



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA

**EFETIVIDADE ANTIMICROBIANA DE PROTOCOLOS DE DESINFECÇÃO PARA
PRÓTESES TOTAIS QUANTO A ORDEM DO MÉTODO, CONCENTRAÇÃO DA
SOLUÇÃO E IMERSÃO POSTERIOR *OVERNIGHT* EM ÁGUA**

Florianópolis

2023

Ana Beatriz Sato Kamio

**EFETIVIDADE ANTIMICROBIANA DE PROTOCOLOS DE DESINFECÇÃO PARA
PRÓTESES TOTAIS QUANTO A ORDEM DO MÉTODO, CONCENTRAÇÃO DA
SOLUÇÃO E IMERSÃO POSTERIOR *OVERNIGHT* EM ÁGUA**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de Odontologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Cirurgiã-Dentista

Orientador(a): Prof. Maurício Malheiros Badaró, Dr.
Coorientador(a): Prof. Juliana Silva de Ribeiro Andrade, Dr

Florianópolis

2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Kamio, Ana Beatriz Sato

Efetividade antimicrobiana de protocolos de desinfecção para próteses totais quanto a ordem do método, concentração das soluções e imersão posterior overnight em água /Ana Beatriz Sato Kamio ; orientador, Maurício Malheiros Badaró, coorientador, Juliana Silva de Ribeiro Andrade, 2023.

49 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Graduação em Odontologia, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

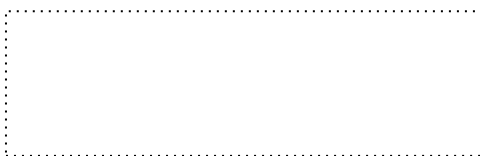
1. Odontologia. 2. Candida. 3. Resinas Acrílicas. 4. Prótese Total. 5. Desinfecção. I. Badaró, Maurício Malheiros. II. Andrade, Juliana Silva de Ribeiro . III. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Odontologia. IV. Título.

Ana Beatriz Sato Kamio

Efetividade antimicrobiana de protocolos de desinfecção para próteses totais quanto a ordem do método, concentração da solução e imersão posterior *overnight* em água

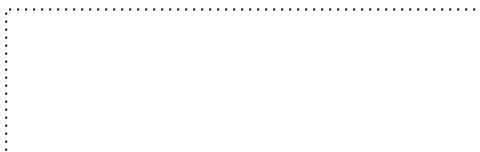
Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de Cirurgião-Dentista e aprovado em sua forma final pelo Curso Odontologia.

Florianópolis, 30 de outubro de 2023



Coordenação do Curso

Banca examinadora

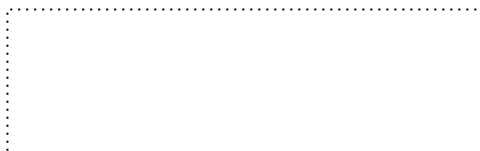


Prof.(a) Dr.(a) Maurício Malheiros Badaró

Orientador(a)



Prof.(a) Dr.(a) Thais Mageste Duque
Universidade Federal de Santa Catarina



Prof.(a) Dr.(a) Ana Paula Varela Brown Martins

Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 2023.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos **meus pais**, por serem a meu exemplo de força e amor. Vocês foram a minha constante âncora durante toda a minha vida, através do seu suporte, carinho e atenção, fui capaz de enfrentar todos os obstáculos para concluir essa jornada. Ao meu pai, Celso, meu maior apoiador. Seu coração enorme e risada alta são as características que mais amo no senhor, espero poder ser capaz de retribuir tudo o que você me proporcionou. A minha mãe, Marcia, minha companheira em todos os desafios, o seu incentivo pelos estudos, cuidado e ternura foram o meu conforto e motivação em diversos momentos. Amo muito vocês, vocês são minha maior fonte de inspiração.

A minha **família, tios, tias e avós**, mesmo longe sinto que estão sempre torcendo e comemorando todas as nossas conquistas. Obrigada por todas as lições e ótimas histórias.

Às minhas **amigas de infância**, Fernanda, Ingrid, Gabriela e Thais, tenho uma imensa gratidão por conseguir cultivar uma amizade tão verdadeira por mais de 12 anos. Obrigada pelas risadas, desabafos e por proporcionarem o respiro que precisava em diversos momentos.

A minhas **amigas**, as quais encontrei durante a graduação, Nathalia e Rafaela. A leveza, sinceridade e companheirismo de vocês foram um porto seguro dentro de todo o caos presente em diversos momentos desse caminho.

Aos meus **colegas e amigos da turma 2018.1**, sou muito feliz de poder me formar com excelentes futuros cirurgiões dentistas. Sinto muito orgulho de cada um de vocês.

Ao meu **orientador**, Prof. Dr. Maurício Malheiros Badaró, um exemplo de profissional e excelente professor. Sou eternamente grata por todas as oportunidades e ensinamentos que o professor me proporcionou desde o início da orientação. Além de toda a confiança depositada em mim, mesmo quando nem eu mesma acreditava. Estendo meus agradecimentos aos **alunos da pós-graduação**, em especial a Artur e Duda. Admiro a dedicação e a paixão pelo que fazem, foi um privilégio ter os encontrado no caminho.

A minha **coorientadora**, Prof. Dr. Juliana Silva de Ribeiro Andrade, seu otimismo e positividade transmitem muita luz e alegria. Espero obter contigo ainda mais conhecimentos no futuro.

A Prof. Dra. Analucia Phillipi Gleber, a qual me acolheu em meio a pandemia e me ajudou a dar os primeiros passos no mundo da pesquisa científica. Com sua gentileza e inteligência, foi quem abriu diversas portas durante toda a graduação.

A **todos os professores** do corpo docente da UFSC os quais lapidaram a minha jornada, dedicaram o seu tempo e ofereceram diversos ensinamentos. Aos servidores, em especial Batista e Luiz, obrigada por todo o cuidado, paciência e bom humor, vocês são exemplos a seguir.

RESUMO

A associação de métodos mecânicos e químicos (escovação e imersão) na desinfecção de próteses totais é imprescindível para a manutenção da saúde bucal e sistêmica. Nesses casos, os agentes desinfetantes com maior espectro de ação antimicrobiana contribuem para a maior efetividade de controle do biofilme nos protocolos clínicos diários. O presente estudo objetivou avaliar a efetividade antimicrobiana de diferentes protocolos de desinfecção para próteses totais por associação de métodos, variando a ordem das etapas de intervenção e as concentrações do hipoclorito de sódio (NaOCl a 0,1% e 0,25%) e imersão final em água. A variável de resposta foi a efetividade antimicrobiana frente a espécie de *Candida albicans* (ATCC 10231). Um total de 165 espécimes em resina acrílica (PMMA) foram divididos em onze grupos (n=15) variando concentração e ordem de intervenção: E (escovação), I0,1% e I0,25% (imersão em NaOCl 0,1% e 0,25%), E+I (escovação seguida por imersão), I+E (imersão seguida por escovação) e E+I+A (escovação, imersão em NaOCl e *overnight* em água), além do controle positivo e negativo. A avaliação quantitativa foi feita pela contagem de unidades formadoras de colônia (UFC/mL) de *C.albicans* e a análise qualitativa pelas imagens da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Os dados foram analisados pelo teste t para amostras independentes e o teste de igualdade de variâncias (teste de Levene) para a comparação entre as concentrações. Entre os protocolos com a mesma concentração e entre todos os grupos, foi feita a análise de ANOVA *one-way* com post-hoc de Tukey ($p \leq 0,05$). Grupos E+I e I+E tiveram a maior efetividade antimicrobiana, sendo E+I0,25% o de melhor desempenho, enquanto as imersões isoladas tiveram o pior resultado, em relação ao controle. Grupos de associação com NaOCl 0,1% (E+I e I+E) e escovação isolada não tiveram diferença entre si. A ordem dos métodos afetou a efetividade nos grupos de associação com NaOCl 0,25%. Protocolos com imersão final em água reduziram moderadamente a carga fúngica. Conclui-se que a associação dos métodos iniciados pela escovação seguida por imersão em NaOCl 0,25% sem associação em água apresentou o maior potencial antimicrobiano contra *Candida albicans*.

Palavras-chave: Candida; Resinas Acrílicas; Prótese Total; Desinfecção

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ERP	Estomatite relacionada à prótese
E	Escovação
I	Imersão
ISO	International Organization for Standardization
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
NaCl	Soro fisiológico
NaOCl	Hipoclorito de Sódio
PMMA	Polimetilmetacrilato
UFC	Unidade Formadora de Colônias

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	OBJETIVOS.....	12
2.1	OBJETIVO GERAL	12
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
2.3	HIPÓTESE NULA	12
3	ARTIGO	13
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	35
5	REFERÊNCIAS	36
	ANEXO A – ATA DA DEFESA	42
	ANEXO B – NORMAS DA REVISTA UFES.....	44

1 INTRODUÇÃO

A ausência de elementos dentários na população idosa (65 a 74 anos) está projetada para crescer no Brasil, alcançando cerca de 64 milhões de indivíduos dessa faixa etária até o ano de 2040 (Cardoso *et al.*, 2016). A etiologia do edentulismo está relacionada com fatores biológicos e socioeconômicos (Al-Rafee, 2020). A perda de elementos dentários está relacionada com a cárie, doença periodontal e trauma (Alaboudi *et al.*, 2016; Chrysanthakopoulos, 2011). Além disso, fatores como nível educacional, baixa renda e idade também impactam na prevalência da condição na população (Ferreira *et al.*, 2022; Tsitaishvili; Margvelashvili, 2015). Desta forma, a reabilitação protética total implica no restabelecimento da função mastigatória, fonética e estética proporcionando melhora na qualidade de vida nestes indivíduos.

O polimetilmetacrilato (PMMA) termopolimerizável é amplamente escolhido como material base das próteses decorrente da sua facilidade de manipulação, custo benefício, propriedades estéticas favoráveis e toxicidade relativamente baixa (Zafar, 2020). Entretanto, a incorporação de ar e a presença de monômeros livres mesmo após a polimerização completa do material resultam em uma superfície com presença de porosidades as quais promovem um nicho propício para a formação e retenção de biofilme, causando infecções em mucosa oral e sistêmicas (Gad; Fouda, 2020; McCreynolds *et al.*, 2023).

A estomatite relacionada à prótese (ERP) manifesta-se clinicamente como uma inflamação crônica eritematosa da região de recobrimento da prótese (McCreynolds *et al.*, 2023). Constitui-se como a lesão mais comum da mucosa oral associado ao uso de dispositivo protético, acometendo cerca de 35 a 50% de usuários de próteses totais (Adam; Kimmie-Dhansay, 2021), com etiologia multifatorial e diversos fatores de risco incluindo: má higienização (Kulak-Ozkan; Kazazoglu; Arikan, 2002), uso contínuo noturno da prótese (Clemente *et al.*, 2023; Figueiral *et al.*, 2007) e desadaptação (Figueiral *et al.*, 2007; Péric *et al.*, 2018). Além disso, fatores sistêmicos como: imunossupressão (Manikandan *et al.*, 2022), histórico de tabagismo (Péric *et al.*, 2018), podem agravar o grau da doença no paciente.

O principal microorganismo encontrado em próteses totais de pacientes acometidos pela ERP é a do gênero *Candida* (Badaró *et al.*, 2020; Rodriguez-Archilla; Garcia-Galan, 2020). A *C. albicans* é o patógeno mais isolado e atua como um microorganismo oportunista e se apresenta na forma de hifa ou levedura (Degirmenci *et al.*, 2021; Lamfon, 2021; McCreynolds *et al.*, 2023; Jovanovic *et al.*, 2018; Ramage *et al.*, 2004; Verhaeghe; Wyatt; Mostafa, 2020). O

biofilme identificado na superfície das próteses é caracterizado como sendo complexo, sinérgico, com uma rede intrincada de diversas espécies bacterianas e fúngicas, impregnadas principalmente em regiões de rachaduras e irregularidades e com uma camada de matriz extracelular protetora (O'donnell *et al.*, 2017). Desta forma, os dispositivos protéticos podem se tornar um reservatório de microorganismos potencialmente patogênicos (Coulthwaite; Verran, 2007), influenciando no início ou agravamento de infecções gastrointestinais, endocardite bacteriana (Fujinami *et al.*, 2021) e problemas respiratórios (Hong *et al.*, 2017), principalmente em pacientes mais idosos e/ou imunocomprometidos (Ribeiro *et al.*, 2022). Este acúmulo de microorganismo é agravado quando combinado com o uso contínuo da prótese durante a noite (Clemente *et al.*, 2023). Cerca de 69% dos portadores de dispositivos protéticos removíveis usam o mesmo durante a noite de forma contínua, contribuindo para o desenvolvimento de irritação traumática dos tecidos orais adjacentes (Bacali *et al.*, 2021). O uso das próteses durante o período overnight promove a redução do fluxo salivar, de modo que a ação protetora da saliva é prejudicada logo há uma elevação da presença de microorganismos oportunistas como a *C.albicans* na cavidade oral (Compagnoni *et al.*, 2007; Iinuma *et al.*, 2015).

Para prevenção da ERP a rotina de desinfecção é imprescindível (Badaró *et al.*, 2020; Cankaya; Yurdakos; Kalabay, 2020; Kulak-Ozkan; Kazazoglu; Arikan, 2002; Ryniewicz *et al.*, 2021). Ao se tratar da remoção de biofilme presente na prótese, a associação de métodos mecânicos e químicos é recomendado (Arruda *et al.*, 2017; Barnabe *et al.*, 2004; Badaró *et al.*, 2020; Silva *et al.*, 2008) seguido pela interrupção do uso da prótese durante o período noturno. O hábito de dormir com a prótese está associado com maiores chances de desenvolvimento de ERP, uma vez que diminui o efeito protetor da saliva e a ação de limpeza da língua assim como a boa oxigenação da mucosa (Cankovic *et al.*, 2017; Rodriguez-Archilla; Garcia-Galan, 2020). A escovação (método mecânico) é uma opção simples, eficiente e acessível. O uso de agentes auxiliares como o sabão neutro contribui com a remoção manual do biofilme e apresenta vantagens, incluindo a não abrasividade, fácil acesso e baixo custo (Paranhos *et al.*, 2013). No entanto, estudos realizados previamente demonstram que o uso do método isolado não é suficiente para promover a redução da colonização fúngica e bacteriana na superfície da resina acrílica (Barnabe *et al.*, 2004; Duyck *et al.*, 2016; Paranhos *et al.*, 2013). Além disso, a escovação pode se tornar uma atividade de difícil execução em pacientes de idades mais avançadas, com limitações motoras e redução da acuidade visual, propiciando uma pior higienização da prótese. Dessa forma, há necessidade de complementação para um melhor controle microbiano. Para isso, o uso de soluções desinfetantes para imersão é necessário, uma

vez que a topografia rugosa da superfície protética favorece a retenção e acúmulo de biofilme e dificulta sua remoção apenas com os métodos isolados (Coulthwaite; Verran, 2007; Dills *et al.*, 1988).

