



**UFC**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM**  
**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**LARISSA DE SOUZA HENRIQUE**

**QUANTIFICAÇÃO E MICROBIOTA DO BIOFILME DE PRÓTESES TOTAIS  
FIXAS IMPLANTOSSUPORTADAS**

**FORTALEZA**

**2020**

Larissa de Souza Henrique

QUANTIFICAÇÃO E MICROBIOTA DO BIOFILME DE PRÓTESES TOTAIS  
FIXAS IMPLANTOSSUPOORTADAS

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Departamento de  
Odontologia Restauradora, da  
Universidade Federal do Ceará, como  
requisito parcial para obtenção do grau de  
bacharel em Odontologia.

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

Aprovado em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_.

BANCA EXAMINADORA

---

Profa. Dra. Karina Matthes de Freitas Pontes (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Raniel Fernandes Peixoto  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Mestrando Matheus Vieira Nascimento  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

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)

---

- H448q Henrique, Larissa de Souza.  
Quantificação e microbiota do biofilme de próteses totais fixas implantossuportadas / Larissa de Souza Henrique. – 2020.  
34 f. : il.
- Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Curso de Odontologia, Fortaleza, 2020.  
Orientação: Prof. Dr. Profª. Dra. Karina Matthes de Freitas Pontes.
1. Biofilmes . 2. Prótese dentária fixada por implante. 3. Estudo clínico. 4. Microbiologia. 5. Implantodontia. I. Título.

CDD 617.6

---

## AGRADECIMENTOS

A Deus, autor e consumidor da minha fé, que me sustentou diariamente ao longo dessa caminhada, me mostrando quão grande é o seu amor e o cuidado por minha vida, a Ele toda honra e glória por esta conquista.

Aos meus pais, JOEL e LIDIANY, minhas maiores inspirações, donos de todo meu amor. Agradeço por terem dedicado suas vidas a mim e aos meus irmãos, não medindo esforços para nos ver felizes e realizados, sou grata pela minha educação e minha criação nos caminhos de Jesus, por terem me ensinado o real sentido de ser família. O motivo de toda luta diária e dedicação ao longo desses 5 anos de curso, com toda certeza, foram meus pais e esta conquista é toda deles.

Aos meus irmãos ANA LUÍSA e LUÍS EDUARDO, para sempre meus pequenos amores, pela parceria, cumplicidade e companheirismo de sempre, por torcerem tanto pelo meu sucesso e tornarem meus dias mais leves com nossa rotina amorosa e cheia de amor.

Ao meu namorado TALLEs, meu grande amor e melhor amigo. Obrigada por toda a motivação e incentivo, por vibrar comigo em cada conquista, por tornar meus dias mais felizes e por me auxiliar a crescer e evoluir diariamente como profissional e pessoa.

Às minhas avós LÚCIA e BERENICE, minhas maiores intercessoras dessa trajetória, que sempre cuidaram de mim com amor indescritível e incondicional, dedico todo meu amor e gratidão.

Ao meu avô OLIVEIRA, que mesmo não estando mais presente, sempre será minha inspiração. Sei que se estivesse aqui, estaria muito orgulhoso, lembrarei de sua memória em todos os dias da minha vida.

Aos meus tios JÚNIOR e MEIRE por tamanho zelo, amor e por tanta fé colocada em mim, sempre tendo a certeza do meu sucesso e se emocionando a cada passo desta conquista, nunca poderei agradecer tudo que fizeram por mim.

À minha tia JOELMA por sempre ter desempenhado com louvor seu papel de segunda mãe, sonhando meus sonhos junto comigo. Obrigada por todo o amor e cuidado, por ser muito mais do que uma tia, uma grande amiga e companheira de vida.

À minha tia JOSENILDE, minha primeira paciente da família. Agradeço por acreditar em mim, me incentivar e estar presente em todos os momentos da minha vida, com todo o cuidado e amor.

Aos meus tios JAIR, JANESSA e GLAUBYO, que sempre estiveram ao meu lado, da aprovação até a formatura, me ajudando em qualquer dificuldade, sendo verdadeiros parceiros e participantes diretos desta conquista.

Aos meus primos ANA ALICIA, JOÃO ARTHUR, CAIO e JAMILLE, por serem combustíveis diários, que só chegaram para somar na família, enchendo minha vida de muita luz e alegria.

## **AGRADECIMENTOS ESPECIAIS**

À minha orientadora maravilhosa, Prof(a). DRA. KARINA MATTHES DE FREITAS PONTES, uma grande referência profissional e pessoal para mim. Seu modo de ensinar, sua doçura ao se relacionar, sua seriedade e compromisso de fazer o melhor pelos seus alunos são admiráveis. Obrigada por ter me ajudado tanto a crescer, me acolhido em sua equipe com todo o carinho, o que foi um divisor de águas na minha trajetória acadêmica, pois pude me aprofundar e me encantar pelo mundo da microbiologia e da prótese. Muito orgulho e felicidade por ser sua orientanda!

