

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU

ISABELLA FRINHANI ZANI

**Efeito antibiofilme de protocolos com solução de
hipoclorito de sódio a 1% para higienização de próteses
totais em pacientes hospitalizados**

BAURU
2022

ISABELLA FRINHANI ZANI

**Efeito antibiofilme de protocolos com solução de
hipoclorito de sódio a 1% para higienização de próteses
totais em pacientes hospitalizados**

Monografia apresentada à Faculdade de
Odontologia de Bauru como parte dos
requisitos para conclusão do curso de
Graduação em Odontologia

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Karin Hermana
Neppelenbroek

BAURU
2022

Zani, Isabella Frinhani

Efeito antibiofilme de protocolos com solução de hipoclorito de sódio a 1% para higienização de próteses totais em pacientes hospitalizados / Isabella Frinhani Zani. -- Bauru, 2022.

69 f. : il. ; 31 cm.

Monografia (graduação) - Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, ano do grau.

Orientador: Profa. Dra. Karin Hermana Neppelenbroek

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta monografia, por processos fotocopiadores e outros meios eletrônicos.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a **Deus**, por me permitir viver tudo o que vivi nos últimos 5 anos, por ter me sustentado quando eu já não tinha força, demonstrando que Seus planos são melhores e maiores do que os meus.

Aos meus avós, **José Carlos e Maria da Conceição** que são a minha base e as razões de tudo que conquistei. Meus exemplos de amor, fé e confiança em Deus. Que me encorajaram através das infinitas mensagens, orações e bênçãos diárias.

A minha irmã gêmea, **Leticia Zani**, que nunca mediu esforços para que eu realizasse todos os meus sonhos e tornou a minha caminhada mais leve e feliz.

A minha mãe **Carla Frinhani** que me apoiou durante essa trajetória.

Ao meu pai, **Marcelo Zani**, que sempre se esforçou para que eu concretizasse os meus sonhos.

A minha melhor amiga, **Genesis Nascimento** e a **sua família**, que se tornou também a minha. Minha confidente, concelheira, que sempre fez tudo que estava ao seu alcance para me ver feliz.

Ao meu binómio e amigo, **Pedro Rodriguês**, com quem muito aprendi durante essa jornada. Um anjo que Deus colocou em minha vida.

Aos meus amigos, **Maria Monequi e Whollem Depollo**, minha família do coração. A quem devo minha eterna gratidão.

Ao **João Anselmo e sua família** que se tornaram a minha família também, a quem devo uma enorme gratidão por todo o apoio e amor que sempre tiveram para comigo.

A professora Dra. **Karin Neppelenbroek**, a quem não tenho palavras para agradecer por tudo que me permitiu viver nesse intercambio, que nunca mediu esforços para me ajudar com tudo que precisei.

A professora Dra. **Maria Helena Fernandes**, que possibilitou este Duplo Diploma e sempre esteve disposta em ajudar quando necessário.

A minha co-orientadora, **Anna Clara**. Não tenho palavras para descrever a minha gratidão. Estive a todo momento disposta a ajudar independentemente do dia ou horário, sempre com leveza e disposição.

Aos professores **Estevam Bonfante, Adilson Furuse, Sergio Ishikirama, Adriana Santana, Rodrigo Vivian, Sebastião Greggi, Renato Yaedu, Simone Soares e Maria Atta** que me ensinaram com tanto carinho, amor e dedicação. Todos contribuíram de forma indescritível para o meu desenvolvimento acadêmico e pessoal.

A **Érika Kuruki e Mauro Corotti**, que tanto me ensinaram no serviço de urgência odontológica da USP. Sempre dispostos a explicar com tanta paciência e carinho. Serei eternamente grata por ter a oportunidade de aprender com eles.

Aos demais professores que participaram da minha formação.

A todos os envolvidos no **Projeto Rondônia**, projeto social do qual me orgulho em ter feito parte, que tanto impactou no meu desenvolvimento pessoal e acadêmico.

A **USP e FMDUP**, instituições das quais me orgulho em dizer que me formei, que tanto preservam a qualidade de ensino e empatia pelo próximo.

RESUMO

O biofilme protético é conhecido como potencial reservatório de patógenos respiratórios, o que aumenta consideravelmente o risco de infecções pulmonares, especificamente a pneumonia aspirativa, principalmente 48 h após a hospitalização. Assim, é essencial que as próteses acrílicas removíveis sejam submetidas a um protocolo de higienização para redução do biofilme durante a admissão hospitalar do paciente. Este estudo clínico randomizado avaliou, em pacientes hospitalizados, a efetividade de protocolos de higienização de próteses removíveis na redução do biofilme protético utilizando solução de hipoclorito de sódio a 1%. Próteses totais superiores (PTS) de 80 pacientes internados no Hospital da Beneficência Portuguesa de Bauru foram aleatoriamente submetidas a um dos seguintes protocolos, antes de serem imersas em água estéril por 3 min para enxágue: escovação com água destilada (Controle); imersão em hipoclorito de sódio a 1% combinada ou não à escovação com água; escovação com hipoclorito de sódio a 1%. Antes e após a aplicação dos protocolos, o biofilme protético foi corado para o cálculo da redução da área percentual de recobrimento visível (ImageJ), e culturas quantitativas micológicas da região interna da PTS foram obtidas em ágar sangue e ágar Sabouraud (UFC/mL). Os dados foram submetidos aos testes de Wilcoxon e Kruskal-Wallis ($\alpha=0,05$). Todos os protocolos testados resultaram em uma redução significativa na área percentual de biofilme protético ($P<0,05$). A comparação entre os protocolos mostrou a maior redução nas medianas de $\log_{10}$ UFC/mL e porcentagens de biofilme protético para as PTS que foram limpas com hipoclorito de sódio, independentemente da associação com escovação ($P<0,05$). De acordo com os resultados obtidos, foi possível sugerir que uma única imersão das próteses totais de pacientes hospitalizados por 10 min em uma solução de hipoclorito de sódio a 1% provou ser uma alternativa viável, simples, rápida, de custo acessível e efetiva na redução do biofilme protético. Esse cuidado minimizaria o risco de infecções respiratórias advindas das próteses, diminuindo o tempo de internação, o que a longo prazo, também poderia levar a uma grande redução de custos.

Palavras-chave*: Prótese Total; Biofilmes; Higienizadores de Dentadura; Assistência Hospitalar.

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

ABSTRACT

Antibiofilm effect of protocols with 1% sodium hypochlorite solution for cleaning complete dentures in hospitalized patients

The denture biofilm is known as a potential reservoir of respiratory pathogens, which considerably increases the risk of lung infections, specifically aspiration pneumonia 48 h after hospitalization. Thus, it is essential that removable acrylic dentures undergo a hygiene protocol to reduce biofilm during the patient's hospital admission. This randomized clinical study evaluated, in hospitalized patients, the effectiveness of cleaning protocols for removable dentures in reducing denture biofilm using 1% sodium hypochlorite solution. Maxillary complete dentures (MCD) from 80 patients admitted to the Hospital da Beneficência Portuguesa in Bauru were randomly cleaned, using one of the following protocols, before being immersed in sterile water for 3 min for rinsing: brushing with distilled water (Control); immersion in 1% sodium hypochlorite combined or not with brushing with water; brushing with 1% sodium hypochlorite. Before and after the application of the protocols, the denture biofilm was stained for the calculation of the percentage area reduction of visible covering (ImageJ), and mycological quantitative cultures of the internal region of the MCD were obtained on blood agar and Sabouraud agar (CFU/mL). The data were submitted to Wilcoxon and Kruskal-Wallis tests ($\alpha=0.05$). All tested protocols resulted in a significant reduction in the percentage area of denture biofilm and viable microorganisms on the MCD cultures ($P<0.05$). The comparison among the protocols showed the greatest reduction in median $\log_{10}$ CFU/mL and percentage of denture biofilm for the dentures cleaned using 1% sodium hypochlorite, regardless of the association with brushing ($P<0.05$). According to the results obtained, it was possible to suggest that a single immersion of complete dentures from hospitalized patients for 10 min in a 1% sodium hypochlorite solution proved to be a viable, simple, fast, affordable and effective alternative in reducing denture biofilm. This care would minimize the risk of denture respiratory infections, decreasing hospitalization time, which in the long-term could also lead to a major cost reduction.

Keywords[†]: Denture; Biofilms; Denture Cleansers; Hospital Care.

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

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1-	Grupos de estudo: ESC/AD, HIP, ESC+HIP, ESC/HIP	24
FIGURA 2-	Área de biofilme corado na região interna da PTS delimitada (linha laranja) pelo software de processamento de imagem (Image J).....	26
FIGURA 3-	Coleta de biofilme protético por meio de <i>swab</i> oral; <i>Swab</i> em solução salina estéril a 0,9%; Agitação em cuba ultrassônica 20 min; Agitação em vórtex durante 1 min para suspensão dos microrganismos; Obtenção das diluições seriadas; Semeadura das diluições em duplicata em placas de Petri contendo ágar Sabouraud (amarelado) e ágar sangue (vermelho); Incubação das placas por 48h; Contagem das colônias viáveis.	27
FIGURA 4-	Biofilme corado na superfície interna das PTS antes (esquerda) e após (direita) a aplicação dos seguintes métodos de higienização: ESC/AD, HIP, ESC/HIP, ESC+HIP	32
FIGURA 5-	Placas de ágar sangue (superior) e ágar Sabouraud (inferior) representativa de cada grupo de estudo antes e após a aplicação dos protocolos	35

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Valores de médias, desvios-padrão (DP), medianas e intervalos interquartis (IQ) do percentual da área de biofilme protético visível nos grupos de estudo antes e após a aplicação dos protocolos de higienização das PTS..... 31
- Tabela 2 - Valores em $\log_{10}$ UFC/mL de médias, desvios-padrão (DP), medianas e intervalos interquartis (IQ) das colônias microbianas viáveis nos grupos de estudo antes e após a aplicação dos protocolos de higienização das PTS em ambos os meios de cultura testados..... 33
- Tabela A1 - Valores originais, médias finais e respectivos desvios-padrão (DP) de UFC/mL (culturas em ágar sangue e ágar Sabouraud) e dos percentuais de biofilme das PTS dos pacientes do grupo ESC/AD antes e após a aplicação dos protocolos de higienização 66
- Tabela A2 - Valores originais, médias finais e respectivos desvios-padrão (DP) de UFC/mL (culturas em ágar sangue e ágar Sabouraud) e dos percentuais de biofilme das PTS dos pacientes do grupo HIP antes e após a aplicação dos protocolos de higienização 67
- Tabela A3 - Valores originais, médias finais e respectivos desvios-padrão (DP) de UFC/mL (culturas em ágar sangue e ágar Sabouraud) e dos percentuais de biofilme das PTS dos pacientes do grupo ESC+HIP antes e após a aplicação dos protocolos de higienização 68
- Tabela A4 - Valores originais, médias finais e respectivos desvios-padrão (DP) de UFC/mL (culturas em ágar sangue e ágar Sabouraud) e dos percentuais de biofilme das PTS dos pacientes do grupo ESC/HIP antes e após a aplicação dos protocolos de higienização 69
-
-

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO E SÍNTESE BIBLIOGRÁFICA	11
2	PROPOSIÇÃO	20
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	22
3.1	Seleção dos pacientes.....	22
3.2	Randomização e Intervenções	22
3.3	Avaliação da efetividade dos protocolos de higienização.....	24
3.3.1	Determinação da porcentagem de área da PTS coberta por biofilme	25
3.3.2	Culturas microbiológicas quantitativas.....	26
4	RESULTADOS	31
4.1	Resultados da determinação da área percentual da PTS coberta por biofilme	31
4.2	Resultados das Culturas Microbiológicas Quantitativas	32
5	DISCUSSÃO	37
6	CONCLUSÕES	45
	REFERÊNCIAS	47
	ANEXOS.....	62

1 INTRODUÇÃO E SÍNTESE BIBLIOGRÁFICA

1 INTRODUÇÃO E SÍNTESE BIBLIOGRÁFICA

Os avanços nos cuidados e nas políticas públicas em saúde, sobretudo nos últimos 100 anos, favoreceram o envelhecimento da população mundial. Essa realidade trouxe um impacto direto aos serviços de atenção à saúde, uma vez que os idosos são mais suscetíveis a doenças crônicas e/ou infecções com risco de morte (COELHO; SOUSA; DARÉ, 2004; DAVENPORT, 1972; O'DONNELL et al., 2016; PINA et al., 2017). Tais condições ocorrem por uma combinação de fatores sistêmicos que vão desde a própria senescência (declínio das funções motoras e respostas imunes) à redução da capacidade respiratória e alterações funcionais nas barreiras cutânea e mucosa, além daquelas degenerativas nos ossos e nas cartilagens (BECKETT; HARBARTH; HUTTNER, 2015).