A imersão das próteses em soluções desinfectantes atua como agente complementar. Dentre as propriedades ideais esperadas por essas substâncias está a capacidade de reduzir o biofilme sem afetar as características físicas e mecânicas do dispositivo. Na literatura, o hipoclorito de sódio (NaOCl) é reputado como o padrão de referência (Arruda *et al.*, 2018; Badaró *et al.*, 2020; Badaró *et al.*, 2021). Sua atuação é diretamente na dissolução da estrutura polimérica da matriz orgânica do biofilme acumulado na prótese (Karthikeyan, Suma; Leoney, A; Ali, Seyed, 2018). Todavia, reporta-se que, em concentrações mais elevadas como de 1%, esta substância pode levar a alteração de cor, rugosidade de superfície e resistência a flexão (Sharma; Garg; Kalra, 2017). Assim, demonstra-se relevante o estudo da aplicabilidade de soluções de NaOCl em menores concentrações. O NaOCl na concentração de 0,25% apresentou efetividade na remoção de biofilme da prótese, por meio da imersão durante um período de cerca de 20 minutos (Badaró *et al.*, 2017; Badaró *et al.*, 2020) e atuou indiretamente no controle da colonização da mucosa de indivíduos com ERP (Badaró *et al.*, 2017). A concentração de 0,1% também teve êxito na diminuição do biofilme nas próteses e melhor resultado na remissão da ERP (Arruda *et al.*, 2017). No entanto, ainda há necessidade de análise antimicrobiana dos diferentes protocolos clínicos de desinfecção especificando a melhor sequência de métodos, determinação da concentração ideal de NaOCl dentro dos protocolos e uso associação com a imersão “*overnight*” em água simulando o indivíduo que retira a prótese durante o período noturno. Portanto, o objetivo desse trabalho foi definir o protocolo de higienização com maior efetividade antimicrobiana em PMMA, variando a ordem de sequência da associação de métodos (mecânico e químico), a concentração do hipoclorito de sódio (NaOCl 0,25%; 0,1%) e a associação com a imersão posterior em água destilada (*overnight*).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo desse estudo foi verificar a eficácia antimicrobiana de protocolos de higienização de próteses totais e as concentrações do hipoclorito de sódio (NaOCl a 0,1% e 0,25%).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar a efetividade antimicrobiana das diferentes concentrações do hipoclorito de sódio (NaOCl a 0,1% e 0,25%) inseridos em protocolos de higienização distintos;

Avaliar a efetividade antimicrobiana das ordens de implementação do método mecânico e químico nos protocolos de desinfecção de associação;

Verificar a influência da imersão *overnight* em água sobre a efetividade antimicrobiana dos protocolos de associação de escovação seguida por imersão.

2.3 HIPÓTESE NULA

A hipótese nula do estudo é a ausência de diferença entre os protocolos de higienização e concentrações do NaOCl quanto a efetividade antimicrobiana perante a espécie de *Candida albicans*.

3 ARTIGO

Efetividade antimicrobiana de protocolos de desinfecção para próteses totais quanto a ordem do método, concentração da solução e imersão posterior “overnight” em água

RESUMO

Introdução: Métodos mecânicos e químicos associados são imprescindíveis para desinfecção de próteses totais. **Objetivos:** Avaliar a efetividade antimicrobiana contra *Candida albicans* de protocolos desinfetantes por associação de métodos para próteses totais, variando a ordem de intervenção, concentrações do hipoclorito de sódio (NaOCl 0,1% e 0,25%) e imersão posterior em água. **Métodos:** Espécimes de polimetilmetacrilato termopolimerizável foram aleatorizados em onze grupos (n=15): C (controle), E (escovação), I0,1% e I0,25% (imersão em NaOCl 0,1% e 0,25%), E+I0,1% e E+I0,25% (escovação e imersão), I0,1%+E e I0,25%+E (imersão e escovação) e E+I0,1%+A e E+I0,25%+A (escovação, imersão em NaOCl e *overnight* em água). Avaliação quantitativa realizou contagem de unidades formadoras de colônia (UFC/mL) e qualitativa por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Os dados foram analisados pelo teste t para amostras independentes e teste de igualdade de variâncias (Levene) para comparação entre concentrações. Entre protocolos de mesma concentração e entre todos os grupos, realizou-se ANOVA *one-way*, com post-hoc de Tukey ($p \leq 0,05$). **Resultados e Conclusão:** Grupos E+I e I+E tiveram a maior efetividade antimicrobiana, sendo E+I0,25% o de melhor desempenho, enquanto as imersões isoladas tiveram o pior resultado, em relação ao controle. Grupos de associação com NaOCl 0,1% (E+I e I+E) e escovação isolada não tiveram diferença entre si. A ordem dos métodos afetou a efetividade nos grupos de associação com NaOCl 0,25%. Protocolos com imersão final em água reduziram moderadamente a carga fúngica. Conclui-se que ao iniciar com a escovação, a associação com NaOCl 0,25% sem imersão em água apresentou maior potencial antimicrobiano.

Palavras-chave: *Candida*; Resinas Acrílicas; Prótese Total; Desinfecção.

ABSTRACT

Antimicrobial effectiveness of infection protocols for complete dentures regarding method order, solution concentration and subsequent *overnight* in water

Introduction: The association of mechanical and chemical methods (brushing and immersion) in the disinfection of complete dentures is essential for maintaining oral and systemic health. In these cases, disinfectant agents with a broader spectrum of antimicrobial action contribute to greater biofilm control effectiveness in daily clinical protocols. **Objective:** To evaluate the antimicrobial effectiveness of different disinfection protocols for complete dentures by combining methods, varying the intervention steps and concentrations of sodium hypochlorite (0.1% and 0.25% NaOCl) and final immersion in water. **Methodology:** The response variable was antimicrobial effectiveness against the species of *Candida albicans* (ATCC 10231). The sample calculation defined the quantity of 165 specimens in acrylic resin (PMMA), divided into eleven groups (n=15) varying concentration and order of intervention: E (brushing), I0.1% and I0.25% (immersion in NaOCl 0.1% and 0.25%), B+I (brushing followed by immersion), I+B (immersion followed by brushing) and B+I+W (brushing, immersion in NaOCl and overnight in water), in addition to positive and negative control. Quantitative evaluation was carried out by counting colony forming units (CFU/mL) of *C.albicans* and qualitative analysis using Scanning Electron Microscopy (SEM) images. At the end, the data were presented in the form of mean and standard deviation after being subjected to the T test for independent samples, considering the Levine test for comparison between protocols with different concentrations. To compare different protocols with the same concentration and between all groups, one-way ANOVA with Tukey post-hoc was performed, with a statistical significance level of 5%. **Result and Conclusion:** The B+I and I+B protocols had the greatest antimicrobial effectiveness in relation to the control, with B+I0.25% having the best performance, while the isolated immersion protocols had the worst performance. Brushing was essential for reducing CFU/mL in the 0.1% NaOCl association groups. The inversion of the order of the methods affected the effectiveness in the groups with I0.25%, with the beginning with brushing providing prior disorganization of the biofilm, facilitating the penetration of the disinfectant solutions. Immersion in water reduced the fungal load to a lesser extent, but the benefits of reducing the release of residual NaOCl must be considered.

Keywords: Candida; Acrylic Resins; Total Prosthesis, Disinfection.

INTRODUÇÃO

A ausência de elementos dentários na população idosa (65 a 74 anos) está projetada para crescer no Brasil, alcançando cerca de 64 milhões de indivíduos dessa faixa etária até o ano de 2040¹. A reabilitação protética total nestes indivíduos implica no restabelecimento da função mastigatória, estética e consequente melhora na qualidade de vida. O polimetilmetacrilato (PMMA) termopolimerizável é amplamente escolhido como material base das próteses decorrente da sua facilidade de manipulação, custo benefício, propriedades estéticas favoráveis e toxicidade relativamente baixa². Entretanto, a incorporação de ar e a presença de monômeros livres mesmo após a polimerização completa do material resultam em uma superfície com presença de porosidades as quais promovem um nicho propício para a formação e retenção de biofilme, causando infecções em mucosa oral e sistêmicas^{3,4}.

A estomatite relacionada à prótese (ERP) manifesta-se clinicamente como uma inflamação crônica eritematosa da região de recobrimento da prótese⁴. Constitui-se como a lesão mais comum da mucosa oral associado ao uso de dispositivo protético, acometendo cerca de 35 a 50% de usuários de próteses totais⁵, com etiologia multifatorial e diversos fatores de risco incluindo: má higienização⁶, uso contínuo noturno da prótese^{7,8} e desadaptação^{8,9}. Além disso, fatores sistêmicos como: imunossupressão¹⁰, histórico de tabagismo⁹, podem agravar o grau da doença no paciente.

O principal microorganismo encontrado em próteses totais de pacientes acometidos pela ERP são do gênero *Candida*^{11,12}. A *C. albicans* é o patógeno mais isolado e atua como um microorganismo oportunista que se apresenta na forma de hifa ou levedura^{4,13,14,15,16,17}. O biofilme identificado na superfície das próteses é caracterizado como sendo complexo, sinérgico, com uma rede intrincada de diversas espécies bacterianas e fúngicas, impregnadas principalmente em regiões de rachaduras e irregularidades e com uma camada de matriz extracelular protetora¹⁸. Desta forma, os dispositivos protéticos podem se tornar um reservatório de microorganismos potencialmente patogênicos¹⁹, influenciando no início ou no agravamento de infecções gastrointestinais, endocardite bacteriana²⁰ e problemas respiratórios²¹, principalmente em pacientes mais idosos e/ou imunocomprometidos²². Esse acúmulo de biofilme é agravado quando combinado com o uso contínuo da prótese durante a noite^{7,8}.

Para prevenção da ERP a rotina de desinfecção é imprescindível^{6,11,23,24}. Ao se tratar da remoção de biofilme presente na prótese, a associação de métodos mecânicos e químicos é recomendado^{11, 25,26,27} seguido pela remoção da prótese durante o período noturno. O hábito de

dormir com a prótese está associado com maiores chances de desenvolvimento de ERP, uma vez que diminui o efeito protetor da saliva e a ação de limpeza da língua assim como a boa oxigenação da mucosa^{28,12}. A escovação (método mecânico) é uma opção simples, eficiente e acessível. O uso de agentes auxiliares como o sabão neutro contribui com a remoção manual do biofilme e apresenta vantagens, incluindo a não abrasividade, fácil acesso e baixo custo²⁹. No entanto, estudos realizados previamente demonstram que o uso do método isolado não é suficiente para promover a redução da colonização fúngica e bacteriana na superfície da resina acrílica^{26, 30,29}. Além disso, a escovação pode se tornar uma atividade de difícil execução em pacientes de idades mais avançadas, com limitações motoras, propiciando uma pior higienização da prótese. Dessa forma, há necessidade de complementação para um melhor controle microbiano. Para isso, o uso de soluções desinfetantes para imersão é necessário, uma vez que a topografia rugosa da superfície protética eleva a retenção e acúmulo de biofilme e dificulta sua remoção apenas com os métodos isolados^{19,31}.

A imersão das próteses em soluções desinfetantes atua como agente complementar. Dentre as propriedades ideais esperadas por essas substâncias está a capacidade de reduzir o biofilme sem afetar as características físicas e mecânicas do dispositivo. Na literatura, o hipoclorito de sódio (NaOCl) é reputado como o padrão de referência^{32,11, 33}. O NaOCl atua diretamente na dissolução da estrutura polimérica da matriz orgânica do biofilme acumulado na prótese³⁴. O NaOCl na concentração de 0,25% apresentou efetividade na remoção de biofilme da prótese^{35,11} e atuou indiretamente no controle da colonização da mucosa de indivíduos com ERP³⁵. As concentrações de 0,1% também tiveram êxito na diminuição do biofilme nas próteses e melhor resultado na remissão da ERP²⁵. No entanto, ainda há necessidade de análise antimicrobiana dos diferentes protocolos clínicos de desinfecção especificando a melhor sequência de métodos, determinação da concentração ideal de NaOCl dentro dos protocolos e uso associação com a imersão “*overnight*” em água simulando o indivíduo que retira a prótese durante o período noturno. Portanto, o objetivo desse trabalho foi definir o protocolo de higienização com maior efetividade antimicrobiana em PMMA, variando a ordem de sequência da associação de métodos (mecânico e químico), a concentração do hipoclorito de sódio (NaOCl 0,25%; 0,1%) e a associação com a imersão posterior em água destilada (*overnight*).

MATERIAIS E MÉTODO

Delineamento do Estudo e Cálculo Amostral

A pesquisa consiste em um estudo *in vitro* cuja variável de resposta foi a efetividade antimicrobiana. Os fatores de variação foram as diferentes concentrações de NaOCl aplicadas assim como a instituição de protocolos de associação de método mecânico e químico em diferentes ordens de etapas. A análise qualitativa consistiu de fotomicrografias da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) enquanto a análise quantitativa foi através da contagem de unidades formadoras de colônia (UFC/mL)

O cálculo amostral do presente estudo foi baseado no estudo de Badaró et al³³ para a análise de *microbial load* para *Candida albicans*. No software GPower© 3.1.9.4, foram inseridas as informações referentes ao tamanho de efeito estimado ($f=0,40$ – tamanho de efeito grande), a probabilidade de erro alfa de 5% ($p < 0,05$) e o poder de teste de 0,80, considerando o teste ANOVA *one-way* e a comparação máxima de 11 grupos. O tamanho amostral necessário foi de 165 amostras, sendo 15 em cada grupo.

Os dados são apresentados por meio de médias e desvio padrão. Para a comparação entre as concentrações foi utilizado o teste t para amostras independentes, considerando o teste de igualdade de variâncias (teste de Levene). Nas comparações entre os grupos de diferentes protocolos com a mesma concentração e entre todos os grupos foi realizado por meio do teste ANOVA *one-way* com post-hoc de Tukey. Foi utilizado o nível de significância estatística de 5% ($p < 0,05$). A análise dos dados e os gráficos foram realizados no software IBM SPSS Statistics for Windows (v. 26.0 Armonk, NY: IBM Corp)

Confecção dos Espécimes e Formação dos Grupos

Inicialmente, amostras retangulares de resina acrílica termopolimerizável foram obtidas através de moldes confeccionados a partir de matrizes metálicas incluídas em muflas, número 07 (OGP Produtos Odontológicos Ltda., São Paulo, SP, Brasil), em gesso pedra tipo III (Gesso Rio, Orlando Antônio Bussioli ME, Rio Claro, SP, Brasil) e silicone de condensação denso³⁵ (Zetalabor, Zhermack, BadiaPolesine, RO, Itália). A resina acrílica termopolimerizável foi inserida e prensada a 1250 Kgf por 30 minutos, nos moldes, de acordo com as orientações do fabricante e assim polimerizadas em banho de água³⁵.