À minha grande amiga e parceira IANA SÁ DE OLIVEIRA, que tanto me incentivou e apoiou em qualquer desafio. Obrigada por sempre estar ao meu lado quando preciso, por vibrar pelas minhas conquistas e me motivar a buscar mais e a ser cada vez melhor, por ter me incluído em suas pesquisas e ser imprescindível em cada passo deste trabalho. Pessoas como você são presentes valiosíssimos.

Ao Prof. Dr. CÁSSIO BARROS PONTES, por seu compromisso, parceria e disponibilidade em auxiliar durante as coletas dos pacientes, passo imprescindível para a execução exitosa desta pesquisa clínica.

Ao Prof. Dr. PAULO GOBERLÂNIO DE BARROS SILVA, por sua disponibilidade para análise dos resultados da pesquisa, possibilitando a consolidação deste trabalho da maneira ideal.

Ao laboratório de Pesquisa do Programa de Pós-graduação da Universidade Federal do Ceará pela disponibilidade e acessibilidade no desenvolver desta pesquisa clínica.

À Universidade Federal do Ceará, em especial a todo corpo docente do curso de Odontologia, que tanto contribuíram com meu crescimento acadêmico e profissional.

À Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação da Universidade Federal do Ceará, por oportunizar a bolsa PIBIC (Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica), no período de dezembro de 2017 até julho de 2020, por financiamento do CNPq e posteriormente da UFC e tornar possível a realização deste estudo clínico.

À minha banca examinadora, formada pelo Prof. DR. RANIEL FERNANDES PEIXOTO e pelo mestrando MATHEUS VIEIRA NASCIMENTO pela disponibilidade, contribuição e apoio.

À minha dupla BEATRIZ MARQUES COELHO, minha irmã de coração. Obrigada por compartilhar comigo cada fase da graduação, por ser parceira, companheira, amiga e sempre ter se disposto a me auxiliar seja qual fosse a circunstância. Cresci e evolui como profissional e como pessoa ao seu lado, guardarei no coração todos os nossos momentos que são tão preciosos, essa conquista também é sua, todo meu amor e carinho pelo que construímos.

## RESUMO

As próteses implantossuportadas tipo protocolo com base em resina acrílica tem sido amplamente empregadas em pacientes desdentados totais, considerando sua ótima estabilidade e retenção. O controle do biofilme, porém, é dificultado pelo desenho e material da prótese. O objetivo deste estudo foi quantificar o biofilme da face gengival de próteses totais fixas implantossuportadas mandibulares, identificar e quantificar espécies de bactérias e fungos viáveis no biofilme presente, considerando fatores individuais para comparações estatísticas. Participaram da pesquisa vinte pacientes que atenderam os critérios pré-estabelecidos. As próteses foram desparafusadas, lavadas em cloreto de sódio 0,89%, coradas com eosina y 1% e fotografadas. A área corada foi medida por método digital através do *software* (*Image J*; National Institute of Health). Amostras de biofilme passaram por diluição até 1:10<sup>7</sup>, sendo semeadas em meios de cultura ágar cromogênicos e, posteriormente, incubadas por 48 horas, a 37°C, para contagem das unidades formadoras de colônias (UFC/mL). Os dados foram analisados pelos testes de Mann-Whitney, correlação de Spearman e exato de Fisher ( $\alpha=0,05$ ). Uma média de 62% da área da superfície gengival das próteses continha biofilme. *Enterococcus spp* ( $5,82\pm 1,38 \log_{10}$ UFC/mL) e *Staphylococcus aureus* ( $5,75\pm 2,02 \log_{10}$ UFC/mL) apresentaram maior contagem e prevalência nas culturas; maior contagem de *Escherichia coli* ( $p=0,039$ ) foi observada em amostras de pacientes com cinco implantes. *Candida albicans* ( $1,94\pm 1,99 \log_{10}$ UFC/mL), entre os fungos apresentou uma maior predominância. Assim, concluiu-se que houve formação de biofilme em todas as próteses analisadas, sendo a média de área coberta por biofilme maior que 60%, os microorganismos viáveis encontrados em maior quantidade na cultura microbiológica foram *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*. Os fatores individuais considerados, exceto a idade, influenciaram nos parâmetros avaliados.

**Palavras-chave:** Biofilmes. Prótese dentária fixada por implante. Estudo clínico. Microbiologia. Implantodontia. Prótese dentária.



