



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
MESTRADO EM CLÍNICA ODONTOLÓGICA

IANA SÁ DE OLIVEIRA

ESTUDO CLÍNICO DO BIOFILME DE PRÓTESES TOTAIS
IMPLANTOSSUPORTADAS

FORTALEZA

2019

IANA SÁ DE OLIVEIRA

ESTUDO CLÍNICO DO BIOFILME DE PRÓTESES TOTAIS IMPLANTOSSUPOORTADAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Odontologia. Área de concentração: Clínica Odontológica.

Orientadora: Profa. Dra. Karina Matthes de Freitas Pontes.

FORTALEZA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- O47e Oliveira, Iana Sá de.
 Estudo clínico do biofilme de próteses totais implantossuportadas / Iana Sá de Oliveira. – 2019.
 78 f. : il.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e
 Enfermagem, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Fortaleza, 2019.
 Orientação: Profa. Dra. Karina Matthes de Freitas Pontes.
1. Biofilmes. 2. Prótese dentária fixada por implante. 3. Sonda de DNA. I. Título.
- CDD 617.6
-

IANA SÁ DE OLIVEIRA

ESTUDO CLÍNICO DO BIOFILME DE PRÓTESES TOTAIS IMPLANTOSSUPORTADAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Odontologia. Área de concentração: Clínica Odontológica.

Orientadora: Profa. Dra. Karina Matthes de Freitas Pontes.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Karina Matthes de Freitas Pontes (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^ª. Dr^ª. Ana Cristina de Melo Fiallos
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr^ª. Fernanda Araújo Sampaio Nogueira
Centro Universitário Christus (UNICHRISTUS)

AGRADECIMENTOS

A Deus e a Nossa Senhora, guias da minha vida, que me orientam fielmente pelos melhores caminhos, com muito cuidado e amor, consagro todos os meus dias.

Aos meus pais, LUIZ e JOSEFA, por serem minha base. Obrigada por todo carinho e educação dedicados a mim. Meu coração é grato por vivenciar a real referência de “família” e ter essa relação firmada e consolidada em meus pais.

Ao meu marido, LUCAS, meu grande amor e melhor amigo. Agradeço por tornar meus dias mais felizes e leves, por me incentivar e vibrar com as minhas conquistas. Obrigada pela parceria durante todo esse tempo!

Ao meu irmão IGOR e minha cunhada JULIANA, que estão sempre ao meu lado, apoiando e ajudando em qualquer dificuldade. Obrigada, especialmente, pelo melhor presente e benção de Deus na minha vida, minha sobrinha MARIA, minha princesa, companhia fiel e alegre de todos os momentos.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À querida orientadora, Prof(a) DRA. KARINA MATTHES DE FREITAS PONTES, que me ensina, diariamente, com seu exemplo. Exemplo em sala de aula, na forma de ensinar: sempre firme, criteriosa, cuidadosa e extremamente gentil com seus alunos; e, principalmente, exemplo na relação com o outro, pois é sempre amável, sensível e doce. Obrigada por me acolher tão bem e ser tão amiga. Gratidão por ter uma orientadora presente e pela liberdade que sinto em compartilhar qualquer assunto ou dúvidas que possam existir. Tenho muito orgulho de ser sua orientanda e fazer parte do Karina's team!

Ao Prof. DR. CÁSSIO BARROS PONTES, por todos os ensinamentos durante a especialização e pela oportunidade de aprendizado que tive durante os anos seguintes de mestrado. Obrigada pela disponibilidade e compromisso em ajudar durante as coletas dos pacientes, passo essencial da pesquisa clínica.

Ao Laboratório de Diagnóstico Molecular, do Departamento de Materiais Dentários e Prótese, da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, nas pessoas do Prof. DR. CÁSSIO DO NASCIMENTO, da bióloga VIVIANE DE CÁSSIA OLIVEIRA e do pós-graduando OTÁVIO MARINO DOS SANTOS NETO, pelo acolhimento e oportunidade de realizar parte metodológica do nosso trabalho.

Às alunas LARISSA HENRIQUE e KATHERINE, que foram fundamentais para a execução dessa pesquisa. Obrigada por se mostrarem interessadas, dispostas a aprender e ajudar em todos os momentos. Contem comigo sempre.

Às amigas BRUNA ALBUQUERQUE GARCIA, TALITA ARRAIS DANIEL MENDES, AMANDA MOURÃO LEY e MARIA TAYARA MARQUES DE FREITAS, meus grandes presentes durante o curso. Obrigada por todos os ensinamentos, pelo apoio e carinho. Essa jornada foi ainda mais gratificante, pois, durante esse tempo, fortalecemos nosso vínculo e nos apoiamos mutuamente.

Ao laboratório de Pesquisa do Programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará, em especial ao técnico DAVID QUEIROZ, que durante toda a pesquisa esteve disponível e presente para ajudar.

Ao Prof. DR. PAULO GOBERLÂNIO DE BARROS SILVA, com sua paciência, gentileza e disponibilidade para análise dos resultados da pesquisa. Obrigada por consolidar esse trabalho da melhor forma.

À EQUIPE de Prótese Dentária da Universidade Federal do Ceará, equipe unida e composta por profissionais maravilhosos, que me acolheu tão bem. Fico feliz por conviver e aprender com vocês!

Aos PROFESSORES do Programa de Pós-graduação em Odontologia da UFC, que muito me ensinam. Sou muito honrada pela oportunidade de estudar nessa instituição que amo e por aprender com professores de excelência.

Aos TITULARES e SUPLENTEs da banca de defesa, pelo interesse, apoio e disponibilidade.

RESUMO GERAL

As próteses implantossuportadas tipo protocolo tem demonstrado grande melhora da performance mastigatória de pacientes desdentados totais, pois apresentam ótima retenção e estabilidade. O controle do biofilme, no entanto, é dificultado pelo desenho da prótese, podendo causar peri-implantite, mucosite, estomatite protética, hiperplasia tecidual, problemas estéticos, entre outros. O objetivo desta pesquisa clínica foi quantificar o biofilme da face gengival de próteses totais implantossuportadas mandibulares e identificar bactérias e fungos no biofilme presente. Foram selecionados vinte pacientes desdentados totais que utilizavam prótese sobre implante do tipo protocolo em resina acrílica na arcada inferior. Os critérios de inclusão foram: adultos, qualquer gênero, totalmente edêntulo na arcada mandibular, com estado de saúde geral bom, usuários de prótese tipo protocolo com mínimo de 6 meses da última manutenção. Os critérios de exclusão foram: uso de antibióticos nos últimos 3 meses, diabetes, problemas associados à imunossupressão, xerostomia, fumantes, problemas motores ou cognitivos, fratura ou reparo na base da prótese e dentes soltos. As próteses foram desparafusadas, lavadas com cloreto de sódio 0,89%, coradas com eosina y 1% e fotografadas. A área coberta por biofilme foi delimitada e quantificada por meio das fotografias obtidas, utilizando-se o *software Image J*. Para análise microbiológica, amostras de biofilme foram coletadas das próteses e inseridas em cloreto de sódio 0,89% tamponado. A suspensão passou por diluição seriada até $1:10^7$ e semeadura em meios de cultura ágar cromogênicos para identificação de bactérias e fungos. As placas foram incubadas por 48 horas, a 37°C, para posterior contagem de unidades formadoras de colônias (UFC/mL). Além disso, a hibridação de DNA (*checkerboard*) foi realizada, empregando 42 sondas de DNA genômico para espécies bacterianas gram-negativo, gram-positivo e leveduras. Os dados foram analisados pelos testes de Mann-Whitney e correlação de Spearman ($\alpha=0,05$). Houve média de 62% de área corada por biofilme na superfície gengival das próteses. *Enterococcus spp* ($5,82 \pm 1,38 \log_{10}$ UFC/mL) e *S. aureus* ($5,75 \pm 2,02 \log_{10}$ UFC/mL) foram os micro-organismos com maior contagem e prevalência no método de cultura. A idade não influenciou os resultados. Os pacientes com 5 implantes apresentaram menor quantidade de biofilme, comparados aos que possuíam 4 implantes ($p=0,031$), porém com maior contagem de *E. coli* ($p=0,039$). Na análise de hibridação de DNA, as bactérias *S. pneumoniae*, *V. parvula*, *F. nucleatum* se apresentaram com maior intensidade de sinal e foram prevalentes em todas as amostras. Outras espécies microbianas também foram detectadas. Pacientes acima de 65 anos apresentaram maior sinal para *C. tropicalis* ($p=0,049$). Pacientes com 5 implantes apresentaram

redução de sinal para várias espécies. Concluiu-se que biofilme foi formado em próteses totais implantossuportadas mandibulares com, pelo menos, 6 meses de uso, e que tal biofilme é constituído por micro-organismos conhecidamente patogênicos para a cavidade oral ou saúde sistêmica de pacientes mais susceptíveis.

Palavras-chave: Biofilmes. Prótese dentária fixada por implante. Sonda de DNA.

ABSTRACT

The implant-supported prosthesis protocol has demonstrated a great improvement in the masticatory performance of total edentulous patients, since they have excellent retention and stability. The biofilm control, however, is hampered by the design of the prosthesis, which can cause peri-implantitis, mucositis, prosthetic stomatitis, tissue hyperplasia, aesthetic problems, among others. The aim of this clinical research was to quantify the biofilm of the gingival face of mandibular implants and to identify bacteria and fungi in the present biofilm. Twenty total edentulous patients were evaluated using implant-supported prosthesis of protocol type in acrylic resin in the lower arch. The inclusion criteria were: adults, any gender, totally edentulous in the mandibular arch, with good general health status, protocol type prosthesis users with at least 6 months of last maintenance. Exclusion criteria were: use of antibiotics in the last 3 months, diabetes, problems associated with immunosuppression, xerostomia, smokers, motor or cognitive problems, fracture or repair in the base of the prosthesis and loose teeth. The prostheses were unscrewed, washed with 0.89% sodium chloride, stained with 1% eosin Y and photographed. The area covered by biofilm was delimited and quantified using the photographs obtained using the *Image J software*. For microbiological analysis, biofilm samples were collected from the prostheses and inserted in 0.89% sodium chloride buffered. The suspension was serially diluted to $1:10^7$ and seeded on chromogenic agar media to identify bacteria and fungi. The plates were incubated for 48 hours at 37°C for further counting of colony forming units (CFU / mL). In addition, DNA hybridization (*checkerboard*) was performed, employing 42 genomic DNA probes for gram-negative, gram-positive bacterial species and yeasts. Data were analyzed by the Mann-Whitney test and Spearman correlation ($\alpha=0,05$). There was a mean of 62% of area stained by biofilm on the gingival surface of the prostheses. *Enterococcus spp* ($5.82 \pm 1.38 \log_{10} \text{CFU / mL}$) and *S. aureus* ($5.75 \pm 2.02 \log_{10} \text{CFU / mL}$) were the microorganisms with the highest count and prevalence in the culture method. Age did not influence results. Patients with 5 implants had less biofilm compared to those who had 4 implants ($p = 0.031$), but with a higher *E. coli* count ($p = 0.039$). In the analysis of DNA hybridization, *S. pneumoniae*, *V. parvula*, and *F. nucleatum* showed the highest signal intensity and were prevalent in all samples. Other microbial species were also detected. Patients older than 65 years presented a higher signal for *C. tropicalis* ($p = 0.049$). Patients with 5 implants presented reduction of signal for several species. It was concluded that biofilm was formed in total mandibular implant-supported prostheses with at least

6 months of use, and that such biofilm consists of microorganisms known to be pathogenic to the oral cavity or systemic health of more susceptible patients.

Keywords: Biofilms. Dental Prosthesis, Implant- supported. DNA probes.

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO GERAL..... | 01 |
| 2 PROPOSIÇÃO..... | 04 |
| 3 CAPÍTULO – Artigo para publicação..... | 05 |
| 3.1 CAPÍTULO - “ESTUDO CLÍNICO DO BIOFILME DE PRÓTESES TOTAIS FIXAS IMPLANTOSSUPORTADAS” | 06 |
| 4 CONCLUSÕES GERAIS..... | 41 |
| REFERÊNCIAS GERAIS..... | 42 |
| ANEXOS | |
| APÊNDICE A..... | 45 |
| ANEXO A- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido..... | 55 |
| ANEXO B- Normas da revista..... | 57 |
| ANEXO C- Aprovação Plataforma Brasil..... | 62 |
| ANEXO D- Aprovação Plataforma Ensaios Clínicos..... | 67 |

1 INTRODUÇÃO GERAL

O uso de prótese dentária tem associação positiva com nutrição, função cognitiva, bem-estar geral e até sobrevivência (DUYCK et al., 2016). No entanto, a limpeza desse dispositivo e a higiene bucal dos usuários são geralmente deficientes, facilitando a formação e o acúmulo de biofilme oral (THALJI et al., 2014; EMAMI et al., 2014; DUYCK et al., 2016). Esses pacientes, muitas vezes, são incapazes de realizar uma higiene eficaz devido à má coordenação motora, comprometimento cognitivo ou perda de memória (DE CASTRO et al., 2016).

Inúmeras tentativas de inibir a adesão inicial de micro-organismos a superfície das próteses têm sido relatadas, com sucesso limitado até o momento (DE CASTRO et al., 2016). O acúmulo do biofilme compromete a eficácia do tratamento reabilitador, aumenta o risco de infecção e desconforto bucal, além de resultar em problemas sistêmicos (HEUER et al., 2013; DUYCK et al., 2016; DE CASTRO et al., 2016). Em pacientes idosos e imunocomprometidos, principalmente, esses micro-organismos podem se dispersar e desencadear doenças como a endocardite infecciosa e a pneumonia aspirativa, que são as principais causas de morbimortalidade (IINUMA et al., 2015; DE CASTRO et al., 2016). No caso da pneumonia aspirativa, o risco de ocorrência em usuários acima de 85 anos de idade com próteses totais muito antigas pode dobrar com uso durante o sono, devido ao aumento da carga microbiana intraoral neste período (IINUMA et al., 2015).

Dentre as modalidades de reabilitação oral, a utilização de prótese total implantossuportada levou a uma mudança no paradigma terapêutico para o tratamento de pacientes edêntulos, sendo bastante recomendada para o edentulismo mandibular (QUIRYNEN et al., 2005; LI, 2012; MALO et al., 2011; NARVAJA et al., 2018). Apresenta boa taxa de sobrevida e satisfação dos pacientes, sendo considerada como tratamento alternativo para próteses totais convencionais (ABI NADER et al., 2014; EMAMI et al., 2014; THALJI et al., 2014). Esse tipo de tratamento promove próteses estáveis, retentivas e funcionalmente confortáveis (LI et al., 2012; EMAMI et al., 2014; THALJI et al., 2014). Todavia, por apresentar contato com a mucosa a longo prazo, seu desenho resulta em dificuldades de higiene, com acúmulo de biofilme em sua superfície e dos implantes associados (LI et al., 2012; KANAO et al., 2013; ABI NADER et al., 2014; NARVAJA et al., 2018). Por esse motivo, problemas infecciosos podem estar relacionados, como estomatite protética, mucosite e peri-implantite (LI et al., 2012; PJETURSSON et al., 2012).

A longevidade das próteses dentárias pode ser afetada, seja por fraturas ou por colonização de micro-organismos (AKAHN-EVREN et al., 2012). O polimetilmetacrilato (PMMA), material bastante utilizado para confeccionar bases de próteses, apresenta fácil manuseio e baixo custo, no entanto, suas propriedades de superfície, como rugosidade, propiciam a adesão microbiana (SIVAKUMAR et al., 2014; AL-FOUZAN; AL- MEJRAD; ALBARRAG, 2017).

O processo inicial de formação de biofilme em superfícies orais é caracterizado pela formação de uma película adquirida, a partir de enzimas salivares, com a posterior aderência de micro-organismos iniciais, como *Streptococcus spp* ou *Actinomyces spp*, os quais são conhecidos por criar condições prévias de colonização de micro-organismos gram-negativos, anaeróbios, colonizadores tardios, como *Fusobacterium spp* ou *Prevotella spp* (HEUER et al., 2013). O aparecimento de tais patógenos é influenciado tanto pela higiene bucal, como por fatores individuais, como nutrição, atividade da língua ou composição salivar (HEUER et al., 2013).

Além dos micro-organismos citados, a *Candida albicans* é bastante verificada na cavidade oral, sendo considerado o patógeno fúngico oportunista mais comum e principal fator etiológico microbiano da estomatite protética (AKAHN-EVREN et al., 2012; KOCH, BÜRGERS, HAHNEL, 2013; DUYCK et al., 2016). Essa condição é caracterizada por uma inflamação bucal relacionada ao uso contínuo das próteses totais, por vezes mal adaptadas, e a higiene oral deficiente (KOCH, BÜRGERS, HAHNEL, 2013; DUYCK et al., 2016). A alta taxa de recidiva dessa doença ressalta a importância da prevenção de contaminações repetidas da superfície protética por meio de sua higiene eficaz (DUYCK et al., 2016).

A capacidade de adesão de *Candida albicans* às superfícies poliméricas é geralmente consequência das *forças de London, van der Waals* e eletrostática (AKAHN-EVREN et al., 2012; SIVAKUMAR et al., 2014; AL-FOUZAN; AL- MEJRAD; ALBARRAG, 2017). Além disso, a presença de saliva e outros micro-organismos, assim como diferenças na topografia da superfície dos polímeros, podem contribuir ainda mais para sua aderência, o que torna o processo de adesão mais complexo (AKAHN-EVREN et al., 2012).

Pode-se supor que as diferenças nas possibilidades de limpeza das estruturas suportadas por implantes ou os diferentes locais de retenção de biofilme nas estruturas protéticas associadas aos implantes podem conduzir a diferentes comunidades bacterianas peri-implantares (HEUER et al., 2013).

Existem poucas evidências na literatura sobre quais patógenos são os principais responsáveis pela inflamação dos tecidos ósseos e moles peri-implantares. Esses patógenos são frequentemente organizados em matrizes tridimensionais de polissacarídeos extracelulares, formando um biofilme com alta tolerância às terapias antibióticas ou às forças de cisalhamento de fluidos orais e movimentos de língua e mandíbula (HEUER et al., 2013). A fim de se compreender o papel do biofilme na manutenção da saúde peri-implantar ou no início da doença em usuários de próteses totais fixas implantossuportadas é importante determinar a composição do seu microbioma.

2 PROPOSIÇÃO

O objetivo geral deste estudo clínico foi analisar o biofilme formado em próteses totais implantossuportadas de resina acrílica, quanto a sua distribuição e composição microbiana.

Os objetivos específicos foram:

- analisar a área protética coberta por biofilme em contato com a mucosa gengival, por meio de evidenciação e quantificação;
- quantificar e identificar espécies bacterianas gram-negativo / gram-positivo aeróbios e leveduras viáveis presentes no biofilme coletado das próteses, por meio de cultura em meios cromogênicos;
- quantificar e identificar espécies bacterianas gram-negativo / gram-positivo aeróbios / anaeróbios e leveduras presentes no biofilme coletado das próteses, por meio do método de hibridação de DNA (*checkerboard*).

3 CAPÍTULOS

Esta dissertação está escrita de acordo com o Artigo 46 do Regimento Interno do Programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará, que regulamenta o formato alternativo para dissertações de mestrado e teses de doutorado e permite a inserção de artigos científicos de autoria e co-autoria do candidato. Assim sendo, essa dissertação é composta por um capítulo, contendo o artigo que será submetido à publicação, conforme descrito na sequência:

3.1 CAPÍTULO 1

“Estudo clínico do biofilme de próteses totais implantossuportadas”. Este artigo será traduzido para a língua inglesa e submetido à publicação no periódico **“The Journal of Prosthetic Dentistry”** (Anexo A).

