (B) de escovação associada à imersão em Salina.

Analisando as fotomicrografias das superfícies não polidas dos espécimes em resina acrílica termopolimerizável, no período inicial e após 21 dias de imersão em salina, foi observada ausência de alterações superficiais aparentes (figura 61).

6. Discussão

Um fator determinante para uma adequada e cuidadosa higienização diária de próteses totais é a capacidade dos métodos de higiene em remover o biofilme (Tarbet, 1982; Barnabé *et al.*, 2004; Andrade, 2012; Duyck *et al.*, 2013) e controlar os microrganismos considerados patogênicos como *Candida albicans* e bactérias bucais (Nikawa; Hamada; Yamamoto, 1998; Shay, 2000), cuja aderência é facilitada pela rugosidade superficial inerente aos dispositivos protéticos (Zissis *et al.*, 2000), em especial sua porção interna.

Em íntimo contato com a fibromucosa do palato duro e rebordo alveolar, o biofilme influencia diretamente na instalação, manutenção e exacerbação de reações inflamatórias e Candidíase atrófica crônica (Abelson, 1981; Gornitsky *et al.*, 2002; Barnabé *et al.*, 2004; Silva-Lovato *et al.*, 2010; Takamiya *et al.*, 2011; Andrade, 2011; Duyck *et al.*, 2013). Em pacientes com comprometimento sistêmico, o acúmulo de biofilme em próteses totais precariamente higienizadas é visto como um agravante ao seu estado de saúde, uma vez que pode desencadear endocardite bacteriana, pneumonia por aspiração, infecção gastrointestinal e doença pulmonar obstrutiva crônica (Coulthwaite e Verran, 2007). Dessa forma, a remoção do biofilme, necessariamente, deve ser avaliada tanto por estudos clínicos como laboratoriais (Andrade *et al.*, 2012).

Este estudo avaliou soluções higienizadoras de próteses totais do tipo imersão à base de Hipoclorito Alcalino em concentrações distintas (0,25% e 0,5%) e uma solução experimental à base de *Ricinus communis* a 10%, quanto à eficiência na remoção do biofilme da superfície interna de próteses totais, assim como sua influência na remissão da Candidíase Atrófica Crônica e satisfação dos pacientes perante as soluções instituídas (análise clínica). A alteração da rugosidade superficial da resina acrílica termopolimerizável também foi avaliada laboratorialmente, simulando os procedimentos empregados na etapa clínica deste estudo.

O emprego de soluções químicas destinadas à higienização de próteses totais por imersão tem-se tornado cada vez mais comum (Nikawa *et al.*, 1999; Shay, 2000). Dentre as soluções, o hipoclorito de sódio em diferentes concentrações (0,5%; 1%; 2%; 5,25%) tem sido muito estudado devido sua ação bactericida e fungicida (Yilmaz *et al.*, 2005; Buergers *et al.*, 2008) e por ser aceito pela *American Dental Association* – ADA, como agente para higienização e desinfecção de dispositivos protéticos (Orsi e Andrade, 2004; Fernandes *et al.*, 2013). Esta solução atua diretamente na matriz orgânica do biofilme, promovendo sua dissolução em virtude da oxidação dos componentes protéicos ou reduzindo de forma significativa a capacidade de adesão de algumas espécies de *Candida* (Nikawa *et al.*, 1999;

Barnabé *et al.*, 2004; Paranhos *et al.*, 2009a). No entanto, dependendo da concentração utilizada e modo de administração, o hipoclorito de sódio pode causar efeitos adversos aos materiais que constituem a prótese, como alteração da cor, da rugosidade superficial e da resistência à flexão, além de efeitos corrosivos e manchamento em metais (Buergers *et al.*, 2008; Pisani *et al.*, 2010; Pisani *et al.*, 2012a e 2012b; Silva *et al.*, 2011; Fernandes; Orsi; Villabona, 2013).

Com o intuito de usufruir dos benefícios do uso do hipoclorito de sódio, tendo em vista suas contraindicações alguns autores (Lima *et al.*, 2006; Rossato *et al.*, 2011; Peracini, 2012) avaliaram o hipoclorito de sódio a 0,5% e encontraram como resultado efetividade de ação no controle do biofilme de próteses totais, porém com efeitos sobre algumas propriedades da resina acrílica. Com o intuito de avaliar a efetividade do hipoclorito de sódio em concentrações ainda menores, sobre os micro-organismos presentes na prótese total, Salles (2013) avaliou o Hipoclorito de Sódio a 0,25%, fazendo necessária a avaliação da efetividade desta concentração quanto à remoção do biofilme e propriedades da resina acrílica.

Sendo assim, este estudo optou pela utilização do hipoclorito de sódio a 0,25% para verificar a sua efetividade na remoção do biofilme de próteses totais superiores, remissão da Estomatite Protética e rugosidade superficial, uma vez que não há estudos para estas variáveis empregando concentração de 0,25%. O hipoclorito de sódio a 0,5% foi utilizado para comparação dos resultados (solução padrão).

Outro agente higienizador empregado nesta pesquisa foi a solução a base de *Ricinus communis*, selecionada em virtude de sua ação antimicrobiana ser similar ao hipoclorito de sódio a 0,5% quando usado em canais radiculares com necrose (Meneghin *et al.*, 2006), além de apresentar toxicidade zero, biocompatibilidade, possuir propriedades detergentes, dentre outras (Mastrantonio e Ramalho, 2003). Outros estudos avaliaram a solução de *Ricinus communis* para prótese total (Pisani *et al.*, 2010; Malheiros-Segundo, 2011; Andrade *et al.*, 2012; Leite, 2012; Pisani *et al.*, 2012a e 2012b; Pinelli *et al.*, 2013; Salles, 2013); todavia, há necessidade de maiores abordagens e pesquisas quanto às concentrações a serem trabalhadas, visando maior eficiência na remoção do biofilme e remissão da Estomatite Protética. Como solução controle foi utilizada a salina, a exemplo dos estudos de Andrade (2011) e Salles (2013).

O delineamento do estudo clínico contou com a aleatorização das amostras que foram cruzadas, eliminando assim, a grande variação existente entre indivíduos em resposta a um

tratamento, garantindo que todos os pacientes recebessem as quatro soluções empregadas (Lima *et al.*, 2006; Paranhos *et al.*, 2007; Salles *et al.*, 2007; de Souza *et al.*, 2009; Andrade, 2011; Rossato *et al.*, 2011, Salles, 2013; Valentini *et al.*, 2013). Nos intervalos entre o uso de uma solução e outra, estabeleceu-se um período de *washout* de 7 dias, com o intuito de eliminar qualquer efeito residual do tratamento anterior – efeito “carry over” – antes de iniciar o seguinte (Rossato *et al.*, 2011; Salles, 2013; Valentini *et al.*, 2013).