Entre as doenças preocupantes em idosos, destaca-se aquelas do trato respiratório inferior, sobretudo a pneumonia, pela maior vulnerabilidade dessa população em função dos prejuízos no reflexo de vômito, na função mucociliar e na resposta febril, além da comum ocorrência de vários graus de disfunção cardiopulmonar e outros problemas de saúde que comprometem a competência imunológica (CHONG; STREET, 2008). O Estudo de Carga Global de Doenças revelou que tais infecções resultaram em 2,38 milhões de mortes em 2016, sendo a sexta causa de mortalidade no mundo para todas as idades (GBD-16, 2018). Do total desses óbitos, quase metade (1,08 milhão) se referiu ao grupo de indivíduos com mais de 70 anos (GBD-2016, 2018), reforçando que a pneumonia ainda é um problema de saúde relacionado aos principais riscos de morbidade e mortalidade em idosos em muitos países, inclusive os desenvolvidos (GBD-2015, 2017; GIBSON et al., 2018; NAKAJIMA et al., 2009; OCHOA-GONDAR et al., 2008; TERAMOTO et al., 2008). No Brasil, houve um aumento significativo dessa infecção como causa de morbimortalidade para essa população entre os anos de 2005 e 2015. Como consequência, nesse período, a pneumonia passou a ser classificada como o principal motivo de hospitalização e o segundo motivo de óbito em idosos, independentemente do sexo e da faixa etária (60~79 anos ou ≥80 anos) (ROSSETTO et al., 2019). Já entre 2015 e 2017, os dados do Ministério da Saúde do Brasil mostraram que oito em cada dez mortes por pneumonia no Brasil acometeram a população idosa, o que

correspondeu a mais de 80% das mortes resultantes da doença. Nesse período, foram registrados cerca de 200 mil óbitos em decorrência da infecção, uma média de 66,5 mil casos por ano, ou sete por hora.

A principal causa de pneumonia em pacientes idosos está relacionada à aspiração de alimentos e microrganismos orais e ao refluxo, sendo fundamental atuar em seu tratamento e, principalmente, em sua prevenção (MARIK; KAPLAN, 2003; SUN et al., 2014; TERAMOTO et al., 2008). A aspiração de pequenas quantidades de secreção orofaríngea (microaspiração) é um achado comum em pessoas saudáveis durante o sono, que pode vir a se tornar um mecanismo patogênico de pneumonia frente a um quadro de vulnerabilidade do indivíduo (GLEESON; EGLI; MAXWELL, 1997). Por outro lado, a aspiração de grande volume (macroaspiração) de conteúdo orofaríngeo ou gastrointestinal superior, acompanhada da secreção de microrganismos orais que invadem a laringe e o trato respiratório inferior é considerada a condição primária para desencadear a resposta infecciosa nos pulmões, conhecida como pneumonia aspirativa (MARIK; KAPLAN, 2003; TERAMOTO et al., 2008). Afeta principalmente os idosos, com até 80% dos casos ocorrendo nos indivíduos com 65 anos ou mais (KOIVULA; STEN; MAKELA, 2003; MARIK; KAPLAN, 2003; SAKASHITA et al., 2015; TERAMOTO; YOSHIDA; HIZAWA, 2015; WU et al., 2002).

A taxa de mortalidade da pneumonia aspirativa pode chegar a 72%, sendo amplamente dependente do volume e conteúdo aspirado (CICALA et al., 2019; GUIMARAES; ROCCO, 2006; HICKLING; HOWARD, 1988; KUDO et al., 2019; NEILL; DEAN, 2019; PAJU; MANDELL; NIEDERMAN, 2019; SAHYOUN et al., 2001; SCANNAPIECO, 2007; SHI et al., 2019; TERPENNING et al., 2001). Em comparação com aquela não aspirativa, a pneumonia aspirativa resulta em mais internações na Unidade de Terapia Intensiva (UTI) e ocorrências de ventilação mecânica, além do aumento do tempo de internação e maior mortalidade (REZA SHARIATZADEH; HUANG; MARRIE, 2006).

A alta incidência de pneumonia aspirativa em idosos relaciona-se à maior ocorrência que essa população apresenta de distúrbios que afetam a função do esôfago e/ou a deglutição, como o refluxo gastroesofágico e megaesôfago chagásico (comum no Brasil) (MARIK; KAPLAN, 2003). Ainda, o próprio déficit da musculatura da faringe que ocorre com a senilidade, sobretudo após os 70 anos, leva com

frequência a um quadro de disfagia. Doenças neurológicas (Acidente Vascular Cerebral-AVC, Mal de Parkinson, Alzheimer, entre outras) que acometem principalmente indivíduos idosos também podem resultar em comprometimento da deglutição (MANABE et al., 2015). Além da sensibilidade da laringe reduzida, outros mecanismos de proteção à aspiração tornam-se prejudicados com a idade, incluindo o reflexo de tosse e os de defesa do pulmão, sobretudo se em algum momento da vida o idoso tenha sido fumante. Ainda, a aspiração de secreções orofaríngeas é aumentada em pacientes acamados, tratados com sedativos ou narcóticos, com rebaixamento do nível de consciência ou submetidos à intubação nasogástrica, o que é também é mais observado com o envelhecer da população idosa (DELEGGE, 2011; MANABE et al., 2015; MARIK, 2001).

Para melhor entendimento da pneumonia aspirativa, essa deve considerada como parte de um conjunto que também inclui pneumonias adquiridas na comunidade e no hospital, com maior prevalência na população idosa em ambas situações (TERAMOTO et al., 2008). Estima-se que a pneumonia por aspiração represente de 5 a 24% dos casos de pneumonia adquirida na comunidade (MARIK, 2001; MOINE et al., 2004; REZA SHARIATZADEH; HUANG; MARRIE, 2006; TORRES et al., 1991), mas a incidência daquela adquirida no hospital varia entre 29,7% a 70% (LANSPA et al., 2013; TERAMOTO; YOSHIDA; HIZAWA, 2015). Esse último subtipo, conhecido como pneumonia nosocomial, ocorre após a alta hospitalar ou em mais de 48 h pós-internação, e tem uma prevalência de 8 a 10 vezes maior nos indivíduos acima de 70 anos, sendo a segunda maior ocorrência de infecção hospitalar, atrás somente das infecções urinárias (TERAMOTO; YOSHIDA; HIZAWA, 2015). Os dados atuais sugerem que a saúde bucal precária é o maior fator de risco para pneumonia por aspiração em idosos (JANSSENS; KRAUSE, 2004; SJÖGREN et al., 2008; TERPENNING, 2005), sendo estabelecido que uma em cada dez mortes poderia ser evitada nessa população mediante a uma higiene bucal adequada e regular (SJOGREEN et al., 2008).

A composição microbiana do biofilme dentário evidencia espécies de microrganismos relacionados às infecções de ordem geral, havendo clara relação entre as comorbidades bucais e sistêmicas, tais como: doenças coronárias, endocardite, diabetes, obesidade, desenvolvimento fetal, doença renal crônica, artrite reumatoide, osteoporose, doença pulmonar obstrutiva crônica e infecções respiratórias (FISHER,

TAYLOR, 2009; GROSSI; GENCO, 1998; HARASZTHY et al., 2000; LÓPEZ et al., 2002; MERCADO et al., 2009; RUMA et al., 2008). Tal associação também foi observada com o biofilme protético, sobretudo para as infecções do trato respiratório e, particularmente, em relação à pneumonia aspirativa (O'DONNELL et al., 2016; SUMI et al., 2003). O biofilme formado sobre a superfície das próteses removíveis é caracterizado por uma comunidade complexa de bactérias e fungos associados, envolta por uma matriz de polissacarídeos (O'DONNELL et al., 2016; PANARIELLO et al., 2016; RAMAGE et al., 2004). A formação e o crescimento em biofilme favorecem a proliferação e sobrevivência dos microrganismos por resultar em menor suscetibilidade das células microbianas à ação dos agentes antimicrobianos (RAMAGE et al., 2004) e a maior proteção dos mesmos à atuação das células de defesa do hospedeiro (MAH; O'TOOLE, 2001). Nas bases acrílicas das próteses removíveis, o desenvolvimento do biofilme se torna ainda mais facilitado em razão da colonização microbiana em profundidade decorrente das irregularidades e porosidades presentes desse substrato (CHAU et al., 1995; DAVENPORT, 1972; PEREIRA-CENCI et al., 2008).

A microbiota dos pacientes edêntulos apresenta baixa quantidade de microrganismos anaeróbicos em relação àquela dos dentados, no entanto, a presença de lactobacilos (KOOPMANS et al., 1988) e leveduras, sobretudo as do gênero *Candida* (LOSTER et al., 2012; RIBEIRO et al., 2012; CALCATERRA et al., 2013; PRAKASH et al., 2015) é mais acentuada. Por outro lado, assim como ocorre no biofilme dentário, no protético é possível evidenciar a presença de patógenos respiratórios, sendo esses considerados potenciais desencadeadores da pneumonia aspirativa, sobretudo quando há deficiência nos procedimentos de higienização (O'DONNELL et al., 2016; SUMI et al., 2003). Assim, as próteses removíveis têm sido consideradas como um reservatório para potenciais patógenos respiratórios na cavidade oral (O'DONNELL et al., 2016; SUMI et al., 2002; SUMI et al., 2003). Além disso, dada a proximidade da prótese com o trato respiratório, os usuários de próteses possuem maior risco de aspirar patógenos oportunistas do biofilme protético para os pulmões (O'DONNELL et al., 2016).