3.1 CAPÍTULO 1

Estudo clínico do biofilme de próteses totais implantossuportadas

Iana Sá de Oliveira*

Karina Matthes de Freitas Pontes**

Cássio de Barros Pontes***

Cássio do Nascimento****

Paulo Goberlânio de Barros Silva*****

*Aluna do Programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará, Brasil.

**Professor Adjunto do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará; Professor do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará, Brasil.

*** Professor Doutor, coordenador dos cursos de pós-graduação lato-sensu em Prótese Dentária e Implantodontia, da Academia Cearense de Odontologia, Fortaleza, Ceará, Brasil.

****Professor Doutor do Departamento de Materiais Dentários e Prótese, da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil.

*****Professor do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brasil.

Autor para correspondência:

Dr^a. Karina Matthes de Freitas Pontes

Rua Monsenhor Furtado, S/N,

CEP: 60430-350, Fortaleza, CE, Brasil

kamatthes@yahoo.com.br

RESUMO

Esse estudo quantificou a área coberta por biofilme e identificou bactérias e leveduras presentes em próteses totais implantossuportadas mandibulares de resina acrílica, de vinte pacientes selecionados de acordo com critérios pré-estabelecidos. As próteses foram desparafusadas, lavadas em cloreto de sódio 0,89%, coradas com eosina y 1% e fotografadas. A área coberta por biofilme foi delimitada e quantificada digitalmente. Amostras de biofilme foram coletadas, passando por diluição até $1:10^7$, sendo semeadas em meios de cultura ágar cromogênicos e, posteriormente, incubadas por 48 horas, a 37°C , para contagem de unidades formadoras de colônias (UFC/mL). Hibridação de DNA foi realizada para complementação da identificação e quantificação dos micro-organismos presentes. Os dados foram analisados pelos testes de Mann-Whitney, correlação de Spearman e exato de Fisher ($\alpha=0,05$). Uma média de 62% da superfície gengival das próteses continha biofilme. *Enterococcus spp* ($5,82\pm1,38 \log_{10}\text{UFC/mL}$) e *S. aureus* ($5,75\pm2,02 \log_{10}\text{UFC/mL}$) apresentaram maior contagem e prevalência nas culturas e a idade não influenciou os resultados; pacientes com 5 implantes apresentaram menos biofilme, comparados aos com 4 implantes ($p=0,031$), mas maior contagem de *E. coli* ($p=0,039$). Na análise de hibridação de DNA, *S. pneumoniae*, *V. parvula*, *F. nucleatum* apresentaram maior quantificação, estando presentes em todas as amostras; biofilmes de pacientes acima de 65 anos continham mais *C. tropicalis* ($p=0,049$); próteses sobre 5 implantes apresentaram menor quantificação para várias espécies. Concluiu-se houve formação de biofilme em quantidade clinicamente significativa em todas as próteses analisadas, sendo composto por micro-organismos potencialmente patogênicos.

Palavras-chave: Biofilmes. Prótese dentária fixada por implante. Sonda de DNA.

IMPLICAÇÕES CLÍNICAS

O conhecimento sobre o microbioma presente no biofilme formado em próteses totais implantossuportadas de resina acrílica do tipo protocolo orienta os cirurgiões-dentistas sobre seu possível potencial patogênico, com eventuais implicações locais e sistêmicas. O estudo pode ser um instrumento de conscientização sobre a necessidade de orientação ao paciente quanto a higienização diária e as manutenções periódicas pelo profissional, bem como criar um protocolo terapêutico.

INTRODUÇÃO

O principal vantagem da reabilitação com próteses totais implantossuportadas é evitar próteses totais removíveis, proporcionando aumento da retenção e estabilidade^{1,2}. Outros benefícios incluem diminuição da taxa de reabsorção óssea, eficácia mastigatória melhorada e diminuição do traumatismo dos tecidos moles².

As próteses totais sobre implantes metalo-plásticas são amplamente utilizadas como intervenção clínica para mandíbulas edêntulas^{3,4,5,6}. Apesar dos resultados favoráveis, a longo prazo, obtidos com a reabilitações protéticas sobre implantes, complicações biológicas e técnicas podem ser verificadas^{5,7,8}. Peri-implantite, mucosite peri-implantar, estomatite protética, hiperplasia tecidual, problemas estéticos e fonéticos são frequentes^{4,7}. Tais complicações são afetadas por inúmeros fatores, incluindo o planejamento inadequado do tratamento, os materiais utilizados, além de condições como bruxismo, tabagismo, presença de doença periodontal, falta de higiene e manutenção das próteses^{1,2}.

O controle do biofilme é dificultado nas próteses tipo protocolo, pois esse dispositivo é composto por um pântico fixo extenso em contato com a mucosa do rebordo residual^{3,4,9,10}. A

maior adesão dos micro-organismos é verificada com o crescimento e amadurecimento do biofilme, quando algumas células se destacam, aderem a outras regiões da cavidade oral e desenvolvem outras colônias bacterianas¹¹. Devido a essas estratégias de sobrevivência e ao ambiente favorável para tais microssistemas nos sítios de retenção em implantes ou estruturas protéticas, os biofilmes são um dos principais problemas na estabilidade a longo prazo do tratamento reabilitador^{3,9,10,11}.

Dessa forma, a higiene oral facilitada deve ser considerada ao escolher o material de composição de tais próteses⁹. Apresentam-se com diferentes materiais na sua composição, em que superfícies a base de titânio, resina acrílica e cerâmica podem ser utilizadas^{9,12}. Apesar da diversidade dos materiais utilizados, na maioria dos casos, as próteses implantossuportadas do tipo protocolo são confeccionadas em resina acrílica, pois são mais baratas e de maior facilidade de manutenção^{13,15}. Estas próteses também adequam-se ao protocolo de carga imediata, em que o sucesso está relacionado ao tempo de tratamento reduzido e a aceitação do paciente, já que são reabilitados nas primeiras horas após a inserção dos implantes¹⁴. A superfície acrílica, no entanto, é susceptível à colonização microbiana no ambiente oral^{13,15}. A ausência de carga iônica na base de prótese de polimetilmetacrilato evita a adsorção de moléculas de defesa salivar (defensinas e histatinas) na superfície, favorecendo a formação de biofilme¹³. Outros mecanismos que favorecem a aderência bacteriana incluem interação hidrofóbica, interação eletrostática e adesão mecânica^{13,15}.

Além disso, fatores sistêmicos como desnutrição, diabetes mellitus não controlada, imunossupressão e xerostomia também contribuem para a colonização¹³. Uma vez aderido, o biofilme aumenta o desconforto bucal e o risco de infecção, resultando em implicações sistêmicas^{11,16,17}. A endocardite infecciosa e a pneumonia aspirativa, por exemplo, podem se relacionar aos micro-organismos encontrados no microbioma bucal, causando alta mortalidade

principalmente nos pacientes imunocomprometidos^{17,18}.

Considerando as próteses totais convencionais confeccionadas em resina acrílica, a superfície não se mostra uniforme, apresentando porosidades, que podem ser permeadas por *Candida albicans*¹⁵. A umidade e a temperatura, a falha na autolimpeza pela saliva, bem como a má higiene das próteses facilitam a deposição de biofilme, assim como a replicação de bactérias e fungos¹³.

Verificando a carga bacteriana e o perfil microbiano da superfície peri-implantar, estes foram semelhantes ao encontrado em dentes remanescentes^{11,19}. Outros estudos identificaram maior proporção de patógenos periodontais como *Aggregatibacters spp* ou *Porphyromonas spp*²⁰ e algumas espécies particulares, como *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Parvimonas micra* e *Treponema denticola* em maior concentração em torno dos implantes saudáveis⁸.

Conforme foi exposto, o tipo de microbioma relacionado à saúde e doença de implantes dentários e próteses totais já foi bastante estudado. No entanto, ainda existem poucas informações sobre o microbioma em próteses totais implantossuportadas tipo protocolo em resina acrílica. É importante detectar os micro-organismos prevalentes nas superfícies protéticas em contato direto com a mucosa, com intuito de facilitar o acompanhamento e manutenção clínica dessas próteses. Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi quantificar a área protética coberta por biofilme, identificar e quantificar bactérias e leveduras presentes no biofilme de próteses totais implantossuportadas mandibulares em uso.

MATERIAIS E MÉTODOS

Esse estudo é do tipo clínico, transversal, observacional e descritivo. O projeto foi cadastrado na *International Clinical Trials Registry Platform* e submetido à Plataforma Brasil,

iniciando-se após aprovação no Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal do Ceará (UFC) e obtenção das assinaturas dos Termos de Consentimento Livre e Esclarecido.

- Amostragem

Baseado no estudo de Heuer et al. (2013), que observou que barras de implantes apresentam menor número de bandas representativas de DNA bacteriano que as coroas telescopicamente ancoradas ($3,55 \pm 2,11$ vs. $6,31 \pm 3,14$), estimou-se necessário avaliar 20 pacientes a fim de obter uma amostra que represente com 90% de poder e 95% de confiança, a extensão e qualidade do biofilme sob próteses implantossuportadas.

Os 20 pacientes portadores de próteses implantossuportadas do tipo protocolo foram selecionados na Clínica de Prótese Dentária da Universidade Federal do Ceará (UFC) e na Academia Cearense de Odontologia (ACO), na cidade de Fortaleza - CE, Brasil, sendo acompanhados por meio de prontuários contidos nas clínicas. Os critérios de inclusão para a seleção dos pacientes foram: adultos maiores de 18 anos, qualquer gênero, totalmente edêntulos na arcada mandibular, estado de saúde geral bom, tecidos peri-implantares saudáveis, usuários de prótese definitiva tipo protocolo confeccionada com base e dentes artificiais de resina acrílica com mínimo de 6 meses da última manutenção. Os critérios de exclusão foram: alterações sistêmicas que interfiram nas condições bucais, como diabetes, anemia, infecção por HIV, tratamento para câncer (radioterapia ou quimioterapia), uso de antibióticos ou agentes antifúngicos nos últimos 3 meses, problemas associados à imunossupressão, xerostomia, problemas motores ou cognitivos, tabagismo, fratura ou reparo na base da prótese e dentes soltos.

Todos os pacientes analisados foram avaliados pelo mesmo operador e as próteses apresentaram o mesmo material de base de prótese, o que reduz o viés neste tipo de análise.

-Quantificação do biofilme por análise fotográfica

As próteses do tipo protocolo foram desparafusadas da boca dos pacientes selecionados e, após lavagem prévia com solução de cloreto de sódio a 0,89% para remoção de detritos e saliva, estas foram isoladas com vaselina sólida na região dos dentes, para evitar a impregnação de evidenciador de biofilme (Eosina y 1%; Sigma Aldrich) nas porções interdentais e na base dos dentes. Em seguida, foram coradas com uso de seringa de 10mL. O excesso de corante foi removido por lavagem em solução de cloreto de sódio 0,89% ²¹.

A superfície gengival das próteses coradas foi fotografada utilizando câmera digital com lente objetiva de 105mm, função macro (Nikon D90; Nikon Inc) com tempo de exposição padronizado e posicionamento da máquina fotográfica em estativa (CS-4 Copy Stand; Testrite Inst. Co., Inc)^{10,22}. Uma régua milimetrada foi posicionada próxima a margem anterior da prótese para calibração da unidade de medida a ser utilizada no *software* (*Image J*; National Institute of Health). A mensuração da área protética gengival total e da área coberta por biofilme foi realizada por um único pesquisador, por meio de um método quantitativo digital²³.

- Análise microbiológica

Amostras de biofilme foram coletadas da superfície gengival da prótese, utilizando colher de dentina nº 18 estéril, passada em três locais distintos. O biofilme coletado foi colocado em microtubos contendo 1mL de solução de cloreto de sódio 0,89% tamponada²⁴.

As amostras hermeticamente fechadas foram transportadas para o Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, da Universidade Federal do Ceará (FFOE-UFC). Os tubos foram colocados em vortex (AP56, Phoenix) por 1 minuto e a suspensão passou por diluição seriada 1:10, 1:100, 1:1.000, 1:10.000, 1:100.000, 1:1000.000, 1:10.000.000 em solução de cloreto de sódio 0,89%.

Em seguida, foi realizada a semeadura de 25µL, através de espalhamento usando alça drigalsky em Ágar Cromogênico Geral (Probac) e Ágar Cromogênico Candida (Probac). As placas foram incubadas por 48 horas, a 37 °C, para posterior contagem e cálculo das unidades formadoras de colônias por mL da amostra (UFC/mL). Os meios de cultura cromogênicos não são seletivos e permitem a identificação de colônias específicas viáveis através de diferenças nas suas tonalidades, sem necessidade de confirmação.

- Hibridação de DNA (*checkerboard*)

O método DNA *checkerboard* detecta micro-organismos menos comuns e de desenvolvimento lento, nutricionalmente exigentes, além da detecção de microbioma não cultivável²⁵. Foram empregadas 42 sondas de DNA genômico completo para espécies bacterianas gram-negativo / gram-positivo e leveduras.

A coleta do biofilme da superfície protética foi realizada da forma já descrita anteriormente. As amostras foram inseridas em microtubos identificados (referente ao biofilme protético de cada paciente) contendo 150µL tampão TE (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA pH 7,6). No laboratório de Microbiologia, em fluxo laminar, foi adicionado 150µL de NaOH 0,5 M a cada microtubo, os quais foram armazenados a 4°C.

No momento da identificação baseada no genoma, as amostras foram agitadas por 4 minutos em agitador de tubos (AP 56, Phoenix, Brasil) para a desagregação total do conteúdo coletado. As amostras de biofilme foram fervidas a 95 °C por 5 minutos para desnaturação das fitas de DNA e após o resfriamento, neutralizadas com 800µL de acetato de amônio 5M adicionados a cada microtubo. Cada amostra de biofilme foi depositada no interior das canaletas de um minislot (Immunetics, Cambridge) com auxílio de pipetas automáticas e, após 5 minutos, depositadas sobre membrana de nylon (Hybond N + Amersham Biosciences), com auxílio de uma bomba a vácuo. Para referências padrão, quantidades definidas de DNA genômico

correspondendo a 10^5 ou 10^6 de células de cada espécie foram montadas, desnaturadas, precipitadas e aplicadas em duas fendas comparativas controle. As amostras foram fixadas sobre a membrana a 120 °C durante 20 minutos. A membrana foi pré-hibridada a 63,5 °C durante 5 horas e meia, sob agitação suave. Para o preparo das sondas, foram adicionados 150µL de solução de hibridação em 1µL de cada sonda. Através de um dispositivo acrílico (Miniblotter 45, Immuntics), as sondas foram aplicadas na membrana. Esta foi hibridada a 63,5 °C durante 8 horas, sob agitação suave. Em seguida foram feitas duas lavagens da membrana, em 500mL de solução de lavagem (60g uréia 2M; 0,5g SAS 0,1%; 50 mL NaHPO₄ 0,5M; 4,35 NaCl 150mM; 0,5 mL MgCl₂ mM; 1g Blacking Reagent 0,2%; água qsp 500mL volume final), a 67,5°C sob agitação forte, por 30 minutos. Depois, mais duas lavagens de 15 minutos, em 500mL da mesma solução, em temperatura ambiente, também sob agitação forte. Ao final, foi aplicado o reagente de detecção sobre a membrana, durante 120 minutos, para posterior exposição e revelação. Os sinais de hibridação quimioluminescentes foram detectados expondo a membrana em filme ECL Hyperfilm-MP (GE Healthcare) por 1 minuto, seguido de 3 horas de revelação. O número de micro-organismos recuperados de amostras clínicas foi relatado, comparando os sinais de intensidade quimioluminescente contra pistas padrão. O filme radiográfico apresentou sinais de hibridação detectados pelas intersecções entre as amostras e as sondas^{15,22}. Para a quantificação, foi utilizado um *software* (CLIQS 1.2.044; TotalLab) detectando-se a intensidade de pixels nas imagens dos sinais nas intersecções, calibrado com os controles de 10^5 e 10^6 células.

-Análise dos dados

Os dados quantitativos obtidos foram: a área protética gengival total e a coberta por biofilme, em cm²; log₁₀UFC/mL dos diferentes micro-organismos viáveis identificados nos biofilmes coletados; a quantidade de determinado micro-organismo identificado por meio da hibridização DNA *checkerboard*. Estes dados foram expressos em forma de média e desvio-

padrão, submetidos ao teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e analisados utilizando o teste de Mann-Whitney e a correlação de Spearman (dados não paramétricos).

Adicionalmente, foi verificada a prevalência de cada micro-organismo por meio de cultura e DNA *checkerboard*; os dados foram expressos em forma de frequência absoluta e percentual e comparados utilizando o teste exato de Fisher.

Todas as análises foram realizadas por um *software* (*Statistical Package for the Social Sciences*, SPSS 20,0; IBM), adotando uma confiança de 95%.

RESULTADOS

Um total de 20 pacientes normossistêmicos, 18 mulheres e 02 homens, foram selecionados para os testes microbiológicos. As idades variavam de 47 a 74 anos (média 65 anos). Doze pacientes apresentaram 4 implantes e oito pacientes 5 implantes.

A tabela 1 representa a quantificação de área protética gengival coberta por biofilme. Houve uma média (desvio-padrão) de $9,34 \pm 1,15$ de área total (cm²) das próteses delimitadas em sua face gengival, sendo uma média (desvio-padrão) de $5,82 \pm 1,52$ (cm²) de área corada, o que corresponde a 62% da face gengival protética coberta por biofilme.

A caracterização do perfil microbiológico das amostras de biofilme analisadas pelos métodos de cultura está representada na tabela 2. *Escherichia coli* ($2,95 \pm 2,82$ log₁₀UFC/mL), *Enterococcus spp* ($5,82 \pm 1,38$ log₁₀UFC/mL), *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp*, *Citrobacter spp* ($2,20 \pm 2,25$ log₁₀UFC/mL), *Pseudomonas spp* ($1,82 \pm 2,42$ log₁₀UFC/mL) e *Staphylococcus aureus* ($5,75 \pm 2,02$ log₁₀UFC/mL) foram encontrados, no entanto não foi verificado *Proteus spp* nem *Staphylococcus saprophyticus*. *Candida tropicalis* ($0,10 \pm 0,47$ log₁₀UFC/mL), *Candida albicans* ($1,94 \pm 1,99$ log₁₀UFC/mL), *Candida krusei* ($0,58 \pm 1,44$ log₁₀UFC/mL), além de *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* ($0,82 \pm 1,85$ log₁₀UFC/mL) foram observadas. A idade não

influenciou significativamente em nenhum dos parâmetros avaliados, no entanto os pacientes com cinco implantes apresentaram menor área corada e maior quantidade de *E. coli* ($p=0,031$ e $p=0,039$, respectivamente).

E. coli apresentou maior frequência nos pacientes com cinco implantes ($p=0,028/ 88\%$), enquanto *Enterococcus spp* e *S. aureus* foram os micro-organismos com maiores frequências, no geral, correspondendo a 100% e 90%, respectivamente. Entre as leveduras, *C. albicans* foi a mais encontrada, representando 55% (tabela 3).