A seleção do método computadorizado e fotográfico para quantificação do biofilme evidenciado com vermelho neutro a 1%, baseou-se em estudos de Cruz *et al.* (2011), Andrade *et al.* (2012), Peracini *et al.* (2012), Paranhos *et al.* (2013) e Salles, (2013). A escolha pelo evidenciador vermelho neutro a 1%, baseou-se nos achados de Silva *et al.* (2002), que afirmaram que as soluções com maior capacidade de corar, facilidade de remoção e ausência de ação antimicrobiana foram vermelho neutro (1%), eosina (1%) e eritrosina (5%), requisitos necessários para auxiliar estudos que avaliam métodos de higiene e de orientação aos pacientes.

Com base na metodologia empregada e com os resultados obtidos, foi realizada a comparação das médias da área coberta por biofilme. O uso da solução salina promoveu os maiores valores médios de biofilme, após a implementação das manobras de higienização. Este resultado era esperado e corrobora com os achados de Andrade (2011), uma vez que a salina apresenta ausência de ação detergente e/ou antimicrobiana. Contudo, houve uma redução na quantidade de biofilme quando comparado ao período de *baseline*. Esta diminuição foi decorrente da escovação, método considerado capaz de remover o biofilme (Salles *et al.*, 2007; Fernandes *et al.*, 2007; Paranhos *et al.*, 2007; Boscato *et al.*, 2009; Malheiros-Segundo, 2011). Além disso, a orientação do paciente com relação à necessidade de higienização pode ter servido como motivação para promover diminuição do biofilme.

Contudo, o uso isolado da escovação não tem ação antimicrobiana contra os micro-organismos presentes nas reentrâncias de uma prótese total, motivo pelo qual é indicada a associação dos métodos mecânicos e químicos para uma adequada higienização (Nikawa *et al.*, 1999; Shay, 2000; Gornitsky *et al.*, 2002; Barnabé *et al.*, 2004; Ramage *et al.*, 2004; Lima *et al.*, 2006; Shigli, 2009; Cruz *et al.*, 2011). Neste estudo, por meio da microscopia eletrônica de varredura, podem-se verificar na superfície não polida, áreas extensas com irregularidades nas quais as pontas das cerdas das escovas não têm acesso.

Estudos realizados por Lima *et al.* (2006) e Rossato *et al.* (2011) demonstraram que a imersão em hipoclorito de sódio a 0,5% promoveu maior remoção do biofilme. Neste trabalho, o hipoclorito de sódio a 0,5% e 0,25% associados com escovação demonstraram dentre as soluções, a maior efetividade na remoção do biofilme, sem diferenças significativas entre si.

No entanto, Salles (2013) encontrou que a concentração de 0,25% apresentou ação “moderada” contra *Candida spp.* e gram negativos, e “efetiva” sobre *S. mutans*, enquanto o hipoclorito de sódio a 0,5% teve ação “efetiva” contra todos os micro-organismos. Porém, em se tratando da higienização por meio da associação do método mecânico e químico, como estudado por Paranhos *et al.* (2009b), que provaram a superioridade dessa modalidade na eliminação de microrganismos em comparação com a aplicação dos métodos mecânicos e químicos de forma isolada, podemos afirmar que há a possibilidade do uso do hipoclorito de sódio a 0,25%, desde que associado à escovação.

A solução experimental a base de *Ricinus communis*, por sua vez, apresentou resultados intermediários, ou seja, inferiores ao hipoclorito de sódio em ambas as concentrações e superiores aos da salina. Andrade (2011) encontrou esta relação de resultados com as mesmas soluções, porém em concentrações diferentes (hipoclorito de sódio a 1% e *Ricinus communis* a 2%). O estudo de Malheiros-Segundo, (2011), concluiu que a imersão em *Ricinus communis* a 2%, promoveu os menores valores de contagem de micro-organismos quando comparado à escovação isolada e Salles *et al.* (2013), demonstrou que a concentração de *Ricinus communis* a 10% apresentou ação antimicrobiana efetiva contra *S. mutans* e moderada sobre *Candida spp.* Messeti *et al.* (2010) relataram que a ação do *Ricinus communis* frente à parede celular de bactérias, provoca a quebra da ligação glicosídica e o seu consequente rompimento. Já contra os fungos fitoterápicos, Takano *et al.* (2007) afirmaram que a propriedade detergente do *R. communis* promove danos à parede celular, ocasionando a perda de constituintes do citoplasma e morte da célula.

Correlacionando a capacidade de remoção do biofilme que embora tenha sido inferior ao hipoclorito de sódio, mas superior a salina, com a ação antimicrobiana, pode-se sugerir que há viabilidade da utilização da solução de mamona como higienizador de próteses totais

Além da capacidade de remoção do biofilme, avaliou-se ainda, a influência das soluções de limpeza na remissão da Candidíase Atrófica Crônica, caracterizada pela inflamação e eritema de regiões da mucosa bucal localizada sob os dispositivos protéticos,

sendo frequentemente assintomáticos, podendo em alguns casos, tornar-se sintomática e associada a prurido e/ou queimação. (Zissis *et al.*, 2000; Gendreau e Loewy, 2011).

A solução de *Ricinus communis* apresentou os melhores resultados quanto à remissão da Estomatite Protética, uma vez que 50% dos pacientes (Tabela 12) que utilizaram esta solução apresentaram redução do quadro de inflamação. Este achado concorda com o estudo de Pinelli *et al.* (2013), onde a solução a base de mamona causou melhoria nas condições clínicas da estomatite protética em idosos, mostrando resultados semelhantes ao Miconazol e superior a Nistatina.

O hipoclorito de sódio a 0,25% apresentou melhores resultados em comparação à concentração de 0,5%, que por sua vez foi superior apenas à salina, que obteve os piores resultados. Estes achados contradizem os resultados de ação antimicrobiana relatados por Salles (2013) e remoção do biofilme de próteses totais encontrados no presente estudo, em que a maior concentração da solução de hipoclorito alcalino foi diretamente proporcional a sua eficiência. No entanto, em se tratando da Estomatite Protética, podemos inferir que existe a possibilidade do acarretamento de reações alérgicas e/ou ação irritante advindos de resíduos remanescentes da solução empregada (Aparecida Guimarães *et al.*, 2012) sobre a resina acrílica, que muitas vezes, podem influenciar no grau de acometimento da inflamação na fibromucosa do palato e/ou rebordo alveolar.