Com o intuito de simular a superfície interna rugosa e externa polida de uma prótese total, foi realizado acabamento das superfícies e padronização com rugosímetro de 2,7 a 3,7

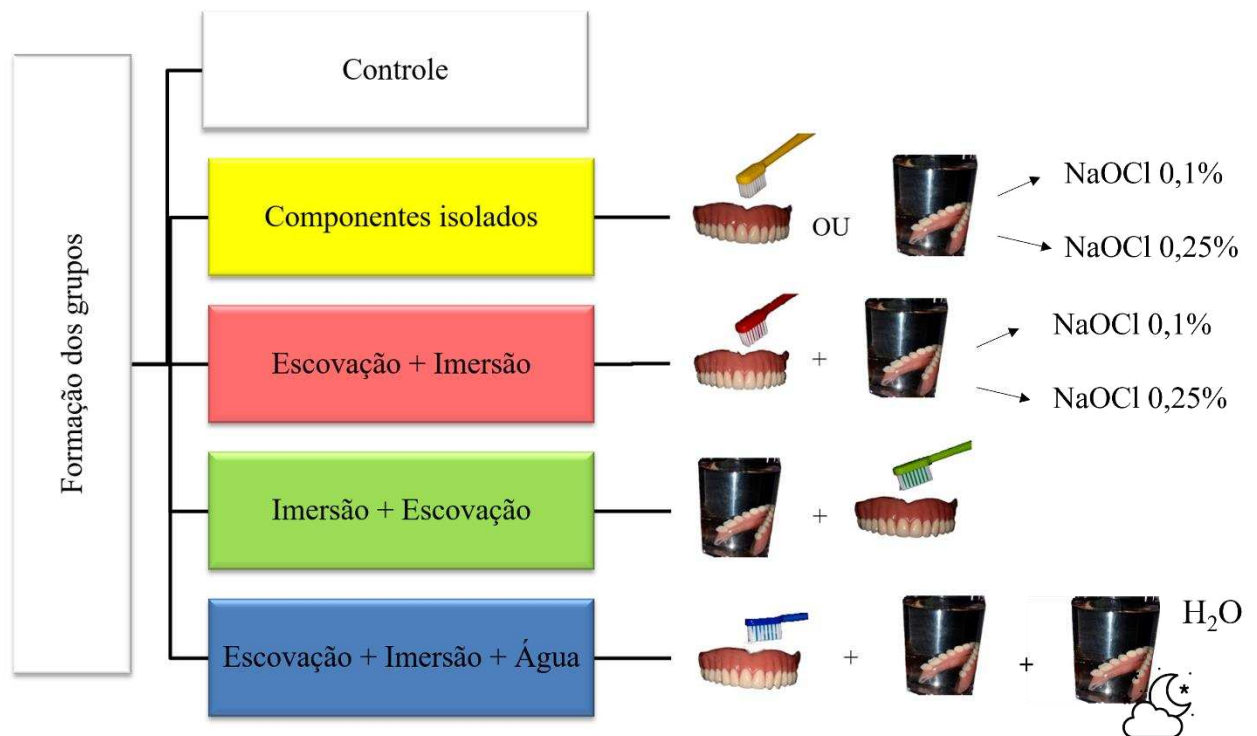
μm ³⁵. Brocas de tungstênio tronco cônica Minicut® (American Burrs®, Palhoça, SC, Brasil), escovas de diferentes granulações (fina, média e grossa) e lixas d'água de granulação 120 foram empregadas³⁵. A fim de que os espécimes se adaptem aos poços das placas de cultura de 48 poços, padronizou-se o corte com discos de carborundum (Dentorium Products Inc.; Farmingdale, NY, Estados Unidos) da resina acrílica termopolimerizável em formato quadrangular com dimensões de 5 x 5 x 2 mm, sendo individualmente verificados com paquímetro digital.

Posteriormente, todos os espécimes cortados foram esterilizados por difusão do gás de óxido de etileno, o qual consiste em um gás inodoro amplamente utilizado decorrente de suas propriedades fungicida e bactericida e capacidade de penetração em materiais porosos sem causar efeitos deletérios aos mesmos^{36,37}. Segundo a ISO 11135, o processamento consiste em cinco estágios: condicionamento prévio e umidificação, introdução do gás, exposição, evacuação e hiperventilação³⁸. A esterilização dos espécimes foi programada no 1º ciclo com pré-vácuo de 20 minutos a 55°C, 180 minutos de esterilização, 120 minutos de hiperventilação, pressão de 50 kgf/cm² e vácuo de 50 kgf/cm².

Protocolos de Higienização e Formação dos Grupos

O microorganismo escolhido para os testes propostos foi a *Candida albicans* (ATCC 10231). A distribuição dos espécimes entre grupos foi determinada pela divisão a partir dos protocolos de higienização e a concentração do NaOCl empregada (Figura 1). Foram aplicados protocolos isolados (escovação ou imersão) e protocolos de associação (escovação seguida por imersão ou imersão seguida por escovação). A fim de atestar a condição estéril dos espécimes, houve a escolha de um grupo de controle negativo o qual foi submetido a imersão em placa de 48 poços com 1mL de meio de cultivo caldo Sabouraud Dextrosado sem a inoculação da espécie fúngica em estudo. O controle positivo foi a inoculação do espécime com *C. albicans* apenas em meio de cultura caldo Sabouraud Dextrosado.

Figura 1 – Distribuição dos grupos controle e experimentais de acordo com os protocolos de desinfecção.



Cada grupo objetivou simular os protocolos de desinfecção instituídos pelo paciente a partir das recomendações do cirurgião dentista. Desta forma, realizou-se a simulação do método mecânico e químico. O método mecânico (grupo E) consistiu na escovação do espécime com escova dental macia previamente imersa em solução de 20mL de água destilada e 5ml de sabão líquido neutro (Beira Alta Cosméticos Ltda, Guarulhos, SP, Brasil) presente em tubos de Falcon de 50 mL. Para determinar o tempo de escovação, calculou-se as áreas da superfície de 28 próteses totais por meio do software ImageJ, resultando em uma média de 21,36cm². Com base na literatura, foi considerado o tempo recomendado para a escovação da prótese total (superfície interna e externa) sendo 3 minutos. No caso do estudo, o ensaio microbiológico analisou apenas a face interna da prótese, portanto, o tempo considerado para o cálculo foi de 90 segundos. Logo, efetuou-se um cálculo de regra de três com o objetivo de estipular o tempo de escovação proporcional ao tamanho dos espécimes utilizados. O resultado obtido foi de 2 segundos de escovação.

Seguindo a literatura, o método químico consistiu na imersão em NaOCl em concentrações de 0,1% (grupo I0,1%) e 0,25% (grupo I0,25%) (Perfecta Farmácia de Manipulação Ltda., Florianópolis, SC, Brasil) por um período de 20 minutos^{33,39}. Para garantir

que a solução estava na concentração correta, estas foram utilizadas no mesmo dia da manipulação da substância. Os espécimes foram totalmente submersos dentro de microtubos (K6-0150, Kasvi Importação e Distribuição de Produtos Para Laboratórios Ltda., São José dos Pinhais, PR, Brasil) com 1mL da solução líquida de NaOCl. A fim de simular o período de retirada da prótese pelo paciente a noite, foi adicionado aos protocolos de associação, a imersão dos corpos de prova em água destilada por 8 horas em microtubos (E+I+A), após a instituição do método de desinfecção química⁴⁰. Os grupos os quais não eram submetidos a qualquer tipo de imersão foram rapidamente colocadas em solução de soro fisiológico.

Variáveis Principais

Crescimento Microbiano

Para formação do biofilme monoespécie, as cepas de *Candida* foram descongeladas, reativadas em meio de cultura caldo Sabouraud Dextrosado (Tabela 1) e armazenadas em estufa bacteriológica (Incubadora *shaker* Banho Dubnoff NT232, Nova Técnica Ltda., Indústria e Comércio de Equipamentos para Laboratório Ltda., Piracicaba, SP, Brasil) a 37° C por 24 horas, seguindo a proporção de 25mL de caldo Sabouraud Dextrosado para 1mL da cepa descongelada. Após as 24 horas, a padronização do inóculo de *C. albicans* foi realizada por contagem microbiana a partir da Escala de McFarland 0,5 e espectrofotometria para ajuste na concentração de 1×10^6 células/ mL^{41,42}. O comprimento de onda utilizado foi de 625nm em valor de absorbância entre 0,085 a 0,1^{41,42,43}. Para a padronização correta, foi feita a diluição de 0,1 ml do inóculo para 9,9 mL de meio caldo Sabouraud Dextrosado.

Tabela 1 – Meio de cultura, nome do fabricante, forma de preparo e método de esterilização

Nome	Fabricante	Forma de preparo	Esterilização
<i>Sabouraud Dextrose Broth (SDB)</i>	Kasvi Importação e Distribuição de Produtos para Laboratórios Ltda., São José dos Pinhais, PR, Brasil	30,0 g do meio de cultura Sabouraud Dextrose devem ser adicionados a 1000 mL de água destilada	Realizada em autoclave a 121°C por 15 minutos
<i>Sabouraud Dextrose Agar (SAD)</i>	Biolog Brasil Distribuidora Ltda., São Paulo, SP, Brasil	A cada 65,0g de meio de cultura desidratado, serão adicionados 1000 mL de água destilada	

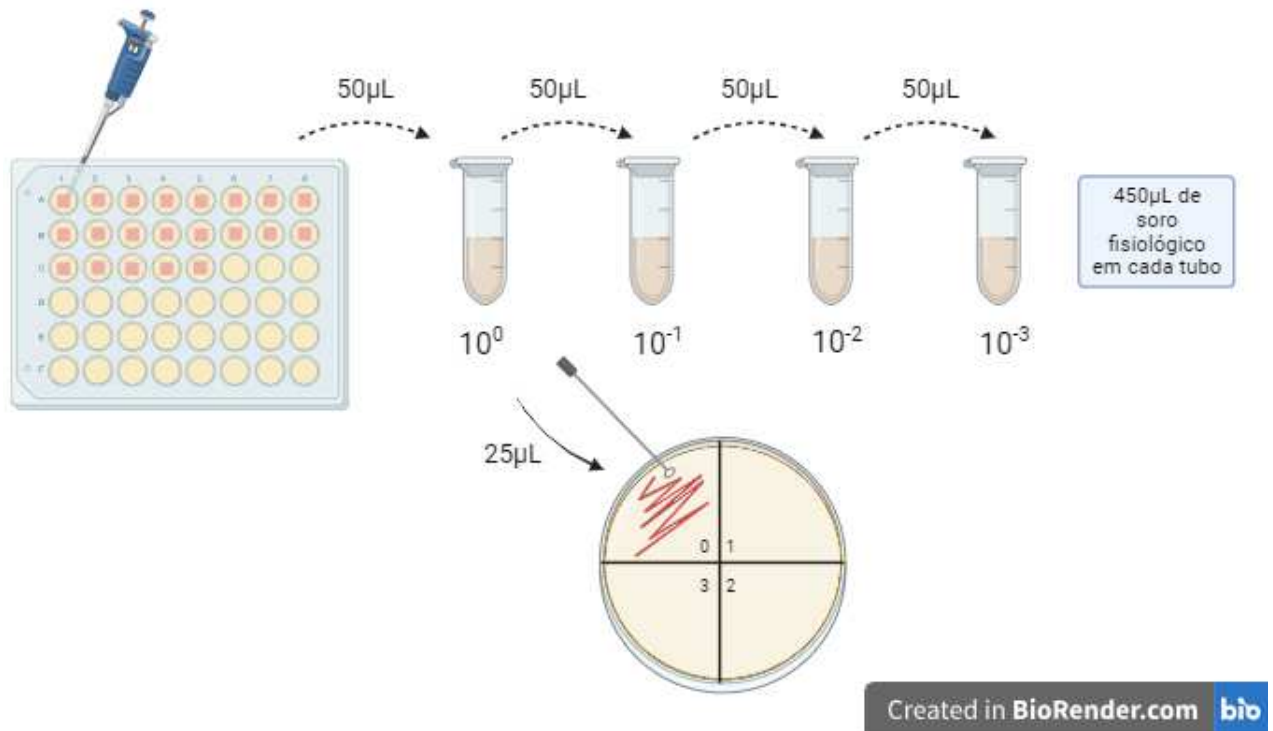
Com os espécimes estéreis, estes foram posicionados individualmente em cada cavidade da placa de cultura de 48 poços (Kasvi Importação e Distribuição de Produtos Para Laboratórios Ltda., São José dos Pinhais, PR, Brasil) dentro da cabine de fluxo laminar. Foi estipulado a distribuição de cada espécime com sua face rugosa voltada para cima, onde é desejada a aderência do biofilme⁴⁰. Com uma ponteira estéril, foi pipetado um volume de 1 mL de meio de cultura contendo o inóculo de *C. albicans* padronizado, com exceção do grupo controle negativo, no qual foi adicionado meio de cultura estéril. A fim de garantir a aderência da *C. albicans* nos corpos de prova, as placas de 48 cavidades foram colocadas sob agitação (75 rpm) durante o período de 1 hora e 30 minutos em uma estufa microbiológica a 37°C³⁷.

Ao final deste tempo, foi feita a remoção total do meio contaminado presente no poço para a lavagem com soro fisiológico estéril 0,9% (NaCl) com o intuito de remover os microrganismos não aderidos³⁷. Em seguida, cada cavidade foi preenchida novamente com 1 mL de meio de cultura estéril para serem incubadas a 37°C sob agitação (75 rpm). Após 24 horas, para evitar a saturação do meio de cultura, houve a substituição de metade do mesmo por um meio de cultura novo. A finalização do crescimento do biofilme se deu após 48 horas de incubação. Com isto, o conjunto espécime e biofilme estava pronto para a realização dos protocolos de desinfecção instituídos para cada grupo. Concluído os protocolos de desinfecção, os grupos não submetidos à imersão em água destilada, foram colocados em microtubos contendo soro fisiológico para eliminar resíduos do sabão líquido. Em seguida, cada espécime é imerso em tubo de ensaio contendo soro fisiológico e submetido ao agitador Vortex (Vortex Mixer VM 370, Intllab, Seri Kembangan, Selangor, Malásia) por 1 minuto.

Para a semeadura, foram separadas placas de Petri estéreis descartáveis as quais foram identificadas e divididas em quadrantes correspondentes a cada diluição da solução (Figura 2). Posteriormente, uma alíquota de 50 µL da solução mãe foi semeada diretamente em uma placa de Petri (Placa de Petri FL3-9015RI, FirstLab, São José dos Pinhais, PR, Brasil) contendo meio de cultura Ágar Sabouraud Dextrose (Tabela 1). A mesma quantidade de 50 µL da solução mãe foi transferida para um microtubo previamente preenchido com 450 µL de soro fisiológico de modo a obter a diluição 10^{-1} , seguido de diluição seriada em 10^{-2} e 10^{-3} [amostra pura (10^0); 1:10 (10^{-1}); 1:100 (10^{-2}); 1:1000 (10^{-3})]⁴⁵. Cada diluição foi transferida para o meio de cultura ágar, nos respectivos quadrantes e espalhados com auxílio de alça de inoculação estéril descartável, sendo incubadas durante 48 horas a 37°C⁴⁵. As contagens de UFC foram realizadas apenas nas diluições com no máximo 300 UFC. O cálculo de UFC/mL considerou a diluição em que o número de colônias estiver variando entre 0 e 300, sendo “n”: valor absoluto da

diluição considerada (0, 1, 2 e 3); “q”: quantidade (mL) pipetada para cada diluição da sementeira⁴². A fórmula empregada para o cálculo está descrita como: UFC/mL = n° de colônias x 10ⁿ/q.