A partir da tabela 4 de correlação de Spearman, pode-se observar que, quanto maior a área total da superfície gengival da prótese, maior também foi a área corada ($p=0,003/ r=0,623$). A área corada, porém, não mostrou correlação significativa com nenhum micro-organismo ($p > 0,05$). *E. coli* e *Enterococcus spp* apresentaram correlação positiva com *Pseudomonas spp* ($p=0,011/ r=0,553$ e $p= 0,033/ r=0,477$) e com *Candida albicans* ($p<0,001/ r=0,759$ e $p=0,033/ r=0,478$), respectivamente. *Enterococcus spp* está significativamente correlacionado também com *Candida krusei* ($p=0,027/ r=0,494$). Além disso, pode-se verificar correlação entre *Pseudomonas spp* e alguns gêneros de *Candida*, como *Candida albicans* ($p=0,010/ r=0,563$) e *Candida parapsilosis* ($p=0,025/ r=0,498$). Essa característica também pode ser observada entre *Staphylococcus aureus* e *Candida krusei* ($p=0,037/ r=0,469$), além de entre os próprios gêneros *Candida tropicalis* e *Candida krusei* ($p=0,032/ r=0,480$) (tabela 4).

Dos micro-organismos detectados no DNA *checkerboard*, pode-se observar que *Veillonella parvula* apresentou maior sinal de hibridação (células $\times 10^5$) nas amostras ($6,65 \pm 1,32$), seguida de *Fusobacterium nucleatum* ($5,78 \pm 1,26$) e *Streptococcus pneumoniae* ($4,99 \pm 1,01$) (tabela 5), e todos estavam presentes em 100% das amostras (tabela 6). O micro-organismo com menor sinal de hibridação, dentre as sondas analisadas, foi *Pseudomonas aeruginosa* ($0,53 \pm 0,95$) (tabela 5), representando 25% de frequência (tabela 6).

Bacteroides fragilis, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Streptococcus sanguinis* e *Streptococcus mutans* também apresentaram sinal de hibridação nas 20 amostras. *Enterococcus faecalis* e *Staphylococcus aureus*, *Mycoplasma orale*, *Streptococcus gallolyticus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Campylobacter gracilis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus parasanguinis*, *Streptococcus mitis*, *Prevotella nigrescens*, *Porphyromonas endodontalis*, *Campylobacter rectus*, *Capnocytophaga gingivalis* foram detectadas em mais de 90% das amostras, ou seja, em 18 ou 19 pacientes; *Candida albicans* (85%), *Candida tropicalis* (90%) e *Candida dubliniensis* (80%) foram frequentes na maioria das amostras. *Prevotella. intermedia* ($p=0,049$) e *Porphyromonas gingivalis* ($p= 0,049$) se apresentaram em maior frequência (100%) nos pacientes com quatro implantes (tabela 6).

Os pacientes com mais de 65 anos apresentaram maior quantidade de *Candida tropicalis* ($p=0,049$) e menor prevalência de *S. pneumoniae* ($p=0,049$), *Lactobacillus acidophilus* ($p=0,049$), *Campylobacter gracilis* ($p=0,013$), *V. parvula* ($p=0,016$), *Streptococcus sanguinis* ($p=0,010$), *Staphylococcus pasteurii* ($p=0,016$), *Streptococcus parasanguinis* ($p=0,002$) e *Streptococcus gordonii* ($p=0,010$). Apenas os pacientes com cinco implantes apresentaram redução nos sinais de hibridação de *Prevotella melaninogenica* ($p=0,045$), *Peptostreptococcus anaerobios* ($p=0,027$), *F. nucleatum* ($p=0,037$), *Enterococcus faecalis* ($p=0,040$), *Capnocytophaga gingivalis* ($p= 0,015$) e *Bacteroides fragilis* ($p=0,005$). Os demais micro-organismos não mostraram associações (tabela 5).

DISCUSSÃO

Este estudo quantificou a área coberta por biofilme e investigou o microbioma de próteses totais implantossuportadas instaladas em pacientes com arcadas mandibulares edêntulas. Vários estudos mostraram que a abordagem de próteses protocolo apresenta uma alta taxa de sobrevida,

mesmo com alguns problemas associados^{5,7,8}. É necessário e importante descrever o perfil microbiano encontrado no modelo de reabilitação citado para entender a longevidade desse dispositivo, efetivar o protocolo de tratamento, bem como compreender os possíveis fatores de risco relacionados, a fim de construir estratégias adicionais para programas de manutenção.

A adesão e a colonização de micro-organismos são passos primários no desenvolvimento de doenças infecciosas orais comuns, como a estomatite protética^{15,26}. Embora as próteses orais contribuam positivamente para o bem-estar geral do paciente, a falta de manutenção do dispositivo protético pode resultar desde infecções orais simples até infecções sistêmicas associadas aos micro-organismos^{16,17,18}.

A primeira evidência clínica acerca da distribuição de biofilme na superfície de 20 próteses totais fixas sobre implantes tipo All-on-4, verificou que o biofilme cobria em média 28% da superfície de encaixe da prótese¹⁰. No nosso estudo, porém, foi verificada uma média de 62% da superfície interna das próteses coberta por biofilme. A maior porcentagem de área coberta por biofilme pode ser justificada, pois no estudo de Abi Nader et al. (2015), os pacientes foram orientados a usar diariamente dispositivo específico para limpeza de prótese protocolo (irrigador bucal, WaterPik) e enxaguante bucal (Crest Pro-Health Multi-Protection mouthwash, Procter & Gamble) três vezes ao dia. Além disso, as próteses totais fixas implantossuportadas eram de maxila e não de mandíbula; e a consulta de manutenção, que remove e higieniza de forma profissional o dispositivo protético, realizada exatamente seis meses após a instalação da prótese.

A alta porcentagem de acúmulo de placa nas superfícies gengivais das próteses pode afetar gravemente as condições dos tecidos moles adjacentes, promovendo sua infecção¹⁰. A infecção dos tecidos moles pode disseminar e atingir os tecidos peri-implantares, causando mucosite peri-implantar e, posteriormente, peri-implantite¹⁰. Assim, manter as superfícies

protéticas em condições ideais de higienização é um procedimento preventivo essencial para minimizar a probabilidade de infecção tecidual peri-implantar.

Além disso, foi verificado que quanto maior a área total da superfície gengival da prótese, maior também é a área corada ($p= 0,003/ r=0,623$). Assim, espera-se que próteses de grandes superfícies apresentem maior acúmulo de micro-organismos. Reduzir a extensão das próteses totais implantossuportadas seria importante, a fim de reduzir o acúmulo de placa, facilitar o processo de limpeza e diminuir o risco de infecção peri-implantar nesses pacientes¹⁰.

A área corada, porém, não mostrou correlação significativa com nenhum micro-organismo ($p > 0,05$), ou seja, o aumento da área coberta por biofilme não pareceu favorecer o crescimento de nenhum micro-organismo especificamente.

Os pacientes com 5 implantes apresentaram menor área corada ($p=0,031$) e maior quantidade de *E. coli* ($p=0,039$), sendo o micro-organismo mais frequente ($p=0,028/ 88\%$) quando comparado aos pacientes com 4 implantes. O valor absoluto da área total dos pacientes com 5 implantes foi menor ($8,94\pm 1,18 \text{ cm}^2$), dessa forma, foi considerada uma menor área de superfície protética gengival a ser corada. Além disso, *E. coli* é um patógeno presente e associado ao vazamento microbiano nas superfícies implantares²⁷. Por isso, um maior número de implantes poderia justificar o aumento desse micro-organismo. Bactérias normalmente encontradas em implantes como *Aggregatibacter* ou *Porphyromonas*²⁰ e algumas espécies particulares, como *T. forsythia*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *P. micra* e *T. Denticola*⁷ também foram encontradas no nosso trabalho.

Os micro-organismos encontrados comumente em próteses totais convencionais existem em comunidades polimicrobianas e diferentes espécies interagem de maneira complexa para modular a natureza do biofilme²⁸. *C. albicans*, *S. aureus*, *E. faecalis* (gram-positivo) e *P. aeruginosa* (gram-negativo) são alguns dos micro-organismos avaliados a partir do microbioma

de próteses totais antigas e encontrados também nas próteses totais fixas implantossuportadas analisadas no nosso estudo^{28,29}.

Os gêneros *Candida* observados não variaram entre os pacientes avaliados, sendo *Candida albicans* a espécie mais verificada ($1,94 \pm 1,99 \log_{10} \text{UFC/mL}$), seguido por *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* ($0,82 \pm 1,85 \log_{10} \text{UFC/mL}$) pelo método de cultura. *Candida tropicalis* ($4,56 \pm 1,71$) foi bastante evidente, principalmente entre os pacientes com mais de 65 anos na análise por hibridação de DNA, *checkerboard*, que é uma técnica que supera as limitações das técnicas microbiológicas comuns, pois consegue detectar micro-organismos mesmo inviáveis na cultura^{6,25}. Em alguns estudos, *Candida albicans* foi a principal espécie isolada em usuários de prótese total^{24,30}, seguida de *Candida tropicalis*²⁸. Já em pacientes com estomatite prótica, *Candida albicans* foi a espécie isolada mais prevalente, seguida de *Candida glabrata*¹⁵. A presença de duas ou mais espécies de *Candida* no mesmo paciente pode predispor a estomatite recorrente³⁰.

Com relação as propriedades dos materiais, é bem claro que a energia de superfície, a rugosidade e a hidrofobicidade influenciam na adesão de micro-organismos^{15,26}, assim como na sua proliferação³¹. As bases de prótese em análise foram confeccionadas em polimetilmetacrilato, que é a resina acrílica, um material cuja rugosidade superficial influencia diretamente na adesão inicial, no crescimento e na colonização do biofilme; dessa forma, materiais mais rugosos geralmente exibem contagens de micro-organismos mais altas^{15,26}. Avaliando a adesão de *Candida albicans* a uma base de prótese confeccionada em resina acrílica pelo sistema CAD/CAM foi verificado menor afinidade do que em base de prótese convencional, a qual apresentou maior rugosidade superficial¹⁵. Quirynen et al. (1990) postularam um valor de rugosidade limiar ($0,2 \mu\text{m}$), abaixo do qual nenhum efeito na adesão clinicamente significativa

deveria ser esperado³². Superfícies lisas e altamente polidas resultam em baixa retenção de biofilme, conforto para o paciente, bons resultados estéticos, além de longevidade da prótese²⁶.

Outros fatores que podem interferir na adesão de micro-organismos é a presença de outras espécies na superfície e a presença da saliva²⁶. Correlação positiva foi observada entre *E. coli* e *C. albicans* ($p < 0,001$ / $r = 0,759$). Esse resultado corroborou com outro estudo, o qual identificava *E. coli* capaz de inibir, eficazmente, a formação de hifa por células fúngicas (*C. albicans*) apenas quando induzida e modificada pelo ácido hidroxifenilacético (HPA). As células bacterianas que não foram induzidas permitiram enorme filamentação do fungo³³.

Pacientes reabilitados com prótese, que sofrem de xerostomia ou que estão sob medicação e, eventualmente, têm redução do fluxo salivar podem ser mais propensos ao acúmulo de *C. albicans*^{26,31}. No estudo de Akahn-Evren et al. (2012), em análise da superfície acrílica revestida por saliva, menor adesão de *C. albicans* foi verificada nos espécimes revestidos quando comparado com aqueles revestidos com água destilada²⁶. O revestimento de saliva ideal, porém, não pode ser assegurado em todos os indivíduos. No nosso estudo, não foram incluídos pacientes que apresentavam redução do fluxo salivar.

A presença de *Candida albicans* e *Staphylococcus aureus* mostram um aumento em idosos quando comparados com adultos jovens, sendo um dos principais colonizadores de base de próteses^{28,34}. No entanto, o aumento nos pacientes acima de 65 anos não foi verificado neste estudo. *S. aureus*, que é um coco gram-positivo, quando associado à redução da função imunológica, pode levar a infecções sistêmicas graves e virulentas, como pneumonia por aspiração, assim como a *P. aeruginosa*, que é bacilo gram-negativo, também pode levar a infecções oportunistas associadas à diminuição da função imunológica^{17,18,28}.

Verificou-se uma relação diretamente proporcional entre a presença de *Pseudomonas spp* e algumas espécies de *Candida*, como *Candida albicans* ($p = 0,010$ / $r = 0,563$) e *Candida*

parapsilosis ($p= 0,025/ r=0,498$). No estudo de Hogan; Vik; Kolter. (2004), no entanto, a presença da espécie *P. aeruginosa* limitou a filamentação de *Candida albicans*³⁵. Os efeitos que as bactérias têm sobre a morfologia do fungo representam uma das formas pelas quais as bactérias podem influenciar o comportamento das células fúngicas³⁵. Em trabalhos futuros, controlar o comportamento desses micro-organismos poderia resultar em melhora sistêmica para o paciente. Hipóteses que devem ser confirmadas.

Essa coexistência de *Pseudomonas spp.* e *C. albicans* em pessoas idosas é um indicador potencial de alto risco de pneumonia e doenças cardíacas²⁸. Já a presença de *Enterococcus faecalis*, também observada no nosso estudo, tem sido associado a lesões da mucosa bucal em indivíduos imunocomprometidos e é um dos principais contribuintes para os casos de endocardite infecciosa^{28,36}.

Considerando que a estrutura celular bacteriana e que seus produtos de degradação podem atuar como nutrientes para outras espécies oportunistas, a identificação de espécies não viáveis pode ser relevante para a determinação do risco associado aos tecidos peri-implantares³⁷, o que torna importante a análise por hibridação de DNA.

Uma limitação do estudo foi que através do método de hibridação de DNA apenas os micro-organismos esperados podem ser detectados, utilizando primers específicos. Nesse trabalho foram usadas 42 sondas de diferentes espécies de micro-organismos.

Este é um dos primeiros estudos que fornece informações sobre a diversidade microbiana em uma amostra considerável de biofilme coletado da superfície gengival de próteses totais implantossuportadas de diferentes voluntários. Esses achados são de grande relevância na Odontologia, pois têm implicações no planejamento cirúrgico, protético e na sistematização dos métodos de higiene e preservação a serem adotados.

CONCLUSÃO

Baseado nos resultados deste estudo clínico, obtivemos as seguintes conclusões: todas as próteses protocolo analisadas apresentaram biofilme em sua superfície gengival, sendo a média da área coberta maior do que 50% da área total; os micro-organismos viáveis encontrados em maior quantidade no teste de cultura foram *Enterococcus ssp* e *Staphylococcus aureus*, entre as bactérias, e estavam presentes em mais de 85% das amostras; e *Candida albicans* entre os fungos, estando presente em 55% das amostras; na análise de hibridação de DNA, as bactérias *Streptococcus pneumoniae*, *Veillonella parvula*, *Fusobacterium nucleatum* se apresentaram em maior quantidade, e em 100% das amostras; *Bacteroides fragilis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Streptococcus sanguinis* e *Streptococcus mutans* também foram detectadas em todas as amostras; *Enterococcus faecalis* e *Staphylococcus aureus*, *Mycoplasma orale*, *Streptococcus gallolyticus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Campylobacter gracilis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus parasanguinis*, *Streptococcus mitis*, *Prevotella nigrescens*, *Porphyromonas endodontalis*, *Campylobacter rectus*, *Capnocytophaga gingivalis* foram detectadas em mais de 90% das amostras; *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida dubliniensis* foram detectadas em mais de 80% das amostras.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Thalji G, Bryington M, De Kok IJ, Cooper LF. Prosthodontic management of implant therapy. *Dent Clin North Am* 2014; 58: 207-25.
2. Emami E, Michaud PL, Sallaleh I, Feine JS. Implant-assisted complete prostheses. *Periodontology* 2014; 66: 119-31.
3. Narvaja A, Shibli J, Coppede A, Giro G, Feres M, Faveri M. Microbiologic Analysis of Immediately Loaded Full-Arch Implant-Retained Prosthesis Protocol After 2 Years of Loading: A Retrospective Study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2018; 33: 1339-44.
4. Li J, Hirota K, Goto T, Yumoto H, Miyake Y, Ichikawa T. Biofilm formation of *Candida albicans* on implant overdenture materials and its removal. *Journal of Dentistry* 2012; 40: 686-92.
5. Malo P, Nobre MA, Lopes A, Moss SM, Molina GJ. A longitudinal study of the survival of All-on-4 implants in the mandible with up to 10 years of follow-up. *J Am Dent Assoc* 2011; 142: 310-20.
6. Quirynen, M, Alsaadi G, Pauwels M, Haffajee A., Van D, Naert I. Microbiological and clinical outcomes and patient satisfaction for two treatment options in the edentulous lower jaw after 10 years of function. *Clin Oral Implants Res* 2005; 16:277-87.
7. Pjetursson BE, Thoma D, Jung R, Zwahlen M, Zembic A. A systematic review of the survival and complication rates of implant-supported fixed dental prostheses (FDPs) after a mean observation period of at least 5 years. *Clin Oral Implants Res* 2012; 23: 22-38.
8. Zhuang LF, Watt RM, Mattheos N, Si MS, Lai HC, Lang NP. Periodontal and peri-implant microbiota in patients with healthy and inflamed periodontal and peri- implant tissues. *Clin Oral Implants Res* 2016; 27: 13-21.
9. Kanao M, Nakamoto T, Kajiwara N, Kondo Y, Masaki C, Hosokawa R. Comparison of

- plaque accumulation and soft-tissue blood flow with the use of full-arch implant-supported fixed prostheses with mucosal surfaces of different materials: A randomized clinical study. *Clin Oral Implants Res* 2013; 24: 1137-43.
10. Abi Nader S, Eimar H, Momani M, Shang K, Daniel NG, Tamimi F. Plaque Accumulation Beneath Maxillary All- on- 4™ Implant- Supported Prostheses. *Clin Implant Dent Relat Res* 2015; 17:932-37.
 11. Heuer W, Kettenring A, Demling A, Stumpp SN, Gellermann E, Winkel A, et al. Microbial Diversity of Peri-Implant Biofilms on Implant Fixed Bar and Telescopic Double Crown Attachments. *J Oral Implantol* 2013; 39: 648-54.
 12. Contreras LPC, Dal AMOP, Ribeiro FC, Anami LC, Camargo SEA, Jorge AOC, et al. Effects of Manufacturing and Finishing Techniques of Feldspathic Ceramics on Surface Topography, Biofilm Formation, and Cell Viability for Human Gingival Fibroblasts. *Oper Dent* 2018; 43: 593-601.
 13. Sivakumar I, Arunachalam KS, Saijan S, Ramaraju AV, Rao B, Kamaraj B. Incorporation of antimicrobial macromolecules in acrylic denture base resins: A research composition and update. *J Prosthodont* 2014; 23: 284-90.
 14. Strub JR, Jurdzik BA, Tuna T. Prognosis of immediately loaded implants and their restorations: A systematic literature review. *J Oral Rehabil* 2012; 39: 704-17.
 15. Al-Fouzan AF, Al-Mejrad LA, Albarrag AM. Adherence of *Candida* to complete denture surfaces in vitro: A comparison of conventional and CAD/CAM complete dentures. *J Adv Prosthodont* 2017; 9: 402-8.
 16. Duyck J, Vandamme K, Kraush-Hofmann S, Boon L, De Keersmaecker K, Jalon E, et al. Impact of Denture Cleaning Method and Overnight Storage Condition on Denture Biofilm

- Mass and Composition: A Cross-Over Randomized Clinical Trial. PLoS One 2016; 11: e0145837.
17. De Castro DT, Valente MLC, Agnelli JAM, Lovato CHS, Watanabe E, Siqueira RL, et al. In vitro study of the antibacterial properties and impact strength of dental acrylic resins modified with a nanomaterial. J Prosthet Dent 2016; 115: 238-46.
 18. Iinuma T, Arai Y, Abe Y, Takayama M, Fukumoto M, Fukui Y. Denture wearing during sleep doubles the risk of pneumonia in the very elderly. Dent Res J 2015; 94: 28S-36S.
 19. Raffaini FC, Freitas AR, Silva TSO, Cavagioni T, Oliveira JF, Albuquerque Júnior RF, et al. Genome analysis and clinical implications of the bacterial communities in early biofilm formation on dental implants restored with titanium or zirconia abutments. Biofouling 2018; 34: 173-82.
 20. Cortelli S, Cortelli JR, Romeiro RL, Costa FO, Aquino DR, Orzechowski, PR, et al. Frequency of periodontal pathogens in equivalent peri-implant and periodontal clinical statuses. Arch Oral Biol 2013; 58: 67-74.
 21. Silva CHL, Paranhos HFO, Ito IY. Evidenciadores de biofilme em prótese total. Pesqui Odontol Bras 2002; 16: 270-75.
 22. Paranhos HF, Panzeri H, Lara EH, Candido RC, Ito IY. Capacity of denture plaque/biofilm removal and antimicrobial action of a new denture paste. Braz Dent J 2000; 11: 97-104.
 23. Silva CHL, Totti AMG, Paranhos HFO, Totti VG. Evaluation of a computerized method for denture biofilm quantification: Inter-examiner reproducibility. J Prosthodont 2009; 18: 332-36.