A última etapa da parte clínica desta pesquisa envolveu a aplicação de um questionário para avaliar o grau de satisfação dos pacientes frente aos produtos utilizados à semelhança de Salles *et al.* (2007). Foram abordadas questões que muitas vezes, podem contra indicar o uso de um dado produto, dentre as quais o cheiro e sabor. Portanto, sem qualquer conhecimento da ordem ou de qual produto de fato estava sendo avaliado, o pesquisador aplicou aos pacientes um questionário de satisfação com o intuito de avaliar as soluções estudadas. Não houve diferenças estatisticamente significativas para nenhuma pergunta realizada, o que demonstra que tanto o hipoclorito de sódio (0,25% e 0,5%), quanto o *Ricinus communis*, tiveram resultados semelhantes ao da solução Salina, ou seja, não causaram qualquer desconforto aos seus usuários, evidenciando assim, a viabilidade de uso diário e comercialização. Estes resultados contradizem a literatura (Shay, 2000; Lima *et al.*, 2006), que salienta a contra indicação do hipoclorito de sódio pela presença de cheiro e odor desagradável. Cabe ressaltar que no presente estudo foram avaliadas concentrações menores que aquelas comumente estudadas.

Paralelamente à avaliação do controle do biofilme e remissão da Candidíase, a ação de soluções de higiene sobre os constituintes de próteses totais possuem relevante importância, haja vista que mesmo sendo de fácil manuseio, diversos produtos podem ocasionar alterações físicas, mecânicas e/ou químicas em dispositivos protéticos, a exemplo da rugosidade superficial, flexão e estabilidade de cor (Neppelenbroek *et al.*, 2005; Sorgini, 2011). Concordando com Lima *et al.*, (2006), Andrade (2011) e Valentini *et al.*, (2013) que se propuseram estudar a ação de soluções de higienização de próteses totais, tanto clinicamente, como de forma laboratorial, este estudo apresenta juntamente com as avaliações clínicas abordadas anteriormente, a análise da rugosidade superficial de uma resina acrílica ativada termicamente.

Não há uma padronização de técnicas para o acabamento e polimento da resina acrílica, o que torna comum a ocorrência em uma superfície aparentemente lisa a olho nu, porém com a presença de microretenções suficientes para propiciar a colonização microbiana, usualmente iniciada em sulcos e/ou depressões na superfície da resina (Zissis *et al.*, 2000; Lima *et al.*, 2006).

O parâmetro comumente empregado na quantificação dos valores médios da rugosidade superficial (Ra) recai sobre a média entre a altura de picos e vales presentes em uma dada superfície (Zissis *et al.*, 2000; Lima *et al.*, 2006). Utilizamos este parâmetro de comparação por ser amplamente empregado na literatura (Neves e Vilela, 1999; Zissis *et al.*, 2000; Jin *et al.*, 2003; Orsi e Andrade, 2004; Kataoka, 2007; Braga e Badaró, 2008; Pisani, 2010, 2012a e 2012b; Peracini *et al.*, 2010; Davi *et al.*, 2010; Sorgini, 2011; Machado *et al.*, 2011; Felipucci *et al.*, 2011; Sorgini *et al.*, 2012; Leite, 2012; Fernandes *et al.*, 2013; Paranhos *et al.*, 2013), possibilitando assim, comparações com os achados deste estudo. A variável rugosidade, assim como Kataoka (2007) e Braga e Badaró (2008), foi analisada de duas maneiras distintas, por um método quantitativo com o rugosímetro e outro qualitativo com a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Para tanto, os corpos de prova foram submetidos ao mesmo protocolo de higienização adotado na etapa clínica, com 03 escovações manuais diárias de 3 minutos e imersão nas soluções por 20 minutos, e a rugosidade foi mensurada após 7, 14 e 21 dias. Anteriormente à exposição dos espécimes ao protocolo de higiene, foi obtida a rugosidade inicial para certificar, por meio da análise estatística, que todos os grupos partiriam de rugosidade inicial semelhantes, garantindo a confiança e comparação dos resultados finais.

Os corpos de prova confeccionados em resina acrílica termoativada tiveram uma face extensivamente polida, correspondente à porção dos dispositivos protéticos voltados para mucosa jugal, língua e lábios, e outra não polida, referente à superfície que fica em contato com a fibromucosa do palato e rebordo (Kataoka, 2007; Braga e Badaró, 2008; Felipucci *et al.*, 2011).

Os achados deste trabalho quanto à rugosidade da face polida não demonstraram alterações significantes em função do período ($p=0,062$), mas houve diferença em função das soluções ($p=0,00$) e interação entre os fatores ($p=0,005$). Para S1 e S4, o período não influenciou na rugosidade. Para S2, houve alteração a partir de 07 dias, permanecendo estável após 14 dias. Para S3, houve alteração e estabilização a partir de 14 dias. Após 07 e 14 dias, S2 e S3 promoveram as maiores alterações, porém após 21 dias, não houve diferença entre as soluções, exceto a salina. Resultado este que se contrapõe ao estudo de Lima *et al.* (2006), em que apenas o efeito tempo foi significativo ($p<0,05$). Ambos os estudos adotaram metodologias distintas para o tratamento dos corpos de prova e análise da rugosidade, fato este, que pode ter determinado a não concordância dos resultados.

A solução de hipoclorito de sódio a 0,5% foi a responsável pelos maiores valores de rugosidade. Estudos presentes na literatura entram em contradição em se tratando do uso desta concentração, uma vez que há relatos que divergem quanto às alterações de Ra. Paranhos *et al.* (2009), Davi *et al.* (2010) e Felipucci *et al.* (2011) relataram ausência de significância para rugosidade superficial após as imersões. Em contrapartida, concordando com este estudo, Lima *et al.* (2006), Sorgini (2011) e Paranhos *et al.*, (2013a) obtiveram aumentos significativos das alterações na superfície dos espécimes. Kataoka (2007) e Braga e Badaró (2008) analisaram o hipoclorito de sódio a 1% em superfícies polidas, relatando ao final, ausência de alterações e aumentos significativos da rugosidade, respectivamente para face polida.

A contradição presente em relação ao uso do hipoclorito de sódio a 0,5% pode estar relacionada às marcas comerciais das resinas acrílicas empregadas, processo de confecção dos corpos de prova (inclusão e polimerização) e aos procedimentos de acabamento e polimento.