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	<b>01</b>
<b>2 MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>02</b>
<b>3 RESULTADOS</b>	<b>05</b>
<b>4 DISCUSSÃO</b>	<b>06</b>
<b>5 CONCLUSÃO</b>	<b>08</b>
<b>6 REFERÊNCIAS</b>	<b>10</b>
<b>APÊNDICES</b>	
APÊNDICE A – Termo de consentimento Livre e Esclarecido	18
<b>ANEXOS</b>	
ANEXO A – Aprovação da Plataforma Brasil	20
ANEXO B – Aprovação da Plataforma de Ensaios Clínicos	25

## INTRODUÇÃO

A reabilitação com prótese total fixada por implante tem sido amplamente utilizada como intervenção clínica em pacientes completamente edêntulos.<sup>4,5,19,26,28</sup> Entretanto, apesar de apresentar alta taxa de sobrevida e satisfação dos pacientes, por promover estabilidade e retenção, favorecendo o conforto funcional, agravamentos biológicos podem ser identificados.<sup>9,19,21,28</sup>

Além de seu desenho, a superfície dos materiais constituintes de uma prótese implantossuportada pode favorecer a colonização microbiana, desencadeando a formação do biofilme, que pode ser agente etiológico de algumas doenças.<sup>7,11,24</sup> A inflamação presente nos tecidos moles e duros pela proliferação bacteriana e fúngica pode causar mucosite, peri-implantite e estomatite protética, e, conseqüentemente, podem resultar na perda de implantes envolvidos.<sup>7,9,17,18,24,27</sup> Nesse contexto, as bactérias orais que desencadeiam complicações biológicas, também têm sido implicadas em problemas sistêmicos, tais como a endocardite bacteriana, pneumonia por aspiração e obstrutiva crônica e infecção gastrointestinal, principalmente em pacientes imunocomprometidos.<sup>9,19</sup>

Apesar da diversidade de materiais que podem ser utilizados para confecção da prótese em questão, o emprego da resina acrílica é o mais frequente, considerando custo, biocompatibilidade e facilidade de manuseio.<sup>6,13,16,23</sup> Porém, características superficiais de rugosidade, porosidade, molhabilidade e energia livre de superfície, facilitam a adesão dos micro-organismos e dificultam a higienização.<sup>5,6, 23</sup>

O processo inicial de formação do biofilme em superfícies peri-implantares e protéticas é caracterizado pela geração de uma película adquirida a partir de biopolímeros ou enzimas salivares e a subsequente adesão de micro-organismos iniciais, que promoveram a colonização primária e posteriormente a coagregação de micro-organismos, como *Streptococcus* ou *Actinomyces spp*, que são conhecidos por criarem a condição prévia para o acúmulo bacteriano gram-negativo, anaeróbico e de colonização tardia, promovendo o estabelecimento de biofilme maduro, como *Fusobacterium* ou *Prevotella spp*.<sup>6, 7, 8,12,14, 20,24</sup> O surgimento desse patógenos é influenciado pela higiene bucal deficiente, e por outros fatores individuais que incluem a dieta, a composição

salivar, além de fatores sistêmicos como a desnutrição, a diabetes mellitus não controlada, a imunossupressão e a xerostomia.<sup>14,24</sup>

Espécies de *Candida*, um gênero de levedura, são frequentemente associadas a formação do biofilme em próteses totais, como também bactérias do gênero *Streptococcus* e *Enterococcus*, que podem estar presentes em até 60% das infecções, o que se torna relevante quando se considera que usuários dessas próteses podem ser idosos, diabéticos e imunocomprometidos.<sup>2,4,9,26</sup>

Atualmente, poucos estudos abordam o problema da presença do biofilme em próteses totais fixas implantossuportadas. Em um estudo de Abi Nader et al (2015), com 20 (vinte) pacientes normossistêmicos, reabilitados com próteses fixas implantossuportadas maxilares, a porcentagem média de área coberta por biofilme foi de 28%, reforçando a necessidade de uma melhora na higienização desses dispositivos.<sup>1</sup> Diante disso, considerando as dificuldades no controle do biofilme é importante uma análise da microbiota prevalente nesse tipo de reabilitação, para que, a longo prazo, a saúde bucal seja mantida, com consequente sucesso do tratamento reabilitador. Logo, os objetivos deste estudo foram a quantificação da área de biofilme presente na superfície gengival protética e a identificação e quantificação de espécies bacterianas aeróbias e leveduras viáveis neste biofilme, considerando fatores individuais, como sexo, idade e números de implantes para as comparações estatísticas.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

O presente estudo é do tipo clínico, transversal, observacional e descritivo. O projeto foi submetido a Plataforma Brasil e cadastrado na *International Clinical Trials Registry Platform*, número de registro: RBR-6cn5t7. Nesse contexto, após a aprovação no Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal do Ceará (UFC), através do parecer de número: 2.402.599 e obtenção das assinaturas dos Termos de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), o projeto foi iniciado.