24. Dagistan S, Aktas AE, Caglayan F, Ayyildiz A, Bilge M. Differential diagnosis of denture- induced stomatitis, *Candida*, and their variations in patients using complete denture: a clinical and mycological study. *Mycoses* 2009; 52: 266-71.
25. Nascimento C. Avaliação da infiltração bacteriana através da interface implante-conector protético sob aplicação de carga-avaliação in vitro pelo método DNA Checkerboard. Ribeirão Preto. Tese de Doutorado-USP; 2010.
26. Akahn-Evren B, Kulak-Cözkan Y, Özcan M, Kadir T. *Candida albicans* adhesion on reinforced polymethylmethacrylate denture resin: effect of fibre architecture and exposure to saliva. *Gerodontology* 2014; 31:194-201.
27. Gherlone EF, Capparé P, Pasciuta R, Grusovin MG, Mancini N, Burioni R. Evaluation of resistance against bacterial microleakage of a new conical implant-abutment connection versus conventional connections: an in vitro study. *New Microbiol* 2016; 39: 59-66.
28. Meriç G, Güvenir M, Süer K. Evaluating the efficiency of humic acid to remove micro-organisms from denture base material. *Gerodontology* 2016; 33: 395-401.
29. Glass RT, Conrad RS, Bullard JW, Goodson LB, Mehta N, Lech SJ, et al. Evaluation of microbial flora found in previously worn prostheses from the Northeast and Southwest regions of the United States. *J Prosthet Dent* 2010; 103: 384-89.
30. Gauch LMR, Pedrosa SS, Gomes FS, Esteves RA, Silva SHS. Isolation of *Candida* spp. from denture-related stomatitis in Pará, Brazil. *Braz J Microbiol* 2018; 49: 148-51.
31. Koch C, Bürgers R, Hahnel S. *Candida albicans* adherence and proliferation on the surface of denture base materials. *Gerodontology* 2013; 30: 309-13.
32. Quirynen M, Marechal M, Busscher HJ, Weerkamp AH, Darius PL, Steenberghe DV. The influence of surface free energy and surface roughness on early plaque formation: an in vivo study in man. *J Clin Periodontol* 1990; 17: 138-44.

33. Tscherner M, Giessen TW, Markey L, Kumamoto C, Silver PA. A synthetic system that senses *Candida albicans* and inhibits virulence factors. *ACS Synth Biol* 2019; 8: 434-44.
34. Pereira C, Toledo BC, Santos CT, Costa ACP, Brito GNB, Kaminagakura E, et al. Opportunistic microorganisms in individuals with lesions of denture stomatitis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2013; 76: 419-24.
35. Hogan DA, Vik Å, Kolter RA. *Pseudomonas aeruginosa* quorum- sensing molecule influences *Candida albicans* morphology. *Mol Microbiol* 2004; 54: 1212-23.
36. Hirt H, Schlievert PM, Dunny GM. In vivo induction of virulence and antibiotic resistance transfer in *Enterococcus faecalis* mediated by the sex pheromone-sensing system of pCF10. *Infect Immun* 2002; 70: 716-23.
37. Nascimento C, Albuquerque RF. Bacterial leakage along the implant-abutment interface. In: *Implant Dentistry-The Most Promising Discipline of Dentistry*. InTech 2011; 323–346.

TABELASTabela 1: Superfície de área total e área corada da amostra de usuários de próteses totais implantossuportadas mandibulares (cm²).

| | Sexo | | | | Idade | | | Nº implantes | | |
|-----------------------------|-----------|-----------|------------|---------|-----------|-----------|---------|--------------|-----------|---------------|
| | Total | Feminino | Masculino | p-Valor | Até 65 | >65 | p-Valor | 4 | 5 | p-Valor |
| Área total cm ² | 9,34±1,15 | 9,24±1,00 | 10,15±2,59 | 0,674 | 9,45±1,32 | 9,22±1,01 | 0,912 | 9,60±1,10 | 8,94±1,18 | 0,270 |
| Área corada cm ² | 5,82±1,52 | 5,68±1,44 | 7,09±2,28 | 0,379 | 5,88±1,60 | 5,77±1,53 | 0,853 | 6,42±1,33 | 4,92±1,41 | *0,031 |

*p<0,05, teste de Mann-Whitney. Dados expressos em forma de média ±DP. Amostra total = 20; Homens = 2; Mulheres = 18; Até 65 anos = 10; >65 anos = 10; Com 4 implantes = 12; Com 5 implantes = 8.

Tabela 2: Caracterização do perfil microbiológico da amostra de usuários de próteses totais implantossuportadas mandibulares (\log_{10} UFC/mL).

| | Sexo | | | | Idade | | | Nº implantes | | | Amostras |
|-------------------------------------|-----------|-----------|-----------|---------------|-----------|-----------|---------|--------------|-----------|---------------|----------|
| | Total | Feminino | Masculino | p-Valor | Até 65 | >65 | p-Valor | 4 | 5 | p-Valor | |
| <i>E. coli</i> | 2,95±2,82 | 3,03±2,87 | 2,23±3,15 | 0,589 | 3,15±2,74 | 2,75±3,03 | 0,853 | 1,79±2,69 | 4,69±2,10 | *0,039 | 4 |
| <i>Enterococcus spp</i> | 5,82±1,38 | 5,84±1,42 | 5,59±1,39 | 0,853 | 5,53±1,65 | 6,10±1,06 | 0,436 | 6,06±0,92 | 5,46±1,90 | 0,678 | 18 |
| <i>Klebsiella spp</i> | | | | | | | | | | | 13 |
| <i>Enterobacter spp</i> | 2,20±2,25 | 1,93±2,15 | 4,66±2,06 | 0,211 | 3,14±2,01 | 1,27±2,16 | 0,075 | 1,73±2,34 | 2,92±2,04 | 0,238 | |
| <i>Citrobacter spp</i> | | | | | | | | | | | |
| <i>Proteus spp</i> | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 1,000 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 1,000 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 1,000 | 0 |
| <i>Pseudomonas spp</i> | 1,82±2,42 | 2,02±2,47 | 0,00±0,00 | 0,379 | 1,42±1,91 | 2,22±2,89 | 0,579 | 1,57±2,34 | 2,19±2,66 | 0,624 | 8 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 5,75±2,02 | 5,59±2,07 | 7,21±0,25 | *0,042 | 5,36±2,86 | 6,14±0,36 | 0,436 | 5,88±1,93 | 5,55±2,27 | 0,678 | 17 |
| <i>Staphylococcus saprophyticus</i> | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 1,000 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 1,000 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 1,000 | 8 |
| <i>Candida tropicalis</i> | 0,10±0,47 | 0,00±0,00 | 1,04±1,47 | 0,316 | 0,21±0,66 | 0,00±0,00 | 0,739 | 0,17±0,60 | 0,00±0,00 | 0,792 | 1 |
| <i>Candida albicans</i> | 1,94±1,99 | 1,96±2,00 | 1,82±2,57 | 0,947 | 1,81±1,69 | 2,08±2,33 | 0,796 | 1,51±1,92 | 2,60±2,02 | 0,305 | 11 |

| | | | | | | | | | | | |
|-----------------------------|-----------|-----------|-----------|-------|-----------|-----------|-------|-----------|-----------|-------|---|
| <i>Candida krusei</i> | 0,58±1,44 | 0,48±1,41 | 1,44±2,04 | 0,516 | 0,71±1,53 | 0,45±1,43 | 0,796 | 0,59±1,41 | 0,56±1,59 | 0,970 | 3 |
| <i>Candida glabrata</i> | | | | | | | | | | | 4 |
| <i>Candida parapsilosis</i> | 0,82±1,85 | 0,76±1,89 | 1,32±1,87 | 0,516 | 0,26±0,83 | 1,37±2,41 | 0,436 | 0,40±0,95 | 1,43±2,67 | 0,678 | |

*p<0,05, teste de Mann-Whitney. Dados expressos em forma de média ±DP (log₁₀). Amostra total = 20; Homens = 2; Mulheres = 18; Até 65 anos = 10; >65 anos = 10; Com 4 implantes = 12; Com 5 implantes = 8.

Tabela 3: Frequência dos micro-organismos pelo método de cultura.

| | Idade | | | | | | | Número de implantes | | | | |
|------------------------------------|-------|------|--------|------|------------|------|---------|---------------------|------|---|------|---------------|
| | Total | | Até 65 | | Mais de 65 | | p-Valor | 4 | | 5 | | p-Valor |
| Microbiologia | | | | | | | | | | | | |
| <i>E. coli</i> | 11 | 55% | 6 | 60% | 5 | 50% | 1,000 | 4 | 33% | 7 | 88% | *0,028 |
| <i>Enterococcus</i> | 20 | 100% | 10 | 100% | 10 | 100% | 1,000 | 12 | 100% | 8 | 100% | 1,000 |
| <i>Klebsiella ssp</i> | 11 | 55% | 8 | 80% | 3 | 30% | 0,070 | 5 | 42% | 6 | 75% | 0,197 |
| <i>Proteus</i> | 0 | 0% | 0 | 0% | 0 | 0% | 1,000 | 0 | 0% | 0 | 0% | 1,000 |
| <i>Pseudomonas</i> | 8 | 40% | 4 | 40% | 4 | 40% | 1,000 | 4 | 33% | 4 | 50% | 0,648 |
| <i>Staphylococcys aureus</i> | 18 | 90% | 8 | 80% | 10 | 100% | 0,474 | 11 | 92% | 7 | 88% | 1,000 |
| <i>Saphylococcus saprophyticus</i> | 0 | 0% | 0 | 0% | 0 | 0% | 1,000 | 0 | 0% | 0 | 0% | 1,000 |
| <i>C. tropicalis</i> | 1 | 5% | 1 | 10% | 0 | 0% | 1,000 | 1 | 8% | 0 | 0% | 1,000 |
| <i>C. albicans</i> | 11 | 55% | 6 | 60% | 5 | 50% | 1,000 | 5 | 42% | 6 | 75% | 0,197 |
| <i>C. krusei</i> | 3 | 15% | 2 | 20% | 1 | 10% | 1,000 | 2 | 17% | 1 | 13% | 1,000 |
| <i>C. glabrata</i> | 4 | 20% | 1 | 10% | 3 | 30% | 0,582 | 2 | 17% | 2 | 25% | 1,000 |

*p<0,05, teste exato de Fisher; Dados expressos em forma de frequência absoluta e percentual.

Tabela 4: Correlação de Spearman entre os micro-organismos identificados pelo método de cultura.

| | | | área total cm | área corada cm | <i>E. coli</i> | <i>Enterococcus spp</i> | <i>Enterobacter spp</i> | <i>Citrobacter spp</i> | <i>Proteus spp</i> | <i>Pseudomonas spp</i> | <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>Staphylococcus saprophyticus</i> | <i>Candida tropicalis</i> | <i>Candida albicans</i> | <i>Candida krusei</i> | <i>Candida glabrata</i> | <i>Candida parasilosis</i> |
|-------------------------|---|---|---------------|----------------|----------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|--------------------|------------------------|------------------------------|-------------------------------------|---------------------------|-------------------------|-----------------------|-------------------------|----------------------------|
| área total cm | r | - | 0,623* | -0,145 | -0,089 | 0,187 | 0,000 | 0,134 | -0,240 | 0,000 | 0,378 | -0,425 | -0,082 | -0,232 | | | |
| | p | - | 0,003 | 0,542 | 0,710 | 0,430 | 1,000 | 0,573 | 0,308 | 1,000 | 0,100 | 0,062 | 0,730 | 0,324 | | | |
| área corada cm | r | - | - | 0,109 | 0,117 | 0,188 | 0,000 | 0,043 | 0,019 | 0,000 | 0,378 | -0,067 | 0,135 | -0,230 | | | |
| | p | - | - | 0,648 | 0,624 | 0,428 | 1,000 | 0,856 | 0,937 | 1,000 | 0,100 | 0,779 | 0,569 | 0,329 | | | |
| <i>E. coli</i> | r | - | - | - | 0,357 | 0,181 | 0,000 | 0,553* | 0,147 | 0,000 | -0,229 | 0,759* | 0,223 | 0,251 | | | |
| | p | - | - | - | 0,123 | 0,445 | 1,000 | 0,011 | 0,537 | 1,000 | 0,331 | <0,001 | 0,344 | 0,285 | | | |
| <i>Enterococcus spp</i> | r | - | - | - | - | -0,053 | 0,000 | 0,477* | 0,393 | 0,000 | 0,179 | 0,478* | 0,494* | 0,142 | | | |
| | p | - | - | - | - | 0,823 | 1,000 | 0,033 | 0,086 | 1,000 | 0,450 | 0,033 | 0,027 | 0,552 | | | |
| <i>Klebsiella spp</i> | r | - | - | - | - | - | 0,000 | 0,130 | 0,321 | 0,000 | 0,396 | 0,072 | 0,127 | 0,208 | | | |
| <i>Enterobacter spp</i> | p | - | - | - | - | - | 1,000 | 0,586 | 0,167 | 1,000 | 0,084 | 0,762 | 0,594 | 0,380 | | | |
| <i>Proteus spp</i> | r | - | - | - | - | - | - | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | | | |
| | p | - | - | - | - | - | - | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 | | | |
| <i>Pseudomonas spp</i> | r | - | - | - | - | - | - | - | 0,031 | 0,000 | -0,180 | 0,563* | 0,250 | 0,498* | | | |
| | p | - | - | - | - | - | - | - | 0,895 | 1,000 | 0,449 | 0,010 | 0,288 | 0,025 | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | |
|------------------------------|----------|---|---|---|---|---|---|---|---|-------|-------|--------|---------------|--------|
| <i>Staphylococcus aureus</i> | r | - | - | - | - | - | - | - | - | 0,000 | 0,259 | 0,286 | 0,469* | 0,167 |
| | p | - | - | - | - | - | - | - | - | 1,000 | 0,271 | 0,222 | 0,037 | 0,482 |
| <i>Staphylococcus</i> | r | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| <i>Saprophyticus</i> | p | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 |
| <i>Candida tropicalis</i> | r | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | -0,230 | 0,480* | -0,114 |
| | p | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0,330 | 0,032 | 0,633 |
| <i>Candida albicans</i> | r | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0,223 | 0,415 |
| | p | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0,344 | 0,069 |
| <i>Candida krusei</i> | r | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0,192 |
| | p | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0,417 |
| <i>Candida glabrata</i> | r | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| <i>Candida</i> | | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| <i>parapsilosis</i> | p | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

p<0,05, correlação de Spearman. Amostra total = 20; Homens = 2; Mulheres = 18; Até 65 anos = 10; >65 anos = 10; Com 4 implantes = 12; Com 5 implantes = 8.

Tabela 5: Média da quantidade de micro-organismos ($\times 10^5$) presentes nos biofilmes coletados dos pacientes usuários de próteses totais implantossuportadas mandibulares.

| | Sexo | | | | Idade | | | Nº implantes | | | Amostras |
|-------------------------|-----------|-----------|-----------|---------|-----------|-----------|---------------|--------------|-----------|---------|----------|
| | Total | Feminino | Masculino | p-Valor | Até 65 | >65 | p-Valor | 4 | 5 | p-Valor | |
| <i>C. tropicalis</i> | 4,56±1,71 | 4,59±1,80 | 4,25±0,28 | 0,130 | 4,22±1,53 | 4,89±1,88 | *0,049 | 4,50±1,51 | 4,63±2,07 | 0,728 | 18 |
| <i>C. dubliniensis</i> | 2,93±1,57 | 2,89±1,64 | 3,34±0,47 | 0,704 | 3,42±1,32 | 2,45±1,71 | 0,103 | 2,96±1,43 | 2,90±1,85 | 0,536 | 16 |
| <i>C. albicans</i> | 2,91±1,33 | 2,86±1,40 | 3,34±0,03 | 0,801 | 3,44±0,52 | 2,37±1,68 | 0,289 | 2,84±1,41 | 3,00±1,29 | 0,817 | 17 |
| <i>S. pneumoniae</i> | 4,99±1,01 | 4,90±1,02 | 5,83±0,14 | 0,101 | 5,46±0,38 | 4,53±1,23 | *0,049 | 5,22±0,82 | 4,65±1,21 | 0,487 | 20 |
| <i>S. gallolyticus</i> | 3,49±1,06 | 3,46±1,11 | 3,81±0,51 | 0,801 | 3,84±0,43 | 3,14±1,38 | 0,131 | 3,79±0,71 | 3,04±1,37 | 0,280 | 19 |
| <i>M. orale</i> | 2,64±0,97 | 2,64±1,03 | 2,68±0,11 | 0,412 | 3,00±0,47 | 2,29±1,23 | 0,289 | 2,69±0,91 | 2,58±1,13 | 0,757 | 18 |
| <i>L. acidophilus</i> | 4,90±1,61 | 4,92±1,70 | 4,73±0,46 | 0,705 | 5,52±1,01 | 4,27±1,89 | *0,049 | 5,28±0,99 | 4,31±2,20 | 0,217 | 19 |
| <i>C. gracilis</i> | 4,23±1,21 | 4,16±1,25 | 4,85±0,52 | 0,284 | 4,79±0,56 | 3,66±1,44 | *0,013 | 4,53±0,60 | 3,78±1,74 | 0,203 | 19 |
| <i>V. parvula</i> | 6,65±1,32 | 6,55±1,35 | 7,51±0,16 | 0,147 | 7,32±0,44 | 5,97±1,56 | *0,016 | 6,92±0,81 | 6,24±1,83 | 0,728 | 20 |
| <i>T. denticola</i> | 3,77±1,24 | 3,75±1,31 | 3,95±0,25 | 0,801 | 4,03±0,41 | 3,50±1,71 | 0,325 | 4,09±0,93 | 3,29±1,54 | 0,418 | 19 |
| <i>T. forshytia</i> | 3,42±1,21 | 3,40±1,26 | 3,66±0,63 | 0,753 | 3,80±0,82 | 3,05±1,45 | 0,273 | 3,73±0,83 | 2,96±1,57 | 0,143 | 19 |
| <i>S. sobrinus</i> | 2,38±1,32 | 2,34±1,39 | 2,74±0,01 | 1,000 | 2,83±1,17 | 1,93±1,36 | 0,160 | 2,23±1,40 | 2,61±1,24 | 0,846 | 16 |
| <i>S. sanguinis</i> | 3,92±1,06 | 3,84±1,09 | 4,63±0,18 | 0,378 | 4,56±0,38 | 3,28±1,14 | *0,010 | 4,10±0,90 | 3,64±1,27 | 0,589 | 20 |
| <i>S. salivarius</i> | 3,25±1,28 | 3,20±1,34 | 3,75±0,23 | 0,614 | 3,87±0,35 | 2,63±1,57 | 0,059 | 3,65±0,60 | 2,64±1,78 | 0,247 | 18 |
| <i>S. pasteurii</i> | 1,89±1,42 | 1,85±1,49 | 2,28±0,02 | 0,798 | 2,81±0,88 | 0,97±1,26 | *0,016 | 1,95±1,62 | 1,80±1,15 | 0,531 | 14 |
| <i>S. parasanguinis</i> | 2,56±1,06 | 2,49±1,09 | 3,16±0,57 | 0,378 | 3,15±0,58 | 1,97±1,13 | *0,002 | 2,46±1,29 | 2,71±0,63 | 0,700 | 18 |
| <i>S. oralis</i> | 2,23±1,07 | 2,22±1,13 | 2,39±0,23 | 0,850 | 2,73±0,58 | 1,73±1,24 | 0,103 | 2,26±1,16 | 2,20±1,00 | 0,787 | 17 |