Apesar do papel dos cuidados bucais na redução do risco de pneumonia ter sido reconhecido, a importância da limpeza das próteses tem sido relativamente negligenciada (KUSAMA et al., 2019). Sabe-se que a prevalência de uso de próteses

removíveis aumenta significativamente com a idade (KASSEBAUM et al., 2014), e que a maioria dos usuários idosos não conseguem higienizá-las adequadamente (KANLI; DEMIREL; SEZGIN, 2005; PAPADIOCHOU; POLYZOIS, 2018). Neste contexto, os usuários de próteses removíveis acrílicas merecem atenção especial, sobretudo quando internados em ambiente hospitalar. Isso porque a presença do biofilme oral e protético associada à imunidade comprometida do hospedeiro e à aspiração do conteúdo presente na orofaringe para o trato respiratório inferior aumenta ainda mais o risco de pneumonia aspirativa, principalmente 48 h pós-internação (GUIMARÃES; ROCCO, 2006). A redução do fluxo salivar e diminuição de seu pH, assim como o decréscimo do reflexo da tosse associados à higienização bucal inadequada dispensada a tais pacientes, resultam no aumento do potencial do biofilme oral e protético como um agente infeccioso determinante de infecção respiratória, o que é proporcional ao aumento do tempo de internação do indivíduo (ABIDIA, 2007; BARNES, 2014; BERRY et al., 2011; GANZ et al., 2013; SADDKI; MOHAMAD SANI; TIN-OO, 2014; SCANNAPIECO; et al., 2003). Além disso, no caso dos indivíduos hospitalizados usuários de próteses, a maior deficiência de autonomia leva também a uma limpeza ainda mais insatisfatória das próteses durante a internação, o que pode interferir negativamente com sua condição sistêmica (TEREZAKIS et al., 2011). Outro fator importante é a falta de conhecimento da equipe médica e de enfermagem sobre saúde bucal e cuidados de higiene com as próteses (EVERAARS et al., 2020). O despreparo por parte dos profissionais da saúde envolvidos no hospital se deve à ausência de um programa educacional com essa finalidade e/ou à insuficiência de uma equipe odontológica hospitalar (YANAGISAWA et al., 2018). Considerando os aspectos anteriormente mencionados, torna-se fundamental adotar cuidados com a saúde bucal que envolvam protocolos de limpeza de prótese para prevenção de doenças respiratórias, sobretudo aos pacientes internados em hospital.

A importância da higiene bucal foi consolidada por Munro e Grap (2004) a partir da evidência de que todos os pacientes internados em UTI apresentaram, após 48 h, colonização da orofaringe por bacilos gram-negativos, considerados frequentes agentes etiológicos de pneumonias nosocomiais (MUNRO; GRAP, 2004). Dentre os mecanismos de remoção do biofilme dentário destacam-se o uso tópico de antissépticos orais, tais como o digluconato de clorexidina e o método mecânico da escovação (CHAN et al., 2007; MUNRO; GRAP, 2004). Foi observada uma diminuição

em até 40% dos casos de pneumonia em pacientes internados beneficiados com a utilização de um ou mais dos métodos citados para remoção do biofilme dentário (MATTEVI et al., 2011; PAJU; SCANNAPIECO, 2007). Apesar desses dados favoráveis obtidos com a remoção do biofilme dentário em indivíduos hospitalizados, a consulta à literatura não evidenciou informações sobre protocolos de higienização para próteses removíveis pertencentes a tais pacientes. As investigações disponíveis sobre cuidados gerais de higiene bucal e de limpeza e uso de próteses em idosos residentes em clínicas geriátricas tem mostrado que esses cuidados apresentaram um impacto significativo na redução da mortalidade dos pacientes em decorrência de pneumonia (YONEYAMA et al., 2002; BASSIM et al., 2008), bem como aumentaram consideravelmente a sensibilidade ao reflexo da tosse (WATANDO et al., 2004). Ainda, a limpeza não frequente das próteses removíveis (menos de uma vez ao dia) se mostrou fortemente associada à maior incidência de pneumonia em idosos residentes na comunidade após um ano de avaliação (KUSAMA et al., 2019). O uso de próteses removíveis por indivíduos institucionalizados em clínicas geriátricas foi considerado um agente moderador do aumento do risco de pneumonia incidente associada ao risco de aspiração (TAKEUCHI et al., 2019). Ainda, o uso dessas próteses durante o sono por indivíduos idosos institucionalizados aumentou significativamente a probabilidade de pneumonia aspirativa, sendo comparável aos principais fatores predisponentes como história de AVC, doença respiratória e comprometimento cognitivo (IINUMA et al., 2015).

Considerando que as próteses removíveis funcionam como reservatórios de patógenos respiratórios, seria fundamental que as mesmas fossem submetidas a um protocolo de higienização para remoção de biofilme quando da internação do paciente. Os métodos de controle e remoção de biofilme em próteses removíveis, parciais ou totais, envolvem procedimentos mecânicos (higienização por escovação e limpeza com ultrassom), químicos (imersão em agentes de limpeza, desinfetantes e enxaguatórios bucais) e físicos (irradiação por micro-ondas, laser de baixa intensidade e terapia fotodinâmica). Embora grande parte dos usuários ainda limpem suas próteses removíveis apenas com enxague em água (AOUN; BERBERI, 2017; APRATIM et al., 2013), a escovação com dentífrico, sabão ou mesmo água representa o método mais adotado por essa população (APRATIM et al., 2013) devido à facilidade, simplicidade e baixo custo, (COELHO; SOUSA; DARÉ, 2004; OSMARI et

al., 2016; PAPADIOCHOU; POLYZOIS, 2018). Entretanto, quando utilizada de forma isolada, a escovação apresenta baixa efetividade na remoção do biofilme protético (ASLANIMEHR et al., 2018; CRUZ et al., 2011), sobretudo quando realizada por indivíduos idosos, que frequentemente apresentam comprometimento da destreza manual e acuidade visual necessárias para uma limpeza efetiva (KANLI; DEMIREL; SEZGIN, 2005; PAPADIOCHOU; POLYZOIS, 2018). Para superar essas limitações, foi sugerida a associação da escovação à limpeza por ultrassom (CRUZ et al., 2011; DE ANDRADE et al., 2011; DUYCK et al., 2016; NISHI et al., 2014; SHAY, 2000), que por sua vez, também mostrou baixa eficácia na remoção de biofilme protético (DE ANDRADE et al., 2011; NISHI et al., 2014).

Com o intuito de aumentar eficácia dos métodos mecânicos na redução do biofilme protético, tem sido amplamente recomendada sua associação a outros do tipo químico ou físico. Dentre os agentes químicos de limpeza, destacam-se as soluções de hipoclorito de sódio (BUERGERS et al., 2008; CHAN et al., 1991; PAVARINA et al., 2003a; PELLIZZARO et al., 2012). Além da facilidade de obtenção e do custo acessível, as soluções de hipoclorito de sódio, mesmo em baixas concentrações e períodos curtos de imersão, tem demonstrado propriedades superiores de limpeza em comparação a outros tipos de agentes químicos para higiene de próteses removíveis (DA SILVA et al., 2011b; LIMA et al., 2007; MOFFA et al., 2016; PAWASHE et al., 2017; PELIZZARO et al., 2012). Ainda, tem sido evidenciado que, mesmo após desinfecções sucessivas, diversas propriedades físicas e mecânicas das resinas acrílicas para bases de prótese (ARRUDA et al., 2015; DA SILVA et al., 2008; DA SILVA et al., 2011b; NEPPELENBROEK et al., 2005; PANARIELLO et al., 2015; PARANHOS et al., 2013; PAVARINA et al., 2003c; SALLES et al., 2015) e dos dentes acrílicos artificiais (CAMPANHA et al., 2012; GANDHI et al., 2017; PAVARINA et al., 2003b; PERO et al., 2016; PISANI et al., 2012), não foram adversamente alteradas pelas soluções de hipoclorito de sódio em baixas concentrações como aquelas de 1%.

Haja vista os aspectos anteriormente mencionados, torna-se necessário o estabelecimento de um protocolo fácil, eficiente, de custo acessível e aplicável em ambiente hospitalar para controle efetivo do biofilme protético. Esse cuidado minimizaria os riscos de infecções respiratórias via prótese, em especial a pneumonia aspirativa, reduzindo o tempo de hospitalização, o que, a longo prazo, poderia também levar a uma grande redução de custos (O'DONNELL et al., 2016; SUMI et al., 2003).

Em infecções instaladas, a saúde bucal restabelecida poderia modular a patogênese da pneumonia, levando a um curso da doença menos virulento e reduzindo as chances de mortalidade (BASSIM et al., 2008, YONEYAMA et al., 2002).

2 PROPOSIÇÃO

2 PROPOSIÇÃO

O presente estudo clínico randomizado teve como objetivo geral comparar métodos de limpeza de próteses acrílicas removíveis de usuários hospitalizados utilizando solução de hipoclorito de sódio a 1%, com o intuito de estabelecer um protocolo efetivo de redução dos microrganismos presentes no biofilme protético, visando a prevenção de infecções respiratórias, em especial a pneumonia aspirativa, bem como um curso menos virulento das doenças pulmonares já estabelecidas.

Os objetivos específicos deste estudo clínico randomizado foi determinar um protocolo de higienização fácil, aplicável a ambiente hospitalar, de custo acessível e efetivo em reduzir o biofilme de próteses totais acrílicas removíveis de pacientes internados em ambulatório, em função de:

- Quatro diferentes protocolos, sendo um controle e três experimentais com solução de hipoclorito de sódio a 1%, em associação ou não à escovação;
 - Dois métodos de avaliação: determinação da porcentagem da área da superfície interna da prótese coberta com biofilme e culturas microbiológicas quantitativas.
-
-

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Seleção dos pacientes

O estudo foi realizado em 80 reabilitados com próteses dentárias removíveis totais superiores internados na enfermaria do Hospital Beneficência Portuguesa (HBP) de Bauru. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da FOB/USP (CAAE 92314318.1.0000.5417; Anexos I e II). Não foram selecionados para inclusão neste estudo os pacientes reabilitados com PTS fraturadas e/ou reembasadas e que, por orientações médicas, não estavam fazendo uso da mesma no momento da avaliação.

Inicialmente, foram coletados dos prontuários as principais informações relacionadas aos pacientes selecionados que pudesse interferir com a qualidade e quantidade de biofilme protético: idade, sexo (NEPPELENBROEK, et al., 2008; DAĞISTAN, et al., 2009; PRAKASH, et al., 2015), hipótese diagnóstica, tempo de internação e uso de antibióticos, antifúngicos e esteroides (KNIGHT; FLETCHER, 1971; BUDTZ-JÖRGENSEN, et al., 1978). Especificamente em relação aos antibióticos e antifúngicos serão anotados o tipo (nome do sal) e dia de tratamento no qual o paciente se encontrava no momento da coleta do biofilme para o estudo. Os pacientes conscientes e orientados (ou seu responsável) foram questionados quanto ao tempo de uso da mesma prótese total superior (PTS) e à sua remoção durante o período de sono (NEPPELENBROEK, et al., 2008; IINUMA, et al., 2015) que são os fatores mais relacionados à densidade do biofilme protético bem como à prevalência de infecções locais, sobretudo a estomatite protética, candidose bucal que afeta até 65% destes usuários (AKPAN; MORGAN, 2002)

3.2 Randomização e Intervenções

Com o intuito de distribuir de forma homogênea os pacientes nos grupos de estudo segundo os principais fatores envolvidos com a colonização microbiana das próteses removíveis, no período inicial de avaliação da presente investigação aplicou-

se uma randomização estratificada gerada por programa de computador (Microsoft Excel) (SILVA et al., 2012).

Os participantes não tinham conhecimento do grupo de estudo ao qual foram designados. Mesmo quando compartilhavam o mesmo quarto hospitalar, a aplicação dos protocolos foi organizada de forma a evitar a comunicação entre os participantes e prevenir a contaminação potencial do estudo. Não houve sigilo de alocação dos participantes para o pesquisador responsável, por ser esse também designado a aplicar os protocolos de higienização.