### **- Amostragem**

No estudo de Abi Nader et al (2015)<sup>1</sup>, que analisou a porcentagem de área coberta por biofilme na superfície gengival de próteses fixas implanto-suportadas maxilares, foi

necessário examinar 20 próteses, de 20 pacientes, sendo 9 (nove) homens e 11 (onze) mulheres, de 50 a 77 anos de idade, para observar uma diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) entre a metade palatina da superfície ( $41,3 \pm 17,7\%$ ) e a metade vestibular ( $22,3 \pm 8,3\%$ ), representando um poder de 0,994. Desta forma, em nosso estudo, estimou-se analisar também 20 próteses de diferentes pacientes, de forma a garantir poder estatístico acima de 0,8.

Os pacientes foram selecionados na Clínica de Prótese Dentária da Universidade Federal do Ceará (UFC) e na Academia Cearense de Odontologia, na cidade de Fortaleza-CE, sendo acompanhados por meio de prontuários contidos nas clínicas. Dessa maneira, os critérios de inclusão para seleção dos pacientes foram: adultos maiores de 18 anos, qualquer gênero, totalmente edêntulos na arcada mandibular (independente do antagonista), estado de saúde geral bom, tecidos peri-implantares saudáveis, usuários de prótese tipo protocolo confeccionada com base e dentes artificiais de resina acrílica, com o mínimo de 6 meses da última manutenção. Os critérios de exclusão foram: alterações sistêmicas que interferissem 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. Nessa perspectiva, vale ressaltar que todos os pacientes foram analisados pelo mesmo operador.

#### - Quantificação do biofilme por análise fotográfica

As próteses implantossuportadas do tipo protocolo foram desparafusadas da boca dos pacientes selecionados para o estudo, e, após lavagem prévia com solução estéril de cloreto de sódio a 0,89% para remoção de resíduos 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 nas bases dos dentes.<sup>3,14,23,26</sup> Em seguida, foram coradas com uso de seringa de 10 mL. O excesso de corante foi removido por lavagem em solução de cloreto de sódio 0,89%.<sup>4,15,23,26</sup>

A superfície gengival das próteses coradas foi fotografada usando uma câmera digital com lente objetiva de 105mm, na 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).<sup>1,22</sup> 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 digital.<sup>25</sup>

#### - Análise microbiológica

Amostras de biofilme foram coletadas da superfície gengival dos dispositivos protéticos, utilizando colher de dentina nº18 estéril, passada em locais distintos. O biofilme coletado foi colocado em microtubos contendo 1mL de solução tamponada de cloreto de sódio 0,89%.<sup>15,26</sup>

Dessa maneira, as amostras completamente vedadas 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 estéril de cloreto de sódio 0,89%.

Na sequência, foi feita a semeadura de 25µL, por meio de espalhamento usando alça drigalsky em Ágar Cromogênico Geral (Probac) e Ágar Cromogênico Candida (Probac). Assim, as placas foram incubadas por 48 horas, a 37°C, para posterior contagem das unidades formadoras de colônia por mL da amostra (UFC/mL).

Os meios de cultura cromogênicos não são seletivos e permitem a identificação de colônias específicas viáveis por meio de distinções nas suas tonalidades. O meio de cultura ágar cromogênico geral pré-identifica o micro-organismo através da cor típica da colônia, para *Escherichia coli* a coloração vai de rosa ao avermelhado; para *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp*, *Citrobacter spp* azul metálico; para *Proteus spp* halo marrom; para *Staphylococcus aureus* dourada, opaca, pequena; para *Enterococcus spp* azul turquesa; para *Pseudomonas spp* creme, translúcida; para *Staphylococcus saprophyticus* rosa, opaca, pequena. Quanto ao ágar cromogênico Cândida é um meio seletivo para diferenciação, utilizado para isolamento e identificação de *Candida albicans* com coloração verde; de *Candida glabrata* branco/roxo; de *Candida tropicalis* azul e de *Candida krusei* roxo/rosa.

#### - Análise dos dados

Os dados quantitativos obtidos foram: a área protética gengival total e a área coberta por biofilme, em  $\text{cm}^2$ ,  $\log_{10}\text{UFC/mL}$  dos diferentes micro-organismos viáveis identificados nos biofilmes coletados. 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). Gênero/idade dos pacientes e o número de implantes (suporte das próteses) foram considerados para as comparações estatísticas.

Além disso, a prevalência de cada micro-organismo foi verificada por meio de cultura; os dados foram expressos em frequência absoluta e percentual e depois comparados pelo 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

Todos os pacientes selecionados, num total de 20 (vinte) indivíduos normossistêmicos, 18 (dezoito) mulheres e 02 (dois) homens foram submetidos aos testes de quantificação digital do biofilme e microbiológicos. Desse modo, vale mencionar que 12 (doze) pacientes apresentaram 4 implantes e 8 (oito) pacientes 5 implantes. As idades variavam de 47 a 74 anos (média 65 anos).