| | | | | | | | | | | | |
|--------------------------|-----------|-----------|-----------|---------------|-----------|-----------|---------------|-----------|-----------|---------------|----|
| <i>S. mutans</i> | 3,86±1,18 | 3,87±1,24 | 3,78±0,36 | 0,801 | 4,06±1,06 | 3,66±1,31 | 0,406 | 4,04±0,95 | 3,59±1,48 | 0,114 | 20 |
| <i>S. moorei</i> | 1,83±1,28 | 1,82±1,35 | 2,00±0,32 | 0,849 | 2,01±0,80 | 1,66±1,66 | 0,542 | 2,09±1,30 | 1,45±1,23 | 0,484 | 15 |
| <i>S. mitis</i> | 3,18±1,13 | 3,06±1,12 | 4,29±0,15 | 0,059 | 3,67±0,46 | 2,69±1,39 | 0,070 | 3,56±0,87 | 2,62±1,29 | 0,090 | 19 |
| <i>S. gordonii</i> | 1,78±1,00 | 1,73±1,04 | 2,25±0,33 | 0,613 | 2,38±0,43 | 1,19±1,07 | *0,010 | 2,05±0,81 | 1,39±1,18 | 0,373 | 16 |
| <i>S. aureus</i> | 2,91±0,90 | 2,90±0,95 | 3,00±0,54 | 0,900 | 3,17±0,37 | 2,65±1,20 | 0,406 | 3,23±0,57 | 2,44±1,13 | 0,090 | 19 |
| <i>P. putida</i> | 1,83±0,88 | 1,83±0,93 | 1,86±0,25 | 0,614 | 2,20±0,50 | 1,46±1,04 | 0,112 | 2,04±0,74 | 1,52±1,02 | 0,142 | 17 |
| <i>P. nigrescens</i> | 2,06±0,85 | 2,04±0,89 | 2,19±0,28 | 1,000 | 2,43±0,49 | 1,68±0,99 | 0,130 | 2,17±0,75 | 1,88±1,01 | 0,232 | 18 |
| <i>P. micra</i> | 1,03±0,98 | 0,96±1,01 | 1,65±0,13 | 0,741 | 1,46±0,81 | 0,60±0,98 | 0,104 | 1,29±0,98 | 0,65±0,90 | 0,195 | 11 |
| <i>P. melaninogenica</i> | 4,61±1,24 | 4,37±1,03 | 6,82±0,01 | *0,023 | 4,83±1,38 | 4,39±1,10 | 0,449 | 5,08±1,13 | 3,91±1,09 | *0,045 | 19 |
| <i>P. intermedia</i> | 2,80±1,73 | 2,63±1,68 | 4,35±1,82 | 0,165 | 3,60±1,44 | 2,00±1,67 | 0,069 | 3,32±1,41 | 2,01±1,96 | 0,122 | 17 |
| <i>P. gingivalis</i> | 2,49±1,49 | 2,51±1,57 | 2,27±0,33 | 0,705 | 2,84±0,84 | 2,14±1,93 | 0,256 | 2,98±1,26 | 1,75±1,59 | 0,142 | 17 |
| <i>P. endodontalis</i> | 3,38±1,73 | 3,37±1,82 | 3,50±1,00 | 0,801 | 3,80±0,98 | 2,96±2,24 | 0,173 | 3,93±1,57 | 2,56±1,73 | 0,143 | 18 |
| <i>P. anaerobios</i> | 2,06±1,21 | 2,06±1,27 | 2,02±0,62 | 0,613 | 2,24±0,49 | 1,87±1,66 | 0,649 | 2,52±1,01 | 1,37±1,21 | *0,027 | 16 |
| <i>P. aeruginosa</i> | 0,53±0,95 | 0,59±0,99 | 0,00±0,00 | 0,408 | 0,68±1,10 | 0,39±0,82 | 0,427 | 0,50±0,91 | 0,58±1,07 | 0,761 | 5 |
| <i>M. salivarium</i> | 1,52±1,20 | 1,60±1,21 | 0,83±1,17 | 0,247 | 1,77±0,98 | 1,26±1,38 | 0,589 | 1,41±1,31 | 1,69±1,06 | 0,875 | 13 |
| <i>L. casei</i> | 0,70±1,10 | 0,77±1,14 | 0,00±0,00 | 0,351 | 0,69±1,12 | 0,70±1,14 | 1,000 | 0,80±1,19 | 0,55±1,02 | 0,601 | 6 |
| <i>K. pneumoniae</i> | 0,78±1,26 | 0,87±1,30 | 0,00±0,00 | 0,351 | 0,72±1,20 | 0,84±1,38 | 0,889 | 0,93±1,39 | 0,56±1,08 | 0,634 | 6 |
| <i>F. nucleatum</i> | 5,78±1,26 | 5,79±1,31 | 5,70±1,07 | 0,801 | 6,13±0,80 | 5,43±1,56 | 0,450 | 6,29±0,84 | 5,01±1,44 | *0,037 | 20 |
| <i>E. faecalis</i> | 4,11±1,51 | 4,06±1,58 | 4,54±0,44 | 0,801 | 4,52±0,43 | 3,70±2,06 | 0,677 | 4,39±1,48 | 3,69±1,55 | *0,040 | 18 |
| <i>E. corrodens</i> | 1,50±1,77 | 1,51±1,81 | 1,41±1,99 | 0,890 | 1,54±1,71 | 1,46±1,93 | 0,869 | 1,83±1,97 | 1,01±1,40 | 0,237 | 9 |
| <i>E. coli</i> | 0,96±1,55 | 1,07±1,60 | 0,00±0,00 | 0,351 | 0,64±1,35 | 1,28±1,74 | 0,351 | 1,35±1,73 | 0,38±1,08 | 0,168 | 6 |

| | | | | | | | | | | | |
|--------------------------------|-----------|-----------|-----------|---------------|-----------|-----------|-------|-----------|-----------|---------------|----|
| <i>C. rectus</i> | 3,74±1,66 | 3,73±1,74 | 3,82±0,86 | 0,900 | 4,14±0,76 | 3,34±2,21 | 0,450 | 4,16±1,67 | 3,10±1,53 | 0,097 | 18 |
| <i>C. gingivalis</i> | 4,54±1,69 | 4,44±1,73 | 5,51±0,86 | 0,449 | 4,96±1,17 | 4,13±2,06 | 0,405 | 5,32±1,12 | 3,39±1,78 | *0,015 | 19 |
| <i>B. fragilis</i> | 4,56±0,67 | 4,52±0,70 | 4,93±0,08 | 0,313 | 4,67±0,28 | 4,45±0,92 | 0,762 | 4,87±0,53 | 4,09±0,60 | *0,005 | 20 |
| <i>A.actinomycetemcomitans</i> | 4,80±0,82 | 4,68±0,77 | 5,91±0,30 | *0,023 | 5,10±0,58 | 4,51±0,95 | 0,226 | 5,09±0,76 | 4,38±0,77 | 0,054 | 20 |

*p<0,05, teste de Mann-Whitney. Dados expressos em forma de media ±DP (x 10⁶). Amostra total = 20; Homens = 2; Mulheres = 18; Até 65 anos = 10; >65 anos = 10; Com 4 implantes = 12; Com 5 implantes = 8.

Tabela 6: Frequência dos micro-organismos pelo método DNA *checkerboard*.

| | Idade | | | | | | | Número de implantes | | | | |
|-------------------------|-------|------|--------|------|------------|------|---------------|---------------------|------|---|------|---------|
| | Total | | Até 65 | | Mais de 65 | | p-Valor | 4 | | 5 | | p-Valor |
| DNA <i>checkerboard</i> | | | | | | | | | | | | |
| <i>C. tropicalis</i> | 18 | 90% | 9 | 90% | 9 | 90% | 1,000 | 11 | 92% | 7 | 88% | 1,000 |
| <i>C. dubliniensis</i> | 16 | 80% | 9 | 90% | 7 | 70% | 0,582 | 10 | 83% | 6 | 75% | 1,000 |
| <i>C. albicans</i> | 17 | 85% | 10 | 100% | 7 | 70% | 0,211 | 10 | 83% | 7 | 88% | 1,000 |
| <i>S. pneumoniae</i> | 20 | 100% | 10 | 100% | 10 | 100% | 1,000 | 12 | 100% | 8 | 100% | 1,000 |
| <i>S. gallolyticus</i> | 19 | 95% | 10 | 100% | 9 | 90% | 1,000 | 12 | 100% | 7 | 88% | 0,400 |
| <i>M. orale</i> | 18 | 90% | 10 | 100% | 8 | 80% | 0,474 | 11 | 92% | 7 | 88% | 1,000 |
| <i>L. acidophilus</i> | 19 | 95% | 10 | 100% | 9 | 90% | 1,000 | 12 | 100% | 7 | 88% | 0,400 |
| <i>C. gracilis</i> | 19 | 95% | 10 | 100% | 9 | 90% | 1,000 | 12 | 100% | 7 | 88% | 0,400 |
| <i>V. parvula</i> | 20 | 100% | 10 | 100% | 10 | 100% | 1,000 | 12 | 100% | 8 | 100% | 1,000 |
| <i>T. denticola</i> | 19 | 95% | 10 | 100% | 9 | 90% | 1,000 | 12 | 100% | 7 | 88% | 0,400 |
| <i>T. forshytia</i> | 19 | 95% | 10 | 100% | 9 | 90% | 1,000 | 12 | 100% | 7 | 88% | 0,400 |
| <i>S. sobrinus</i> | 16 | 80% | 9 | 90% | 7 | 70% | 0,582 | 9 | 75% | 7 | 88% | 0,619 |
| <i>S. sanguinis</i> | 20 | 100% | 10 | 100% | 10 | 100% | 1,000 | 12 | 100% | 8 | 100% | 1,000 |
| <i>S. salivarius</i> | 18 | 90% | 10 | 100% | 8 | 80% | 0,474 | 12 | 100% | 6 | 75% | 0,147 |
| <i>S. pasteurii</i> | 14 | 70% | 10 | 100% | 4 | 40% | *0,011 | 8 | 67% | 6 | 75% | 1,000 |
| <i>S. parasanguinis</i> | 18 | 90% | 10 | 100% | 8 | 80% | 0,474 | 10 | 83% | 8 | 100% | 0,495 |
| <i>S. oralis</i> | 17 | 85% | 10 | 100% | 7 | 70% | 0,211 | 10 | 83% | 7 | 88% | 1,000 |

| | | | | | | | | | | | | |
|--------------------------|----|------|----|------|----|------|-------|----|------|---|------|---------------|
| <i>S. mutans</i> | 20 | 100% | 10 | 100% | 10 | 100% | 1,000 | 12 | 100% | 8 | 100% | 1,000 |
| <i>S. moorei</i> | 15 | 75% | 9 | 90% | 6 | 60% | 0,303 | 10 | 83% | 5 | 63% | 0,347 |
| <i>S. mitis</i> | 19 | 95% | 10 | 100% | 9 | 90% | 1,000 | 12 | 100% | 7 | 88% | 0,400 |
| <i>S. gordonii</i> | 16 | 80% | 10 | 100% | 6 | 60% | 0,087 | 11 | 92% | 5 | 63% | 0,255 |
| <i>S. aureus</i> | 19 | 95% | 10 | 100% | 9 | 90% | 1,000 | 12 | 100% | 7 | 88% | 0,400 |
| <i>P. putida</i> | 17 | 85% | 10 | 100% | 7 | 70% | 0,211 | 11 | 92% | 6 | 75% | 0,537 |
| <i>P. nigrescens</i> | 18 | 90% | 10 | 100% | 8 | 80% | 0,474 | 11 | 92% | 7 | 88% | 1,000 |
| <i>P. micra</i> | 11 | 55% | 8 | 80% | 3 | 30% | 0,070 | 8 | 67% | 3 | 38% | 0,362 |
| <i>P. melaninogenica</i> | 20 | 100% | 10 | 100% | 10 | 100% | 1,000 | 12 | 100% | 8 | 100% | 1,000 |
| <i>P. intermedia</i> | 17 | 85% | 10 | 100% | 7 | 70% | 0,211 | 12 | 100% | 5 | 63% | *0,049 |
| <i>P. gingivalis</i> | 17 | 85% | 10 | 100% | 7 | 70% | 0,211 | 12 | 100% | 5 | 63% | *0,049 |
| <i>P. endodontalis</i> | 18 | 90% | 10 | 100% | 8 | 80% | 0,474 | 12 | 100% | 6 | 75% | 0,147 |
| <i>P. anaerobios</i> | 16 | 80% | 10 | 100% | 6 | 60% | 0,087 | 11 | 92% | 5 | 63% | 0,255 |
| <i>P. aeruginosa</i> | 5 | 25% | 3 | 30% | 2 | 20% | 1,000 | 3 | 25% | 2 | 25% | 1,000 |
| <i>M. salivarium</i> | 13 | 65% | 8 | 80% | 5 | 50% | 0,350 | 7 | 58% | 6 | 75% | 0,642 |
| <i>L. casei</i> | 6 | 30% | 3 | 30% | 3 | 30% | 1,000 | 4 | 33% | 2 | 25% | 1,000 |
| <i>K. pneumoniae</i> | 6 | 30% | 3 | 30% | 3 | 30% | 1,000 | 4 | 33% | 2 | 25% | 1,000 |
| <i>F. nucleatum</i> | 20 | 100% | 10 | 100% | 10 | 100% | 1,000 | 12 | 100% | 8 | 100% | 1,000 |
| <i>E. faecalis</i> | 18 | 90% | 10 | 100% | 8 | 80% | 0,474 | 11 | 92% | 7 | 88% | 1,000 |
| <i>E. corrodens</i> | 9 | 45% | 5 | 50% | 4 | 40% | 1,000 | 6 | 50% | 3 | 38% | 1,000 |
| <i>E. coli</i> | 6 | 30% | 2 | 20% | 4 | 40% | 0,628 | 5 | 42% | 1 | 13% | 0,325 |

| | | | | | | | | | | | | |
|---------------------------------|----|------|----|------|----|------|-------|----|------|---|------|-------|
| <i>C. rectus</i> | 18 | 90% | 10 | 100% | 8 | 80% | 0,474 | 11 | 92% | 7 | 88% | 1,000 |
| <i>C. gingivalis</i> | 19 | 95% | 10 | 100% | 9 | 90% | 1,000 | 12 | 100% | 7 | 88% | 0,400 |
| <i>B. fragilis</i> | 20 | 100% | 10 | 100% | 10 | 100% | 1,000 | 12 | 100% | 8 | 100% | 1,000 |
| <i>A. actinomycetemcomitans</i> | 20 | 100% | 10 | 100% | 10 | 100% | 1,000 | 12 | 100% | 8 | 100% | 1,000 |

*p<0,05, teste exato de Fisher; Dados expressos em forma de frequência absoluta e percentual.

4 CONCLUSÃO GERAL

Todas as próteses protocolo analisadas apresentaram biofilme em sua superfície gengival, sendo a média da área coberta maior do que 50% da área total. A partir da análise de cultura, verificou-se maior quantidade de *Enterococcus ssp* e *Staphylococcus aureus*, encontrados em mais de 85% das amostras; e, entre os fungos, *Candida albicans*, presente em 55% das amostras.

Streptococcus pneumoniae, *Veillonella parvula*, *Fusobacterium nucleatum* apresentaram os maiores sinais de hibridização no método DNA checkerboard, estando presente em 100% das amostras. *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida dubliniensis* foram detectadas em mais de 80% das amostras.

REFERÊNCIAS GERAIS

ABI NADER, S. et al. Plaque Accumulation Beneath Maxillary All- on- 4™ Implant-Supported Prostheses. **Clinical implant dentistry and related research**, v. 17, n. 5, p. 932-937, 2015.

AKAHN- EVREN, B. et al. Candida albicans adhesion on reinforced polymethylmethacrylate denture resin: effect of fibre architecture and exposure to saliva. **Gerodontology**, v. 31, n. 3, p. 194-201, 2014.

AL-FOUZAN, A. F.; AL- MEJRAD, L. A.; ALBARRAG, A. M. Adherence of Candida to complete denture surfaces in vitro: A comparison of conventional and CAD/CAM complete dentures. **The journal of advanced prosthodontics**, v. 9, n. 5, p. 402-408, 2017.

CONTRERAS, L. P. C. et al. Effects of Manufacturing and Finishing Techniques of Feldspathic Ceramics on Surface Topography, Biofilm Formation, and Cell Viability for Human Gingival Fibroblasts. **Operative dentistry**, v.43, n.6, p. 593-601, 2018.

CORTELLI, S. et al. Frequency of periodontal pathogens in equivalent peri-implant and periodontal clinical statuses. **Archives of oral biology**, v. 58, n. 1, p. 67-74, 2013.

DAĞISTAN, S. et al. Differential diagnosis of denture- induced stomatitis, Candida, and their variations in patients using complete denture: a clinical and mycological study. **Mycoses**, v. 52, n. 3, p. 266-271, 2009.

DE CASTRO, D. T. et al. In vitro study of the antibacterial properties and impact strength of dental acrylic resins modified with a nanomaterial. **The Journal of prosthetic dentistry**, v. 115, n. 2, p. 238-246, 2016.

DUYCK, J. et al. Impact of Denture Cleaning Method and Overnight Storage Condition on Denture Biofilm Mass and Composition: A Cross-Over Randomized Clinical Trial. **PloS one**, v. 11, n. 1, p. e0145837, 2016.

EMAMI, E. et al. Implant-assisted complete prostheses. **Periodontology**, v. 66, n. 1, p. 119- 131, 2014.