Figura 2 – Diluição seriada realizada em microtubos para sementeira de placas de Petri



Fonte: BioRender.com

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Com o término da realização dos protocolos de higienização, as amostras dos grupos experimentais e controle foram analisadas qualitativamente através da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), por meio da obtenção de imagens de alta resolução com profundidade de campo para aumentos de até 10000x. As amostras foram estabilizadas por fixação química com glutaraldeído 2,5%, lavadas em solução tampão para remoção dos excessos para serem desidratadas⁴⁶.

A desidratação foi feita de maneira lenta e gradual a partir de imersões em concentrações crescentes de etanol em 30% até 100%. Ao atingir a concentração máxima final, os espécimes foram secos em aparelho de Ponto Crítico e transferidas ao Stub para serem metalizadas. Para a metalização, os espécimes foram fixos em uma base alumínio para sofrerem

o processo de sputtering (pulverização) por 2 minutos. A camada condutora escolhida foi o ouro, por sua alta eficiência em se depositar em objetos irregulares⁴³. Com isso, foram obtidas imagens de aumentos de 3000x, 5000x e 10000x.

Análise Estatística

Para a comparação entre as concentrações foi utilizado o teste t para amostras independentes, considerando o teste de igualdade de variâncias (teste de Levene). Nas comparações entre os grupos de diferentes protocolos com a mesma concentração e entre todos os grupos foi realizado por meio do teste ANOVA *one-way* com post-hoc de Tukey. Foi utilizado o nível de significância estatística de 5% ($p < 0,05$). A análise dos dados e os gráficos foram realizados no software IBM SPSS Statistics for Windows (v. 26.0. Armonk, NY: IBM Corp).

RESULTADOS

Contagem de UFC/mL

A análise da eficácia antimicrobiana dos protocolos de desinfecção demonstrou que o maior controle microbiano ocorreu para associação da escovação com sabão neutro seguido de imersão em NaOCl 0,25%. Por outro lado, o grupo controle e os métodos de imersão isolados em NaOCl apresentaram as maiores médias de contagem de UFC/mL (Tabela 2). Os protocolos com associação de métodos e imersão *overnight* em água apresentaram resultados intermediários, com redução na casa de 1 log em relação ao controle. Houve igualdade entre a escovação isolada e a imersão em NaOCl 0,1% seguida de escovação.

Tabela 2. Comparação de todos os protocolos e concentrações de NaOCl

Grupos	n	Média	DP	Mínimo	Máximo	Teste F
C	15	█	0,31	5,48	6,59	
I0.1%	15	█	1,24	3,51	7,11	
I0.25%	15	█	0,41	4,66	5,88	
E	15	█	0,38	2,68	4,04	
E+I0.1%	15	█	0,38	2,68	4,04	F _{9,138} = 33,029
E+I0.25%	15	█	0,54	1,91	3,61	p<0,001
I0.1%+E	15	█	0,37	2,68	4,27	
I0.25%+E	15	█	0,36	3,48	4,66	
E+I0.1%+A	15	█	0,85	3,53	6,52	
E+I0.25%+A	15	█	0,95	3,30	6,93	

Legenda: teste Anova *one-way*. Post-hoc Tukey. Letras diferentes mostram diferenças significativas entre os grupos

C (controle), I,0,1% (imersão isolada em NaOCl 0,1%), I0,25% (imersão isolada em NaOCl 0,25%), E (escovação), E+I0,1% (escovação seguida por NaOCl), E+I0,25% (escovação seguida por NaOCl 0,25%), E+I0,1% + A (escovação seguida por NaOCl e imersão em água), E+I0,25%+A (escovação seguida por NaOCl 0,25% e imersão em água)

Ao considerar os protocolos associados ao NaOCl 0,1%, foi verificado que o grupo E, E+0,1% e IO,1%+E não tiveram diferenças significativas entre si, sendo os protocolos de maior efetividade antimicrobiana (Tabela 3). A associação de métodos seguida da imersão em água *overnight*, apresentaram resultados intermediários. O grupo controle obteve os piores achados, seguido imersão isolada.

Tabela 3. Comparação dos grupos de acordo com a concentração de NaOCl de 0,1%.

Grupos	Média	DP	Teste F
C	█	0,31	F _{5,83} = 35,176; p<0,001
E	█	0,38	
IO.1%	█	1,24	
E+IO.1%	█	0,38	
IO.1%+E	█	0,37	
E+IO.1%+A	█	0,85	

Legenda: teste Anova *one-way*. Post-hoc Tukey. Letras diferentes mostram diferenças significativas entre os grupos.

Ao considerar os protocolos associados ao NaOCl 0,25%, foi verificado que o protocolo com a escovação associada a imersão obteve maior eficácia antimicrobiana. A escovação isolada, seguida dos grupos IO,25%+E e E+IO,25+A, apresentaram valores intermediários entre E+IO,25% e o grupo controle (tabela 4).

Tabela 4. Comparação dos grupos de acordo com a concentração de NaOCl de 0,25%.

Grupos	Média	DP	Teste F
C	█	0,31	F _{5,82} = 69,350 p<0,001
E	█	0,38	
IO.25%	█	0,41	
E+IO.25%	█	0,54	
IO.25%+E	█	0,36	
E+IO.25%+A	█	0,95	

Legenda: teste Anova *one-way*. Post-hoc Tukey. Letras diferentes mostram diferenças significativas entre os grupos

Ao comparar os protocolos de mesma intervenção em concentrações distintas do NaOCl, houve diferença entre os grupos de escovação seguido de imersão ($p=0,002$) e daqueles com imersão seguida da escovação ($p=0,002$) (Tabela 5). Nos demais grupos não houve diferença estatística significativa entre as concentrações ($p>0,005$).

Tabela 5. Comparação dos protocolos de acordo com a concentração de NaOCl.

Grupos	Concentrações				Teste t	P-valor
	0.1%		0.25%			
	Média	DP	Média	DP		
I0.1% vs. I0.25%	■	1,24	■	0,41	-0,428	0,674
E+I0.1% vs. E+I0.25%	■	0,38	■	0,54	3,516	0,002
I0.1%+E vs. I0.25%+E	■	0,37	■	0,36	-3,496	0,002
E+I0.1%+A vs. E+I0.25%+A	■	0,85	■	0,95	0,658	0,517

Legenda: teste t para amostras independentes.

MEV

Na análise qualitativa baseada nas fotomicrografias advindas do MEV, foi verificado penetração de células fúngicas na superfície do polimetilmetacrilato, principalmente em regiões de porosidades. A morfologia da *C.albicans* foi no formato leveduriforme, sendo a forma mais comum quando semeada isoladamente^{17,47}.

O acúmulo de biofilme visualizado esteve em concordância com os resultados da contagem de UFC/mL. As imagens demonstraram menor acúmulo de biofilme no grupo E+I0,25%, em comparação com o grupo controle e aos demais protocolos. Por outro lado, os grupos com imersão isolada independente das concentrações do NaOCl demonstraram grande acúmulo de biofilme na superfície.

Os protocolos de associação de métodos seguidos de imersão *overnight* em água apresentaram presença de biofilme intermediária entre o grupo controle e o protocolo mais efetivo (E+I0,25%).

Figura 3 – Fotomicrografias do MEV em aumento de 10000x dos espécimes após a realização dos protocolos de desinfecção

DISCUSSÃO

Os resultados mostram que a hipótese nula do estudo foi rejeitada visto que houve diferenças de efetividade antimicrobiana entre os protocolos aplicados. A comparação entre todos os grupos demonstra que os protocolos isolados de imersão do NaOCl 0,1% e 0,25% tiveram as menores reduções de carga fúngica em relação ao grupo controle. Este resultado difere de estudos anteriores onde a efetividade antimicrobiana do hipoclorito de sódio foi mais elevada⁴⁸. Os protocolos de associação de métodos apresentaram resultados superiores, sendo o grupo E+I0,25%, a intervenção responsável pela maior redução da contagem de UFC/mL.

Em se tratando da concentração do NaOCl, a Associação Americana de Prótese recomenda a utilização a 0,5% como solução desinfetante durante um período de imersão de 10 minutos, associada a limpeza mecânica com escovas macias⁴. Por outro lado, estudos prévios demonstraram que a exposição ao NaOCl pode levar a descoloração dependendo da concentração e do tempo de imersão, além do aumento da rugosidade de superfície da resina acrílica^{29,46,47}. O NaOCl 1% aumentou a rugosidade de superfície do PMMA e promoveu alterações de cor intermediárias⁵¹. Portanto, o uso do hipoclorito de sódio em concentrações mais baixas (0,25 e 0,1%) é relevante em decorrência dos possíveis efeitos adversos da substância em concentrações mais elevadas⁵².

Arruda et al³² determinaram que um protocolo de combinação do método mecânico com a imersão em NaOCl a 0,1 e 0,2%, durante 20 minutos, promoveu redução do biofilme em relação ao *baseline* sem alterações de cor, rugosidade de superfície ou resistência a flexão. No caso das imersões em 0,5%, houve a presença de alteração de cor. No presente estudo, é possível perceber que a ótima atuação das soluções de NaOCl são como agentes auxiliares da escovação, visto que quando aplicados de forma isoladas tiveram o baixo desempenho antimicrobiano. Arbeláez et al⁵⁰ por meio de um ensaio de viabilidade celular (Alamar Blue assay) identificaram que os métodos de desinfecção química aplicadas a longo prazo eram capazes de diminuir a atividade metabólica de células fúngicas de *Candida* em biofilme multiespécie, apesar de não diminuir a densidade de colônias (CFU/mL). Seu modo de atuação se dá através da atuação direta na matriz orgânica do biofilme, causando a dissolução de estruturas poliméricas.

A associação de métodos mecânicos e químicos para a limpeza da prótese é recomendado por diversos estudos^{25,26,27,52,54,55,56}, mas ainda não há a comprovação da ordem adequada de realização das intervenções, se haveria alguma interferência na efetividade antimicrobiana. No presente estudo, a concentração de NaOCl e a ordem do método associado influenciaram a efetividade antimicrobiana dos protocolos de desinfecção (E+I e I+E). A concentração mais efetiva foi 0,25%. O protocolo E+I0,25% foi o que apresentou a maior redução da carga fúngica em comparação aos demais protocolos e ao grupo controle. Com isso, é possível inferir que é necessário um processo de desorganização prévia do biofilme, proporcionado pela escovação, para que a solução de imersão alcance suas porções mais profundas⁵⁴. As pontas das cerdas das escovas são capazes de desorganizar e desestabilizar as camadas mais superficiais do biofilme facilitando a exposição das irregularidades e poros da resina acrílica, além de colaborarem com uma força hidrodinâmica de cisalhamento do fluxo de fluídos durante a escovação resultando em reduções da carga fúngica^{57,58}. A escolha pelo uso de agentes como o sabão neutro facilita a penetração no biofilme através da propriedade tensoativa de seus componentes como o lauril sulfato de sódio²⁹. A efetividade antimicrobiana dos protocolos está atrelada com sua capacidade em conseguir alcançar microorganismos os quais conseguem aderir em porosidades de 0,2 μm ⁵².

Por outro lado, o NaOCl 0,1% quando utilizado associado a escovação prévia a imersão ou posteriormente, foi semelhante a escovação isolada. Nesses termos, a ordem das intervenções não influenciou a efetividade antimicrobiana dos protocolos. É possível inferir que a concentração de 0,1% possa ter perdido consideravelmente o potencial antimicrobiano inerente ao hipoclorito de sódio. Assim, por terem sido iguais a escovação isolada, a capacidade de diminuir a carga de *C.albicans* nos espécimes pode ter sido somente em virtude da desorganização do biofilme causado pela ação mecânica da escovação. Em contrapartida, um estudo prévio demonstrou que a concentração do NaOCl 0,1% reduziu a quantidade de UFC/mL e apresentou os melhores resultados para remissão da ERP, tendo o desempenho otimizado quando associado ao processo mecânico de limpeza. Essa diferença entre os estudos pode ter ocorrido devido a rugosidade de superfície dos espécimes utilizados, haja vista que a adesão inicial dos microorganismos a superfície de um substrato é a chave para sua patogenicidade⁴⁷.

Na presença de próteses removíveis, a *C.albicans* é capaz de se adaptar e aderir tanto a superfície epitelial do hospedeiro quanto a da base protética, assim, sua capacidade de colonização é favorecida na resina acrílica⁴⁷. O PMMA fornece através de sua interface rugosa um sítio propício para a colonização e principalmente para a maturação e desenvolvimento de biofilme⁵⁹. Com isso, é recomendado para os pacientes portadores de próteses removíveis, não

utiliza-las durante o período noturno, por conta da possibilidade de diminuição do efeito protetor da saliva, ação de limpeza da língua e boa oxigenação da mucosa^{12,60}. A realização de um protocolo com associação de métodos de desinfecção e imersão em água durante 8 horas (*overnight*) teve como objetivo simular como o paciente efetuará sua rotina de limpeza e como o biofilme na prótese iria se comportar durante o período de remoção da prótese.

O grupo E+I+A obteve reduções de 1,49log e 1,71 para as concentrações de imersão de 0,1% e 0,2%, respectivamente. É possível inferir que o período de imersão em água possa ter permitido a recolonização dos espécimes pelas células que se mantiveram viáveis após as desinfecções. O'donnell et al.¹⁸ (2017) demonstraram que mesmo após o tratamento das próteses, ainda há a presença de células fúngicas capazes de recolonizar o sítio. Estas células impregnadas em regiões de porosidades são mais difíceis de serem penetradas por conta dos efeitos protetivos do biofilme o qual ela está englobada (bomba de efluxo e glucanos extracelulares). Na literatura, reporta-se que a *C. albicans* pode continuar viável através da sua impregnação em irregularidades de até 621 micrômetros após um período de 21 dias. Essas células reconhecem os nutrientes presentes em seu substrato e através de um processo lento são capazes de se recuperar e emergir novamente⁶¹. Este achado concorda com os estudos feitos anteriormente^{17,62,63}, onde é recomendado que protocolos de higienização sejam feitos anteriormente ao armazenamento e que preferencialmente seja feito o armazenamento seco.

A inversão da ordem de métodos no protocolo com “*overnight*” em água não foi realizado, no presente estudo. Visto que, os resultados satisfatórios superiores do protocolo E+I em ambas as concentrações em relação ao protocolo I+E associado com o conhecimento pela literatura de que a imersão em água propicia um aumento da carga microbiana não justificou a adição de um grupo sobre I+E+A.