A tabela 1 mostra a quantificação da área protética gengival coberta por biofilme. Houve uma média (desvio-padrão) de  $9,34 \pm 1,15$  de área total ( $\text{cm}^2$ ) das próteses delimitadas em sua superfície gengival, sendo uma média (desvio-padrão) de  $5,82 \pm 1,52$  ( $\text{cm}^2$ ) de área corada, o que corresponde a 62% da face gengival das próteses cobertas por biofilme. Os pacientes com cinco implantes apresentaram menor área corada ( $p=0,031$ ).

O perfil microbiológico das amostras de biofilme avaliadas pelos métodos de cultura microbiológica está representado na tabela 2. Assim, *Escherichia coli* ( $2,95 \pm 2,82 \log_{10}$  UFC/mL), *Enterococcus spp* ( $5,82 \pm 1,38 \log_{10}$  UFC/mL), *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp*, *Citrobacter spp* ( $2,20 \pm 2,25 \log_{10}$  UFC/mL), *Pseudomonas spp* ( $1,82 \pm 2,42 \log_{10}$  UFC/mL) e *Staphylococcus aureus* ( $5,75 \pm 2,02 \log_{10}$  UFC/mL) foram identificados. Não foram encontrados *Proteus spp* nem *Staphylococcus saprophyticus*. Quanto ao conteúdo fúngico, *Candida tropicalis* ( $0,10 \pm 0,47 \log_{10}$  UFC/mL), *Candida*

*albicans* ( $1,94 \pm 1,99 \log_{10}$  UFC/mL), *Candida krusei* ( $0,58 \pm 1,44 \log_{10}$  UFC/mL), *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* ( $0,82 \pm 1,85 \log_{10}$  UFC/mL) foram identificadas.

*Escherichia coli*, além da maior contagem ( $p=0,039$ ), apresentou também maior prevalência nos pacientes com cinco implantes ( $p=0,028/88\%$ ), enquanto *Enterococcus faecalis* e *Staphylococcus aureus* foram os micro-organismos com maiores prevalências no geral, correspondendo a 100% e 90%, respectivamente. *Staphylococcus aureus* apresentou maior contagem no gênero masculino ( $7,21 \pm 0,25 \log_{10}$  UFC/mL,  $p=0,042$ ). Considerando os fungos, *Candida albicans* foi o mais observado, presente em 55% das amostras (tabela 3).

Pode-se notar na tabela 4 de correlação de Spearman, que quanto maior a área total da superfície gengival da prótese, maior também foi a área corada ( $p=0,003/r=0,623$ ). Entretanto, a face corada não mostrou correlação significativa com nenhum micro-organismo ( $p > 0,05$ ). *Escherichia coli* e *Enterococcus faecalis* apresentaram relação positiva com *Pseudomonas aeruginosa* ( $p= 0,011/ r= 0,553$  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. Ainda, *Enterococcus faecalis* está consideravelmente correlacionado com *Candida krusei* ( $p=0,027/ r=0,494$ ). Além disso, pode-se constatar correlação entre *Pseudomonas aeruginosa* e algumas espécies de *Candida*, como *Candida albicans* ( $p=0,010/r=0,563$ ) e *Candida parapsilosis* ( $p=0,025/ r=0,498$ ). Dessa forma, esse aspecto também pode ser visível entre *Staphylococcus aureus* e *Candida krusei* ( $p=0,037/r=0,469$ ), além de entre os próprios gêneros *Candida tropicalis* e *Candida krusei* ( $p=0,032/r=0,480$ ).

## DISCUSSÃO

A grande maioria das infecções bacterianas orais, cerca de 65% a 80% nas superfícies protéticas implantossuportadas envolvem a formação do biofilme<sup>19</sup>. A média em nosso estudo foi de 62% da superfície gengival coberta por biofilme nas próteses mandibulares. Desse modo, vale considerar que a colonização microbiana começa em áreas protéticas expostas ao ambiente oral, estendendo-se para as porções mais internas, podendo resultar na inflamação dos tecidos peri-implantares, que justificam doenças como a mucosite e a peri-implantite, o que ameaça a taxa de sobrevida das próteses

relatadas em alguns estudos prévios, como o de Astatov-Frauenhoffer et al (2019), Carinci et al (2019) e o de Heuer et al (2013).<sup>4,7,14</sup>

Algumas pesquisas mostram a composição microbiana mais prevalente em próteses totais convencionais, Meriç et al (2014) destaca espécies como, *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis* e *Pseudomonas aeruginosa*, o que se repetiu na avaliação das próteses totais suportadas por implantes em nosso estudo.<sup>9,20</sup> Em relação aos fungos, *Candida albicans* ( $1,94 \pm 1,99 \log_{10}$  UFC/mL) foi a espécie mais identificada, seguida de *Candida glabrata* e *Candida parapsilosis* ( $0,82 \pm 1,85 \log_{10}$  UFC/mL) pelo método de cultura microbiológica.