GAUCH, L.M.R. et al. Isolation of Candida spp. from denture-related stomatitis in Pará, Brazil. **Brazilian journal of microbiology**, v. 49, n. 1, p. 148-151, 2018.

GHERLONE, E.F. et al. Evaluation of resistance against bacterial microleakage of a new conical implant-abutment connection versus conventional connections: an in vitro study. **New Microbiologica**, v. 39, n. 1, p. 59-66, 2016.

GLASS, R.T. et al. Evaluation of microbial flora found in previously worn prostheses from the Northeast and Southwest regions of the United States. **The Journal of prosthetic dentistry**, v. 103, n. 6, p. 384-389, 2010.

HEUER, W. et al. Microbial Diversity of Peri-Implant Biofilms on Implant Fixed Bar

and Telescopic Double Crown Attachments. **Journal of Oral Implantology** v. 39, n. 6, p. 648–654, 2013.

HIRT, H.; SCHLIEVERT, P.M.; DUNNY, G.M. In vivo induction of virulence and antibiotic resistance transfer in *Enterococcus faecalis* mediated by the sex pheromone-sensing system of pCF10. **Infection and immunity**, v. 70, n. 2, p. 716-723, 2002.

HOGAN, D.A.; VIK, Å.; KOLTER, R. A *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing molecule influences *Candida albicans* morphology. **Molecular microbiology**, v. 54, n. 5, p. 1212-1223, 2004.

IINUMA, T. et al. Denture wearing during sleep doubles the risk of pneumonia in the very elderly. **Journal of dental research**, v. 94, n. 3_suppl, p. 28S-36S, 2015.

LI, J. et al. Biofilm formation of *Candida albicans* on implant overdenture materials and its removal. **Journal of dentistry**, v. 40, n. 8, p. 686-692, 2012.

KANAO, M. et al. Comparison of plaque accumulation and soft-tissue blood flow with the use of full-arch implant-supported fixed prostheses with mucosal surfaces of different materials: A randomized clinical study. **Clinical Oral Implants Research**, v. 24, n. 10, p. 1137–1143, 2013.

KOCH, C.; BÜRGERS, R.; HAHNEL, S. *Candida albicans* adherence and proliferation on the surface of denture base materials. **Gerodontology**, v. 30, n. 4, p. 309-313, 2013.

MALO, P. et al. A longitudinal study of the survival of All-on-4 implants in the mandible with up to 10 years of follow-up. **Journal of the American Dental Association (1939)** v. 142, n. 3, p. 310–320, 2011.

MERİÇ, G.; GÜVENİR, M.; SÜER, K. Evaluating the efficiency of humic acid to remove micro-organisms from denture base material. **Gerodontology**, v. 33, n. 3, p. 395-401, 2016.

NASCIMENTO, C.; ALBUQUERQUE, R.F. Bacterial leakage along the implant-abutment interface. In: **Implant Dentistry-The Most Promising Discipline of Dentistry**. InTech, p. 323–346, 2011.

NASCIMENTO, C. **Avaliação da infiltração bacteriana através da interface implante-conector protético sob aplicação de carga-avaliação in vitro pelo método DNA Checkerboard**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.

NARVAJA, A. et al. Microbiologic Analysis of Immediately Loaded Full-Arch Implant-Retained Prosthesis Protocol After 2 Years of Loading: A Retrospective Study. **The International journal of oral & maxillofacial implants**, v. 33, n. 6, p. 1339-1344, 2018.

PARANHOS, H. F. et al. Capacity of denture plaque/biofilm removal and antimicrobial action of a new denture paste. **Brazilian Dental Journal**, v. 11, n. 2, p. 97-104, 2000.

PEREIRA, C. et al. Opportunistic microorganisms in individuals with lesions of denture

stomatitis. **Diagnostic microbiology and infectious disease**, v. 76, n. 4, p. 419-424, 2013.

PJETURSSON, B. E. et al. A systematic review of the survival and complication rates of implant-supported fixed dental prostheses (FDPs) after a mean observation period of at least 5 years. **Clinical Oral Implants Research** v. 23, n. SUPPL.6, p. 22–38 , 2012.

QUIRYNEN, M. et al. Microbiological and clinical outcomes and patient satisfaction for two treatment options in the edentulous lower jaw after 10 years of function. **Clinical Oral Implants Research**, v. 16, n. 3, p. 277-287, 2005.

QUIRYNEN, M. et al. The influence of surface free energy and surface roughness on early plaque formation: an in vivo study in man. **Journal of clinical periodontology**, v. 17, n. 3, p. 138-144, 1990.

RAFFAINI, F. C. et al. Genome analysis and clinical implications of the bacterial communities in early biofilm formation on dental implants restored with titanium or zirconia abutments. **Biofouling**, v. 34, n. 2, p. 173-182, 2018.

SILVA, C. H. L.; PARANHOS, H. F. O.; ITO, I. Y. Evidenciadores de biofilme em prótese total. *Pesquisa odontológica brasileira*, v.16, n.3, p. 270-75, 2002.

SILVA, C. H. L. et al. Evaluation of a computerized method for denture biofilm quantification: Inter-examiner reproducibility. **Journal of Prosthodontics** v. 18, n. 4, p. 332–336 , 2009.

SIVAKUMAR, I. et al. Incorporation of antimicrobial macromolecules in acrylic denture base resins: A research composition and update. **Journal of Prosthodontics** v. 23, n. 4, p. 284–290, 2014.

STRUB, J. R.; JURDZIK, B. A.; TUNA, T. Prognosis of immediately loaded implants and their restorations: A systematic literature review. **Journal of Oral Rehabilitation** v. 39, n. 9, p. 704–717 , 2012.

THALJI, G. et al. Prosthodontic management of implant therapy. **Dental Clinics of North America** v. 58, n. 1, p. 207–225 , 2014.

TSCHERNER, M. et al. A synthetic system that senses *Candida albicans* and inhibits virulence factors. **ACS synthetic biology** v. 8, n. 2, p. 434-444, 2019.

ZHUANG, L. F. et al. Periodontal and peri- implant microbiota in patients with healthy and inflamed periodontal and peri- implant tissues. **Clinical Oral Implants Research**, v. 27, n. 1, p. 13-21, 2016.

APÊNDICE A – Material suplementar - correlação de Spearman entre os micro-organismos identificados pelo método de DNA checkerboard.

[illegible]

| | | <i>S</i> <i>parasanguinis</i> | <i>S</i> <i>oralis</i> | <i>S</i> <i>mutans</i> | <i>S</i> <i>moorei</i> | <i>S</i> <i>mitis</i> | <i>S</i> <i>gordonii</i> | <i>S</i> <i>aureus</i> | <i>P</i> <i>putida</i> | <i>P</i> <i>nigrescens</i> | <i>P</i> <i>micra</i> | <i>P</i> <i>melaninogenica</i> | <i>P</i> <i>intermedia</i> | <i>P</i> <i>gingivalis</i> | <i>P</i> <i>endodontalis</i> | <i>P</i> <i>anaerobios</i> |
|------------------------|---------|----------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|-------------------------------|--------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|
| <i>C tropicalis</i> | r | -0,179 | 0,235 | 0,057 | 0,058 | -0,433 | -0,324 | 0,132 | -0,078 | -0,249 | -0,140 | -0,377 | -0,328 | -0,100 | -0,086 | 0,093 |
| | p-Valor | 0,451 | 0,318 | 0,812 | 0,807 | 0,056 | 0,163 | 0,578 | 0,745 | 0,290 | 0,557 | 0,101 | 0,158 | 0,674 | 0,719 | 0,698 |
| <i>C dubliniensis</i> | r | 0,536* | 0,747* | 0,390 | 0,405 | 0,103 | 0,635* | 0,410 | 0,594* | 0,491* | 0,439 | -0,125 | 0,330 | 0,416 | 0,456* | 0,043 |
| | p-Valor | 0,015 | 0,000 | 0,090 | 0,077 | 0,667 | 0,003 | 0,073 | 0,006 | 0,028 | 0,053 | 0,601 | 0,156 | 0,068 | 0,043 | 0,857 |
| <i>C albicans</i> | r | 0,463* | 0,653* | 0,412 | 0,302 | 0,194 | 0,666* | 0,340 | 0,558* | 0,500* | 0,393 | -0,041 | 0,390 | 0,370 | 0,454* | 0,118 |
| | p-Valor | 0,040 | 0,002 | 0,071 | 0,195 | 0,413 | 0,001 | 0,142 | 0,011 | 0,025 | 0,087 | 0,862 | 0,089 | 0,108 | 0,045 | 0,620 |
| <i>S pneumoniae</i> | r | 0,465* | 0,342 | 0,551* | 0,471* | 0,720* | 0,324 | 0,368 | 0,170 | 0,415 | 0,337 | 0,501* | 0,587* | 0,554* | 0,565* | 0,495* |
| | p-Valor | 0,039 | 0,140 | 0,012 | 0,036 | 0,000 | 0,164 | 0,110 | 0,473 | 0,069 | 0,147 | 0,024 | 0,006 | 0,011 | 0,009 | 0,026 |
| <i>S gallolyticus</i> | r | 0,402 | 0,356 | 0,663* | 0,424 | 0,374 | 0,339 | 0,589* | 0,288 | 0,437 | 0,296 | 0,304 | 0,245 | 0,462* | 0,335 | 0,565* |
| | p-Valor | 0,079 | 0,124 | 0,001 | 0,063 | 0,104 | 0,144 | 0,006 | 0,219 | 0,054 | 0,206 | 0,193 | 0,297 | 0,040 | 0,149 | 0,010 |
| <i>M orale</i> | r | 0,403 | 0,677* | 0,561* | 0,330 | 0,001 | 0,486* | 0,509* | 0,645* | 0,402 | 0,350 | -0,108 | 0,116 | 0,306 | 0,290 | 0,268 |
| | p-Valor | 0,078 | 0,001 | 0,010 | 0,156 | 0,997 | 0,030 | 0,022 | 0,002 | 0,079 | 0,131 | 0,650 | 0,626 | 0,189 | 0,215 | 0,253 |
| <i>L acidophilus</i> | r | 0,518* | 0,476* | 0,325 | 0,423 | 0,543* | 0,767* | 0,465* | 0,886* | 0,824* | 0,553* | 0,294 | 0,720* | 0,718* | 0,687* | 0,432 |
| | p-Valor | 0,019 | 0,034 | 0,162 | 0,063 | 0,013 | 0,000 | 0,039 | 0,000 | 0,000 | 0,011 | 0,208 | 0,000 | 0,000 | 0,001 | 0,057 |
| <i>C gracilis</i> | r | 0,653* | 0,423 | 0,450* | 0,502* | 0,704* | 0,723* | 0,443 | 0,683* | 0,702* | 0,528* | 0,486* | 0,691* | 0,620* | 0,580* | 0,353 |
| | p-Valor | 0,002 | 0,063 | 0,046 | 0,024 | 0,001 | 0,000 | 0,050 | 0,001 | 0,001 | 0,017 | 0,030 | 0,001 | 0,004 | 0,007 | 0,126 |
| <i>V parvula</i> | r | 0,470* | 0,424 | 0,578* | 0,121 | 0,435 | 0,342 | 0,403 | 0,164 | 0,241 | 0,217 | 0,421 | 0,388 | 0,287 | 0,342 | 0,335 |
| | p-Valor | 0,037 | 0,063 | 0,008 | 0,612 | 0,055 | 0,140 | 0,078 | 0,489 | 0,306 | 0,359 | 0,065 | 0,091 | 0,220 | 0,140 | 0,149 |
| <i>T denticola</i> | r | 0,622* | 0,782* | 0,848* | 0,608* | 0,496* | 0,444 | 0,847* | 0,353 | 0,446* | 0,412 | 0,269 | 0,376 | 0,601* | 0,562* | 0,671* |
| | p-Valor | 0,003 | 0,000 | 0,000 | 0,004 | 0,026 | 0,050 | 0,000 | 0,127 | 0,049 | 0,071 | 0,252 | 0,102 | 0,005 | 0,010 | 0,001 |
| <i>T forsythia</i> | r | 0,386 | 0,447* | 0,360 | 0,500* | 0,640* | 0,634* | 0,539* | 0,602* | 0,811* | 0,723* | 0,479* | 0,898* | 0,887* | 0,909* | 0,533* |
| | p-Valor | 0,093 | 0,048 | 0,119 | 0,025 | 0,002 | 0,003 | 0,014 | 0,005 | 0,000 | 0,000 | 0,033 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,016 |
| <i>S sobrinus</i> | r | 0,638* | 0,817* | 0,535* | 0,312 | 0,212 | 0,668* | 0,543* | 0,599* | 0,590* | 0,348 | 0,166 | 0,393 | 0,407 | 0,465* | 0,251 |
| | p-Valor | 0,002 | 0,000 | 0,015 | 0,181 | 0,369 | 0,001 | 0,013 | 0,005 | 0,006 | 0,133 | 0,484 | 0,086 | 0,075 | 0,039 | 0,286 |
| <i>S sanguinis</i> | r | 0,439 | 0,295 | 0,442 | 0,464* | 0,660* | 0,682* | 0,382 | 0,574* | 0,816* | 0,573* | 0,344 | 0,637* | 0,613* | 0,615* | 0,426 |
| | p-Valor | 0,053 | 0,207 | 0,051 | 0,039 | 0,002 | 0,001 | 0,097 | 0,008 | 0,000 | 0,008 | 0,138 | 0,003 | 0,004 | 0,004 | 0,061 |
| <i>S salivarius</i> | r | 0,445* | 0,309 | 0,667* | 0,518* | 0,672* | 0,372 | 0,542* | 0,333 | 0,439 | 0,400 | 0,349 | 0,402 | 0,530* | 0,459* | 0,646* |
| | p-Valor | 0,049 | 0,185 | 0,001 | 0,019 | 0,001 | 0,107 | 0,013 | 0,151 | 0,053 | 0,081 | 0,132 | 0,079 | 0,016 | 0,042 | 0,002 |
| <i>S pasteurii</i> | r | 0,697* | 0,630* | 0,284 | 0,366 | 0,388 | 0,696* | 0,448* | 0,801* | 0,475* | 0,315 | -0,004 | 0,363 | 0,386 | 0,376 | 0,193 |
| | p-Valor | 0,001 | 0,003 | 0,226 | 0,113 | 0,091 | 0,001 | 0,047 | 0,000 | 0,034 | 0,176 | 0,986 | 0,116 | 0,093 | 0,102 | 0,415 |
| <i>S parasanguinis</i> | r | - | 0,769* | 0,409 | 0,381 | 0,469* | 0,624* | 0,588* | 0,411 | 0,303 | 0,263 | 0,259 | 0,413 | 0,415 | 0,375 | 0,116 |
| | p-Valor | - | 0,000 | 0,073 | 0,098 | 0,037 | 0,003 | 0,006 | 0,072 | 0,194 | 0,262 | 0,270 | 0,070 | 0,069 | 0,103 | 0,627 |
| <i>S oralis</i> | r | - | - | 0,696* | 0,499* | 0,329 | 0,625* | 0,722* | 0,551* | 0,381 | 0,341 | -0,012 | 0,309 | 0,503* | 0,509* | 0,375 |
| | p-Valor | - | - | 0,001 | 0,025 | 0,157 | 0,003 | 0,000 | 0,012 | 0,097 | 0,142 | 0,961 | 0,184 | 0,024 | 0,022 | 0,103 |
| <i>S mutans</i> | r | - | - | - | 0,488* | 0,500* | 0,477* | 0,699* | 0,429 | 0,445* | 0,480* | 0,241 | 0,300 | 0,476* | 0,520* | 0,713* |
| | p-Valor | - | - | - | 0,029 | 0,025 | 0,034 | 0,001 | 0,059 | 0,049 | 0,032 | 0,306 | 0,199 | 0,034 | 0,019 | 0,000 |
| <i>S moorei</i> | r | - | - | - | - | 0,566* | 0,201 | 0,470* | 0,424 | 0,500* | 0,600* | 0,120 | 0,473* | 0,710* | 0,712* | 0,552* |
| | p-Valor | - | - | - | - | 0,009 | 0,397 | 0,037 | 0,063 | 0,025 | 0,005 | 0,614 | 0,035 | 0,000 | 0,000 | 0,012 |
| <i>S mitis</i> | r | - | - | - | - | - | 0,477* | 0,417 | 0,398 | 0,551* | 0,621* | 0,587* | 0,780* | 0,661* | 0,756* | 0,584* |

[illegible]