Os pacientes foram aleatoriamente divididos em quatro grupos (n=20), de acordo com um dos protocolos de higienização da PTS (Figura 1):

ESC/AD- Escovação da prótese por 2 min com escova macia nova (Colgate Classic Clean®, Colgate-Palmolive, Ltda, São Bernardo do Campo, SP, Brazil) e água por 2 min (PANZERI et al. 2009; PARANHOS et al., 2007), seguida de imersão em 200 mL de água destilada estéril por 3 min para enxágue do produto (PAVARINA et al., 2003a);

HIP- Imersão da prótese em 150 mL de hipoclorito de sódio a 1% por 10 min (BUERGERS et al., 2008; CRUZ et al., 2011; DA SILVA et al., 2011b; PAVARINA et al., 2003a; PIRES et al., 2017), seguida de imersão em 200 mL de água destilada estéril por 3 min para enxágue do agente de limpeza (PAVARINA et al., 2003a);

ESC+HIP- Escovação da prótese por 2 min com escova macia nova e água por 2 min (PARANHOS et al., 2007; PANZERI et al. 2009), seguida da imersão em 150 mL de hipoclorito de sódio a 1% (BUERGERS et al., 2008; CRUZ et al., 2011; DA SILVA et al., 2011b; PAVARINA et al., 2003a; PIRES et al., 2017) por 10 min e imersão em 200 mL de água destilada estéril por 3 min para enxague do desinfetante (PAVARINA et al., 2003a);

ESC/HIP- Escovação da prótese com escova macia nova e 100 mL de solução de hipoclorito de sódio a 1% por 90 s (PELLIZZARO et al., 2012), seguida da imersão em 200 mL de água destilada estéril por 3 min para enxague do desinfetante (PAVARINA et al., 2003a).

É importante ressaltar que previamente à aplicação dos métodos de limpeza as escovas de dente foram esterilizadas por radiação com luz ultravioleta durante 20 min em cada face (JORGE et al., 2004; MORAES et al., 2021; SHERIDAN et al., 1997).

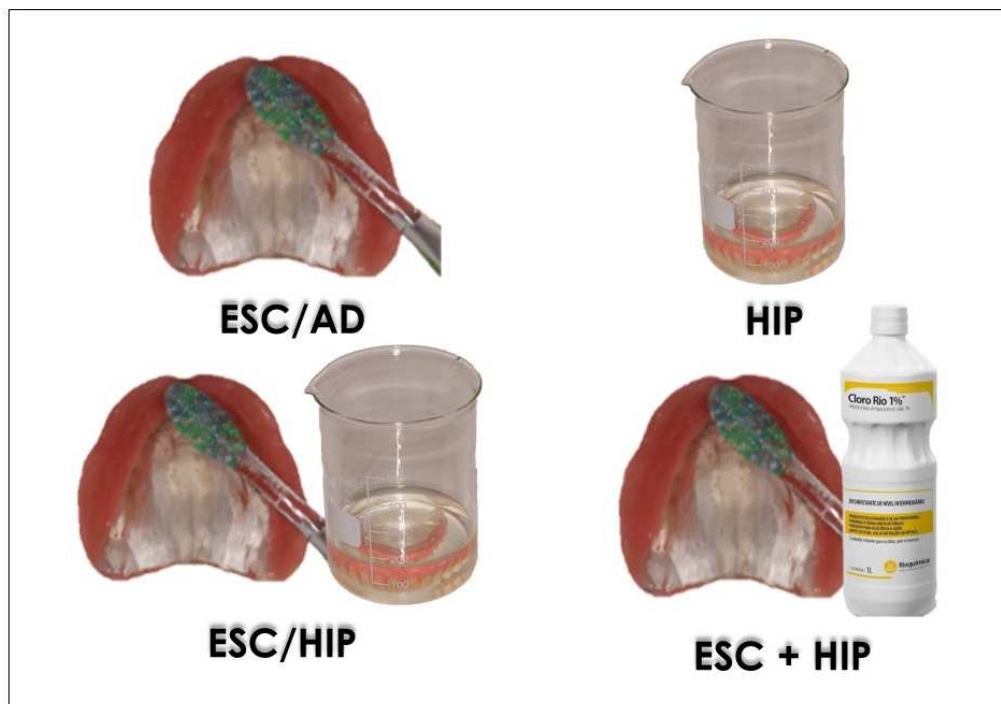


FIGURA 1 – Grupos de estudo: ESC/AD, HIP, ESC+HIP, ESC/HIP

3.3 Avaliação da efetividade dos protocolos de higienização

A efetividade dos protocolos de higienização testados para cada grupo de estudo foi avaliada de acordo com dois métodos: determinação da porcentagem da área da superfície interna da PTS coberta com biofilme e culturas microbiológicas quantitativas. Ambos os métodos foram realizados antes e após a aplicação dos protocolos.

Na presença de dentes remanescentes ou de outras próteses inferiores, o paciente ou seu responsável receberam orientações de higiene bucal pelo pesquisador responsável. Como o hospital coparticipante não apresentava um protocolo operacional padrão de higienização de prótese, o pesquisador responsável fornecia uma escova de dentes e um creme dental ao paciente (ou responsável) antes

de devolver sua PTS, o instruindo adequadamente em relação aos cuidados de limpeza e armazenagem e de não usá-la para dormir

3.3.1 Determinação da porcentagem de área da PTS coberta por biofilme

Como mencionado previamente, a determinação da área porcentual da região interna da PTS coberta com biofilme foi realizada em dois momentos: antes e após a aplicação dos protocolos de higienização. No primeiro momento objetivou-se avaliar a qualidade da higiene da prótese, que está diretamente associada à quantidade de biofilme e, no segundo, a efetividade dos protocolos testados em relação à remoção do biofilme protético visível.

A porcentagem da área interna da PTS com biofilme foi determinada por meio de uma técnica amplamente descrita na literatura (CRUZ, et al., 2011; DE ANDRADE et al., 2011; PARANHOS et al., 2007; SALLES et al., 2015). Essa técnica utiliza o corante vermelho neutro, que é eficiente em permitir a revelação do biofilme e, ao mesmo tempo, não apresenta ação antimicrobiana, o que poderia interferir com a confiabilidade do método de contagem dos microrganismos realizado antes e após a aplicação dos diferentes protocolos de higienização na PTS. Além disso, o referido corante é de fácil remoção, não permanecendo impregnado nas próteses após sua aplicação (CRUZ, et al., 2011; DE ANDRADE et al., 2011; PARANHOS et al., 2007; SALLES et al., 2015).

Antes da aplicação dos protocolos de higienização testados, uma solução de vermelho neutro a 1% (Sigma-Aldrich Inc., St. Louis, MO, EUA) foi aplicada suavemente por meio de um *swab* estéril (Absorve®, Cral, Cotia, São Paulo, Brazil) sobre as superfícies internas das PTS e o biofilme foi revelado após lavagem por 5 s e secagem por, no mínimo, 10 s (CRUZ, et al., 2011; DE ANDRADE et al., 2012b; PARANHOS et al., 2007; SALLES et al., 2015). As superfícies foram então fotografadas de forma padronizada por uma câmera (Canon EOS Rebel T5, Canon, Tóquio, Japão) fixada a um suporte (Suporte para cópia CS-4, Testrite Inst. Co., Inc., Newark, NJ, EUA). Então, as fotografias foram transferidas para um computador para que a área de superfície interna total e áreas correspondentes à região corada fossem mensuradas utilizando um *software* de processamento de imagem (ImageJ 1.51p). A porcentagem de biofilme foi calculada utilizando a razão entre a área de biofilme

multiplicada por 100 e a área total da base interna da PTS (CRUZ, et al., 2011; DE ANDRADE et al., 2012b). O mesmo procedimento para a determinação da área porcentual de biofilme protético na região interna da prótese foi realizado após a aplicação dos protocolos de higienização. O pesquisador que fez a mensuração da cobertura do biofilme era cego quanto ao grupo ao qual a prótese pertencia e ao período de obtenção da imagem (Figura 2).

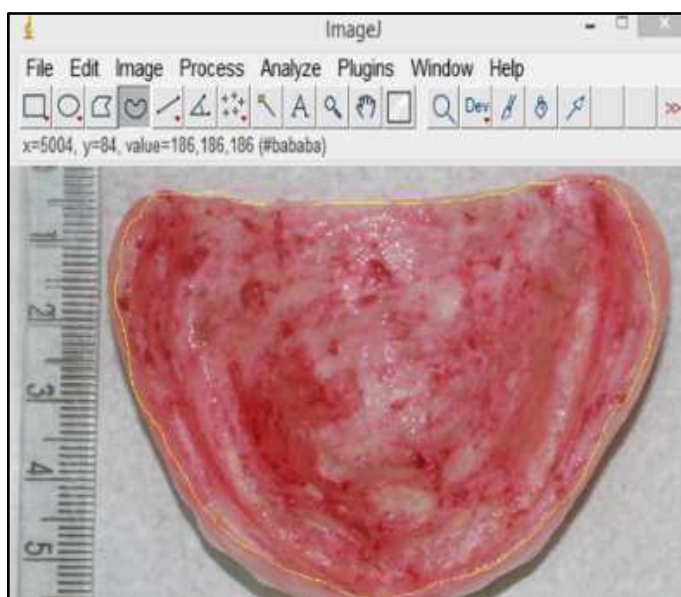


FIGURA 2 – Área de biofilme corado na região interna da PTS delimitada (linha laranja) pelo software de processamento de imagem (Image J)

3.3.2 Culturas microbiológicas quantitativas

As amostras microbiológicas de cada PTS foram coletadas por meio de *swab* oral friccionado vigorosamente em suas superfícies internas por 1 min (RIBEIRO et al., 2012; AL-SAAD, 2014; MOFFA et al., 2016). Para isso, cada *swab* foi colocado em um tubo de ensaio contendo 5 mL de solução salina estéril a 0,9%. Para o desprendimento do material coletado, os tubos com os *swabs* eram colocados em um suporte para tubos dentro de uma cuba ultrassônica para limpeza, sendo adicionada água gelada (6 a 10° C) na mesma até que se cubra externamente a quantidade de solução salina presente em cada um deles. Então, foram submetidos à agitação na cuba ultrassônica por 20 min. Posteriormente, cada tubo foi individualmente agitado de forma vigorosa em agitador para tubos (vórtex) durante 1 min para suspensão dos microrganismos (MOFFA et al., 2016). Em seguida, foram realizadas as diluições

seriadas de 10^{-1} a 10^{-9} , plaqueadas em duplicata em placas de Petri contendo ágar sangue de carneiro para cultivo de bactérias ou ágar Sabouraud para cultivo de fungos (Figura 1). As placas de ágar sangue foram incubadas em estufa bacteriológica em temperatura a 37°C em atmosfera de capnofilia ($5\% \text{CO}_2$) por 24-48 h (RUSSELL et al., 2006; NISHI et al., 2012; DE SOUSA PORTA, 2015) e as de ágar Sabouraud em estufa bacteriológica de aerobiose a 37°C por 48 h (NEPPELENBROEK et al., 2008; PELLIZZARO et al., 2012; RIBEIRO et al., 2012). Então, foi realizada a contagem das colônias viáveis em contador de colônias digital (NEPPELENBROEK et al., 2008). Esses procedimentos estão ilustrados na Figura 3.