Em nosso estudo, foi observada uma distinção entre a quantidade de área corada, relacionada ao número de implantes. Pacientes que possuíam 5 implantes apresentaram menor área corada ( $p=0,031$ ) e maior quantidade de *E. coli* ( $p=0,039$ ), sendo também o micro-organismo mais frequente ( $p=0,028/88\%$ ), quando comparado aos pacientes com 4 implantes. Nessa perspectiva, vale ressaltar que, *E. coli* é um patógeno associado ao vazamento microbiano em superfícies implantares, justificando, assim, que um maior número de implantes possa favorecer o aumento deste micro-organismo.<sup>10</sup>

A falta de higienização de próteses muco-suportadas pode estar diretamente associada a ocorrência de estomatite protética, e além disso, pode servir como um reservatório de patógenos potencialmente infecciosos, favorecendo ainda mais o surgimento e a proliferação do biofilme, quando associado a comprometimentos sistêmicos.<sup>3,9</sup> O gênero *Candida*, reconhecido por patógeno oportunista, é abundantemente encontrado em casos de estomatite protética, mais precisamente a *Candida albicans*, seguidas de *Candida glabrata*.<sup>3</sup> As próteses do tipo protocolo, embora não sejam muco-suportadas, apresentam contato íntimo com a mucosa gengival. Neste estudo não foram incluídos pacientes que não estivessem com a mucosa oral íntegra, mas existe uma preocupação de que a perseverança do biofilme em contato com a mucosa poderia gerar um processo inflamatório local, assim como acontecem com as próteses muco-suportadas.

A cavidade oral deve ser considerada como um reservatório de *Staphylococcus aureus*, visto que, mesmo variando de acordo com a população estudada, tem uma incidência de cerca de 48% em usuários de próteses totais. Em nosso estudo foi identificado em mais de 85% das amostras avaliadas.<sup>9</sup> Além disso, várias infecções orais



distintas, como a queilite angular e a mucosite estafilocócica são causadas por esse micro-organismo.<sup>9,19</sup> Nessa perspectiva, numerosos estudos epidemiológicos mostram que cerca de 14% a 20% dos casos de endocardite bacteriana estão associados a uma possível origem oral.<sup>16</sup> Assim, também é importante considerar que o *Staphylococcus aureus* propriamente dito é especialmente virulento, pois além da pneumonia por aspiração, ele é capaz de definir receptores específicos do endotélio de válvulas cardíacas saudáveis.<sup>19,20</sup>

Nesse aspecto, o que mais deve ser analisado com cautela é a possibilidade de infecção por esses tipos de patógenos oportunistas associados a redução da imunidade, o que pode acarretar em comprometimentos sistêmicos graves. Além da *Candida albicans* e do *Staphylococcus aureus*, a *Pseudomonas aeruginosa*, classificada como bactéria gram-negativa, também pode promover infecções correlacionadas com a baixa da função imunológica, todos encontrados em nosso estudo.<sup>9,19</sup> Dessa forma, outro fator preocupante é que se constatou uma correlação diretamente proporcional entre a existência de espécies de *Candida* e de *Pseudomonas*, o que indica um risco ainda maior na população idosa, por exemplo, considerando a possibilidade de desencadeamento de complicações sistêmicas, como as doenças cardíacas.<sup>19</sup>

Diante disso, considerando o fato de que são poucos os achados elucidativos prévios que caracterizem o perfil microbiológico das próteses implantossuportadas, nosso estudo tem bastante relevância, pois a partir da análise e quantificação desse biofilme prevalente, estratégias eficientes de limpeza desses dispositivos protéticos podem ser empregadas, além da conscientização de cirurgiões-dentistas e pacientes sobre a importância de uma manutenção periódica desses dispositivos.

## CONCLUSÃO

Conclui-se desta pesquisa clínica, que todos os dispositivos protéticos do tipo protocolo analisados apresentaram biofilme na sua superfície gengival, sendo a média da área coberta por biofilme maior que 60% da área total; os micro-organismos viáveis encontrados em maior quantidade na cultura microbiológica foram *Enterococcus faecalis* e *Staphylococcus aureus*, estando presentes em mais de 85% das amostras. Entre os fungos, a *Candida albicans* esteve presente em cerca de 55% das amostras. Os pacientes com cinco implantes apresentaram menor área corada ( $p=0,031$ ), maior contagem de *E. coli* ( $p=0,039$ ), como também uma maior frequência ( $p=0,028/88\%$ ). Quanto ao fator

gênero, *Staphylococcus aureus* apresentou maior contagens dentre os homens ( $7,21 \pm 0,25$   $\log_{10}$  UFC/mL,  $p=0,042$ ), porém a idade não influenciou significativamente em nenhum dos parâmetros avaliados.