Entretanto, o armazenamento em água durante o período de remoção da prótese colabora para o controle da liberação residual das soluções de NaOCl⁴⁰. Reações alérgicas ao hipoclorito de sódio e sua ação irritante podem influenciar no nível de inflamação da mucosa do palato e rebordo alveolar²⁷. Em estudo laboratorial⁴⁰ simulando os protocolos de métodos de higienização da prótese associados, foi realizado o teste de citotoxicidade celular por MTT onde o grupo E+I+A obteve os resultados de maior biocompatibilidade em comparação a grupos de protocolos isolados e de associação sem imersão final em água, com viabilidade celular superior a 90%. Por fim, a limitação deste estudo *in vitro* foi o uso do biofilme monoespécie. Estudos futuros verificando as relações simbiótica da *C. albicans* com outros microorganismos colonizadores da superfície protética são necessários.

CONCLUSÃO

A aplicação de métodos mecânicos e químicos associados promovem maior redução da colonização de *C. albicans*. A ordem de intervenção mais efetiva foi iniciar com a escovação seguida por imersão em NaOCl, sendo o grupo E+I0,25% o de melhor desempenho. Os grupos de imersão isolada em solução de NaOCl 0,1% e 0,25% apresentaram a menor efetividade antimicrobiana em relação a todos os protocolos de higienização. Ao comparar protocolos iguais com concentrações distintas de NaOCl (0,1 e 0,25%), apenas os grupos de escovação seguido por imersão e imersão seguido por escovação foram diferentes. Não houve diferença significativa da contagem de UFC/mL entre os grupos de associação entre métodos mecânicos e químicos a 0,1% (E+I0,1% e I0,1%+E) e a escovação isolada. A média das contagens de UFC/mL dos protocolos com imersão posterior *overnight* em água foi moderada, sendo superior ao controle apenas e imersões isoladas.

REFERÊNCIAS

- [1] Cardoso M, Balducci I, Telles DD, Lourenço EJ, Nogueira Júnior L. Edentulism in Brazil: trends, projections and expectations until 2040. *Cienc Amp Saude Coletiva* . Abr 2016;21(4):1239-46
- [2] Zafar MS. Prosthodontic Applications of Polymethyl Methacrylate (PMMA): An Update. *Polymers*. 8 out 2020;12(10):2299.
- [3] Gad M, Fouda S. Current perspectives and the future of Candida albicans-associated denture stomatitis treatment. *Dent Med Probl* . 31 mar 2020 [citado 23 out 2023];57(1):95-102.
- [4] McReynolds DE, Moorthy A, Moneley JO, Jabra-Rizk MA, Sultan AS. Denture Stomatitis - An interdisciplinary clinical review. *J Prosthodont*. 29 mar 2023
- [5] Adam RZ, Kimmie-Dhansay F. Prevalence of Denture-Related Stomatitis in Edentulous Patients at a Tertiary Dental Teaching Hospital. *Front Oral Health* . 1 dez 2021; 2: 1-6.
- [6] Kulak-Ozkan Y, Kazazoglu E, Arikan A. Oral hygiene habits, denture cleanliness, presence of yeasts and stomatitis in elderly people. *J Oral Rehabil*. Mar 2002;29(3):300-4.
- [7] Clemente LM, Ribeiro AB, Fortes CV, Ribeiro AB, de Cássia Oliveira V, Macedo AP, Salgado HC, da Silva CH. Risk Factors and Immunological Biomarkers in Denture Stomatitis: An observational cross-sectional study. *Arch Oral Biol*. Set 2023;155:105799.

- [8] Figueiral Mh, Azul A, Pinto E, Fonseca Pa, Branco Fm, Scully C. Denture-related stomatitis: identification of aetiological and predisposing factors ? a large cohort. J Oral Rehabil. Jun 2007 ;34(6):448-55.
- [9] Perić M, Živković R, Milić Lemić A, Radunović M, Miličić B, Arsić Arsenijević V. The severity of denture stomatitis as related to risk factors and different Candida spp. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. Jul 2018;126(1):41-7.
- [10] Manikandan S, Vinesh E, Selvi D, Kannan R, Jayakumar A, Dinakaran J. Prevalence of Candida among denture wearers and nondenture wearers. J Pharm Bioallied Sci. 2022; 14(5):702.
- [11] Badaró MM, Bueno FL, Arnez RM, Oliveira VD, Macedo AP, de Souza RF, Paranhos HD, Silva-Lovato CH. The effects of three disinfection protocols on Candida spp., denture stomatitis, and biofilm: A parallel group randomized controlled trial. J Prosthet Dent. Dez 2020; 124(6):690-8.
- [12] Rodriguez-Archilla A, Garcia-Galan C. Etiological factors related to denture stomatitis: A meta-analysis. Dent Med Res. 2020;8(2):37.
- [13] Degirmenci BU. Evaluation of the effectiveness of current disinfection methods in complete denture patients. Quintessence Int. Dez 2021;53(1):36-46..
- [14] Lamfon H. DENTURE BIOFILM AND DENTURE ASSOCIATED STOMATITIS, A LITERATURE REVIEW. Egypt Dent J. 1 jan 2021;67(1):775-87.
- [15] Jovanović M, Obradović R, Pejčić A, Stanišić D, Stošić N, Popović Ž. THE ROLE OF CANDIDA ALBICANS ON THE DEVELOPMENT OF STOMATITIS IN PATIENTS WEARING DENTURES. SANAMED. 13 ago 2018;13(2):175..
- [16] de Sousa Porta SR, de Lucena-Ferreira SC, da Silva WJ, Del Bel Cury AA. Evaluation of sodium hypochlorite as a denture cleanser: a clinical study. Gerodontology . 12 dez 2013 [citado 23 out 2023];32(4):260-6.
- [17] Verhaeghe TV, Wyatt CC, Mostafa NZ. The effect of *overnight* storage conditions on complete denture colonization by Candida albicans and dimensional stability: A systematic review. J Prosthet Dent. Ago 2020;124(2):176-82
- [18] O'Donnell LE, Alalwan HK, Kean R, Calvert G, Nile CJ, Lappin DF, Robertson D, Williams C, Ramage G, Sherry L. Candida albicans biofilm heterogeneity does not influence denture stomatitis but strongly influences denture cleansing capacity. J Med Microbiol. 1 jan 2017;66(1):54-60
- [19] Coulthwaite L, Verran J. Potential pathogenic aspects of denture plaque. Br J Biomed Sci . Jan 2007 [citado 23 out 2023];64(4):180-9.
- [2] Zafar MS. Prosthodontic Applications of Polymethyl Methacrylate (PMMA): An Update. Polymers. 8 out 2020;12(10):2299.
- [20] Fujinami W, Nishikawa K, Ozawa S, Hasegawa Y, Takebe J. Correlation between the relative abundance of oral bacteria and Candida albicans in denture and dental plaques. J Oral Biosci. Jun 2021;63(2):175-83.

- [21] Hong C, Aung M, Kanagasabai K, Lim C, Liang S, Tan K. The association between oral health status and respiratory pathogen colonization with pneumonia risk in institutionalized adults. *International Journal of Dental Hygiene*. 2017 Nov 9;16(2):e96–102.
- [22] Ribeiro AS, Aline Cammarano Ribeiro, Guedes C, Caroline Vieira Fortes, Lorena Mosconi Clemente, Helena, et al. Effect of a Hygiene Protocol on Denture-Related Stomatitis Remission, Local Inflammatory Factors, and Hemodynamic Responses by Arterial Pressure. 2022 Sep 28;11(10):1320–0.
- [23] Turgut Cankaya Z, Yurdakos A, Gokalp Kalabay P. The association between denture care and oral hygiene habits, oral hygiene knowledge and periodontal status of geriatric patients wearing removable partial dentures. *European Oral Research*. 2020 May 20;9–15.
- [24] Ryniewicz J, Orczykowska M, Gronkiewicz K, Pihut M. Assessment of Oral Hygiene in Patients Using Fixed and Removable Dentures Treated at the University Dental Clinic in Krakow. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2021 Nov 15;18(22):11986.
- [25] Arruda CNF de, Salles MM, Badaró MM, de Cássia Oliveira V, Macedo AP, Silva-Lovato CH, et al. Effect of sodium hypochlorite and *Ricinus communis* solutions on control of denture biofilm: A randomized crossover clinical trial. *The Journal of Prosthetic Dentistry*. 2017 Jun;117(6):729–34.
- [26] Barnabe W, Mendonca Neto T, Pimenta FC, Pegoraro LF, Scolaro JM. Efficacy of sodium hypochlorite and coconut soap used as disinfecting agents in the reduction of denture stomatitis, *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. *Journal of Oral Rehabilitation*. 2004 May;31(5):453–9.
- [27] Silva, Francine Cristina da et al. Effectiveness of Six Different Disinfectants on Removing Five Microbial Species and Effects on the Topographic Characteristics of Acrylic Resin. *Journal Of Prosthodontics*, [S.L.], v. 17, n. 8, p. 627-633, dez. 2008
- [28] Miloš Čanković, Marija Bokor-Bratić, Јован Мариноски, Dunja Stojanović. Prevalence and possible predictors of the occurrence of denture stomatitis in patients older than 60 years. *Vojnosanitetski Pregled*. 2017 Jan 1;74(4):311–6.
- [29] Paranhos H de FO, Salles AES, Macedo LD de, Silva-Lovato CH da, Pagnano VO, Watanabe E. Complete denture biofilm after brushing with specific denture paste, neutral soap and artificial saliva. *Brazilian Dental Journal* . 2013 [cited 2023 Mar 30];24:47–52.
- [30] Duyck J, Vandamme K, Krausch-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. Bencharit S, editor. *PLOS ONE*. 2016 Jan 5;11(1):e0145837..
- [31] Dills SS, Olshan AM, Goldner S, Brogdon C. Comparison of the antimicrobial capability of an abrasive paste and chemical-soak denture cleaners. *The Journal of Prosthetic Dentistry*. 1988 Oct;60(4):467–70
- [32] Arruda CNF, Salles MM, Badaró MM, Sorgini DB, Oliveira VC, Macedo AP, et al. Evaluation of biofilm removal and adverse effects on acrylic resin by diluted concentrations of

- sodium hypochlorite and *Ricinus communis* solutions. *Gerodontology*. 2018 May 23;35(3):246–53.
- [33] Badaró MM, Bueno FL, Makrakis LR, Borba C, de V, AP Macedo, et al. Action of disinfectant solutions on adaptive capacity and virulence factors of the *Candida* spp. biofilms formed on acrylic resin. *Journal of Applied Oral Science*. 2021 Jan 1;29.
- [34] Karthikeyan S, A L, Ali Sa. Denture Disinfectants used in Prosthodontics: - a review. *International Journal Of Contemporary Medical Research*. 2018;5(3):19–22.
- [35] Badaró MM, Salles MM, Leite VMF, Arruda CNF de, Oliveira V de C, Nascimento C do, et al. Clinical trial for evaluation of *Ricinus communis* and sodium hypochlorite as denture cleanser. *Journal of Applied Oral Science*. 2017 Jun;25(3):324–34.
- [36] Bharti B, Li H, Ren Z, Zhu R, Zhu Z. Recent advances in sterilization and disinfection technology: A review. *Chemosphere*. 2022 Dec 1; 308(Pt 3):136404.
- [37] SHINTANI H. Ethylene Oxide Gas Sterilization of Medical Devices. *Biocontrol Science*. 2017;22(1):1–16.
- [38] ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR ISO 11135: Esterilização de produtos de atenção à saúde - Óxido de etileno - Requisitos para desenvolvimento, validação e controle de rotina de um processo de esterilização de produtos para saúde. Brasil. 2018; 1:90 p
- [39] Rocha MM, Carvalho AM, Coimbra FCT, Arruda CNF de, Oliveira V de C, Macedo AP, et al. Complete denture hygiene solutions: antibiofilm activity and effects on physical and mechanical properties of acrylic resin. *Journal of Applied Oral Science*. 2021 Sep 3;29
- [40] Soto AF. Citotoxicidade residual e alteração da composição molecular do polimetilmetacrilato após protocolos de higienização para próteses totais [Dissertation]. [Universidade Federal de Santa Catarina]; 2023. p. 1–52.
- [41] Leite VMF, Pinheiro JB, Pisani MX, Watanabe E, Souza RF de, Paranhos H de FO, et al. In Vitro Antimicrobial Activity of an Experimental Dentifrice Based on *Ricinus Communis*. *Brazilian Dental Journal*. 2014 Jul;25(3):191–6.
- [42] Seleem D, Benso B, Noguti J, Pardi V, Murata RM. In Vitro and In Vivo Antifungal Activity of Lichochalcone-A against *Candida albicans* Biofilms. *Plos One*. 2016;11(6)
- [43] SALLES MM, OLIVEIRA V de C, SOUZA RF, SILVA CHL, PARANHOS H de FO. Antimicrobial action of sodium hypochlorite and castor oil solutions for denture cleaning – in vitro evaluation. *Brazilian Oral Research*. 2015 Aug 21;29(1).
- [44] Castro LAS de . Processamento de Amostras para Microscopia Eletrônica de Varredura. 2002.
- [45] JoVE Science Education Database. Microbiology. Serial Dilutions and Plating: Microbial Enumeration. JoVE, Cambridge, MA, (2023).
- [46] Barros MC, Mazzon RR, Soto AF, et al. *Candida albicans* adhesion on 3D-printed and thermopolymerizable polymethyl methacrylate for removable prostheses. *Am J Dent*. 2023;36(3):130-135

- [47] Le Bars P, Kouadio AA, Bandiaky ON, Le Guéhenec L, de La Cochetière MF. Host's Immunity and Candida Species Associated with Denture Stomatitis: A Narrative Review. *Microorganisms*. 2022 Jul 16;10(7):1437.
- [48] Araujo C, Ribeiro AS, Caroline Vieira Fortes, Frank Lucarini Bueno, Bart De Wever, Barreto M, et al. Effect of local hygiene protocols on denture-related stomatitis, biofilm, microbial load, and odor: A randomized controlled trial. 2022 Oct 1;128(4):664–73.
- [49] Fernandes FHCN, Orsi IA, Villabona CA. Effects of the peracetic acid and sodium hypochlorite on the colour stability and surface roughness of the denture base acrylic resins polymerised by microwave and water bath methods. *Gerodontology*. 2012 Apr 9;30(1):18–25.
- [50] Paranhos H de FO, Peracini A, Pisani MX, Oliveira V de C, Souza RF de, Silva-Lovato CH. Color Stability, Surface Roughness and Flexural Strength of an Acrylic Resin Submitted to Simulated *Overnight* Immersion in Denture Cleansers. *Brazilian Dental Journal*. 2013 Apr;24(2):152–6.
- [51] Takhtdar M, Azizimoghadam N, Kalantari MH, Mohaghegh M. Effect of denture cleansers on color stability and surface roughness of denture bases fabricated from three different techniques: Conventional heat-polymerizing, CAD/CAM additive, and CAD/CAM subtractive manufacturing. *Clinical and Experimental Dental Research*. 2019;121(1):83–9
- [52] Mylonas P, Milward P, McAndrew R. Denture cleanliness and hygiene: an overview. *British Dental Journal* . 2022 Jul 8 [cited 2022 Aug 13];233(1):20–6.
- [53] Amaya Arbeláez MI, Vergani CE, Barbugli PA, Pavarina AC, Sanitá PV, Jorge JH. Long-Term Effect of Daily Chemical Disinfection on Surface Topography and Candida Albicans Biofilm Formation on Denture Base and Reline Acrylic Resins. *Oral Health & Preventive Dentistry*. 2020 Nov 20;18(1):999–1010.
- [54] Baba Y, Sato Y, Owada G, Minakuchi S. Effectiveness of a combination denture-cleaning method versus a mechanical method: comparison of denture cleanliness, patient satisfaction, and oral health-related quality of life. *Journal of Prosthodontic Research*. 2018 Jul;62(3):353–8.
- [55] Valentini-Mioso F, Maske TT, Cenci MS, Boscato N, Pereira-Cenci T. Chemical hygiene protocols for complete dentures: A crossover randomized clinical trial. *The Journal of Prosthetic Dentistry*. 2019 Jan 1;121(1):83–9.
- [56] Lee HE, Li CY, Chang HW, Yang YH, Wu JH. Effects of different denture cleaning methods to remove *Candida albicans* from acrylic resin denture based material. *Journal of Dental Sciences* . 2011 Dec;6(4):216–20
- [57] Pellizzaro D, Polyzois G, Machado AL, Giampaolo ET, Sanitá PV, Vergani CE. Effectiveness of mechanical brushing with different denture cleansing agents in reducing in vitro *Candida albicans* biofilm viability. *Brazilian Dental Journal*. 2012 Oct;23(5):547–54.
- [58] Sponchiado AP, Giacomel MCCL, Souza EM de , Rosa RT, Rosa EAR, Rached RN, Randomized clinical trial of complete denture cleaning methods in residents of care institutions.. *Brazilian Journal Of Oral Sciences*. 2021 Jun;20:1–12.