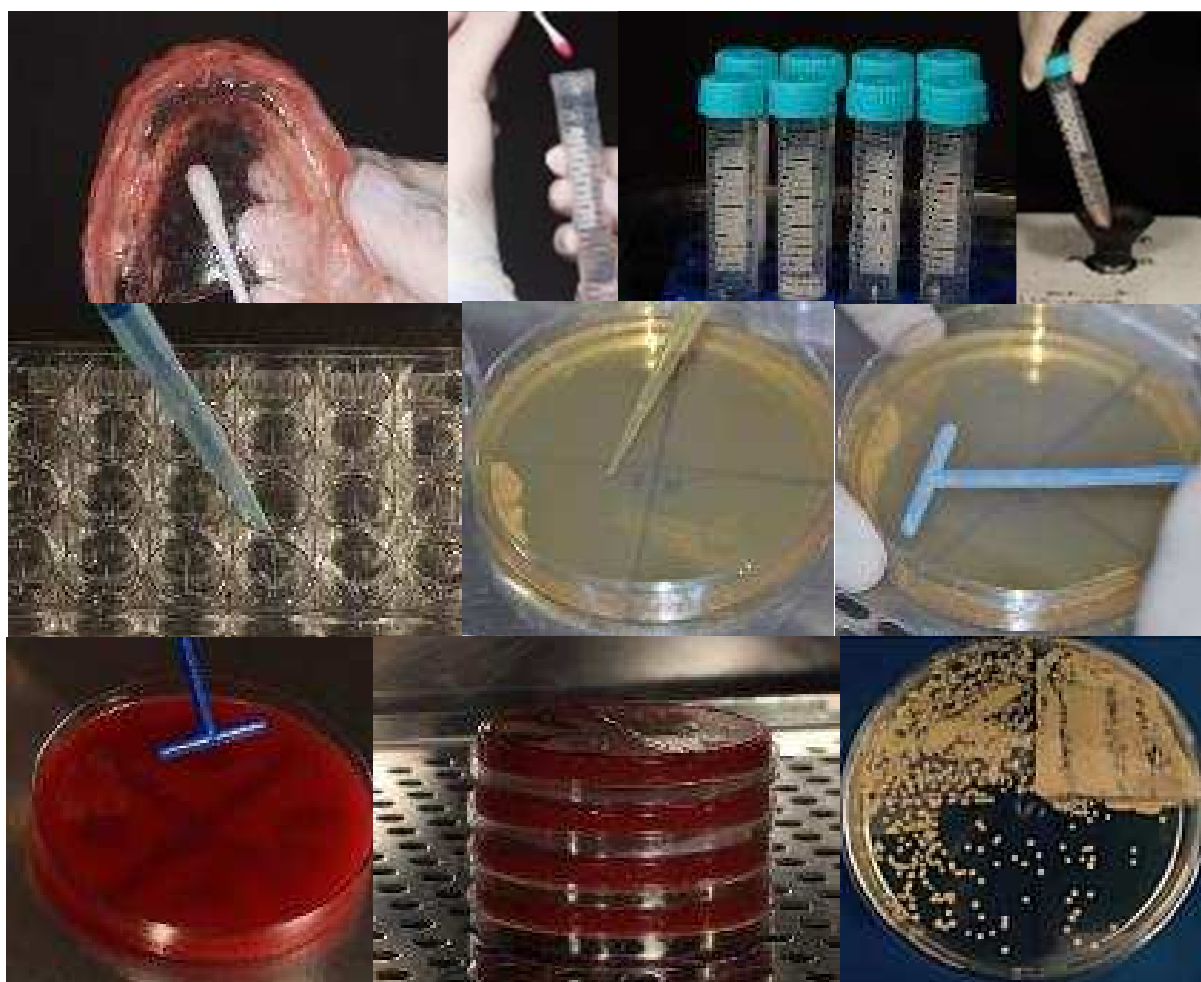


FIGURA 3 - Coleta de biofilme protético por meio de *swab* oral; *Swab* em solução salina estéril a 0,9%; Agitação em cuba ultrassônica 20 min; Agitação em vórtex durante 1 min para suspensão dos microrganismos; Obtenção das diluições seriadas; Semeadura das diluições em duplicata em placas de Petri contendo ágar Sabouraud (amarelado) e ágar sangue (vermelho); Incubação das placas por 48h; Contagem das colônias viáveis.

O ágar sangue foi selecionado por permitir o isolamento dos principais gêneros de bactérias orais e não orais (incluindo ao mais importantes patógenos respiratórios)

presentes no biofilme protético (ATLAS, 2000; SUMI et al., 2002; RUSSELL et al., 2006; NISHI et al., 2012; DE SOUSA PORTA, 2015; PRZYBYŁOWSKA et al., 2015; PAWASHE et al., 2017; PALANISWAMY et al., 2018). Já o ágar Sabouraud é o meio de cultura mais recomendado para o cultivo, isolamento e identificação de fungos patogênicos e leveduras, incluindo as do gênero *Candida*, que são mais prevalentes em usuários de próteses removíveis acrílicas (variável entre 60 e 100%) em relação àqueles que não as utilizam (CALCATERRA et al., 2013; LOSTER et al., 2012; PRAKASH et al., 2015; RIBEIRO et al., 2012). Além disso, como esses fungos apresentam afinidade para a resina acrílica das bases protéticas, o que favorece a formação do biofilme protético, tem sido observado clinicamente maior colonização por *Candida* spp. nas superfícies internas das próteses totais em comparação aos tecidos protéticos de suporte, o que reforça a importância desses microrganismos no biofilme protético (NEPPELENBROEK et al., 2008).

Após os protocolos de higienização, amostras microbiológicas das próteses foram novamente coletadas com *swab* e todos os procedimentos para contagem de colônias viáveis foram realizados como descrito previamente.

O material coletado dos pacientes, assim como os materiais contaminados utilizados na aplicação dos protocolos de desinfecção e quantificação dos microrganismos foram devidamente esterilizados para o descarte após seu uso (finalidade), não havendo armazenamento de qualquer amostra como biorepositório.

Para a quantificação do número total de microrganismos viáveis na superfície interna de cada PTS antes e após a aplicação dos diferentes métodos, os números de unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/mL) foram calculados (Figura 1) de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{UFC/mL} = \frac{\text{número de colônias} \times 10^n}{q}$$

Onde:

número de colônias= média do número de colônias microbianas viáveis obtida das duplicatas das semeaduras nas placas de Petri referente à PTS de cada paciente antes e após a aplicação do protocolo de higienização;

n= valor absoluto da diluição seriada em PBS;

q= quantidade em mL pipetada sobre o meio de cultura das placas de Petri durante as semeaduras.

Os valores originais de UFC/mL obtidos por meio das culturas microbiológicas quantitativas antes e após a aplicação dos protocolos de higienização das PTS dos diferentes grupos de estudo apresentaram distribuição assimétrica e variabilidade muito acentuada. A transformação para logaritmo na base de 10 reduziu a assimetria, mas não conseguiu a homogeneização da variabilidade. Da mesma forma, não houve normalidade e homogeneidade para os valores percentuais de área da superfície interna da PTS coberta por biofilme. Assim, optou-se pela análise não-paramétrica tanto para esses dados quanto para aqueles de $\log_{10}$ UFC/mL. Para isso, o teste de Wilcoxon foi empregado para a análise estatística dos dados antes e após a aplicação dos protocolos de higienização das PTS de cada grupo de estudo para avaliação de sua efetividade. A comparação entre os grupos de estudo antes e após a aplicação dos métodos foi realizada pelo teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de comparações múltiplas de Dunn. Em todas as análises estatísticas, considerou-se significativo um valor de probabilidade P menor que 0,05.

4 RESULTADOS

4 RESULTADOS

4.1 Resultados da determinação da área percentual da PTS coberta por biofilme

Os resultados originais referentes ao percentual de biofilme protético visível de cada PTS, as médias finais por grupo e seus respectivos desvios-padrão antes e após a aplicação dos protocolos de higienização ESC/AD, HIP, ESC+HIP e ESC/HIP, estão apresentados, respectivamente, nas Tabelas A1 a A4 do Anexo III.

Os valores das medianas e intervalos interquartis (IQ) Q1 – Q3 (25-75%) em área percentual de biofilme evidenciado na superfície interna das PTS antes e após os diferentes protocolos de higienização das PTS estão representados na Tabela 1.

Tabela 1 - Valores de médias, desvios-padrão (DP), medianas e intervalos interquartis (IQ) do percentual da área de biofilme protético visível nos grupos de estudo antes e após a aplicação dos protocolos de higienização das PTS

Grupo	ANTES			APÓS		
	Média (DP)	Mediana (IQ)		Média (DP)	Mediana (IQ)	
ESC/AD	72,46 (0,21)	79,00 (0,58-0,86)	Aa	64,94 (0,18)	69,00 (0,53-0,79)	Ab
HIP	63,00 (0,31)	73,50 (0,35-0,88)	Aa	6,90 (0,09)	0,00 (0,00-0,12)	Bb
ESC+HIP	75,42 (0,19)	76,50 (0,69-0,88)	Aa	19,13 (0,25)	6,30 (0,00-0,36)	Bb
ESC/HIP	72,43 (0,13)	70,10 (0,67-0,78)	Aa	0,53 (0,01)	0,00 (0,00-0,00)	Bb

Verticalmente, diferentes letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os grupos de estudo para o mesmo período de avaliação (teste de comparações múltiplas de Bonferroni; $P < 0,05$). Horizontalmente, diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas antes e após a aplicação dos protocolos de higienização das PTS para um mesmo grupo (teste de Wilcoxon; $P < 0,05$).

Não foi observada diferença estatisticamente significativa para os valores medianos de área percentual da superfície interna da PTS coberta por biofilme entre os quatro grupos de estudo ($P > 0,05$) antes da aplicação dos protocolos, caracterizando assim, homogeneidade da amostra selecionada para essa variável.

Considerando cada grupo de estudo de forma isolada, os resultados mostraram redução significativa nos valores medianos da área percentual do biofilme

protético evidenciado na superfície interna das PTS após a aplicação de todos os protocolos de higienização testados ($P<0,05$).

Dentre todos os protocolos de higienização testados, houve uma redução percentual significativamente superior do biofilme evidenciado na superfície interna das PTS para os grupos que utilizaram solução de hipoclorito de sódio a 1% (HIP, ESC+HIP e ESC/HIP) ($P<0,05$), não havendo diferença entre eles ($P>0,05$) (Figura 4). Esse resultado se mostrou coerente com a ausência de biofilme visível na superfície interna de mais da metade das PTS higienizadas ($n=38$) por um dos protocolos com esse desinfetante.