| | | P aeruginosa | M salivarium | L casei | K pneumoniae | F nucleatum | E faecalis | E corrodens | E coli | C rectus | C gingivalis | B fragilis | A a |
|-----------------|---------|--------------|--------------|---------|--------------|-------------|------------|-------------|--------|----------|--------------|------------|--------|
| C tropicalis | r | 0,044 | 0,362 | 0,371 | 0,420 | -0,119 | -0,162 | -0,114 | 0,296 | -0,065 | -0,193 | -0,166 | -0,433 |
| | p-Valor | 0,855 | 0,117 | 0,107 | 0,065 | 0,618 | 0,496 | 0,631 | 0,204 | 0,784 | 0,415 | 0,483 | 0,057 |
| C dubliniensis | r | 0,540* | 0,699* | 0,287 | 0,224 | 0,325 | 0,051 | -0,068 | -0,028 | 0,238 | 0,215 | 0,071 | -0,118 |
| | p-Valor | 0,014 | 0,001 | 0,220 | 0,342 | 0,163 | 0,829 | 0,777 | 0,905 | 0,312 | 0,364 | 0,766 | 0,621 |
| C albicans | r | 0,486* | 0,580* | 0,297 | 0,197 | 0,383 | 0,112 | 0,003 | -0,076 | 0,293 | 0,288 | 0,188 | 0,088 |
| | p-Valor | 0,030 | 0,007 | 0,203 | 0,404 | 0,095 | 0,639 | 0,989 | 0,750 | 0,210 | 0,218 | 0,427 | 0,712 |
| S pneumoniae | r | 0,176 | 0,160 | 0,078 | 0,148 | 0,373 | 0,313 | 0,135 | -0,056 | 0,468* | 0,439 | 0,577* | 0,639* |
| | p-Valor | 0,458 | 0,501 | 0,744 | 0,533 | 0,105 | 0,179 | 0,570 | 0,816 | 0,038 | 0,053 | 0,008 | 0,002 |
| S gallolyticus | r | 0,287 | 0,151 | 0,409 | 0,462* | 0,284 | 0,521* | 0,216 | 0,271 | 0,381 | 0,672* | 0,605* | 0,397 |
| | p-Valor | 0,221 | 0,526 | 0,073 | 0,040 | 0,225 | 0,018 | 0,361 | 0,248 | 0,097 | 0,001 | 0,005 | 0,083 |
| M orale | r | 0,395 | 0,553* | 0,491* | 0,441 | 0,254 | 0,237 | 0,164 | 0,192 | 0,284 | 0,477* | 0,215 | -0,076 |
| | p-Valor | 0,085 | 0,011 | 0,028 | 0,052 | 0,281 | 0,314 | 0,490 | 0,417 | 0,226 | 0,034 | 0,362 | 0,750 |
| L acidophilus | r | 0,551* | 0,423 | 0,033 | -0,041 | 0,759* | 0,222 | 0,082 | -0,173 | 0,747* | 0,625* | 0,352 | 0,395 |
| | p-Valor | 0,012 | 0,063 | 0,889 | 0,864 | 0,000 | 0,348 | 0,730 | 0,465 | 0,000 | 0,003 | 0,128 | 0,084 |
| C gracilis | r | 0,449* | 0,330 | -0,032 | -0,083 | 0,571* | 0,316 | 0,117 | -0,228 | 0,667* | 0,726* | 0,506* | 0,618* |
| | p-Valor | 0,047 | 0,156 | 0,892 | 0,726 | 0,009 | 0,175 | 0,623 | 0,333 | 0,001 | 0,000 | 0,023 | 0,004 |
| V parvula | r | 0,148 | 0,184 | 0,094 | 0,189 | 0,190 | 0,116 | 0,128 | 0,000 | 0,188 | 0,385 | 0,375 | 0,487* |
| | p-Valor | 0,533 | 0,438 | 0,694 | 0,424 | 0,423 | 0,626 | 0,589 | 10,000 | 0,427 | 0,093 | 0,103 | 0,029 |
| T denticola | r | 0,414 | 0,650* | 0,694* | 0,684* | 0,429 | 0,640* | 0,379 | 0,417 | 0,569* | 0,625* | 0,627* | 0,381 |
| | p-Valor | 0,069 | 0,002 | 0,001 | 0,001 | 0,059 | 0,002 | 0,099 | 0,068 | 0,009 | 0,003 | 0,003 | 0,097 |
| T forsythia | r | 0,405 | 0,398 | 0,221 | 0,149 | 0,912* | 0,228 | -0,176 | -0,038 | 0,628* | 0,363 | 0,463* | 0,402 |
| | p-Valor | 0,076 | 0,082 | 0,348 | 0,531 | 0,000 | 0,334 | 0,457 | 0,875 | 0,003 | 0,116 | 0,040 | 0,079 |
| S sobrinus | r | 0,591* | 0,651* | 0,398 | 0,337 | 0,395 | 0,110 | -0,017 | 0,054 | 0,324 | 0,426 | 0,144 | 0,128 |
| | p-Valor | 0,006 | 0,002 | 0,083 | 0,146 | 0,085 | 0,645 | 0,942 | 0,823 | 0,164 | 0,061 | 0,544 | 0,592 |
| S sanguinis | r | 0,459* | 0,151 | -0,096 | -0,116 | 0,579* | 0,249 | 0,064 | -0,278 | 0,545* | 0,628* | 0,529* | 0,571* |
| | p-Valor | 0,042 | 0,526 | 0,689 | 0,627 | 0,007 | 0,289 | 0,788 | 0,235 | 0,013 | 0,003 | 0,016 | 0,008 |
| S salivarius | r | 0,239 | 0,202 | 0,225 | 0,251 | 0,407 | 0,584* | 0,428 | 0,121 | 0,628* | 0,716* | 0,719* | 0,658* |
| | p-Valor | 0,310 | 0,393 | 0,339 | 0,285 | 0,075 | 0,007 | 0,060 | 0,613 | 0,003 | 0,000 | 0,000 | 0,002 |
| S pasteurii | r | 0,292 | 0,495* | 0,222 | 0,126 | 0,371 | 0,262 | 0,180 | -0,119 | 0,599* | 0,528* | 0,258 | 0,252 |
| | p-Valor | 0,212 | 0,027 | 0,346 | 0,595 | 0,107 | 0,265 | 0,447 | 0,616 | 0,005 | 0,017 | 0,271 | 0,283 |
| S parasanguinis | r | 0,314 | 0,606* | 0,415 | 0,361 | 0,238 | 0,311 | 0,063 | 0,045 | 0,426 | 0,363 | 0,208 | 0,310 |
| | p-Valor | 0,177 | 0,005 | 0,069 | 0,118 | 0,313 | 0,183 | 0,793 | 0,851 | 0,061 | 0,115 | 0,380 | 0,184 |
| S oralis | r | 0,402 | 0,796* | 0,670* | 0,628* | 0,337 | 0,403 | 0,222 | 0,292 | 0,459* | 0,418 | 0,359 | 0,121 |
| | p-Valor | 0,079 | 0,000 | 0,001 | 0,003 | 0,146 | 0,078 | 0,347 | 0,211 | 0,042 | 0,067 | 0,120 | 0,613 |
| S mutans | r | 0,241 | 0,458* | 0,547* | 0,548* | 0,423 | 0,523* | 0,390 | 0,324 | 0,448* | 0,694* | 0,761* | 0,481* |
| | p-Valor | 0,306 | 0,042 | 0,013 | 0,012 | 0,063 | 0,018 | 0,089 | 0,163 | 0,048 | 0,001 | 0,000 | 0,032 |
| S moorei | r | 0,335 | 0,629* | 0,434 | 0,398 | 0,549* | 0,478* | 0,088 | 0,223 | 0,708* | 0,328 | 0,502* | 0,259 |
| | p-Valor | 0,149 | 0,003 | 0,056 | 0,082 | 0,012 | 0,033 | 0,712 | 0,344 | 0,000 | 0,157 | 0,024 | 0,270 |
| S mitis | r | 0,004 | 0,203 | 0,048 | 0,000 | 0,675* | 0,363 | 0,127 | -0,171 | 0,699* | 0,484* | 0,729* | 0,842* |

| | | P aeruginosa | M salivarium | L casei | K pneumoniae | F nucleatum | E faecalis | E corrodens | E coli | C rectus | C gingivalis | B fragilis | A a |
|------------------|---------|--------------|--------------|---------|--------------|-------------|------------|-------------|--------|----------|--------------|------------|--------|
| S aureus | p-Valor | 0,987 | 0,391 | 0,840 | 10,000 | 0,001 | 0,115 | 0,594 | 0,472 | 0,001 | 0,031 | 0,000 | 0,000 |
| | r | 0,433 | 0,371 | 0,122 | 0,035 | 0,566* | 0,198 | 0,059 | -0,197 | 0,412 | 0,553* | 0,423 | 0,390 |
| S gordonii | p-Valor | 0,057 | 0,107 | 0,608 | 0,882 | 0,009 | 0,402 | 0,806 | 0,405 | 0,071 | 0,011 | 0,063 | 0,089 |
| | r | 0,425 | 0,658* | 0,697* | 0,686* | 0,532* | 0,659* | 0,333 | 0,528* | 0,589* | 0,621* | 0,602* | 0,314 |
| S aureus | p-Valor | 0,062 | 0,002 | 0,001 | 0,001 | 0,016 | 0,002 | 0,152 | 0,017 | 0,006 | 0,003 | 0,005 | 0,177 |
| | r | 0,451* | 0,432 | 0,109 | 0,032 | 0,670* | 0,133 | 0,030 | -0,175 | 0,631* | 0,637* | 0,396 | 0,312 |
| P putida | p-Valor | 0,046 | 0,057 | 0,648 | 0,895 | 0,001 | 0,577 | 0,901 | 0,459 | 0,003 | 0,003 | 0,084 | 0,181 |
| | r | 0,556* | 0,287 | 0,035 | -0,029 | 0,837* | 0,127 | -0,148 | -0,188 | 0,587* | 0,591* | 0,462* | 0,446* |
| P nigrescens | p-Valor | 0,011 | 0,219 | 0,883 | 0,904 | 0,000 | 0,592 | 0,533 | 0,428 | 0,006 | 0,006 | 0,040 | 0,049 |
| | r | 0,243 | 0,292 | 0,177 | 0,078 | 0,790* | 0,240 | -0,167 | 0,025 | 0,450* | 0,320 | 0,453* | 0,338 |
| P micra | p-Valor | 0,303 | 0,212 | 0,455 | 0,744 | 0,000 | 0,308 | 0,480 | 0,916 | 0,046 | 0,168 | 0,045 | 0,145 |
| | r | 0,061 | -0,048 | -0,127 | -0,141 | 0,464* | 0,048 | -0,224 | -0,065 | 0,234 | 0,384 | 0,313 | 0,685* |
| P melaninogenica | p-Valor | 0,797 | 0,839 | 0,595 | 0,553 | 0,040 | 0,842 | 0,342 | 0,786 | 0,320 | 0,095 | 0,179 | 0,001 |
| | r | 0,374 | 0,309 | -0,024 | -0,070 | 0,854* | 0,198 | -0,106 | -0,175 | 0,654* | 0,381 | 0,468* | 0,605* |
| P intermedia | p-Valor | 0,104 | 0,185 | 0,919 | 0,771 | 0,000 | 0,402 | 0,658 | 0,462 | 0,002 | 0,098 | 0,037 | 0,005 |
| | r | 0,449* | 0,526* | 0,370 | 0,338 | 0,877* | 0,496* | 0,094 | 0,163 | 0,799* | 0,431 | 0,595* | 0,357 |
| P gingivalis | p-Valor | 0,047 | 0,017 | 0,109 | 0,145 | 0,000 | 0,026 | 0,694 | 0,491 | 0,000 | 0,058 | 0,006 | 0,122 |
| | r | 0,366 | 0,483* | 0,280 | 0,230 | 0,916* | 0,364 | -0,003 | 0,053 | 0,740* | 0,381 | 0,599* | 0,460* |
| P endodontalis | p-Valor | 0,113 | 0,031 | 0,231 | 0,329 | 0,000 | 0,114 | 0,989 | 0,825 | 0,000 | 0,098 | 0,005 | 0,041 |
| | r | 0,186 | 0,328 | 0,429 | 0,458* | 0,684* | 0,508* | 0,340 | 0,270 | 0,751* | 0,655* | 0,827* | 0,569* |
| P anaerobios | p-Valor | 0,431 | 0,158 | 0,059 | 0,042 | 0,001 | 0,022 | 0,142 | 0,249 | 0,000 | 0,002 | 0,000 | 0,009 |
| | r | - | 0,594* | 0,100 | 0,110 | 0,366 | 0,170 | 0,117 | 0,134 | 0,378 | 0,411 | -0,006 | -0,022 |
| P aeruginosa | p-Valor | - | 0,006 | 0,675 | 0,645 | 0,113 | 0,473 | 0,624 | 0,573 | 0,101 | 0,072 | 0,980 | 0,928 |
| | r | - | - | 0,559* | 0,526* | 0,373 | 0,349 | 0,193 | 0,349 | 0,529* | 0,249 | 0,186 | 0,006 |
| M salivarium | p-Valor | - | - | 0,010 | 0,017 | 0,105 | 0,132 | 0,414 | 0,132 | 0,017 | 0,290 | 0,433 | 0,979 |
| | r | - | - | - | 0,979* | 0,169 | 0,628* | 0,226 | 0,744* | 0,262 | 0,167 | 0,337 | -0,129 |
| L casei | p-Valor | - | - | - | 0,000 | 0,477 | 0,003 | 0,337 | 0,000 | 0,265 | 0,481 | 0,147 | 0,588 |
| | r | - | - | - | - | 0,102 | 0,621* | 0,271 | 0,773* | 0,240 | 0,168 | 0,336 | -0,133 |
| K pneumoniae | p-Valor | - | - | - | - | 0,669 | 0,003 | 0,248 | 0,000 | 0,308 | 0,478 | 0,148 | 0,575 |
| | r | - | - | - | - | - | 0,278 | -0,071 | 0,015 | 0,721* | 0,462* | 0,577* | 0,501* |
| F nucleatum | p-Valor | - | - | - | - | - | 0,235 | 0,767 | 0,951 | 0,000 | 0,040 | 0,008 | 0,025 |
| | r | - | - | - | - | - | - | 0,718* | 0,710* | 0,511* | 0,454* | 0,610* | 0,182 |
| E faecalis | p-Valor | - | - | - | - | - | - | 0,000 | 0,000 | 0,021 | 0,044 | 0,004 | 0,443 |
| | r | - | - | - | - | - | - | - | 0,429 | 0,349 | 0,413 | 0,405 | 0,123 |
| E corrodens | p-Valor | - | - | - | - | - | - | - | 0,059 | 0,131 | 0,070 | 0,077 | 0,604 |
| | r | - | - | - | - | - | - | - | - | 0,051 | 0,054 | 0,154 | -0,276 |
| E coli | p-Valor | - | - | - | - | - | - | - | - | 0,831 | 0,822 | 0,517 | 0,238 |
| | r | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0,638* | 0,638* | 0,533* |
| C rectus | p-Valor | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0,002 | 0,002 | 0,015 |

| | | P aeruginosa | M salivarium | L casei | K pneumoniae | F nucleatum | E faecalis | E corrodens | E coli | C rectus | C gingivalis | B fragilis | A a |
|--------------|---------|---------------------|---------------------|----------------|---------------------|--------------------|-------------------|--------------------|---------------|-----------------|---------------------|-------------------|------------|
| C gingivalis | r | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0,701* | 0,621* |
| | p-Valor | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0,001 | 0,003 |
| B fragilis | r | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0,714* |
| | p-Valor | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0,000 |
| A a | r | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | p-Valor | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

*p<0,05, correlação de Spearman. Amostra total = 20; Homens = 2; Mulheres = 18; Até 65 anos = 10; >65 anos = 10; Com 4 implantes = 12; Com 5 implantes = 8.

ANEXO A- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Você está sendo convidado para participar, como voluntário, da pesquisa intitulada “ESTUDO CLÍNICO DO BIOFILME DE PRÓTESES TOTAIS IMPLANTOSSUPORTADAS”.

Leia atentamente as informações e faça qualquer pergunta que desejar, para que todos os procedimentos desta pesquisa sejam esclarecidos.

O objetivo da pesquisa é quantificar a área da prótese coberta por micro-organismos e identificar bactérias e fungos presentes em amostra que será coletada das próteses totais implantossuportadas mandibulares em uso.

Para isso, a sua prótese será desparafusada, lavada com soro fisiológico para remoção da saliva, isoladas com vaselina sólida na região dos dentes, para evitar que o corante impregne nas porções interdentais e na base dos dentes, após isso serão coradas com eosina 1% e fotografadas para determinar e quantificar a área coberta pelo biofilme. O corante é facilmente removido, não causando nenhum dano a sua prótese. Após isso, detritos aderidos a superfície da prótese serão coletados, sendo encaminhados para testes microbiológicos e microscópicos, com o intuito de verificar os micro-organismos presentes. Os riscos durante a pesquisa estão relacionados a queda da prótese durante a remoção da boca, perda de parafusos durante a desinstalação e pigmentação da prótese, devido ao corante utilizado. Apesar disso, fica garantido ao paciente que, caso algum problema ocorra, será solucionado no ato da consulta.

Os testes não produzirão qualquer tipo de dano à prótese. Depois da coleta do material para os testes, será realizada a manutenção minuciosa da sua prótese, sendo adequadamente higienizada, já que os detritos serão melhor identificados, pois a prótese será corada e evidenciará de forma eficaz os detritos aderidos. Após isso, será reinstalada e reparafusada em posição. O maior benefício é que você terá acesso a todas as informações sobre os micro-organismos que serão encontrados em sua prótese nos testes realizados e terá a sua prótese completamente limpa, assim como a região dos implantes, podendo aguardar mais 6 meses para uma futura manutenção. Suas informações fornecidas serão mantidas confidenciais, respeitando sua privacidade. Você tem a garantia de receber respostas a qualquer pergunta ou esclarecimento a qualquer dúvida sobre os assuntos relacionados com a pesquisa, através do telefone do (a) pesquisador (a) do projeto.

Você não terá nenhum tipo de despesa para participar desta pesquisa, bem como nada será pago por sua participação. Além disso, você tem a liberdade de deixar de participar do estudo a qualquer momento, sem que isso traga prejuízo a continuidade de quaisquer tratamentos que você esteja fazendo nessa instituição. Após estes esclarecimentos, solicitamos o seu consentimento de forma livre para participar desta pesquisa. Portanto preencha, por favor, os itens que se seguem.

Endereço d(os, as) responsável(is) pela pesquisa:

Nome: Iana Sá de Oliveira

Instituição: Universidade Federal do Ceará

Endereço: Rua Monsenhor Furtado s/n, Rodolfo Teófilo

Telefones para contato: (85) 988190410

ATENÇÃO: Se você tiver alguma consideração ou dúvida, sobre a sua participação na pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFC/PROPESQ – Rua Coronel Nunes de Melo, 1000 - Rodolfo Teófilo, fone: 3366-8344. (Horário: 08:00-12:00 horas de segunda a sexta-feira).

O CEP/UFC/PROPESQ é a instância da Universidade Federal do Ceará responsável pela avaliação e acompanhamento dos aspectos éticos de todas as pesquisas envolvendo seres humanos.

O abaixo assinado _____, ____anos, RG: _____, declara que é de livre e espontânea vontade que está como participante de uma pesquisa.

Eu declaro que li cuidadosamente este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e que, após sua leitura, tive a oportunidade de fazer perguntas sobre o seu conteúdo, como também sobre a pesquisa, e recebi explicações que responderam por completo minhas dúvidas. E declaro, ainda, estar recebendo uma via assinada deste termo.

Fortaleza, ____/____/____

| | | |
|---|------|------------|
| | | |
| Nome do participante | Data | Assinatura |
| | | |
| Nome do pesquisador | Data | Assinatura |
| | | |
| Nome da testemunha (se o participante não souber ler) | Data | Assinatura |

ANEXO B: NORMAS DA REVISTA “THE JOURNAL OF PROSTHETIC DENTISTRY”

Sobre o “Journal of Prosthetic Dentistry”

Nos seus 62 anos, *The Journal of Prosthetic Dentistry* tem sido a revista líder profissional dedicada exclusivamente à odontologia protética e restauradora. É a publicação oficial de 25 organizações de prostodônticos nos EUA e internacionalmente, servindo dentistas e protéticos em prática avançada. A revista apresenta artigos originais revisados por pares sobre as mais recentes técnicas, materiais dentários, e os resultados de investigação, com fotos a cor que ilustram procedimentos passo-a-passo.

O *Journal of Prosthetic Dentistry* está incluído no *Index Medicus* e *CINAHL*, e é o jornal más citado em prostodontia, pelo número de referências citados segundo o “Journal Citation Reports”® de 2011.

The Journal of Prosthetic Dentistry

Editorial Office

Georgia Regents University

College of Dental Medicine

1120 15th St, GC3094

Augusta, GA 30912-1255

Telefone: (706) 721-4558

Fax: (706) 721-4571

E-mail: JPD@gru.edu

Website: www.prosdent.org

Submissão on-line:

<http://www.ees.elsevier.com/jpd/>

Lista de verificação para submissão inicial

- Carta de submissão
- Conflito de interesses e declaração financeira, se aplicável
- Permissão para reprodução de materiais previamente publicados, se aplicável
- O consentimento informado para fotografias de pacientes, se aplicável
- Um manuscrito em formato *Microsoft Word* que contém:
 - Página de título
 - Abstrato
 - Texto principal, (o próprio artigo)
 - Referências bibliográficas
 - Tabelas
 - Lendas de ilustrações, e
 - Figuras em formato TIFF (ver Orientações, páginas 11-13)

Orientações de Submissão

Obrigado pelo seu interesse em escrever um artigo para o *Journal of Prosthetic Dentistry*. No processo de publicação, como em odontologia, procedimentos precisos são essenciais. Sua atenção e complacência com as seguintes políticas ajudará a garantir o processamento atempado da sua submissão.

Comprimento de Manuscritos

Comprimento do manuscrito depende do tipo. Artigos de pesquisa e ciência clínicos gerais não deve exceder 10 a 12 páginas, escritos em espaço duplo (excluindo referências, legendas

e tabelas). Relatórios Clínicos e Técnicas Dentárias não deve exceder 4 a 5 páginas, e conselhos dos nossos leitores não deve exceder 1 a 2 páginas. O comprimento varia de revisões sistemáticas.