- [59] Cakan U, Kara O, Kara Hb. Effects of various denture cleansers on surface roughness of hard permanent relined resins. *Dental Materials Journal*. 2015;34(2):246–51
- [60] Ok SM, Ho D, Lynd T, Ahn YW, Ju HM, Jeong SH, et al. . *Journal of Clinical Medicine*. 2020 Dec 30;10(1):E97.
- [61] Latib YO, Owen CP, Patel M. Viability of *Candida albicans* in Denture Base Resin After Disinfection: A Preliminary Study. *The International Journal of Prosthodontics* . 2018 [cited 2022 Jan 30];31(5):436–9.
- [62] Peracini A, Machado I, Viviane Cristina Oliveira, Ana Paula Macedo, Cláudia Helena Silva-Lovato, Valéria Oliveira Pagnano, et al. Antimicrobial action and long-term effect of *overnight* denture cleansers. *PubMed*. 2017 Apr 1;30(2):101–8
- [63] Stafford GD, Arendorf T, Huggett R. The effect of *overnight* drying and water immersion on candidal colonization and properties of complete dentures. *Journal of Dentistry*. 1986 Apr;14(2):52–6.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de analisar de forma quantitativa e qualitativa a efetividade antimicrobiana do hipoclorito de sódio (NaOCl) em baixas concentrações (0,1% e 0,25%) associado com métodos mecânicos de desinfecções, alternando a ordem de intervenção e a imersão (*overnight*) em água. A partir dos resultados, foi possível reafirmar a eficácia dos métodos de associação de métodos mecânicos e químicos na redução da carga fúngica de *C. albicans* nos espécimes estudados. Sendo que, o protocolo de escovação seguida por imersão em NaOCl 0,25% obteve os melhores resultados de efetividade antimicrobiana em relação aos demais grupos de higienização.

A preconização pela remoção da prótese durante a noite tem como intuito diminuir o risco de ocorrência de lesões de ERP. Com isso, o cuidado com o armazenamento desta prótese é relevante. No presente estudo, em relação a efetividade antimicrobiana, o grupo de armazenamento em água não teve resultados tão satisfatórios quanto os que não foram armazenados. Porém, deve-se levar em consideração que o mesmo se trata de uma simulação pontual de desinfecção da prótese.

5 REFERÊNCIAS

ADAM, Razia Zulfikar; KIMMIE-DHANSAY, Faheema. Prevalence of Denture-Related Stomatitis in Edentulous Patients at a Tertiary Dental Teaching Hospital. **Frontiers In Oral Health**, Cidade do Cabo, v. 2, p. 1-6, 1 dez. 2021.

AL-RAFEE, Mohammed A. The epidemiology of edentulism and the associated factors: A literature Review. **Journal of family medicine and primary care**, v. 9, n. 4, p. 1841, 2020.

ALABOUDI, Ali K. et al. Reasons for teeth extraction in governmental hospitals in Madinah City, Saudi Arabia. **IOSR-JDMS**, v. 15, p. 1-5, 2016.

AN, Steve *et al.* Incorporation of antimicrobial agents in denture base resin: a systematic review. **The Journal Of Prosthetic Dentistry**, [S.L.], v. 126, n. 2, p. 188-195, ago. 2021.

ARAUJO, Camila B. *et al.* Effect of local hygiene protocols on denture-related stomatitis, biofilm, microbial load, and odor: a randomized controlled trial. **The Journal Of Prosthetic Dentistry**, [S.L.], v. 128, n. 4, p. 664-673, out. 2022.

ARBELÁEZ, Maria Isabel Amaya *et al.* Long-Term Effect of Daily Chemical Disinfection on Surface Topography and Candida Albicans Biofilm Formation on Denture Base and Reline Acrylic Resins. **Oral Health And Preventive Dentistry**, [S.L.], v. 18, n. 1, p. 999-1010, 12 fev. 2020.

ARRUDA, Carolina Noronha Ferraz de *et al.* Effect of sodium hypochlorite and Ricinus communis solutions on control of denture biofilm: a randomized crossover clinical trial. **The Journal Of Prosthetic Dentistry**, [S.L.], v. 117, n. 6, p. 729-734, jun. 2017.

ARRUDA, Carolina N. F. *et al.* Evaluation of biofilm removal and adverse effects on acrylic resin by diluted concentrations of sodium hypochlorite and Ricinus communis solutions. **Gerodontology**, [S.L.], v. 35, n. 3, p. 246-253, 23 maio 2018.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR ISO 11135**: Esterilização de produtos de atenção à saúde - Óxido de etileno - Requisitos para desenvolvimento, validação e controle de rotina de um processo de esterilização de produtos para saúde. 1 ed. Brasil, 2018. 90 p

BABA, Yuya *et al.* Effectiveness of a combination denture-cleaning method versus a mechanical method: comparison of denture cleanliness, patient satisfaction, and oral health-related quality of life. **Journal Of Prosthodontic Research**, [S.L.], v. 62, n. 3, p. 353-358, jul. 2018

BACALI, Cecilia et al. Oral Hygiene Habits of Complete Denture Wearers in Central Transylvania, Romania. **Oral Health Prev. Dent**, v. 19, p. 107-113, 2021.

BADARÓ, Mauricio Malheiros *et al.* Action of disinfectant solutions on adaptive capacity and virulence factors of the Candida spp. biofilms formed on acrylic resin. **Journal Of Applied Oral Science**, [S.L.], v. 29, p. 1-11, 2021.

BADARÓ, Maurício Malheiros *et al.* Clinical trial for evaluation of Ricinus communis and sodium hypochlorite as denture cleanser. **Journal Of Applied Oral Science**, [S.L.], v. 25, n. 3, p. 324-334, jun. 2017

BADARÓ, Maurício Malheiros *et al.* The effects of three disinfection protocols on Candida spp., denture stomatitis, and biofilm: a parallel group randomized controlled trial. **The Journal Of Prosthetic Dentistry**, [S.L.], v. 124, n. 6, p. 690-698, dez. 2020.

BADARÓ, Maurício Malheiros *et al.* In Vitro Analysis of Surface Roughness of Acrylic Resin Exposed to the Combined Hygiene Method of Brushing and Immersion in Ricinus communis and Sodium Hypochlorite. **Journal Of Prosthodontics**, [S.L.], v. 26, n. 6, p. 516-521, 2 fev. 2016.

BARNABE, W. *et al.* Efficacy of sodium hypochlorite and coconut soap used as disinfecting agents in the reduction of denture stomatitis, Streptococcus mutans and Candida albicans. **Journal Of Oral Rehabilitation**, [S.L.], v. 31, n. 5, p. 453-459, maio 2004

BARS, Pierre Le *et al.* Host's Immunity and Candida Species Associated with Denture Stomatitis: a narrative review. **Microorganisms**, [S.L.], v. 10, n. 7, p. 1437, 16 jul. 2022.

BHARTI, Bandna *et al.* Recent advances in sterilization and disinfection technology: a review. **Chemosphere**, [S.L.], v. 308, p. 1-24, dez. 2022

BLAIZE, Jonathan F.. **Serial Dilutions and Plating**: microbial enumeration. Microbial Enumeration. 2023. Disponível em: <https://www.jove.com/v/10507/serial-dilutions-and-plating-microbial-enumeration>.

CAKAN, Umut; KARA, Ozlem; KARA, Haluk Baris. Effects of various denture cleansers on surface roughness of hard permanent reline resins. **Dental Materials Journal**, [S.L.], v. 34, n. 2, p. 246-251, 2015.

CANKAYA, Zeynep Turgut; YURDAKOS, Aysegul; KALABAY, Pelin Gokalp. The association between denture care and oral hygiene habits, oral hygiene knowledge and periodontal status of geriatric patients wearing removable partial dentures. **European Oral Research**, [S.L.], p. 9-15, 20 maio 2020

CANKOVIC, Milos *et al.* Prevalence and possible predictors of the occurrence of denture stomatitis in patients older than 60 years. **Vojnosanitetski Pregled**, [S.L.], v. 74, n. 4, p. 311-316, 2017

CARDOSO, Mayra *et al.* Edentulism in Brazil: trends, projections and expectations until 2040. **Ciência & Saúde Coletiva**, [S.L.], v. 21, n. 4, p. 1239-1246, abr. 2016

CASTRO, Luis Antônio Suita de. **Processamento de Amostras para Microscopia Eletrônica de Varredura**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2002. 37 p.

CHRYSANTHAKOPOULOS, Nikolaos A. Istraživanje o razlozima ekstrakcije zuba kod odrasle populacije u Grčkoj A Survey of the Reasons for Dental Extraction in Adult Population in Greece. **Acta Stomatol Croat**, v. 45, n. 2, p. 110-119, 2011.

CLEMENTE, Lorena Mosconi *et al.* Risk factors and immunological biomarkers in denture stomatitis: an observational cross-sectional study. **Archives Of Oral Biology**, [S.L.], v. 155, p. 105799, nov. 2023.

COMPAGNONI, Marco Antonio et al. Relationship between Candida and nocturnal denture wear: quantitative study. **Journal of Oral Rehabilitation**, v. 34, n. 8, p. 600-605, 2007.

COULTHWAITE, L.; VERRAN, J.. Potential pathogenic aspects of denture plaque. **British Journal Of Biomedical Science**, [S.L.], v. 64, n. 4, p. 180-189, jan. 2007.

DEGIRMENCI, Beyza Unalan *et al.* Evaluation of the effectiveness of current disinfection methods in complete denture patients. **Quintessence International**, [S.L.], v. 53, n. 1, p. 36-46, 1 dez. 2021.

DILLS, S.s. *et al.* Comparison of the antimicrobial capability of an abrasive paste and chemical-soak denture cleaners. **The Journal Of Prosthetic Dentistry**, [S.L.], v. 60, n. 4, p. 467-470, out. 1988.

DUYCK, Joke *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**, [S.L.], v. 11, n. 1, p. 1-16, 5 jan. 2016.

FERNANDES, Flavio H. C. N. *et al.* Effects of the peracetic acid and sodium hypochlorite on the colour stability and surface roughness of the denture base acrylic resins polymerised by microwave and water bath methods. **Gerodontology**, [S.L.], v. 30, n. 1, p. 18-25, 9 abr. 2012.

FERREIRA, Raquel Conceição et al. Income-and education-based inequalities of edentulism and dental services utilization in Brazil. **Community Dentistry and Oral Epidemiology**, 2022.

FIGUEIRAL, M. H. *et al.* Denture-related stomatitis: identification of aetiological and predisposing factors ∴ a large cohort. **Journal Of Oral Rehabilitation**, [S.L.], v. 34, n. 6, p. 448-455, 21 maio 2007.

Francis Almeida. **PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS PARA MEV**. Porto Alegre: Cmm/Ufrgs, 2019. 3 p.

FUJINAMI, Wakako *et al.* Correlation between the relative abundance of oral bacteria and Candida albicans in denture and dental plaques. **Journal Of Oral Biosciences**, [S.L.], v. 63, n. 2, p. 175-183, jun. 2021

GAD, Mohammed; FOUDA, Shaimaa. Current perspectives and the future of Candida albicans-associated denture stomatitis treatment. **Dental And Medical Problems**, [S.L.], v. 57, n. 1, p. 95-102, 31 mar. 2020.

HONG, Chl *et al.* The association between oral health status and respiratory pathogen colonization with pneumonia risk in institutionalized adults. **International Journal Of Dental Hygiene**, [S.L.], v. 16, n. 2, p. 96-102, 9 nov. 2017.

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.

JOVANOVIĆ, Milica *et al.* The role of candida albicans on the development of stomatitis in patients wearing dentures. **Sanamed**, [S.L.], v. 13, n. 2, p. 175-181, 2018.

KARTHIKEYAN, Suma; Leoney, A; ALI, Seyed. Denture Disinfectants used in Prosthodontics: - a review. **International Journal Of Contemporary Medical Research**, [s. l.], v. 5, n. 3, p. 19-22, 2018.