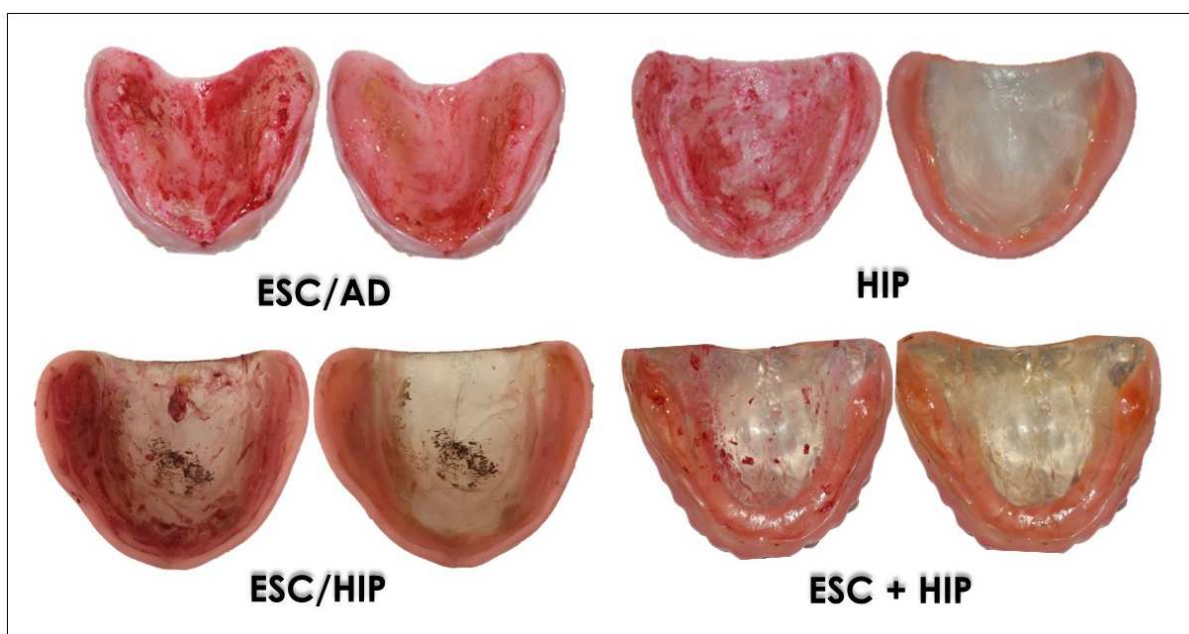


FIGURA 4 - Biofilme corado na superfície interna das PTS antes (esquerda) e após (direita) a aplicação dos seguintes métodos de higienização: ESC/AD, HIP, ESC/HIP, ESC+HIP

4.2 Resultados das Culturas Microbiológicas Quantitativas

Nas Tabelas A1 a A4 estão apresentadas as médias e os desvios-padrão, dos valores originais de UFC/mL referentes às duplicatas das placas de ágar sangue e ágar Sabouraud, respectivamente, das PTS dos pacientes de cada grupo antes e após a aplicação dos diferentes protocolos de higienização. Já as médias, desvios-padrão, mediana, e intervalos interquartis (IQ) dos valores originais de $\log_{10}$ UFC/mL referentes às duplicatas das placas de ágar sangue e ágar Sabouraud para todos os grupos nos dois períodos de avaliação estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Valores em $\log_{10}$ UFC/mL de médias, desvios-padrão (DP), medianas e intervalos interquartis (IQ) das colônias microbianas viáveis nos grupos de estudo antes e após a aplicação dos protocolos de higienização das PTS em ambos os meios de cultura testados

Grupo	Período	Ágar sangue			Ágar Sabouraud		
		Média (DP)	Mediana (IQ)		Média (DP)	Mediana (IQ)	
ESC/AD	Antes	10,72 (1,99)	12,07 (11,62-13,07)	Aa	7,27 (2,21)	8,20 (6,04-8,92)	Aa
	Após	5,57 (1,96)	4,70 (4,07-5,18)	Ab	4,88 (1,88)	5,21 (4,07-5,80)	Ab
HIP	Antes	11,05 (1,14)	12,00 (11,46-12,41)	Aa	7,93 (2,22)	8,38 (5,68-9,20)	Aa
	Após	0,00 (0,00)	0,00 (0,00-0,00)	Bb	0,00 (0,00)	0,00 (0,00-0,00)	Bb
ESC/HIP	Antes	10,74 (2,53)	12,07 (11,62-13,07)	Aa	7,24 (2,11)	7,95 (6,01-9,01)	Aa
	Após	0,00 (1,61)	0,00 (0,00-0,00)	Bb	0,0 (0,0)	0,00 (0,00-0,00)	Bb
ESC+HIP	Antes	11,36 (2,20)	11,53 (10,72-12,18)	Aa	7,24 (2,11)	7,95 (6,01-9,01)	Aa
	Após	0,0 (0,0)	0,00 (0,00-0,00)	Bb	0,0 (0,0)	0,00 (0,00-0,00)	Bb

Desvios-padrão entre parênteses.

Verticalmente, para cada meio de cultura, diferentes letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os grupos de estudo para o mesmo período de avaliação (teste de Kruskal Wallis; $P < 0,05$).

Verticalmente, para cada meio de cultura, diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas antes e após a aplicação dos protocolos de higienização para um mesmo grupo de estudo (teste de Wilcoxon; $P < 0,05$).

Antes da aplicação dos protocolos, não foi observada diferença estatisticamente significativa para os valores medianos de $\log_{10}$ UFC/mL entre os quatro grupos de estudo ($P>0,05$) para os dois meios de cultura avaliados, caracterizando assim, homogeneidade da amostra selecionada para as culturas microbiológicas quantitativas em ágar sangue e ágar Sabouraud (Tabela 2).

Considerando cada grupo de estudo isoladamente, houve redução significativa ($P<0,05$) nos valores de contagem de colônias microbianas (ágar sangue) e micológicas (ágar Sabouraud) viáveis (medianas de $\log_{10}$ UFC/mL) após a realização de todos protocolos de higienização testados (Tabela 2).

Em comparação ao protocolo de higienização controle (ESC/AD), observou-se, para os dois meios de cultura avaliados, uma redução significativamente superior nos valores medianos de $\log_{10}$ UFC/mL para os grupos que empregaram a solução de hipoclorito de sódio a 1%, independentemente da combinação à escovação ($P<0,05$) e sem diferenças estatisticamente significantes entre eles ($P>0,05$) (Tabela 2). Todos os grupos que utilizaram o agente químico (HIP, ESC+HIP e ESC/HIP) resultaram em ausência de crescimento microbiano e fúngico nas placas de ágar sangue e ágar Sabouraud, respectivamente, referentes a todas as PTS higienizadas (Tabelas A2 a A4), o que está ilustrado na Figura 5.

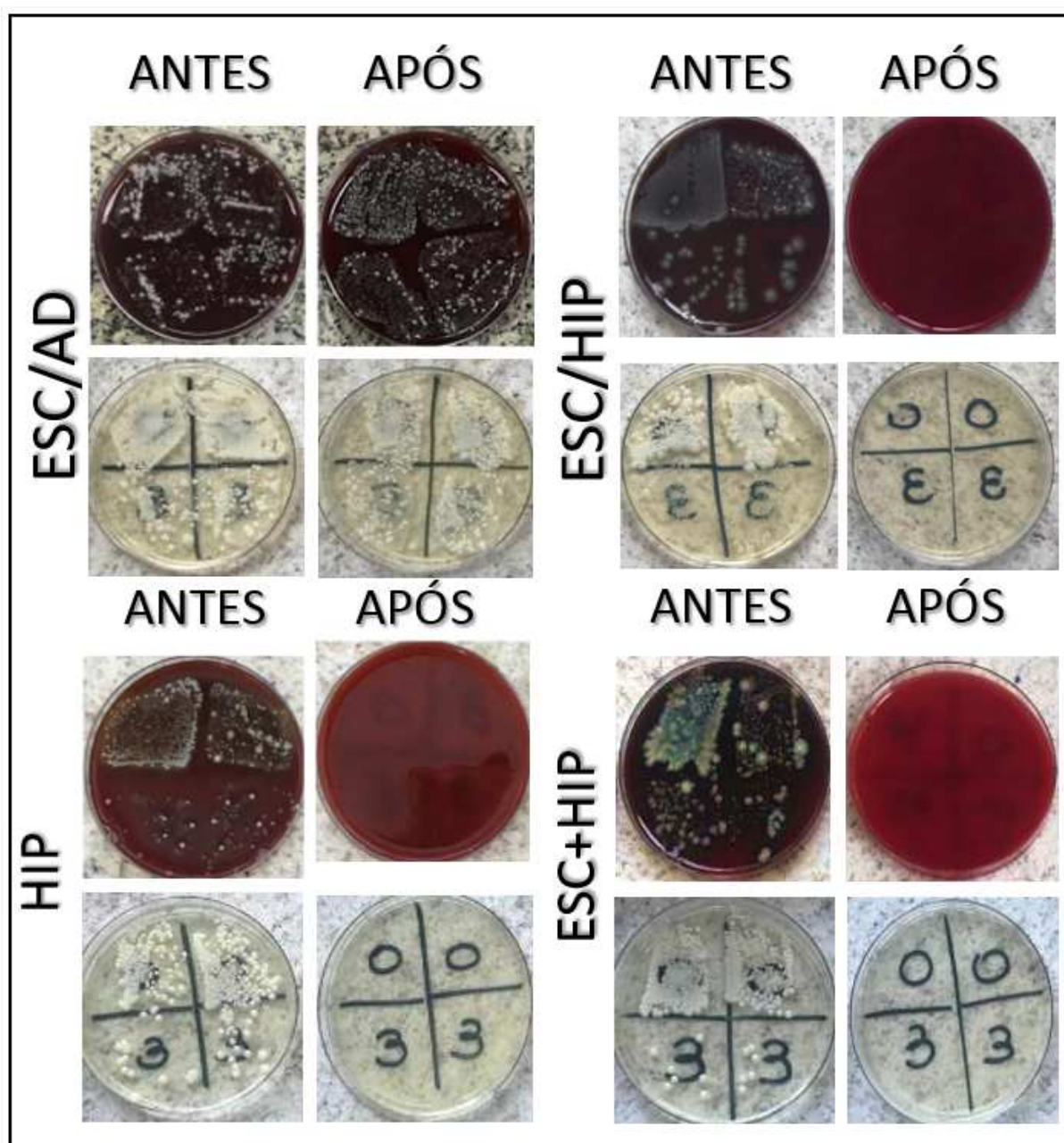


FIGURA 5 - Placas de ágar sangue (superior) e ágar Sabouraud (inferior) representativa de cada grupo de estudo antes e após a aplicação dos protocolos

5 DISCUSSÃO

5 DISCUSSÃO

O impacto direto ou indireto da higiene bucal e limpeza de próteses removíveis na prevenção ou mortalidade da pneumonia tem sido avaliado para idosos residentes na comunidade ou institucionalizados em casas de repouso. Yoneyama et al. (2002) observaram por dois anos 417 pacientes institucionalizados, residentes em clínica geriátrica, pertencentes a dois grupos, um que tinha seus dentes escovados pelo menos uma vez por dia por cuidadores e outro que não solicitava auxílio para esse procedimento. Nos dois grupos, as 163 próteses existentes eram escovadas todos os dias e imersas em uma solução de limpeza (não informada) uma vez por semana. Oitenta por cento dos pacientes foram a óbito após contrair pneumonia, mas a mortalidade foi cerca da metade para aqueles que receberam cuidados bucais, sugerindo que a saúde bucal poderia ter um impacto até mais significativo do que os tratamentos médicos para essa infecção (YONEYAMA et al., 2002). Para investigar os efeitos dos cuidados intensivos de saúde bucal na sensibilidade prejudicada ao reflexo da tosse, Watando et al. (2004) alocaram 60 idosos residentes em casa de repouso em dois grupos, como no estudo de Yoneyama et al. (2002), exceto pelo uso de iodopovidona no grupo de intervenção. Para os pacientes de ambos os grupos, as próteses eram limpas com uma escova específica após cada refeição e com agente de limpeza (não especificado) uma vez por semana por cuidadores. No grupo de intervenção, a sensibilidade ao reflexo da tosse em 30 dias foi significativamente maior em relação ao período inicial e, também, em comparação ao grupo controle. Os autores concluíram que cuidados intensivos em saúde bucal podem reduzir a incidência de pneumonia por resultar em uma sensibilidade melhorada ao reflexo da tosse (WATANDO et al., 2004). Em um estudo em pacientes institucionalizados de uma clínica geriátrica, Bassim et al. (2008) constataram que a chance de morrer de pneumonia no grupo que não recebeu cuidados bucais foi três vezes maior em relação a do grupo que recebeu esses cuidados associados aos de limpeza das próteses, quando presentes (não especificado). Um recente estudo transversal de Kusama et al. (2019) investigou, por meio de um questionário, a história de pneumonia e o hábito de higienizar a prótese em 70.000 idosos residentes na comunidade. Os resultados evidenciaram que a limpeza pouco frequente da prótese (menos que uma vez ao dia)

esteve fortemente associada à incidência de pneumonia no último ano para os idosos avaliados (KUSAMA et al., 2019). 1990).