Número de Autores

O número de autores é limitado a 4, inclusão *de mais de 4 deve ser justificada* na carta de submissão. (Contribuição de cada autor deve ser anotado) Caso contrário, autores acima de 4 serão listados nos agradecimentos.

Formatação Geral

Todas as submissões devem ser enviadas através do sistema de EES em Microsoft Word ou num formato compatível com Microsoft Word usando páginas de 8.5 X 11 polegadas em tamanho. As seguintes especificações deve ser seguido:

- Times Roman, 12 pt
- Espaço duplo
- Justificado à esquerda
- Margens de 1 polegada (2,5cm) em todos os lados da página
- Tabulação de meia polegada (1,25cm)
- Cabeçalhos/rodapés deve ser livre de números de páginas ou qualquer outra informação
- Referências; não deve ser numerados automaticamente (formatado).
- Defina a linguagem em MS Word para Inglês (EUA).

Tipos de Artigos

RELATÓRIO DE PESQUISA/ESTUDO CLÍNICO

O relatório da pesquisa não deve ser mais de 10-12 páginas digitadas em espaço duplo e deve ser acompanhado por não mais de 12 ilustrações de alta qualidade. Evite o uso de forma de esboço (ou seja enumerações e/ou frases ou parágrafos com marcadores). O texto deve ser escrito em frases completas e em forma de parágrafo.

□ **Abstract (Abstrato):** (aproximadamente 250 palavras): Crie um resumo estruturado com os seguintes subseções: *Statement of the Problem* (Declaração do Problema), *Objective* (Objetivo), *Materials and Methods* (Métodos e Materiais), *Results* (Resultados) e *Conclusions* (Conclusões). O abstrato deve conter detalhes suficientes para descrever o experimento e os variáveis do projeto. O tamanho da amostra, os controles, o método de medição, standardização, confiabilidade examinador, e método estatístico utilizado com nível de significância associado deve ser descritos na seção de Materiais e Métodos. Valores reais devem ser fornecido na seção de Resultados.

□ **Clinical Implications (Implicações Clínicas):** Em 2-4 frases, descreva o impacto dos resultados do estudo sobre prática clínica.

□ **Introduction (Introdução):** Explique o problema completamente com precisão. Resuma a literatura relevante, e identifique qualquer viés em estudos anteriores. Declare claramente o objetivo do estudo e a hipótese da pesquisa no final da introdução. Observe que, numa profunda revisão da literatura, a maioria das referências (se não todas) devem ser citadas na seção Materiais e Métodos e/ou na Introdução.

□ **Materials and Methods (Materiais e Métodos):** No parágrafo inicial, forneça uma visão geral do experimento. Forneça informações completas de todos os produtos de fabricação e instrumentos utilizados, entre parênteses ou em uma tabela. Descreva o que foi medido, como foi medido, e as unidades de medida utilizadas. Liste os critérios para julgamento

quantitativo. Descreva o designo experimental e variáveis, incluindo critérios definidos para controlar variáveis, standardizar os testes, a alocação de espécimes/sujeitos a grupos (método de randomização), o tamanho total da amostra, controles, calibração dos examinadores, e confiabilidade de instrumentos e examinadores. Descreva como o tamanho das amostras foi determinada (por exemplo, com a análise de força (*power analysis*)). Evite o uso de números para identificar grupos. Em vez, use abreviações ou códigos que claramente indicaram as características do grupo e assim, os grupos serão mais significativo para o leitor. Os testes estatísticos e níveis de significância associado devem ser descrito no final desta seção.

□ **Results (Resultados):** Descreva com precisão e brevemente, na mesma ordem que os testes foram descritos na seção de Materiais e Métodos. Para uma listagem extensa, os dados poderão ser apresentados em forma tabular ou forma gráfica para ajudar o leitor. Para *1-way ANOVA* apresente *df*, e valores de *F* e *P* nas áreas apropriada no texto. Para todas as outras ANOVAs, de acordo com as orientações, forneça a tabela ANOVA. Descreva os resultados e as tendências mais significativas. Texto, tabelas e figuras não devem repetir ao outro. Resultados notados como significativos devem ser validados por dados atuais e valores *P*.

□ **Discussion (Discussão):** Discuta os resultados do estudo, em relação à hipótese e a relevante literatura. A discussão deve começar por explicar se sim ou não há suporte a rejeitar a hipótese nula. Se os resultados não concordam com outros estudos e/ou com opiniões aceites, declare como, e porquê os resultados são diferentes. Resultados concordantes com outros estudos também devem ser declarados. Identifique as limitações do seu estudo e sugere pesquisas futuras.

□ **Conclusion (Conclusão):** Liste concisamente conclusões da pesquisa que possam ser retiradas do seu estudo, não simplesmente reafirmar os resultados. As conclusões devem ser pertinentes aos objetivos e justificado pelos dados. Na maioria das situações, as conclusões são só verdade para a população do experimento. Todas as conclusões devem ser acompanhadas por análises estatísticas

□ **References (Referências):** Consulte a página 9 para obter mais orientações, página 22 para amostras.

□ **Tables (Tabelas):** Construir tabelas de acordo com as orientações na página 11.

□ **Legends for Illustrations (Legendas para as Ilustrações):** Descreva de forma concisa cada ilustração sem diretamente duplicar o texto. Consulte a página 13 para obter mais orientações; página 23 para a página de amostra de legendas.

Referências

Referências aceitáveis e a sua colocação no documento

□ A maioria das referências, se não todas, devem ser citada na introdução e/ou na seção de Materiais e Métodos. Apenas aquelas referências que foram citadas anteriormente ou que se relacionam diretamente aos resultados do estudo podem ser citados na discussão.

□ Só os artigos publicados que foram revisados por pares podem ser usado como referência. Manuscritos em preparação, manuscritos submetidos para consideração e teses não publicadas não são referências aceitáveis.

□ Os abstratos são considerados observações não publicadas e não são permitidos como referência a não ser que estudos de acompanhamento foram publicados em revistas revisadas por pares.

□ **A referência de publicações em língua estrangeira devem ser mantidas a um mínimo (não mais que 3). Estas referências são permitidas apenas quando o artigo original foi**

traduzido para Inglês. O título traduzido deve ser citado e a língua original deve ser mencionada entre parênteses na citação ao final.

☐ Referências de livros didáticos devem ser mantidas a um mínimo; livros didáticos muitas vezes refletem as opiniões dos seus autores e/ou editores. Quando necessário, as edições mais recentes dos livros didáticos devem ser utilizadas de preferência. Periódicos baseados em evidência científica são preferidos.

Formatação de Referências

☐ As referências devem ser identificadas no corpo do artigo, com números arábicos sobrescritos. O número da referência deve ser posto após o período no final da frase.

☐ A lista das referências completa deve ser em espaço duplo e em ordem numérica, deve seguir a seção de conclusões mas começar numa página separada. Apenas as referências citadas no texto devem aparecer na lista das referências.

☐ Formatação das referências devem acordar com o estilo **Vancouver**, conforme estabelecido no "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" (Ann Intern Med 1997;126:36-47).

☐ As referências devem ser numeradas manualmente.

☐ Liste até seis autores. Se houver sete ou mais, após o sexto nome, adicione *et al.*

☐ Nome do jornal será abreviado de acordo com **Cumulative Index Medicus**. Uma lista completa de abreviaturas está disponível através do site do PubMed: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals>

☐ Formato para artigos: forneça os sobrenomes e iniciais de todos os autores, o título do artigo, o nome do periódico; e, o ano, volume e números das página de publicação. Não utilize itálico, letras realçadas ou sublinhadas para qualquer parte da referência. Coloque um período após os iniciais do último autor, após o título do artigo, e no final da referência. Coloque um ponto e vírgula após o ano de publicação e uma vírgula após o volume. Números de emissão não são usado em estilo **Vancouver**.

Exemplo: Jones ER, Smith IM, Doe JQ. Uses of acrylic resin. J Prosthet Dent 1985; 53:120-9.

☐ Referências dos livros: A edição mais atual deve ser citada. Forneça os nomes e iniciais de todos os autores/editores, o título do livro, a cidade de publicação, a editora, o ano de publicação e os números das página consultadas. Não use itálico, letras realçadas ou sublinhadas para qualquer parte da referência.

Exemplo: Zarb GA, Carlsson GE, Bolender CL. Boucher's prosthodontic treatment for edentulous patients. 11th ed. St. Louis: Mosby; 1997. p. 112-23.

*Um exemplo duma página de referências pode ser encontrado na página 21.

IMPORTANTE

As referências não devem ser submetidas em Endnote ou de qualquer outro software bibliográfico. Essa formatação não pode ser editado pela Oficina Editorial ou revisores, e devem ser suprimidos ou removidos do manuscrito antes de sua submissão. As referências nem devem ser numerados automaticamente.

TABELAS

☐ As tabelas devem complementar, e não duplicar, o texto.

- ☐ Todas as tabelas devem ser postas no final do manuscrito, após a lista de referências e antes das Legendas. Deve haver apenas uma tabela por página. Omita linhas horizontais e verticais. Omita qualquer sombreado ou cor.
- ☐ Não liste as tabelas em partes (por exemplo, Tables Ia, Ib, *etc.*) Cada tabela deve ter o seu próprio número. Numerar cada tabela na ordem em que são mencionadas no texto.
- ☐ Forneça uma legenda concisa que descreve o conteúdo da tabela. Crie nomes para cabeçalhos e coluna descritivos. Dentro de colunas, alinhar os dados de tal forma que os pontos decimais estão numa linha reta. Use pontos decimais (períodos), e não vírgulas, para marcar lugares passado o número inteiro (por exemplo, 3.5 em vez de 3,5).
- ☐ Numa linha de baixo da tabela, defina qualquer abreviaturas utilizadas na tabela.
- ☐ Se uma tabela (ou qualquer dado dentro dela) foi publicado anteriormente; dê todo o crédito ao autor original no rodapé. Se necessário, obtenha permissão para reimprimir a tabela do autor /editor.
- ☐ As tabelas devem ser submetidas em *Microsoft Word* ou formato compatível. *Microsoft Word* é preferido. Se uma tabela foi criada em *Excel*, deve ser importados para um dos formatos referidos acima antes de submissão.

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ESTUDO CLÍNICO DO BIOFILME DE PRÓTESES TOTAIS FIXAS IMPLANTOSSUPOORTADAS

Pesquisador: IANA SA DE OLIVEIRA

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 79282617.0.0000.5054

Instituição Proponente: Departamento de Clínica Odontológica

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.402.599

Apresentação do Projeto:

As próteses implantossuportadas tipo protocolo tem demonstrado altas taxas de sucesso e grande melhora da performance mastigatória de pacientes desdentados totais, pois apresentam ótima retenção e estabilidade. O controle do biofilme, no entanto, é dificultado pelo próprio desenho da prótese, podendo causar periimplantite, perda óssea, mucosite periimplantar, estomatite protética, hiperplasia tecidual e problemas estéticos. O objetivo

desta pesquisa será quantificar a área protética coberta por biofilme e identificar bactérias e leveduras presentes no biofilme de próteses totais implantossuportadas mandibulares em uso. Serão selecionados pacientes desdentados totais que utilizam próteses sobre implante do tipo protocolo na arcada inferior. Os critérios de inclusão serão: adultos, qualquer gênero, totalmente edêntulo na arcada mandibular, com estado de saúde geral bom, usuários de prótese definitiva tipo protocolo confeccionada com base e dentes artificiais de resina acrílica com mínimo de 6 meses da última manutenção. Os critérios de exclusão serão: uso de antibióticos nos últimos 3 meses, diabetes, problemas associados à imunossupressão, xerostomia, problemas motores ou cognitivos, fratura ou reparo na base da prótese e dentes soltos. Testes de poder estatístico serão realizados

para cálculo amostral, a partir de dados obtidos em estudo piloto ($-1=0,90$; $=0,05$), para prever o número de pacientes que irá compor o estudo.

Inicialmente, as próteses serão desparafusadas, lavadas com solução de cloreto de sódio 0,89%

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

Bairro: Rodolfo Teófilo

CEP: 60.430-275

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3366-8344

E-mail: comepe@ufc.br

Continuação do Parecer: 2.402.599

para remoção da saliva, isoladas com vaselina sólida na região dos dentes, para evitar que o corante impregne nas porções interdentais e na base dos dentes; após isso, serão coradas com eosina 1% e fotografadas com escala milimetrada. A área coberta por biofilme será delimitada e quantificada por meio das fotografias obtidas, utilizando-se o software Image J. Para análise microbiológica, amostras de biofilme serão coletadas das próteses e inseridas em tubos tipo eppendorf contendo 1 mL de solução salina tamponada. Os tubos serão colocados em sonicador por 1 minuto e a suspensão passará por diluição seriada até 1:10⁻⁷, em solução de cloreto de sódio 0,89%. Em seguida, será realizada a semeadura de 25L das suspensões em CHROMagar Orientation® e CHROMagar Candida®. As placas serão incubadas por 48 horas, a 37°C, para posterior contagem de unidades formadoras de colônias (UFC/mL). Será realizado esfregaço de parte das amostras coletadas de biofilme na superfície de espécimes padronizados em resina acrílica termicamente ativada. Os discos contendo biofilme serão fixados com paraformaldeído a 4%, durante 1 hora, desidratados em concentrações crescentes de etanol (70%, 85% e 100%), durante 5 minutos em cada solução e dessecados, durante 24 horas, antes de serem encaminhados para metalização. Os espécimes serão observadas utilizando microscópio eletrônico de varredura (MEV), em magnitude de 2000 vezes. Além disso, a hibridização de DNA será realizada segundo o método DNA Checkerboard, que permite a identificação simultânea de microorganismos distintos, empregando até 45 sondas de DNA genômico completo para espécies bacterianas gram-negativo, gram-positivo e leveduras presentes nos biofilmes. Os dados coletados passarão por estatística descritiva e testes de correlação.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

O objetivo geral deste projeto de pesquisa será quantificar a área protética coberta por biofilme, além de identificar bactérias e leveduras presentes no biofilme de próteses totais implantossuportadas mandibulares em uso.

Objetivo Secundário:

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

Bairro: Rodolfo Teófilo

CEP: 60.430-275

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3366-8344

E-mail: comepe@ufc.br

Continuação do Parecer: 2.402.599

A partir da quantificação da área protética coberta por biofilme das próteses protocolo, o presente projeto tem como objetivos específicos:

- Identificar espécies bacterianas gram-negativas / gram-positivas e leveduras presentes no biofilme, através dos métodos de cultura e DNA Checkerboard;
- Avaliar o padrão de colonização e distribuição de micro-organismos, através da microscopia eletrônica de varredura do biofilme coletado nas superfícies protéticas em contato com a mucosa;

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Os riscos considerados serão durante a remoção da prótese implantossuportada: queda da prótese durante a remoção, perda de parafusos durante a desinstalação e pigmentação da prótese, devido ao corante utilizado. Apesar disso, fica garantido ao paciente que, caso algum problema ocorra, será solucionado no ato da consulta.

Benefícios:

Devido ao grande acúmulo de biofilme, os pacientes portadores de próteses protocolo apresentam, frequentemente, a mucosa em contato com a prótese inflamada e, além disso, a halitose é bastante verificada. Dessa forma, é necessário o conhecimento do grau de patogenicidade dos micro organismos presentes e, a partir disso, sensibilizar pacientes e dentistas acerca da importância da manutenção periódica de tais próteses. Maior

conscientização sobre a necessidade de higienização diária eficaz e de manutenções programadas influenciará, diretamente, em maior durabilidade das próteses, menor risco de inflamação do tecido periimplantar gengival em contato com a prótese e menor comprometimento sistêmico dos pacientes. Como a prótese será corada, os detritos aderidos serão observados de forma eficaz e, assim, a manutenção será realizada de forma minuciosa, pois qualquer resquício de placa bacteriana será visto facilmente. Além disso, o paciente terá acesso a todas as informações acerca do grau de infecção e de quais micro-organismos serão encontrados nos testes realizados. Dessa forma, poderá descartar qualquer problema sistêmico devido à presença de micro-organismos encontrados na sua prótese.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa apresenta uma série de vantagens relacionadas à área de Prótese Dentária, principalmente relacionadas ao conhecimento sobre os microorganismos envolvidos com as

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

Bairro: Rodolfo Teófilo

CEP: 60.430-275

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3366-8344

E-mail: comepe@ufc.br

Continuação do Parecer: 2.402.599

próteses sobre implantes para que medidas preventivas e curativas sejam utilizadas caso necessário.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos foram devidamente assinados e anexados.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

| Tipo Documento | Arquivo | Postagem | Autor | Situação |
|---|--|------------------------|---------------------|----------|
| Informações Básicas do Projeto | PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_998827.pdf | 24/10/2017 17:01:09 | | Aceito |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência | TCLE.pdf | 24/10/2017 17:00:10 | IANA SA DE OLIVEIRA | Aceito |
| Projeto Detalhado / Brochura Investigador | PROJETO.pdf | 24/10/2017 16:59:46 | IANA SA DE OLIVEIRA | Aceito |
| Folha de Rosto | rosto.pdf | 10/10/2017 19:53:39 | IANA SA DE OLIVEIRA | Aceito |
| Outros | apreciacao.pdf | 19/09/2017 20:29:05 | IANA SA DE OLIVEIRA | Aceito |
| Outros | dados.pdf | 19/09/2017 20:27:41 | IANA SA DE OLIVEIRA | Aceito |
| Outros | depositario.pdf | 19/09/2017 20:26:50 | IANA SA DE OLIVEIRA | Aceito |
| Orçamento | orca.pdf | 19/09/2017 20:24:39 | IANA SA DE OLIVEIRA | Aceito |
| Declaração de Pesquisadores | concordancia.pdf | 19/09/2017 20:24:17 | IANA SA DE OLIVEIRA | Aceito |
| Declaração de Instituição e Infraestrutura | instituicao.pdf | 19/09/2017 20:23:51 | IANA SA DE OLIVEIRA | Aceito |
| Cronograma | cronograma.pdf | 19/09/2017 20:22:16 | IANA SA DE OLIVEIRA | Aceito |

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000
Bairro: Rodolfo Teófilo
UF: CE **Município:** FORTALEZA
Telefone: (85)3366-8344

CEP: 60.430-275

E-mail: comepe@ufc.br

Continuação do Parecer: 2.402.599

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

FORTALEZA, 28 de Novembro de 2017

Assinado por:

FERNANDO ANTONIO FROTA BEZERRA
(Coordenador)

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000
Bairro: Rodolfo Teófilo
UF: CE **Município:** FORTALEZA
Telefone: (85)3366-8344

CEP: 60.430-275

E-mail: comepe@ufc.br

NOTÍCIAS | SOBRE | AJUDA | CONTATO

Buscar ensaios

[BUSCA AVANÇADA](#)

[HOME](#) / SUBMISSÕES

Enviar um novo ensaio clínico

Escolha uma das formas abaixo para enviar um novo ensaio clínico

[Completando o formulário de submissão.](#)

[Enviar um arquivo XML.](#)

Suas submissões

 **NOVA
SUBMISSÃO**

| Data de criação ▾ | Titulo da Submissão ▴ ▾ | Situação ▴ ▾ |
|-------------------|---|--------------|
| 2017/11/29 10:28 | Estudo clínico do Biofilme de Próteses Totais Fixas Implantossuportadas (Atualizar) | aprovado |