- KULAK-OZKAN, Y.; KAZAZOGLU, E.; ARIKAN, A.. Oral hygiene habits, denture cleanliness, presence of yeasts and stomatitis in elderly people. **Journal Of Oral Rehabilitation**, [S.L.], v. 29, n. 3, p. 300-304, mar. 2002
- LAMFON, Hanadi. DENTURE BIOFILM AND DENTURE ASSOCIATED STOMATITIS, A LITERATURE REVIEW. **Egyptian Dental Journal**, [S.L.], v. 67, n. 1, p. 775-787, 1 jan. 2021
- LATIB, Yasmin; OWEN, C; PATEL, Mrudula. Viability of *Candida albicans* in Denture Base Resin After Disinfection: a preliminary study. **The International Journal Of Prosthodontics**, [S.L.], v. 31, n. 5, p. 436-439, set. 2018.
- LEE, Huey-Er *et al.* Effects of different denture cleaning methods to remove *Candida albicans* from acrylic resin denture based material. **Journal Of Dental Sciences**, [S.L.], v. 6, n. 4, p. 216-220, dez. 2011
- LEITE, Vanessa Maria Fagundes *et al.* In Vitro Antimicrobial Activity of an Experimental Dentifrice Based on *Ricinus Communis*. **Brazilian Dental Journal**, [S.L.], v. 25, n. 3, p. 191-196, jul. 2014.
- MANIKANDAN, Saranya *et al.* Prevalence of *Candida* among denture wearers and nondenture wearers. **Journal Of Pharmacy And Bioallied Sciences**, [S.L.], v. 14, n. 5, p. 702, 2022. Medknow
- MCREYNOLDS, David E. *et al.* Denture stomatitis—An interdisciplinary clinical review. **Journal Of Prosthodontics**, [S.L.], v. 32, n. 7, p. 560-570, 18 abr. 2023
- MYLONAS, P.; ATTRILL, D. C.; WALMSLEY, A. D.. Evaluating denture cleanliness of patients in a regional dental hospital. **British Dental Journal**, [S.L.], v. 221, n. 3, p. 127-130, ago. 2016
- MYLONAS, Petros; MILWARD, Paul; MCANDREW, Robert. Denture cleanliness and hygiene: an overview. **British Dental Journal**, [S.L.], v. 233, n. 1, p. 20-26, 8 jul. 2022.
- O'DONNELL, Lindsay E. *et al.* *Candida albicans* biofilm heterogeneity does not influence denture stomatitis but strongly influences denture cleansing capacity. **Journal Of Medical Microbiology**, [S.L.], v. 66, n. 1, p. 54-60, 1 jan. 2017.
- OK, Soo-Min *et al.* *Candida* Infection Associated with Salivary Gland—A Narrative Review. **Journal Of Clinical Medicine**, [S.L.], v. 10, n. 1, p. 97, 30 dez. 2020.
- ORSI, Iara Augusta *et al.* Glutaraldehyde release from heat-polymerized acrylic resins after disinfection and chemical and mechanical polishing. **Brazilian Dental Journal**, [S.L.], v. 22, n. 6, p. 490-496, 2011.
- PARANHOS, Helena de Freitas Oliveira *et al.* Color Stability, Surface Roughness and Flexural Strength of an Acrylic Resin Submitted to Simulated *Overnight* Immersion in Denture Cleansers. **Brazilian Dental Journal**, [S.L.], v. 24, n. 2, p. 152-156, abr. 2013.
- PARANHOS, Helena de Freitas Oliveira *et al.* Complete denture biofilm after brushing with specific denture paste, neutral soap and artificial saliva. **Brazilian Dental Journal**, [S.L.], v. 24, n. 1, p. 47-52, 2013
- PELLIZZARO, Delise *et al.* Effectiveness of mechanical brushing with different denture cleansing agents in reducing in vitro *Candida albicans* biofilm viability. **Brazilian Dental Journal**, [S.L.], v. 23, n. 5, p. 547-554, out. 2012

- PERACINI, Amanda *et al.* Antimicrobial action and long-term effect of *overnight* denture cleansers. **American Journal Of Dentistry**, [S.L.], v. 2, n. 30, p. 101-108, abr. 2017.
- PERIĆ, Mirjana *et al.* The severity of denture stomatitis as related to risk factors and different *Candida* spp. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology And Oral Radiology**, [S.L.], v. 126, n. 1, p. 41-47, jul. 2018.
- RAMAGE, Gordon *et al.* Denture stomatitis: a role for candida biofilms. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, And Endodontology**, [S.L.], v. 98, n. 1, p. 53-59, jul. 2004
- RIBEIRO, Adriana Barbosa *et al.* Effect of a Hygiene Protocol on Denture-Related Stomatitis Remission, Local Inflammatory Factors, and Hemodynamic Responses by Arterial Pressure. **Antibiotics**, [S.L.], v. 11, n. 10, p. 1320, 28 set. 2022.
- ROCHA, Millena Mangueira *et al.* Complete denture hygiene solutions: antibiofilm activity and effects on physical and mechanical properties of acrylic resin. **Journal Of Applied Oral Science**, [S.L.], v. 29, p. 1-11, 2021.
- RODRIGUEZ-ARCHILLA, Alberto; GARCIA-GALAN, Carolina. Etiological factors related to denture stomatitis: a meta-analysis. **Dentistry And Medical Research**, [S.L.], v. 8, n. 2, p. 37, 2020.
- RYNIEWICZ, Joanna *et al.* Assessment of Oral Hygiene in Patients Using Fixed and Removable Dentures Treated at the University Dental Clinic in Krakow. **International Journal Of Environmental Research And Public Health**, [S.L.], v. 18, n. 22, p. 11986, 15 nov. 2021.
- SALLES, Marcela Moreira *et al.* Antimicrobial action of sodium hypochlorite and castor oil solutions for denture cleaning – in vitro evaluation. **Brazilian Oral Research**, [S.L.], v. 29, n. 1, p. 1-6, 21 ago. 2015.
- SAXENA, Sudhanshu *et al.* Denture Hygiene Knowledge and Practices among Complete Denture Wearers attending a Postgraduate Dental Institute. **The Journal Of Contemporary Dental Practice**, [S.L.], v. 18, n. 8, p. 714-721, 2017.
- SILVA, Francine Cristina da *et al.* Effectiveness of Six Different Disinfectants on Removing Five Microbial Species and Effects on the Topographic Characteristics of Acrylic Resin. **Journal Of Prosthodontics**, [S.L.], v. 17, n. 8, p. 627-633, dez. 2008
- SELEEM, Dalia *et al.* In Vitro and In Vivo Antifungal Activity of Lichochalcone-A against *Candida albicans* Biofilms. **Plos One**, [S.L.], v. 11, n. 6, p. 157-188, 10 jun. 2016.
- SHARMA, Prabal; GARG, Sandeep; KALRA, Nidhi Mangtani. Effect of denture cleansers on surface roughness and flexural strength of heat cure denture base resin-an in vitro study. **Journal of clinical and diagnostic research: JCDR**, v. 11, n. 8, p. ZC94, 2017.
- SHINTANI, Hideharu. Ethylene Oxide Gas Sterilization of Medical Devices. **Biocontrol Science**, [S.L.], v. 22, n. 1, p. 1-16, 2017.
- SOUZA, Gêssica Dandara Medeiros de. **FATORES SOCIOECONÔMICOS E DE ASSISTÊNCIA À SAÚDE ASSOCIADOS AO EDENTULISMO NO BRASIL**. 2023. 48 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2023

SOTO, Artur Ferronato. **CITOTOXICIDADE RESIDUAL E ALTERAÇÃO DA COMPOSIÇÃO MOLECULAR DO POLIMETILMETACRILATO APÓS PROTOCOLOS DE HIGIENIZAÇÃO PARA PRÓTESES TOTAIS**. 2023. 52 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Odontologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2023.

SPONCHIADO, Ana Paula *et al.* Randomized clinical trial of complete denture cleaning methods in residents of care institutions. **Brazilian Journal Of Oral Sciences**, [S.L.], v. 20, p. 1-12, 17 jun. 2021.

STAFFORD, G.D.; ARENDORF, T.; HUGGETT, R.. The effect of *overnight* drying and water immersion on candidal colonization and properties of complete dentures. **Journal Of Dentistry**, [S.L.], v. 14, n. 2, p. 52-56, abr. 1986

TAKHTDAR, Mehrab *et al.* Effect of denture cleansers on color stability and surface roughness of denture bases fabricated from three different techniques: conventional heat :polymerizing, cad/cam additive, and cad/cam subtractive manufacturing. **Clinical And Experimental Dental Research**, [S.L.], v. 9, n. 5, p. 840-850, 12 jul. 2023

TSITAISHVILI, Lela; MARGVELASHVILI, Vladimer; KALANDADZE, Manana. Evaluation of edentulism, influence of socio-economic, behavioural factors and general health on prosthetic status of adult population of Georgia. In: **3rd EURASIAN MULTIDISCIPLINARY FORUM, EMF 2015 19-21 October, Tbilisi, Georgia**. 2015. p. 233.

VALENTINI-MIOSO, Fernanda *et al.* Chemical hygiene protocols for complete dentures: a crossover randomized clinical trial. **The Journal Of Prosthetic Dentistry**, [S.L.], v. 121, n. 1, p. 83-89, jan. 2019.

VERHAEGHE, Tyler V.; WYATT, Chris C.; MOSTAFA, Nesrine Z.. The effect of *overnight* storage conditions on complete denture colonization by *Candida albicans* and dimensional stability: a systematic review. **The Journal Of Prosthetic Dentistry**, [S.L.], v. 124, n. 2, p. 176-182, ago. 2020.

ZAFAR, Muhammad Sohail. Prosthodontic Applications of Polymethyl Methacrylate (PMMA): an update. **Polymers**, [S.L.], v. 12, n. 10, p. 2299, 8 out. 2020

ANEXO A – ATA DA DEFESA



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE ODONTOLOGIA
DISCIPLINA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE ODONTOLOGIA

ATA DE APRESENTAÇÃO DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Aos 30 dias do mês de outubro de 2023, às 8:20 horas, em sessão pública no (a) sala de aula H202 desta Universidade, na presença da Banca Examinadora presidida pelo Professor Maurício Malheiros Badaró

e pelos examinadores:

1 – Thais Mageste Duque,

2 – Ana Paula Varela Brown Martins,

a aluna Ana Beatriz Sato Kamio

apresentou o Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação intitulado: “Efetividade antimicrobiana dos protocolos de desinfecção para próteses totais quanto ao método, concentração das soluções e imersão posterior “overnight” em água

como requisito curricular indispensável à aprovação na Disciplina de Defesa do TCC e a integralização do Curso de Graduação em Odontologia. A Banca Examinadora, após

reunião em sessão reservada, deliberou e decidiu pela APROVAÇÃO do

referido Trabalho de Conclusão do Curso, divulgando o resultado formalmente ao aluno e aos demais presentes, e eu, na qualidade de presidente da Banca, lavrei a presente ata que será assinada por mim, pelos demais componentes da Banca

Examinadora e pelo aluno orientando.

Maurício Malheiros Badaró

Presidente da Banca Examinadora

Ana Paula Varela Brown Martins

Examinador 1

Thais Mageste Duque

Examinador 2

Ana Beatriz Sato Kamio

Aluno



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA**

SOLICITAÇÃO DE EMBARGO

Conforme o artigo 7º da Resolução Normativa n. 126/2019/CUn, de 28 de maio de 2019, solicito embargo do seguinte Trabalho de Conclusão de Curso (TCC), sob a justificativa de previsão de publicação em periódico científico:

Título do TCC: Efetividade antimicrobiana de protocolos de desinfecção para próteses totais quanto a ordem do método, concentração da solução e imersão posterior *overnight* em água

Aluna(o): Ana Beatriz Sato Kamio

Orientador(a): Prof. Maurício Malheiros Badaró

O referido TCC foi submetido ao curso de Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina, no semestre 2023.2, como pré-requisito para obtenção do título de Cirurgiã-Dentista em Odontologia, e foi aprovado pelos avaliadores.

Florianópolis, 30 de outubro de 2023



Documento assinado digitalmente
Maurício Malheiros Badaró
Data: 14/11/2023 11:08:24-0300
CPF: **.640.692-**
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof. Dr. Maurício Malheiros Badaró

ANEXO B – NORMAS DA REVISTA UFES

06/11/2023, 13:06

Submissões | Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde/Brazilian Journal of Health Research

Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde/Brazilian Journal of Health Research

[Início](#) / [Submissões](#)

Submissões

O cadastro no sistema e posterior acesso, por meio de login e senha, são obrigatórios para a submissão de trabalhos, bem como para acompanhar o processo editorial em curso. [Acesso](#) em uma conta existente ou [Registrar](#) uma nova conta.

Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

✓	Declaração de Conflito de Interesse
✓	Parecer consubstanciado de Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa
✓	Declaração de Responsabilidade e Transferência de Direitos Autorais
✓	Manuscrito redigido seguindo template da revista

Diretrizes para Autores

MENU

No menu "Sobre a Revista" <https://periodicos.ufes.br/rbps/about> está disponível nosso foco, escopo e periodicidade; Política de Acesso livre; Responsabilidades do autor; Aspectos éticos e Política contra plágio e más condutas e pesquisa; Documentação de conflito de interesse e de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa; Registros de ensaios clínicos e direitos autorais (Declaração de Responsabilidade e Transferência de Direitos Autorais).

As Diretrizes estão dispostas abaixo. Acesse o [template](#) para submeter o seu manuscrito na RBPS. Siga-o rigorosamente. Insira também as demais declarações e folhas de rosto.

SUBMISSÃO

A submissão de trabalhos na rbps é online pelo sistema Open Journal System (OJS) (<https://periodicos.ufes.br/rbps/about/submissions>). O autor correspondente deve fornecer um ID ORCID (*Open Researcher and Contributor ID*, <http://orcid.org/>) no momento da submissão inserindo-o no perfil do usuário no sistema de submissão. Recomendamos que seja feito o mesmo para os coautores.

Na submissão, os autores devem realizar *upload* de todos os documentos constantes nas seções "conflitos de interesse" e "direitos autorais". Além disso, deve fazer *upload* do manuscrito a ser avaliado (seguir *templates* indicados).

FLUXO EDITORIAL

Na seleção de manuscritos para publicação, são avaliados: originalidade, relevância e metodologia, além da adequação às normas editoriais adotadas pelo periódico (disponível em "Diretrizes para Autores").

Ao ser submetido à avaliação, o manuscrito é avaliado inicialmente pela Secretária, observando se está em concordância com as normas de publicação da RBPS, principalmente à juntada documental exigida. Em seguida, o manuscrito é designado aos editores científicos para iniciar o processo de avaliação duplo-cega e por pares.

Os manuscritos só iniciarão o processo de tramitação se estiverem de acordo com as "Diretrizes para Autores". Caso contrário, serão devolvidos para adequação às normas e inclusão de documentos eventualmente necessários.

Os editores científicos recebem os manuscritos designados pelo editor-chefe, avaliam se há concordância com o foco e escopo científico de publicação da RBPS e inicia, tarefa de revisão técnico-científica por meio de indicação de pareceristas/revisores ad hoc científicos que recebem os manuscritos. Esta etapa editorial ocorre com distribuição aos pareceristas/revisores ad hoc descentralizada, sendo que um revisor é vinculado a instituições localizadas no Estado do Espírito Santo ou em outros Estados, e o outro revisor externo, de instituições localizadas fora do Espírito Santo ou fora do Brasil.

06/11/2023, 13:06

Submissões | Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde/Brazilian Journal of Health Research

Os editores científicos recebem as avaliações dos pareceristas/revisores ad hoc, elaboram parecer consubstanciado dos manuscritos científicos e remetem ao editor-científico, num prazo médio de 30 dias úteis.

O processo de avaliação por pares e de forma cega (sistema de peer e *blind review*) é procedimento sigiloso quanto à identidade de tanto dos autores quanto dos pareceristas/revisores ad hoc, por isso os autores deverão empregar todos os meios possíveis para evitar a identificação de autoria do manuscrito e os revisores/pareceristas ad hoc certificarão que não há qualquer conflito de interesse nas análises técnico-científicas.