Apesar dos resultados favoráveis obtidos com os estudos supracitados, não foram mencionadas as soluções de limpeza para prótese utilizadas (BASSIM et al., 2008; YONEYAMA et al., 2002; WATANDO et al., 2004), sendo uma das investigações do tipo transversal (KUSAMA et al., 2019). Além disso, nenhum deles estabeleceu protocolos padronizados e reprodutíveis de higienização das próteses removíveis, testados quanto à sua efetividade em relação a redução do biofilme protético. Por fim, os estudos mencionados tratam de usuários de próteses da comunidade ou residentes em clínicas geriátricas e, portanto, menos susceptíveis a infecções respiratórias que os pacientes hospitalizados. Dessa forma, o objetivo desta pesquisa foi determinar um protocolo efetivo de redução dos microrganismos presentes no biofilme das próteses acrílicas removíveis de pacientes internados em ambiente hospitalar, a partir da avaliação de diferentes métodos do tipo mecânico, e/ou químico, aplicados isoladamente ou em associação. Segundo a metodologia empregada e de acordo com os resultados obtidos, os protocolos de higienização com maior eficiência para a redução dos microrganismos presentes no biofilme protético dos pacientes internados avaliados neste estudo foram aqueles que empregaram imersão em hipoclorito de sódio a 1%, independentemente da associação à escovação.

O hipoclorito de sódio é um dos mais agentes químicos mais antigos e utilizados para limpeza e desinfecção de próteses totais. Esse fato pode ser atribuído à sua ação fungicida e bactericida e capacidade de dissolução de material orgânico, cálculo e mucina, o que resulta em remoção do biofilme protético bem como de manchas presentes na resina acrílica (ABELSON, 1985; BUDTZ-JORGENSEN, 1979; SKUPIEN et al., 2013). Tal remoção, além da redução microbiana, é sempre pretendida nos protocolos de higienização de próteses acrílicas removíveis, uma vez que o biofilme residual, composto por células inviáveis pode atuar como uma fonte de endotoxinas, favorecendo sua rápida recolonização e permitindo a proteção de novos agentes patógenos (LIAQAT; SABRI 2008). Uma possível explicação para a ação de remoção do biofilme pelas soluções de hipoclorito de sódio refere-se ao seu pH alcalino ($\text{pH} > 11$). É conhecido que a maioria dos biofilmes naturais é formada ou começa com uma neutralidade próxima do pH. Valores de pH superiores ou inferiores a 7

representam um efeito preponderante no metabolismo microbiano, interferindo diretamente entre as propriedades superficiais de ligação dos microrganismos e as propriedades dos substratos, sendo capazes de aumentar ou diminuir a repulsão eletrostática entre ambos, alterando a adesão microbiana às superfícies (FUKUZAKI et al., 2006). Dessa forma, sugere-se que o pH alcalino do hipoclorito de sódio pode atuar dissolvendo as células inseridas no biofilme protético, por meio do aumento da repulsão eletrostática entre as mesmas e a superfície do material (FUKUZAKI et al., 2006). Por outro lado, uma preocupação constante com o uso de agentes de limpeza de hipoclorito de sódio, é o potencial efeito citotóxico residual apresentado por essas soluções, que acabam ficando impregnadas nas irregularidades e porosidades das resinas acrílicas das bases protéticas após a desinfecção, não sendo completamente removidas após o enxágue. Por isso, concentrações menores, como a de 1% utilizada neste estudo têm sido recomendadas (PROCÓPIO et al., 2018).

A seleção desse agente químico bem como de sua concentração foi realizada com base na efetividade antimicrobiana após um único ciclo de imersão, como demonstrado por estudos disponíveis in vitro (BUERGERS et al., 2008; DA SILVA et al., 2011b; ALTIERI et al., 2013) e in vivo (PAVARINA et al., 2003a). Além disso, quando Felton et al. (2011) relataram o efeito antimicrobiano in vitro desse agente, recomendaram que o período de imersão não excedesse 10 min para evitar danos às próteses removíveis. Isso foi comprovado por diversos estudos que demonstraram a preservação das propriedades das resinas acrílicas (DA SILVA et al., 2008; NEPPELENBROEK et al., 2005; PANARIELLO et al., 2015; PAVARINA et al., 2003c) e dentes artificiais (CAMPANHA et al., 2012; GANDHI et al., 2017; PAVARINA et al., 2003b; PERO et al., 2016; PISANI et al., 2012) em níveis aceitáveis clinicamente após a imersão em ciclos sucessivos de 10 min em hipoclorito de sódio a 1%. Apesar dos resultados favoráveis obtidos com a solução química nesta investigação, as comparações com outros estudos poderão apenas ser estabelecidas de maneira indireta, haja vista as diferentes condições ou métodos para a avaliação da efetividade antimicrobiana. Altieri et al. (2013) observaram, pelo método da viabilidade celular do XTT, uma redução de 100% no metabolismo do biofilme maduro de *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina sobre superfícies de espécimes de resina acrílica para base de prótese após uma única imersão por 10 min em hipoclorito de sódio a 1%. Esse mesmo protocolo foi considerado previamente como o mais eficaz contra

biofilme de *Candida albicans* em espécimes de resina acrílica, sendo a solução sugerida como agente de escolha para limpeza de próteses (DA SILVA et al., 2011b). Os autores constataram, por análises de viabilidade em microscopia confocal a laser, que a imersão no desinfetante por 10 min resultou não apenas na inativação das células remanescentes do biofilme, mas também em sua remoção. Ainda, observaram, por meio de imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV), que um ciclo único de imersão em hipoclorito de sódio a 1% promoveu alterações na morfologia celular semelhantes às invaginações (DA SILVA et al., 2011), que podem estar associadas à perda da integridade da membrana celular e liberação de conteúdo citoplasmático pela ação da solução alcalina (ESTRELA et al., 2002; FUKUZAKI et al., 2006). Similarmente, outros autores (BUERGERS et al., 2008), que também utilizaram imagens de MEV em associação a ensaio bioluminométrico para quantificação celular, concluíram que a imersão em hipoclorito de sódio a 1% por 10 min foi efetiva contra a colonização de *C. albicans* sobre espécimes de material resiliente para base de prótese.

Na busca por um protocolo de desinfecção efetivo para prevenir a contaminação cruzada entre o laboratório protético e o consultório, Pavarina et al. (2003) observaram inativação dos microrganismos presentes nas próteses de todos os pacientes avaliados após a escovação por 1 min com digluconato de clorexidina seguida da imersão por hipoclorito de sódio a 1% por 10 min. No entanto, a efetividade dos protocolos foi avaliada apenas por ausência ou presença de crescimento microbiológico em caldo líquido nutriente, evidenciada por meio de sua turbidez, não tendo sido realizado semeadura e contagem dos microrganismos viáveis. Considerando os achados dos estudos supracitados, é possível observar, dentro das limitações metodológicas, sua concordância em relação a efetividade dos protocolos de higienização adotados nesta pesquisa com a solução de hipoclorito de sódio.

No presente estudo, não houve diferença estatisticamente significativa para a efetividade de redução de área percentual e de microrganismos do biofilme protético quando a solução de hipoclorito de sódio a 1% por 10 min foi utilizada isoladamente ou em associação ao método mecânico da escovação com água destilada ou o próprio agente químico. Diferentemente dos resultados obtidos nesta investigação, alguns autores encontraram maior efetividade antimicrobiana quando a imersão em hipoclorito de sódio a 1% foi associada ao método mecânico (PELLIZZARO et al.,

2012). Por meio de ensaio do XTT, Pellizzaro et al. (2012) analisaram a viabilidade celular do biofilme de *C. albicans* em espécimes de resina acrílica para base de prótese, sendo observada redução de 88% e 100% quando as amostras foram, respectivamente, escovadas pela solução por 90 s ou escovadas e imersas no desinfetante pelo mesmo período (PELLIZZARO et al., 2012). Embora os autores tenham utilizado o mesmo agente químico e em igual concentração, aquele estudo foi realizado em condições in vitro, com um biofilme de uma única espécie microbiana, sendo o protocolo de higienização diferente, com tempo de imersão inferior ao desta investigação. Além disso, a metodologia para avaliação da efetividade antimicrobiana da solução adotada pelos autores (ensaio de redução do XTT) foi distinta da empregada neste estudo (contagem de microrganismos viáveis). Panariello et al. (2016) demonstrou que, embora células de um biofilme multiespécie (*C. albicans*, *Candida glabrata* e *Staphylococcus mutans*) em espécimes acrílicos tenham demonstrado alguma atividade metabólica pelo método do XTT após escovação hipoclorito a 1% por 10 s seguida ou não da imersão no agente (10 s), a contagem de colônias mostrou que esses microrganismos não sobreviveram e reproduziram em meio de cultura em até 48 h de incubação. Os resultados favoráveis obtidos com o hipoclorito de sódio na presente investigação sugerem a eficácia antimicrobiana da imersão no agente químico para a higienização de próteses totais de indivíduos internados, sem a obrigatoriedade da escovação como parte do protocolo operacional do hospital, o que representaria uma importante redução de custos a essas instituições e de tempo aos profissionais envolvidos nessas ações (CAMPOS et al., 2009).

Na presente pesquisa, o grupo controle representado pelo método mecânico da escovação realizado com água destilada promoveu uma redução significativa na contagem total dos microrganismos viáveis do biofilme protético, não havendo diferenças entre eles. Entretanto, a eficácia desses protocolos de higienização foi significativamente inferior àquela demonstrada pelos grupos que utilizaram a solução de hipoclorito de sódio a 1%, como previamente mencionado. Esses resultados puderam ser comprovados com a presença de crescimento visível nas placas de ágar sangue e ágar Sabouraud referentes a maioria das próteses após o protocolo do grupo controle. Similarmente, quando a escovação com água utilizada isoladamente foi comparada à associação a agentes químicos de limpeza para próteses, outros autores

observaram in vitro maior viabilidade de biofilme de *C. albicans* (PELLIZZARO et al., 2012) e maior crescimento fúngico (ASLANIMEHR et al., 2018). Apesar de ser o método de limpeza mais utilizado pelos usuários de prótese, clinicamente, a escovação empregada de forma isolada com água (CRUZ et al., 2011; DUYCK et al., 2016; PARANHOS et al., 2007), não mostrou ser um método efetivo para redução do biofilme protético.