No que se refere ao hipoclorito de sódio a 0,25%, não há estudos na literatura que relatam seus efeitos sobre a rugosidade superficial da resina acrílica termopolimerizável. Podemos, portanto, afirmar que, mais trabalhos precisam ser realizados, especialmente em se tratando de maiores tempos de imersão em longos períodos de avaliação. Em nosso estudo, a

concentração de 0,25% apresentou resultados intermediários, demonstrando semelhança tanto com a solução que causou as maiores alterações (hipoclorito de sódio a 0,5%), quanto com a que promoveu os menores valores de Ra (*Ricinus communis*). O que nos leva a inferir, que há influência da concentração dos hipocloritos alcalinos sobre a resina acrílica, levando-nos a sugerir uma proporcionalidade direta entre a concentração da solução e as alterações superficiais.

A solução de *R. communis* promoveu as menores alterações de rugosidade superficial para a face polida. Nos achados de Pisani *et al.* (2010 e 2012b), mesmo empregando o *Ricinus communis* na concentração de 2%, ainda sim houve aumento nos valores médios da rugosidade superficial. Há necessidade de mais estudos voltados para a interação entre a solução de mamona e a superfície polida/não polida de resina acrílica termoativada. A Salina, como esperado, não promoveu alterações relevantes nos corpos de prova. A superfície não polida não foi influenciada pelos fatores período ($p=0,358$), solução ($p=0,120$) e interação ($p=0,204$). Azevedo *et al.* (2006), Paranhos *et al.* (2009), Davi *et al.* (2010), Felipucci *et al.* (2011) e Fernandes *et al.* (2013) relataram ausência de alterações na rugosidade superficial da resina acrílica, concordando com nossa pesquisa. Com base nos resultados laboratoriais para a superfície não polida, pode-se dizer que a capacidade de remoção clínica do biofilme pelas soluções não sofreu influência da rugosidade promovida pelas mesmas e pela associação com a escovação, sobre a superfície dos espécimes.

Considerando que se utilizou a associação dos métodos, mecânico e químico, para corpos de prova com superfícies polidas e não polidas, podemos inferir que os espécimes foram submetidos à ação de dois agentes em potencial para causar variação na rugosidade superficial. Perante a diferença dos nossos resultados encontrados, verificamos variação quanto às características superficiais dos corpos de prova, nos levando a inferir que o lado polido, por apresentar uma superfície excessivamente lisa, qualquer intervenção nela realizada poderia ocasionar maiores efeitos aparentes, refletindo com isso sua maior susceptibilidade as agressões dos procedimentos empregados. O mesmo não ocorre com uma superfície não polida, em que há maior dificuldade de ocorrer tais variações na rugosidade, uma vez que apresenta valores médios já elevados, o que necessitaria de intervenções e/ou agressões mais intensas para então causar alguma alteração significativa.

Todavia, mesmo os corpos de prova polidos apresentando aumento na rugosidade superficial, as médias obtidas na análise final (21 dias) foram todas inferiores a $0,2\mu\text{m}$, o que

segundo Zissis *et al.* (2000), é o valor máximo de rugosidade para evitar que haja a aderência de micro-organismos. Entretanto, a face não polida permaneceu acima do valor limítrofe, viabilizando assim, o acúmulo de biofilme. Dessa forma, pode-se comprovar a importância de um adequado polimento dos dispositivos protéticos (Neves e Villela, 1999) e criteriosa higienização, utilizando a associação de métodos mecânicos e químicos (Shay, 2000; Nikawa *et al.*, 1999).

A análise realizada por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV) está de acordo com os resultados indicados na análise quantitativa, evidenciando a ausência de alterações aparentes para superfícies não polidas e seu aumento para as polidas. A obtenção de fotomicrografias permite a visualização das superfícies dos espécimes de forma qualitativa, antes e após 21 dias de imersões nos agentes de limpeza. Método comparativo este, também adotado por Kataoka (2007) e Braga e Badaró (2008).

Nossos resultados para face polida corroboram com os de Braga e Badaró (2008), onde houve aumento das alterações superficiais para a face polida e diferiram de Kataoka (2007), que relatou ausência de alterações significativas. Todavia, em se tratando do lado não polido dos espécimes, nossos achados foram diferentes de ambos os estudos, uma vez que não houve significância em nossos valores de rugosidade, enquanto que Braga e Badaró (2008) informaram aumento em tais valores e Kataoka (2007) redução. As fotomicrografias dos estudos foram realizadas com aumento de 100x, porém, deve ser destacado a não padronização do local exato de análise do corpo de prova pelo MEV, o que pode determinar a aquisição de fotomicrografias que não condizem com os achados advindos do rugosímetro.

As divergências entre os estudos presentes na literatura podem ser explicadas por diferenças metodológicas instituídas, as quais promovem variações quanto ao tempo de imersão, período de exposição, manuseio e concentrações das soluções, forma de armazenamento, confecção dos corpos de prova e propriedades da resina. Portanto, um maior controle quanto aos vieses inerentes a esses estudos torna-se extremamente necessário e de suma importância para o alcance de resultados que correspondam as reais consequências do uso de cada material e/ou produto.

7. Conclusões

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que:

- A solução de hipoclorito de sódio a 0,25% e 0,5% apresentaram eficácia semelhante, promovendo a maior remoção de biofilme da superfície interna das próteses totais;
- A solução de *Ricinus communis* a 10% demonstrou eficácia intermediária quanto à remoção do biofilme de próteses totais;
- A solução de *Ricinus communis* a 10% foi a responsável por promover a maior remissão de Candidíase Atrófica Crônica seguida pela solução de Hipoclorito de sódio a 0,25%;
- Todas as soluções foram consideradas semelhantes quanto à satisfação dos pacientes;
- O hipoclorito de sódio a 0,5% promoveu aumento nos valores médios de rugosidade superficial;

Há viabilidade do uso do hipoclorito de sódio em menores concentrações e do *Ricinus communis* para remoção do biofilme, remissão da Candidíase e controle da rugosidade superficial.

ESTA DISSERTAÇÃO FOI REALIZADA COM O APOIO DA FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO – FAPESP (PROCESSO Nº 2012/08292-8).

Referências Bibliográficas¹

¹ De acordo com o International Committee of Medical Journal Editors, adaptado pela U.S. National Library of Medicine (estilo Vancouver).

Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=citmed>

1. Abelson DC. Denture plaque and denture cleansers. J Prosthet Dent. 1981 Apr;45(4):376-9.
2. Ambjornsen E, Rise J, Haugejorden O. A study of examiner errors associated with measurement of denture plaque. Acta Odontol Scand. 1984 Jun;42(3):183-91.
3. Andrade IM. Eficácia de uma solução à base de mamona (*Ricinus communis*) como higienizador de prótese total [tese]. Ribeirão Preto: Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo; 2011.
4. Andrade IM, Cruz PC, Silva-Lovato CH, de Souza RF, Souza-Gugelmin MC, Paranhos Hde F. Effect of chlorhexidine on denture biofilm accumulation. J Prosthodont. 2012 Jan;21(1):2-6.
5. Andruccioli MC, de Macedo LD, Panzeri H, Lara EH, Paranhos Hde F. Comparison of two cleansing pastes for the removal of biofilm from dentures and palatal lesions in patients with atrophic chronic candidiasis. Braz Dent J. 2004;15(3):220-4.
6. Aparecida Guimarães M, Rocchetto Coelho L, Rodrigues Souza R, Ferreira-Carvalho BT, Marie Sá Figueiredo A. Impact of biocides on biofilm formation by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (ST239-SCCmecIII) isolates. Microbiol Immunol. 2012 Mar;56(3):203-7
7. Azevedo A, Machado AL, Vergani CE, Giampaolo ET, Pavarina AC, Magnani R. Effect of disinfectants on the hardness and roughness of reline acrylic resins. J Prosthodont. 2006 Jul-Aug;15(4):235-42.
8. Barnabe W, de Mendonca Neto T, Pimenta FC, Pegoraro LF, Scolaro JM. Efficacy of sodium hypochlorite and coconut soap used as disinfecting agents in the reduction of denture stomatitis, *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. J Oral Rehabil. 2004 May;31(5):453-9.
9. Bloem TJ, Razzoog ME. An index for assessment of oral health in the edentulous population. Spec Care Dentist. 1982 May-Jun;2(3):121-4.
10. Boscato N, Radavelli A, Faccio D, Loguercio AD. Biofilm formation of *Candida albicans* on the surface of a soft denture-lining material. Gerodontology. 2009 Sep;26(3):210-3.

11. Braga ACOP, Badaró MM. Efeito de agentes de limpeza sobre a rugosidade superficial de uma resina acrílica termopolimerizável [Trabalho de Conclusão de Curso]. Belém: Faculdade de Odontologia do Pará, Universidade Federal do Pará; 2008.
12. Buergers R, Rosentritt M, Schneider-Brachert W, Behr M, Handel G, Hahnel S. Efficacy of denture disinfection methods in controlling *Candida albicans* colonization in vitro. *Acta Odontol Scand*. 2008 Jun;66(3):174-80.
13. Coulthwaite L, Verran J. Potential pathogenic aspects of denture plaque. *Br J Biomed Sci*. 2007;64(4):180-9.
14. Cruz PC, Andrade IM, Peracini A, Souza-Gugelmin MC, Silva-Lovato CH, de Souza RF, *et al*. The effectiveness of chemical denture cleansers and ultrasonic device in biofilm removal from complete dentures. *J Appl Oral Sci*. 2011 Nov-Dec;19(6):668-73.
15. da Silva CH, Paranhos Hde F. Efficacy of biofilm disclosing agent and of three brushes in the control of complete denture cleansing. *J Appl Oral Sci*. 2006 Dec;14(6):454-9.
16. Davi LR, Peracini A, Ribeiro Nde Q, Soares RB, da Silva CH, Paranhos Hde F, *et al*. Effect of the physical properties of acrylic resin of overnight immersion in sodium hypochlorite solution. *Gerodontology*. 2010 Dec;27(4):297-302.
17. de Souza RF, Nascimento C, Regis RR, Silva-Lovato CH, Paranhos HF. Effects of the domestic use of a disclosing solution on the denture biofilm: a preliminary study. *J Oral Rehabil*. 2009 Jul;36(7):491-7.
18. Duyck J, Vandamme K, Muller P, Teughels W. Overnight storage of removable dentures in alkaline peroxide-based tablets affects biofilm mass and composition. *J Dent*. 2013, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdent.2013.08.002>.
19. Felipucci DN, Davi LR, Paranhos HF, Bezzon OL, Silva RF, Pagnano VO. Effect of different cleansers on the surface of removable partial denture. *Braz Dent J*. 2011;22(5):392-7.

20. Fernandes RA, Lovato-Silva CH, Paranhos Hde F, Ito IY. Efficacy of three denture brushes on biofilm removal from complete dentures. *J Appl Oral Sci.* 2007 Feb;15(1):39-43.
21. Fernandes FH, Orsi IA, Villabona CA. Effects of the peracetic acid and sodium hypochlorite on the colour stability and surface roughness of the denture base acrylic resins polymerised by microwave and water bath methods. *Gerodontology.* 2013 Mar;30(1):18-25.
22. Gendreau L, Loewy ZG. Epidemiology and etiology of denture stomatitis. *J Prosthodont.* 2011 Jun;20(4):251-60.
23. Gornitsky M, Paradis II, Landaverde G, Malo AM, Velly AM. A clinical and microbiological evaluation of denture cleansers for geriatric patients in long-term care institutions. *J Can Dent Assoc.* 2002 Jan;68(1):39-45.
24. Jin C, Nikawa H, Makihiro S, Hamada T, Furukawa M, Murata H. Changes in surface roughness and colour stability of soft denture lining materials caused by denture cleansers. *J Oral Rehabil.* 2003 Feb;30(2):125-30.
25. Kataoka, LM. Estudo dos efeitos de agentes de limpeza na superfície de resina acrílica termopolimerizável [Trabalho de Conclusão de Curso - TCC]. Belém: Centro Universitário do Estado do Pará, CESUPA; 2007.
26. Leite VMF. Avaliação laboratorial de um dentifrício experimental à base de *Ricinus communis* para limpeza de próteses totais [dissertação]. Ribeirão Preto: Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo; 2012.
27. Lima EM, Moura JS, Del Bel Cury AA, Garcia RC, Cury JA. Effect of enzymatic and NaOCl treatments on acrylic roughness and on biofilm accumulation. *J Oral Rehabil.* 2006 May;33(5):356-62.
28. 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.
29. Malheiros-Segundo AL. Avaliação clínica e laboratorial de uma solução experimental para higiene de reembasador resiliente para prótese total [tese].

Ribeirão Preto: Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo; 2011.