**REFERÊNCIAS**

1. 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. DOI: 10.1111/cid.12199
2. AKALIN-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. DOI: 10.1111/ger.12024
3. AL-FOUZAN, A.F. et al. Adherence of candida to complete denture surfaces in vitro: A comparasion of conventional and CAD/CAM complete dentures. **The Journal of Advanced Prosthodontics**, v. 9, n. 5, p. 402 ;2017. DOI: 10.4047/jap.2017.9.5.402
4. ASTASOV-FRAUENHOFFER, M. et al. Antimicrobial efficacy of copper-doped titanium surfaces for dental implants. **Journal of Materials Science**, v. 30, n. 30; 2019. DOI: 10.1007/s10856-019-6286-y
5. BERMEJO, P. et al. Biofilm formation on dental implants with different surface micro-topography: An in vitro study. **Clinical Oral Implants Research**, v. 30, n. 8, p. 725-734; 2019. DOI: 10.1111/clr.13455
6. BERMEJO, P. et al. Topographic characterization of multispecies biofilms growing on dental implant surfaces: An in vitro model. **Clinical Oral Implants Research**, v. 30, n. 3, p. 229-241; 2019. DOI: 10.1111/clr.13409
7. CARINCI, F. et al. A New Strategy Against Peri-Implantitis: Antibacterial Internal Coating. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 16, p. 3897 , 2019. DOI: 10.3390/ijms20163897
8. COCHIS, A. et al. Biosurfactants prevent in vitro Candida albicans biofilm formation on resins and silicon materials for prosthetic devices. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology And Oral Radiology**, v. 113, n. 6, p. 755-761 ; 2012. DOI: 10.1016/j.oooo.2011.11.004
9. CUNHA, B.G. et al. Cytotoxicity and antimicrobial effects of citronella oil (Cymbopogon nardus) and commercial mouthwashes on S. aureus and C. albicans biofilms in prosthetic materials. **Archives of Oral Biology**, v. 109, n. 8, p. 104577; 2020. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2019.104577

10. 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 Microbiol**, v.39, p. 59-66; 2016. PMID: 26922985
11. GOMES, J.A. et al. Microbiological and clinical outcomes of fixed complete-arch mandibular prostheses supported by immediate implants in individuals with history of chronic periodontitis. **Clinical Oral Implants Research**, v. 28, n. 6, p. 734-741; 2016. DOI: 10.1111/clr.12871
12. HAO, Y. et al. Influence of dental prosthesis and restorative materials interface on oral biofilms. **International Journal of Molecular Sciences**, v.19, n. 10, p. 3157; 2018. DOI: 10.3390/ijms19103157
13. HATAKEYAMA, T. et al. Efficacy of 5-aminolevulinic acid-mediated photodynamic therapy using light-emitting diodes in human colon cancer cells. **Oncology Reports**, v. 29, n. 3, p. 911-916; 2013. DOI: 10.3892/or.2013.2220
14. 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. American Academy of Implant Dentistry. DOI: 10.1563/AAID-JOI-D-10-00088
15. IOANNIDIS, A. et al. Mechanical and hydrodynamic homecare devices to clean rough implant surfaces – an in vitro polyspecies biofilm study. **Clinical Oral Implants Research**, v. 26, n. 5, p. 523-528; 2015. DOI: 10.1111/clr.12436
16. KHANAL, A. et al. Microgel-Encapsulated Methylene Blue for the Treatment of Breast Cancer Cells by Photodynamic Therapy. **Journal of Breast Cancer**, v.17, n. 1, p.18-24; 2014. DOI: 10.4048/jbc.2014.17.1.18
17. KOCH, M. et al. Electrochemical Disinfection of Dental Implants Experimentally Contaminated with Microorganisms as a Model for Periimplantitis. **Journal of Clinical Medicine**, v.9, n. 2, p. 475; 2020. DOI:10.3390/jcm9020475
18. KORSCH, M. et al. Impact of dental cement on the peri-implant biofilm-microbial comparison of two different cements in an in vivo observational study. **Clinical Oral Implants Research**, v. 20, n. 5, p. 806-813; 2018. DOI: 10.1111/cid.12650
19. LOTLIKAR, S.R. et al. Polymeric Composites with Silver (I) Cyanoximates Inhibit Biofilm Formation of Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria. **Polymers**, v.11, n. 6, p. 1018; 2019. DOI:10.3390/polym11061018