Os pareceres dos pareceristas/revisores ad hoc englobam três possibilidades: a) Submissão aceita; b) Submissão aceita com restrições; c) Submissão rejeitada. O parecer final será emitido pelo editor científico que definirá os próximos passos do fluxo editorial do manuscrito. Os autores acompanham esse fluxo pelo sistema Open Journal System (OJS) que utilizou para submeter o manuscrito.

Os manuscritos, quando aceitos, estarão sujeitos a pequenas correções ou modificações que não alterem o estilo do autor. Essas eventuais modificações só ocorrerão após prévia consulta ao autor.

No caso de aceite com restrições, o editor científico devolverá o manuscrito aos autores para que façam as devidas alterações indicadas pelos pareceristas/revisores *ad hoc* e reapresentem para nova avaliação.

Quando recusado, o editor científico devolverá o manuscrito aos autores com a justificativa.

DIRETRIZES PARA AUTORES

1. CONTEÚDO DAS SEÇÕES

Os manuscritos enviados à RBPS devem ser redigidos no idioma português ou inglês e devem se enquadrar em uma das seções da revista, descritas a seguir:

1 - **Editorial:** comentário crítico e aprofundado, preparado pelos editores da Revista e/ou por pessoa convidada com notória vivência sobre o assunto abordado. Deve conter a estrutura de um texto dissertativo, com Introdução, Desenvolvimento, Conclusão e Referências.

2 - **Artigos originais** (perfazem mais de 80% da edição): apresentam resultados inéditos de pesquisa científica, clínica ou experimental, entre outros. Devem conter em sua estrutura: Introdução, Objetivo, Métodos, Resultados, Discussão, Conclusão e Referências.

3 - **Relatos de casos:** apresentação da experiência profissional, baseada em estudos de casos peculiares e/ou em novas técnicas, com comentários sucintos de interesse para a atuação de outros profissionais da área. Devem conter em sua estrutura: Introdução, Relato(s) do(s) Caso(s), Discussão e Referências. Para relatos de técnicas: Introdução, Apresentação da Técnica, Conclusão e Referências.

4 - **Artigos de revisão:** avaliação crítica sistematizada sobre determinado assunto, devendo ter conclusões. Devem ser descritos os procedimentos adotados – metodologia de busca, critérios de inclusão e exclusão, resultados e discussão – esclarecendo a delimitação do tema. Devem conter em sua estrutura: Introdução, Objetivo, Métodos, Resultados, Discussão, Conclusão e Referências.

5 - **Relatos de Experiência:** Redação técnico-científica com objetivo de descrever experiência vivenciada e contribuir com a construção do conhecimento na área de forma sistematizada e estruturada com finalidade de trazer reflexões sobre determinada realidade e/ou experiência. Deve conter: Introdução (contextualização, relato da experiência, marco teórico), resultados, discussão e conclusões.

2. MANUSCRITOS EM LÍNGUA ESTRANGEIRA

A Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde aceita submissão de manuscritos na íntegra em língua estrangeira desde que os autores apresentem junto ao trabalho submetido o certificado de revisão de inglês ou espanhol.

Os pesquisadores deverão assumir os custos da revisão em língua estrangeira. Caso um dos coautores seja estrangeiro nativo da língua inglesa e/ou espanhola, este deverá revisar o inglês e o espanhol do trabalho. O autor principal (correspondente) deverá enviar atesto para revista confirmando que essa revisão foi feita por um dos autores nativos da língua inglesa ou espanhola.

Para manuscritos em língua portuguesa, é obrigatório seção de *abstract*, porém não é necessário submeter atesto de revisão da língua (essa etapa é realizada no fluxo de editoração da RBPS sem custos aos autores).

3. APRESENTAÇÃO DO MANUSCRITO

Os manuscritos deverão ser digitados em *Word for Windows* e enviados exclusivamente pelo Sistema *On-line* de Submissão de Manuscritos (<http://periodicos.ufes.br/rbps>), acompanhados dos documentos digitalizados: a) Declaração de Conflito de Interesse; b) Parecer consubstanciado de Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa; c) Declaração de Responsabilidade e Transferência de Direitos Autorais.

As páginas do manuscrito devem estar numeradas e configuradas para papel A4, com margens superior, inferior, esquerda e direita de 3 cm, fonte Arial tamanho 12 e espaço 1,5, com alinhamento do texto justificado e parágrafos com tabulação com recuo de primeira linha em 1,25. O número de páginas

06/11/2023, 13:06

Submissões | Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde/Brazilian Journal of Health Research

está limitado a 25 e deve obedecer à configuração acima, incluindo Página de Rosto, Resumo, *Abstract*, Introdução, Métodos, Resultados, Discussão, Conclusão, Referências, além de ilustrações (figuras, tabelas, quadros, gráficos, fotos etc.).

A) Página de rosto

Deverá ser enviada uma página de rosto contendo somente os seguintes itens: título do manuscrito em português e inglês e nome completo dos autores, informação sobre a afiliação dos autores (principal instituição de origem, cidade, estado e país), nome e endereço completo para correspondência, local em que o estudo foi realizado. Indicação do responsável pela troca de correspondência, fornecendo endereço completo (CEP, endereço e e-mail) para contato.

Devem ser incluídas na folha de rosto as fontes de financiamento para realização da pesquisa, tais como: bolsas de estudos e auxílios financeiros.

IMPORTANTE: A Página de Rosto deve ser incluída como documento suplementar. Os dados contidos na página de rosto não devem ser incluídos no corpo do manuscrito para garantia do sistema de fluxo editorial *blind review*.

B) Resumo e *Abstract*

Os resumos devem possibilitar ao leitor avaliar o interesse do manuscrito e compor uma série coerente de frases, e não a simples enumeração de títulos, fornecendo, portanto, uma visão clara e concisa do conteúdo do manuscrito, suas conclusões significativas e a contribuição para a saúde coletiva. Deve conter, no máximo, 250 palavras e ser apresentado em português e inglês, incluindo palavras de estrutura (Introdução, Objetivos, Métodos, Resultados, Conclusão) e palavras-chave.

C) Palavras-chave e *Keywords*

São palavras ou expressões que identificam o conteúdo do manuscrito, fornecidas pelo próprio autor. Deverão ser seguidos os cabeçalhos de assuntos dos Descritores em Ciências da Saúde (DeCS), em português e inglês, indicados pela Biblioteca Virtual em Saúde (<http://decs.bvs.br>).

D) Estrutura do texto

A estrutura do texto deverá estar de acordo com a natureza do manuscrito: Editorial, Artigos Originais, Artigos de Revisão, Relato de Casos e de Experiência.

E) Ilustrações

As ilustrações e tabelas do manuscrito submetido à apreciação estão limitadas ao número máximo de cinco. No entanto, no caso de aceite do manuscrito, serão solicitados aos autores os arquivos originais em que as ilustrações e tabelas foram construídas a fim de permitir a formatação gráfica.

De acordo com a ABNT, NBR 14724, de 17 de março de 2011, "Qualquer que seja o tipo de ilustração [ou tabela], sua identificação aparece na parte superior, precedida da palavra designativa (desenho, esquema, fluxograma, fotografia, gráfico, mapa, organograma, planta, quadro, retrato, figura, imagem, entre outros), seguida de seu número de ordem de ocorrência no texto, em algarismos arábicos, travessão e do respectivo título".

Os desenhos enviados poderão ser melhorados ou redesenhados pela produção da Revista, a critério do Corpo Editorial. Imagens digitais poderão ser aceitas desde que sua captação primária tenha ocorrido, pelo menos, em tamanho (10cm x 15cm) e com resolução adequada (300 dpi). Desenhos e esquemas deverão ser limitados ao mínimo, feitos, preferencialmente, em *Corel Draw*, devendo ser fornecidos em formato digital junto com o arquivo do manuscrito e apresentados em folhas separadas. Se houver figuras extraídas de outros trabalhos previamente publicados, os autores devem providenciar permissão, por escrito, para a reprodução. Essa autorização deve acompanhar o manuscrito submetido à apreciação para publicação. Todas as ilustrações e tabelas, sem exceção, devem ser citadas no corpo do texto e ser apresentadas em páginas separadas.

F) Agradecimentos

É opcional aos autores. Devem ser breves, diretos e dirigidos apenas a pessoas ou instituições que contribuíram substancialmente para a elaboração do manuscrito. Deverão estar dispostos no manuscrito antes das referências. Não devem ser feitos agradecimentos de cunho pessoal ou familiar.

G) Referências

As referências estão limitadas a um número máximo de 30 (exceto para revisões sistemáticas) e devem ser apresentadas na ordem em que aparecem no texto, numeradas e normalizadas de acordo com o Estilo *Vancouver*. Os exemplos devem estar conforme os Requisitos Uniformes para Manuscritos Apresentados a Periódicos Biomédicos ([National Library of Medicine](http://www.nlm.nih.gov/pubs/foia/medline.html)).

A exatidão das referências é de responsabilidade dos autores. Referências a documentos não indexados na literatura científica mundial, em geral de divulgação circunscrita a uma instituição ou a um evento (teses, relatórios de pesquisa, comunicações em eventos, dentre outros) e informações extraídas de documentos eletrônicos, não mantidas permanentemente em sites, se relevantes, devem figurar no rodapé das páginas do texto onde foram citadas.

H) Citação das referências no texto

Seguir o sistema numérico de citação, no qual somente os números índices das referências, na forma sobrescrita, são indicados no texto. Não devem ser citados os nomes dos autores e o ano de publicação. Somente é permitida a citação de nome de autores (seguido de número índice e ano de publicação

06/11/2023, 13:06

Submissões | Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde/Brazilian Journal of Health Research

do manuscrito) se estritamente necessário. Exemplos de citação de referências no texto:

- Números aleatórios

“O processamento é negligenciado pela maioria dos profissionais, chegando alguns autores a afirmar que cerca de 90% das falhas em radiografias acontecem na câmara escura”^{2,8,10}.

- Números sequenciais

“Desde que observações clínicas comprovaram que lesões de mancha branca são reversíveis, a remineralização passou a ser um importante mecanismo na prevenção e redução clínica das cáries em esmalte”¹⁻⁴.

- Citação de nome de autor

“Cassatly et al.² reportam um caso de osteomielite em uma paciente submetida à apicectomia com laser de Nd: YAG, que levou à necrose de parte da maxila, pela difusão do calor gerado ao tecido ósseo adjacente ao ápice radicular.”

I) Abreviaturas

Não são recomendáveis, exceto as reconhecidas pelo Sistema Internacional de Pesos e Medidas ou as consagradas nas publicações médicas, que deverão seguir as normas internacionais tradicionalmente em uso (aprovadas pelo documento de Montreal publicado no British Medical Journal 1979;1:532-5). Quando o número de abreviaturas for significativo, providenciar um glossário à parte.

J) Nomes de drogas

A utilização de nomes comerciais (marca registrada) não é recomendável; quando necessário, o nome do produto deverá vir após o nome genérico, entre parênteses, em caixa-alta-e-baixa, seguido pelo símbolo que caracteriza a marca registrada, em sobrescrito.

K) Considerações finais

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a sua conformidade em relação a todos os itens aqui listados. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

Para contato, envie e-mail para rbps.ccs@ufes.br

Correspondências devem ser enviadas à Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde aos cuidados da Editoria-chefe da Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde (RBPS), endereço: Avenida Marechal Campos, número 1468, Maruípe, Vitória, Espírito Santo, Brasil, Cep: 29040-090. Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Espírito Santo.

Artigos Originais

O resumo deve possibilitar ao leitor avaliar o interesse do manuscrito e compor uma série coerente de frases, e não a simples enumeração de títulos, fornecendo, portanto, uma visão clara e concisa do conteúdo do manuscrito, suas conclusões significativas e a contribuição para a saúde coletiva. Deve conter no máximo 250 palavras, em parágrafo único, espaçamento simples, e as seções “**Introdução, Objetivos, Métodos, Resultados e Conclusão**”. O nome da seção deve estar em negrito. O texto deve ser em fonte Arial, 12, sem negrito. Ao final do resumo, devem ser listadas de 3 a 5 palavras-chave.

Relato de Caso

Apresentação da experiência profissional, baseada em estudos de casos peculiares e/ou em novas técnicas, com comentários sucintos de interesse para a atuação de outros profissionais da área. Devem conter em sua estrutura: Introdução, Relato(s) do(s) Caso(s), Discussão e Referências. Para relatos de técnicas: Introdução, Apresentação da Técnica, Conclusão e Referências.

Relatos de Experiência

Redação técnico-científica com objetivo de descrever experiência vivenciada e contribuir com a construção do conhecimento na área de forma sistematizada e estruturada com finalidade de trazer reflexões sobre determinada realidade e/ou experiência. Deve conter: Introdução (contextualização, relato da experiência, marco teórico), resultados, discussão e conclusões.

Artigos de Revisão

Avaliação crítica sistematizada sobre determinado assunto, devendo ter conclusões. Devem ser descritos os procedimentos adotados – metodologia de busca, critérios de inclusão e exclusão, resultados e discussão – esclarecendo a delimitação do tema. Devem conter em sua estrutura: Introdução, Objetivo, Métodos, Resultados, Discussão, Conclusão e Referências.

06/11/2023, 13:06

Submissões | Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde/Brazilian Journal of Health Research

Declaração de Direito Autoral**DIREITOS AUTORAIS**

Os autores deverão submeter para apreciação da RBPS a "Declaração de Responsabilidade e Transferência de Direitos Autorais", contendo a assinatura de cada um dos autores, de acordo com o modelo apresentado a seguir:

c) Declaração de Responsabilidade e Transferência de Direitos Autorais

Nós, abaixo assinados, transferimos todos os direitos autorais do manuscrito intitulado " _____ " à Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde/*Brazilian Journal of Health Research*. Declaramos, ainda, que o manuscrito é original e não está sendo considerado para publicação em outra revista, no formato impresso ou eletrônico.

Contribuição dos autores:

Indicar as iniciais dos autores que realizaram cada uma das funções abaixo: Concepção:

Aquisição de financiamento:

Investigação:

Metodologia:

Tratamento e análise de dados:

Redação:

Revisão:

Aprovação da versão final:

Supervisão:

Informar a "Disponibilidade de dados de pesquisa e outros materiais": indicar a possibilidade de acesso aos materiais utilizados pelos autores em algum repositório ou biorrepositório e banco de dados, se houver.

Local, __/__/__. Assinatura(s): _____

****IMPORTANTE:** A Declaração de Responsabilidade e Transferência de Direitos Autorais deve ser incluída como documento suplementar e assinada pelos autores.

Política de Privacidade

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou a terceiros.

Respeitosamente,

Equipe Editorial da RBPS

[Enviar Submissão](#)

Idioma

[English](#)

[Português \(Brasil\)](#)

Informações

[Para Leitores](#)

[Para Autores](#)

[Para Bibliotecários](#)

Edição Atual

 HTML 5.0

 RSS 2.0