30. Mastrantonio SS, Ramalho LTO. Resposta do tecido conjuntivo de camundongos ao poliuretano vegetal de óleo de mamona. Rev. Odontol. UNESP. 2003; 32(1):31-7.
31. Meneghin MP, Nomelini SM, Sousa-Neto MD, Marchesan MA, Franca SC, dos Santos HS. Morphologic and morphometric analysis of the root canal apical third cleaning after biomechanical preparation using 3.3% *Ricinus communis* detergent and 1% NaOCl as irrigating solutions. J Appl Oral Sci. 2006 Jun;14(3):178-82.
32. Messetti MA, dos Santos AM, de Angelis DF, Chierice GO, Claro Neto S. Estudo do Derivado do Óleo de *Ricinus communis* L. (mamona) como Agente Biocida e Redutor da Viscosidade Produzida por *Leuconostoc mesenteroides* em Indústrias Sucroalcooleiras. Arq Inst Biol. 2010;77(2):301-8.
33. Neppelenbroek KH, Pavarina AC, Vergani CE, Giampaolo ET. Hardness of heat-polymerized acrylic resins after disinfection and long-term water immersion. J Prosthet Dent. 2005 Feb;93(2):171-6.
34. Neves AC, Villela LC. Avaliação da rugosidade da superfície da resina acrílica termopolimerizável incolor após acabamento e polimento convencionais e após a aplicação de um verniz específico para acabamento de resina acrílica. Rev. Fac. Odontol. São José dos Campos. 1999; 2(2):15-21.
35. Nikawa H, Hamada T, Yamamoto T. Denture plaque--past and recent concerns. J Dent. 1998 May;26(4):299-304.
36. Nikawa H, Hamada T, Yamashiro H, Kumagai H. A review of in vitro and in vivo methods to evaluate the efficacy of denture cleansers. Int J Prosthodont. 1999 Mar-Apr;12(2):153-9.
37. Nikawa H, Jin C, Makihiro S, Egusa H, Hamada T, Kumagai H. Biofilm formation of *Candida albicans* on the surfaces of deteriorated soft denture lining materials caused by denture cleansers in vitro. J Oral Rehabil. 2003 Mar;30(3):243-50.
38. Orsi IA, Andrade VG. Effect of chemical disinfectants on the transverse strength of heat-polymerized acrylic resins submitted to mechanical and chemical polishing. J Prosthet Dent. 2004 Oct;92(4):382-8.

39. Paranhos Hde F, da Silva CH. Comparative study of methods for the quantification of biofilm on complete dentures. *Braz Oral Res.* 2004 Jul-Sep;18(3):215-23.
40. Paranhos Hde F, Davi LR, Peracini A, Soares RB, Lovato CH, Souza RF. Comparison of physical and mechanical properties of microwave-polymerized acrylic resin after disinfection in sodium hypochlorite solutions. *Braz Dent J.* 2009a;20(4):331-5.
41. Paranhos Hde F, Peracini A, Pisani MX, Oliveira Vde C, de Souza RF, Silva-Lovato CH. Color stability, surface roughness and flexural strength of an acrylic resin submitted to simulated overnight immersion in denture cleansers. *Braz Dent J.* 2013a;24(2):152-6.
42. Paranhos Hde F, Salles AE, Macedo LD, Silva-Lovato CH, Pagnano VO, Watanabe E. Complete denture biofilm after brushing with specific denture paste, neutral soap and artificial saliva. *Braz Dent J.* 2013b;24(1):47-52.
43. Paranhos HF, Silva-Lovato CH, de Souza RF, Cruz PC, de Freitas-Pontes KM, Watanabe E, *et al.* Effect of three methods for cleaning dentures on biofilms formed in vitro on acrylic resin. *J Prosthodont.* 2009b Jul;18(5):427-31.
44. Paranhos HF, Silva-Lovato CH, Souza RF, Cruz PC, Freitas KM, Peracini A. Effects of mechanical and chemical methods on denture biofilm accumulation. *J Oral Rehabil.* 2007 Aug;34(8):606-12.
45. Pavarina AC, Machado AL, Giampaolo ET, Vergani CE. Effects of chemical disinfectants on the transverse strength of denture base acrylic resins. *J Oral Rehabil.* 2003 Nov;30(11):1085-9.
46. Peracini A, Andrade IM, Paranhos Hde F, Silva CH, de Souza RF. Behaviors and hygiene habits of complete denture wearers. *Braz Dent J.* 2010;21(3):247-52.
47. Peracini A. Soluções higienizadoras de prótese total: avaliação da remoção de biofilme e efeito sobre propriedades da resina acrílica termopolimerizável [tese]. Ribeirão Preto: Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo; 2012.

48. Pinelli LA, Montandon AA, Corbi SC, Moraes TA, Fais LM. *Ricinus communis* treatment of denture stomatitis in institutionalised elderly. J Oral Rehabil. 2013 May;40(5):375-80.
49. Pisani MX, da Silva CH, Paranhos HF, Souza RF, Macedo AP. Evaluation of experimental cleanser solution of *Ricinus communis*: effect on soft denture liner properties. Gerodontology. 2012a Jun;29(2):e179-85.
50. Pisani MX, Macedo AP, Paranhos Hde F, Silva CH. Effect of experimental *Ricinus communis* solution for denture cleaning on the properties of acrylic resin teeth. Braz Dent J. 2012b;23(1):15-21.
51. Pisani MX, Lovato-Silva CH, Paranhos HFO, Souza RF, Macedo AP. The Effect of Experimental Denture Cleanser Solution *Ricinus communis* on Acrylic Resin Properties. Materials Research. 2010; 13(3): 369-73.
52. Ramage G, Tomsett K, Wickes BL, López-Ribot JL, Redding SW. Denture stomatitis: A role for Candida biofilms. Oral Sur Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2004;98(1):53-9.
53. Rossato MB, Unfer B, May LG, Braun KO. Analysis of the effectiveness of different hygiene procedures used in dental prostheses. Oral Health Prev Dent. 2011;9(3):221-7.
54. Salles AE, Macedo LD, Fernandes RA, Silva-Lovato CH, Paranhos Hde F. Comparative analysis of biofilm levels in complete upper and lower dentures after brushing associated with specific denture paste and neutral soap. Gerodontology. 2007 Dec;24(4):217-23.
55. Salles, MM. Eficácia da ação antimicrobiana de soluções químicas – hipoclorito alcalino e mamona (*Ricinus communis*) – frente a micro-organismos específicos [dissertação]. Ribeirão Preto: Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo; 2013.
56. Sartori EA, Schmidt CB, Walber LF, Shinkai RS. Effect of microwave disinfection on denture base adaptation and resin surface roughness. Braz Dent J. 2006;17(3):195-200.
57. Shay K. Denture hygiene: a review and update. J Contemp Dent Pract. 2000 Feb 15;1(2):28-41.