20. MERIÇ, G. et al. Evaluating the efficiency of humic acid to remove microorganisms from denture base material. **Gerodontology**, v. 33, n. 3, p. 395-401; 2014. DOI: 10.1111/ger.12175
21. 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. DOI: 10.11607/jomi.6690
22. PARANHOS, H.F. et al. Capacity of denture plaque/biofilm removal and antimicrobial action of a new denture paste. **Brazilian Dental Journal**, v.11, p. 97-104; 2000. PMID: 11210269
23. PITA, P.P.C. et al. Oral Streptococci Biofilm Formation on Different Implant Surface Topographies. **Biomed Research International**, v. 2015, p. 1-6; 2015. DOI: 10.1155/2015/159625
24. SANS-MARTIN, I. et al. Exploring the microbiome of healthy and diseased peri-implant sites using Illumina sequencing. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 44, n. 12, p. 1274-1284; 2017. DOI: 10.1111/jcpe.12788
25. SILVA-LOVATO, C.H. 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. DOI: 10.1111/j.1532-849X.2008.00430.x
26. SOUSA, C.A. et al. Sealing agent reduces formation of single and dual-species biofilms of *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis* on screw joints at the abutment/implant interface. **PLoS ONE**, v.14, n. 10, p.e0223148; 2019. DOI: 10.1371/journal.pone.0223148
27. TUNA, T. et al. Removal of simulated biofilm at different implant crown designs with interproximal oral hygiene aids: An in vitro study. **Clinical Oral Implants Research**, v. 30, n. 7, p. 627-636; 2019. DOI: 10.1111/clr.13448
28. 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; 2014. DOI: 10.1111/clr.12508

**TABELAS**Tabela 1: Superfície de área total e área corada da amostra de usuários de próteses totais implantossuportadas mandibulares (cm<sup>2</sup>).

	Sexo				Idade			Nº implantes		
	Total	Feminino	Masculino	p-Valor	Até 65	>65	p-Valor	4	5	p-Valor
Área total cm <sup>2</sup>	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 <sup>2</sup>	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	<b>*0,031</b>

\*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<sub>10</sub>UFC/mL).

	Sexo				Idade			N° implantes		
	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	<b>*0,039</b>
<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
<i>Klebsiella spp</i> <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
<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
<i>Staphylococcus aureus</i>	5,75±2,02	5,59±2,07	7,21±0,25	<b>*0,042</b>	5,36±2,86	6,14±0,36	0,436	5,88±1,93	5,55±2,27	0,678
<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
<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
<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
<i>Candida glabrata</i>										
<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 (log<sub>10</sub>). 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.

	Total		Idade				Número de implantes						
			Até 65		Mais de 65		p-Valor	4		5		p-Valor	
<b>Microbiologia</b>													
<i>E. coli</i>	11	55%	6	60%	5	50%	1,000	4	33%	7	88%	<b>*0,028</b>	
<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.





<i>Pseudomonas spp</i>	<b>r</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	0,031	0,000	-0,180	<b>0,563*</b>	0,250	<b>0,498*</b>
	<b>p</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	0,895	1,000	0,449	<b>0,010</b>	0,288	<b>0,025</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<b>r</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	0,000	0,259	0,286	<b>0,469*</b>	0,167	
	<b>p</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	1,000	0,271	0,222	<b>0,037</b>	0,482	
<i>Staphylococcus</i>	<b>r</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,000	0,000	0,000	0,000	
<i>Saprophyticus</i>	<b>p</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,000	1,000	1,000	1,000	
<i>Candida tropicalis</i>	<b>r</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,230	<b>0,480*</b>	-0,114	
	<b>p</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,330	<b>0,032</b>	0,633	
<i>Candida albicans</i>	<b>r</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,223	0,415	
	<b>p</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,344	0,069	
<i>Candida krusei</i>	<b>r</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,192	
	<b>p</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,417	
<i>Candida glabrata</i>	<b>r</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Candida</i>		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>parapsilosis</i>	<b>p</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

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.

## **APÊNDICE 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)		

## ANEXO A -

UFC - UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO CEARÁ /



**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

UFC - UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO CEARÁ /



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<sup>-7</sup>, 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

UFC - UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO CEARÁ /



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

**CEP:** 60.430-275

**UF:** CE

**Município:** FORTALEZA

**Telefone:** (85)3366-8344

**E-mail:** comepe@ufc.br



UFC - UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO CEARÁ /



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

**CEP:** 60.430-275

**UF:** CE

**Município:** FORTALEZA

**Telefone:** (85)3366-8344

**E-mail:** comepe@ufc.br

## ANEXO B -

The screenshot displays the website interface for 'REGISTRO BRASILEIRO DE Ensaios Clínicos'. The header features the site logo and navigation links for 'ianasa', 'U01', 'U00', 'Painel', and 'DAIR'. Language options 'PT | ES | EN' are available. A search bar with a 'Buscar ensaios' button and a link to 'BUSCA AVANÇADA' is present. The main content area is titled 'HOME / SUBMISSÕES' and includes instructions for sending a new clinical trial, with links for 'Completando o formulário de submissão.' and 'Enviar um arquivo XML.'. A 'NOVA SUBMISSÃO' button is prominently displayed. Below this is a table of submissions.

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