58. Sheen SR, Harrison A. Assessment of plaque prevention on dentures using an experimental cleanser. *J Prosthet Dent*. 2000 Dec;84(6):594-601.
59. Shigli K. Aftercare of the complete denture patient. *J Prosthodont*. 2009 Dec;18(8):688-93.
60. Silva PM, Acosta EJ, Jacobina M, Pinto Lde R, Porto VC. Effect of repeated immersion solution cycles on the color stability of denture tooth acrylic resins. *J Appl Oral Sci*. 2011 Nov-Dec;19(6):623-7.
61. Silva-Lovato CH, Paranhos HFO, Ito IY. Evidenciadores de biofilme em prótese total: avaliação clínica e ação antimicrobiana. *Pesquisa Odontológica Brasileira*. 2002; 16(3): 270-75.
62. Silva-Lovato CH, Wever B, Adriaens E, Paranhos Hde F, Watanabe E, Pisani MX, *et al*. Clinical and antimicrobial efficacy of NitrAdine -based disinfecting cleaning tablets in complete denture wearers. *J Appl Oral Sci*. 2010 Dec;18(6):560-5.
63. Sorgini DB, Silva-Lovato CH, de Souza RF, Davi LR, Paranhos Hde F. Abrasiveness of conventional and specific denture-cleansing dentifrices. *Braz Dent J*. 2012;23(2):154-9.
64. Sorgini, DB. Avaliação da perda de massa e alteração da rugosidade superficial causada pela associação dos métodos mecânico (escovação) e químico (imersão) de higiene de próteses totais. Ribeirão Preto: Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo; 2013.
65. Takamiya AS, Monteiro DR, Barao VA, Pero AC, Compagnoni MA, Barbosa DB. Complete denture hygiene and nocturnal wearing habits among patients attending the Prosthodontic Department in a Dental University in Brazil. *Gerodontology*. 2011 Jun;28(2):91-6.
66. Takano EH, Busso C, Gonçalves AL, Chierice GO, Guimarães-Catazarro SA, Prado-Castro MAA. 2007. Inibição do desenvolvimento de fungos fitopatogênicos por detergente derivado de óleo da mamona (*Ricinus communis*). *Cienc Rural*. 2007;37(5):1235-40.
67. Tarbet WJ. Denture plaque: quiet destroyer. *J Prosthet Dent*. 1982 Dec;48(6):647-52.

68. Uludamar A, Ozkan YK, Kadir T, Ceyhan I. In vivo efficacy of alkaline peroxide tablets and mouthwashes on *Candida albicans* in patients with denture stomatitis. *J Appl Oral Sci.* 2010 May-Jun;18(3):291-6.
69. Uludamar A, Ozyesil AG, Ozkan YK. Clinical and microbiological efficacy of three different treatment methods in the management of denture stomatitis. *Gerodontology.* 2011 Jun;28(2):104-10.
70. Valentini F, Luz MS, Boscato N, Pereira-Cenci T. Biofilm formation on denture liners in a randomised controlled in situ trial. *J Dent.* 2013 May;41(5):420-7.
71. Yasui M, Ryu M, Sakurai K, Ishihara K. Colonisation of the oral cavity by periodontopathic bacteria in complete denture wearers. *Gerodontology.* 2012 Jun;29(2):e494-502.
72. Yilmaz H, Aydin C, Bal BT, Ozelik B. Effects of disinfectants on resilient denture-lining materials contaminated with *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sobrinus*, and *Candida albicans*. *Quintessence Int.* 2005 May;36(5):373-81.
73. Zissis AJ, Polyzois GL, Yannikakis SA, Harrison A. Roughness of denture materials: a comparative study. *Int J Prosthodont.* 2000 Mar-Apr;13(2):136-40.

Apêndices

Apêndice A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (Capítulo IV, itens 1 a 3 da Resolução 196/96 – Conselho Nacional de Saúde)

Convidamos você....., RG....., a participar como sujeito da pesquisa “Avaliação da eficácia de soluções higienizadoras sobre o biofilme de usuários de Próteses Totais” desenvolvida sob a responsabilidade da CD Marcela Moreira Salles (Pós-graduanda), e com a participação da Profa. Dra. Helena de Freitas Oliveira Paranhos, Profa. Dra. Claudia Helena Lovato da Silva, Prof. Dr. Raphael Freitas de Souza, Prof. Dr. Evandro Watanabe, e CD Mauricio Malheiros Badaró (Pós-graduando). Após receber todas as explicações necessárias para a participação da pesquisa, cabe a você decidir de livre e espontânea vontade se quer assinar este **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido** com a finalidade de autorizar a sua participação na referida pesquisa.

Sendo assim, esclarecemos que:

1. O estudo tem por objetivo avaliar produtos líquidos onde as próteses deverão ficar mergulhadas para a limpeza.
2. Todos os participantes receberão todos os produtos para serem utilizados.
3. Estes produtos deverão ser utilizados em casa pelo período recomendado, de acordo com as instruções que os pesquisadores entregarão por escrito.
4. Para verificar se o produto está limpando ou não, as dentaduras serão avaliadas na clínica fora da boca.
5. Para isso, as dentaduras serão coradas com um produto adequado e depois serão escovadas pelos pesquisadores com escova, água e pasta até que fiquem limpas.
6. Quando os pesquisadores estiverem manipulando suas próteses, estas poderão cair no chão, vindo a quebrar-se. Porém, todos os cuidados serão tomados por nós para que isso não ocorra, e caso aconteça, serão feitas novas dentaduras.
7. Caso ocorra algum dano à sua saúde, em razão da participação na pesquisa, os pesquisadores serão responsáveis por quaisquer despesas.
8. Para que a pesquisa possa atingir os objetivos, todos os participantes deverão comparecer à clínica da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, nos dias e horários agendados. Serão 12 semanas (3 meses). Estes horários serão agendados no mesmo dia do atendimento para a confecção das dentaduras novas.
9. Os pesquisadores se comprometem a prestar assistência integral no decorrer da pesquisa, caso algum dano venha a ocorrer com as próteses totais.
10. A pesquisa não apresenta riscos previsíveis aos participantes.
11. Como benefícios, os participantes terão toda a orientação e treinamento para que mantenham suas próteses limpas e com isso, uma saúde bucal. Além disso, eles receberão todos os produtos necessários para a limpeza das dentaduras, durante o período da pesquisa.
12. Os participantes poderão esclarecer qualquer dúvida sobre a pesquisa antes, durante e após a realização da pesquisa.
13. Os participantes não terão custos com os produtos utilizados na pesquisa.
14. Os resultados da pesquisa deverão ser publicados em congressos, jornais ou revistas.
15. Os pesquisadores manterão sigilo sobre sua participação na pesquisa.
16. Como sua participação é voluntária, tem o direito de interrompê-la em qualquer momento, sem sofrer penalizações.
17. Qualquer dúvida que você tiver, poderá ser esclarecida por um dos pesquisadores envolvidos nesta pesquisa, durante o desenvolvimento desta pesquisa. Caso necessitar poderá entrar em contato com a Profa. Dra. Helena de Freitas Oliveira Paranhos pelo telefone 3602-4031, ou com qualquer um dos demais pesquisadores.
18. Você receberá uma cópia desse termo de consentimento.

Após estes esclarecimentos, se você, nominado acima, concordar em participar desta pesquisa, solicito que assine abaixo.

Ribeirão Preto, __30__ de _____ março _____ de 2012.

AVENIDA DO CAFÉ S/Nº
14040-904 – RIBEIRÃO PRETO – S.P. – BRASIL

Maurício Malheiros Badaró

Apêndice A (Continuação) - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

Pesquisador Responsável
Marcela Moreira Salles
CPF: 352.230.378-47
3602-4031

Claudia Helena Lovato da Silva
CPF: 186.456.998-00
3602-4006

Raphael Freitas de Souza
CPF: 269.932.318-75
3602-0271

Evandro Watanabe
CPF: 221.222.858-93
3602-4078

Helena de Freitas Oliveira Paranhos
CPF: 258.532.791-49
3602-4031

Mauricio Malheiros Badaró
CPF: 802.640.692-34
3602-4006

Paciente ou Responsável

Secretaria do CEP: Ana Aparecida Ferreira do
Nascimento - 3602-0251
Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto
Avenida do Café, Sn - Monte Alegre
Ribeirão Preto - SP

AVENIDA DO CAFÉ S/Nº
14040-904 - RIBEIRÃO PRETO - S.P. - BRASIL

Mauricio Malheiros Badaró

Apêndice B - Instruções de higiene das próteses totais.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

INSTRUÇÕES:

- Escove a dentadura com a escova específica para próteses totais e sabonete líquido, após as refeições (café da manhã, almoço e jantar – 3 vezes ao dia) por 3 minutos.
- Após a última escovação do dia imersão a dentadura em um recipiente contendo 200 ml da solução recebida, por 20 minutos.
- Retire a dentadura da solução e enxague em água corrente e coloque a dentadura em um copo com água limpa durante a noite.
- A solução para imersão da dentadura será fornecida em frasco contendo o suficiente para 07 dias de uso.

Anexos

Anexo A - Comitê de ética (número de processo e aprovação).

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO
PRETO/ FORP/ USP

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Avaliação da eficácia de soluções higienizadoras sobre biofilme de usuários de próteses totais.

Pesquisador: Marcela Moreira Salles

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 01371412.6.0000.5419

Instituição Proponente: Universidade de São Paulo

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 228.587

Data da Relatoria: 21/03/2013

Apresentação do Projeto:

Está adequadamente construído.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar, por meio de estudo clínico: 1. Capacidade de remoção do biofilme de superfícies de próteses totais; 2.

Ação antimicrobiana (in vivo) contra microrganismos específicos - Contagem de unidades formadoras de colônia

de cepas dos gêneros Streptococcus e Candida.

Objetivo Secundário:

Avaliar: 1. Efeito dos métodos instituídos na remissão da estomatite protética; 2. Avaliação das soluções pelos pacientes, por meio de questionário.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Estão descritos os riscos e benefícios bem como apoio e atendimento ao sujeito da pesquisa

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto está adequadamente estruturado de acordo com as normas do CEP

Está previsto para execução o período de abril/2012 a outubro /2013

Endereço: Avenida do Café s/nº

Bairro: Monte Alegre

CEP: 14.040-904

UF: SP

Município: RIBEIRÃO PRETO

Telefone: (16)3602-0251

Fax: (16)3602-4102

E-mail: cep@forp.usp.br

Anexo A (Continuação) - Comitê de ética (número de processo e aprovação).

<div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: center;"><div>FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO/ FORP/ USP</div><div> </div></div>												
<p>Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória: Os termos apresentados estão de acordo.</p>												
<p>Recomendações: Nada a relatar.</p>												
<p>Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações: Não há.</p>												
<p>Situação do Parecer: Aprovado</p>												
<p>Necessita Apreciação da CONEP: Não</p>												
<p>Considerações Finais a critério do CEP: Projeto aprovado na 131ª R.O do CEP/FORP. De acordo com o Parecer CONEP nº 64457, de 28/06/2012, nesse caso, a aprovação ética é delegada ao Comitê de Ética em Pesquisa da instituição.</p>												
<p>RIBEIRAO PRETO, 25 de Março de 2013</p> <hr style="width: 30%; margin: 10px auto;"/> <p style="text-align: center;">Assinador por: JOSÉ TARCÍSIO LIMA FERREIRA (Coordenador)</p>												
<table border="0" style="width: 100%;"><tr><td colspan="2">Endereço: Avenida do Café s/nº</td><td>CEP: 14.040-904</td></tr><tr><td>Bairro: Monte Alegre</td><td colspan="2"></td></tr><tr><td>UF: SP</td><td>Município: RIBEIRAO PRETO</td><td></td></tr><tr><td>Telefone: (16)3602-0251</td><td>Fax: (16)3602-4102</td><td>E-mail: cep@forp.usp.br</td></tr></table>	Endereço: Avenida do Café s/nº		CEP: 14.040-904	Bairro: Monte Alegre			UF: SP	Município: RIBEIRAO PRETO		Telefone: (16)3602-0251	Fax: (16)3602-4102	E-mail: cep@forp.usp.br
Endereço: Avenida do Café s/nº		CEP: 14.040-904										
Bairro: Monte Alegre												
UF: SP	Município: RIBEIRAO PRETO											
Telefone: (16)3602-0251	Fax: (16)3602-4102	E-mail: cep@forp.usp.br										