Quando inseridos em uma comunidade do tipo biofilme, os microrganismos se tornam parcialmente protegidos das forças de cisalhamento da escova dental, minimizando sua ação (BAENA-MONROY et al., 2005). Outro fator que dificulta a limpeza é a presença de irregularidades e porosidades na resina acrílica das bases protéticas (DUYCK et al., 2016). Ainda, há a possibilidade de abrasão das cerdas da escova causar danos e desgaste aos materiais para base de prótese e dentes artificiais, o que é dependente do tipo de escova e/ou dentífrício/sabão (FREITAS-PONTES; SILVA-LOVATO; PARANHOS, 2009; POLICASTRO et al., 2016). Tais alterações resultam em perda de brilho superficial e aumento de rugosidade, tornando o controle e a remoção do biofilme ainda mais difíceis (HARRISON; JOHNSON; DOUGLAS, 2004). Dessa forma, apesar de serem os métodos de limpeza mais utilizados pelos usuários de próteses removíveis, a escovação com sabão neutro (BARNABE et al., 2004) e creme dental (NEPPELENBROEK et., 2008), não mostrou ser um método efetivo para redução do biofilme protético em pacientes hospitalizados. Esse resultado reforça a necessidade de um protocolo além daquele caseiro de rotina para a higienização das próteses acrílicas em ambiente hospitalar.

Muitos hospitais, como o coparticipante desta pesquisa, ainda não possuem protocolos de higiene oral nem profissionais treinados em seu corpo clínico para realizar os cuidados de saúde bucal de seus pacientes. Tais procedimentos são relevantes não apenas aos pacientes de UTI, mas para os internados em enfermaria que, como comentado previamente, se mantém em sua grande maioria com as próteses removíveis em uso, incluindo os participantes desta investigação. Pela clara associação entre doenças bucais e sistêmicas e, considerando que as próteses removíveis se constituem em um nicho microbiano com alta concentração de patógenos respiratórios, é imprescindível a adoção de protocolos de higienização que visem a redução do biofilme protético, sobretudo nos indivíduos idosos e fragilizados pela hospitalização, em razão da maior predisposição às infecções respiratórias.

Para uma efetiva redução do biofilme protético de pacientes hospitalizados, de acordo com os dois parâmetros de avaliação estudados, os resultados desta investigação convergiram para os protocolos com solução de hipoclorito de sódio a 1%. Considerando a média de idade dos pacientes deste estudo (78 anos), é possível supor que muitos deles puderam ser beneficiados não apenas em relação ao restabelecimento de melhores condições de saúde bucal, mas pela própria prevenção de infecções respiratórias originadas no biofilme protético, sobretudo a pneumonia aspirativa. Neste contexto, vale considerar a simples imersão das próteses acrílicas em hipoclorito de sódio a 1% por 10 min não se mostrou significativamente diferente do método combinado à escovação com água destilada. Tal protocolo pode representar melhor um método de fácil execução, rápido e de custo mais acessível aos hospitais (sem escovação) durante a internação do paciente, com a vantagem adicional de ampliar sua aplicação, quando comparado ao uso de outras soluções como as de hipoclorito de sódio, por sua compatibilidade com os componentes metálicos das próteses parciais removíveis (DAVI; FELIPUCCI, 2012). Por fim, secundariamente, a adoção de um protocolo padrão e efetivo como o sugerido por este estudo pode acarretar em menor tempo de internação do paciente tanto pela prevenção de infecções associadas ao biofilme protético quanto pela redução do curso de virulência de uma doença pulmonar previamente instalada, levando a menores custos com hospitalização. Para a recomendação segura dos protocolos sugeridos nesta investigação, são necessários estudos futuros envolvendo mais centros hospitalares, podendo ser adotados outros métodos mais específicos para detecção de patógenos respiratórios presentes no biofilme protético

6 CONCLUSÕES

6 CONCLUSÕES

De acordo com a metodologia aplicada e com base nas condições experimentais do presente estudo clínico randomizado, foi possível concluir que:

- Todos os protocolos de higienização testados resultaram em redução significativa das bactérias e fungos presentes no biofilme das próteses totais removíveis dos pacientes internados, entretanto, aqueles que empregaram a solução de hipoclorito de sódio a 1% foram significativamente mais efetivos;
 - A eficácia da solução de hipoclorito de sódio a 1% na redução dos microrganismos do biofilme protético, tanto no meio de cultura ágar sangue quanto no ágar Sabouraud, não foi significativamente alterada pela escovação com o próprio desinfetante ou pela associação à prévia escovação com água destilada, sugerindo que uma única imersão no agente químico por 10 min pode ser considerada uma opção viável, simples, de baixo custo e efetiva para a higienização de prótese totais de pacientes internados, visando a prevenção de infecções respiratórias, em especial a pneumonia aspirativa, bem como um curso menos virulento das doenças pulmonares já estabelecidas.
-
-

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

Abelson DC. **Denture plaque and denture cleansers: review of the literature.** Gerodontology. 1985 Oct;1(5):202-6.

Abidia RF. **Oral Care in the Intensive Care Unit: A Review.** J Contemp Dent Pract. 2007 Jan 1;8(1):76-82.

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

Altieri KT, Sanitá PV, Machado AL, Giampaolo ET, Pavarina AC, Vergani CE. **Effectiveness of two disinfectant solutions and microwave irradiation in disinfecting complete dentures contaminated with methicillin-resistant Staphylococcus aureus.** J Am Dent Assoc. 2012 Mar;143(3):270-7.

Aoun G, Berberi A. **Prevalence of Chronic Erythematous Candidiasis in Lebanese Denture Wearers: a Clinico-microbiological Study.** Mater Sociomed. 2017 Mar;29(1):26-29.

Apratim A, Shah SS, Sinha M, Agrawal M, Chhaparia N, Abubakkar A. **Denture hygiene habits among elderly patients wearing complete dentures.** J Contemp Dent Pract. 2013;1;14(6):1161-4.

Aslanimehr M, Mojarad N, Ranjbar S, Aalaei S. **In vitro comparison of the effects of microwave irradiation and chemical and mechanical methods on the disinfection of complete dentures contaminated with Candida albicans.** Dent Res J (Isfahan). 2018 Sep-Oct;15(5):340-346.

Atlas RM. **Handbook of microbiological media** 3 ed.; Boca Raton: CRC Press; 2000:2.051.

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

Barnes CM. **Dental Hygiene Intervention to Prevent Nosocomial Pneumonias.** J Evid Based Dent Pract. 2014 Jun;14 Suppl(103-14).

Bassim CW, Gibson G, Ward T, Paphides BM, Denucci DJ. **Modification of the risk of mortality from pneumonia with oral hygiene care.** J Am Geriatr Soc. 2008;56(9):1601-1607.

Beckett CL, Harbarth S, Huttner B. **Special considerations of antibiotic prescription in the geriatric population.** Clin Microbiol Infect. 2015;21(1):3-9

Berry AM, Davidson PM, Masters J, Rolls K, Ollerton R. **Effects of Three Approaches to Standardized Oral Hygiene to Reduce Bacterial Colonization and Ventilator Associated Pneumonia in Mechanically Ventilated Patients: A Randomised Control Trial.** Int J Nurs Stud. 2011 Jun;48(6):681-8.

Budtz-Jørgensen E. **Clinical aspects of Candida infection in denture wearers.** J Am Dent Assoc. 1978 Mar;96(3):474-9.

Buergers R, Rosentritt M, Schneider-Brachert W, Behr M, Handel G, Hahnel S. **Efficacy of denture disinfection methods in controlling Candida albicans colonization in vitro.** Acta Odontol Scand. 2008 Jun;66(3):174-80.

Calcaterra R, Pasquantonio G, Vitali LA, Nicoletti M, Di Girolamo M, Mirisola C, Prenna M, Condo R, Baggi L. **Occurrence of Candida species colonization in a population of denture-wearing immigrants.** Int J Immunopathol Pharmacol. 2013 Jan-Mar;26(1):239-46.

Calcaterra R, Pasquantonio G, Vitali LA, Nicoletti M, Di Girolamo M, Mirisola C, Prenna M, Condo R, Baggi L. **Occurrence of Candida species colonization in a population of denture-wearing immigrants.** Int J Immunopathol Pharmacol. 2013 Jan-Mar;26(1):239-46.

Campanha NH, Pavarina AC, Jorge JH, Vergani CE, Machado AL, Giampaolo ET. **The effect of long-term disinfection procedures on hardness property of resin denture teeth.** Gerodontology. 2012;29(2):e571-e576.

Campos MAP, Kochenborger C, Da Silva DEF, Teixeira AR, Shinkai RSA. **Effect of repeated microwave disinfection on surface roughness and baseplate adaptation of denture resins polymerized by different techniques.** Rev Odonto Ciência. 2009 Dec; 24 (1): 40-44.

Chan EC, Iugovaz I, Siboo R, et al : **Comparison of two popular methods for removal and killing of bacteria from dentures.** J Can Dent Assoc 1991;57:937-93.

Chan EY, Ruest A, Meade MO, Cook DJ. **Oral Decontamination for Prevention of Pneumonia in Mechanically Ventilated Adults: Systematic Review and Meta-Analysis.** *BMJ.* 2007 Apr 28;334(7599):889.

Chandra J, Mukherjee PK, Leidich SD, Faddoul FF, Hoyer LL, Douglas LJ, et al. **Antifungal resistance of Candidal biofilms formed on denture acrylic in vitro.** *J Dent Res.* 2001;80(3):903-8.

Chau VB, Saunders TR, Pimsler M, Elfring DR. **In-Depth Disinfection of Acrylic Resins.** *J Prosthet Dent.* 1995 Sep;74(3):309-13.

Chong CP, Street PR. **Pneumonia in the elderly: a review of severity assessment, prognosis, mortality, prevention, and treatment.** *South Med J.* 2008 Nov; 101(11):1134- 40; quiz 1132, 1179.

Cicala G, Barbieri MA, Spina E, de Leon J. **A comprehensive review of swallowing difficulties and dysphagia associated with antipsychotics in adults.** *Expert Rev Clin Pharmacol.* 2019 Mar;12(3):219-234.

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

da Silva FC, Kimpara ET, Mancini MN, Balducci I, Jorge AO, Koga-Ito CY. **Effectiveness of six different disinfectants on removing five microbial species and effects on the topographic characteristics of acrylic resin.** *J Prosthodont.* 2008;17(8):627-6.

da Silva LT, Laus AM, Canini SR, Hayashida M. **Evaluation of Prevention and Control Measures for Ventilator-Associated Pneumonia.** *Rev Lat Am Enfermagem.* 2011a Nov- Dec;19(6):1329-36.

da Silva PM, Acosta EJ, Pinto Lde R, Graeff M, Spolidorio DM, Almeida RS, Porto VC. **Microscopical analysis of Candida albicans biofilms on heat-polymerised acrylic resin after chlorhexidine gluconate and sodium hypochlorite treatments.** *Mycoses.* 2011b Nov;54(6):e712-7.

Dağistan S, Aktas AE, Caglayan F, Ayyildiz A, Bilge M. **Differential diagnosis of denture-induced stomatitis, Candida, and their variations in patients using complete denture: a clinical and mycological study.** *Mycoses.* 2009 May;52(3):266-71.

Davenport JC. **The denture surface.** *Br Dent J.* 1972;1;133(3):101-5.

de Andrade IM, Cruz PC, da Silva CH, de Souza RF, Paranhos Hde F, Candido RC, Marin JM, de Souza-Gugelmin MC. **Effervescent tablets and ultrasonic devices against *Candida* and mutans streptococci in denture biofilm.** Gerodontology. 2011 Dec;28(4):264-70.

de Andrade IM, Cruz PC, Silva-Lovato CH, de Souza RF, Souza-Gugelmin MC, Paranhos Hde F. **Effect of chlorhexidine on denture biofilm accumulation.** J Prosthodont. 2012a Jan;21(1):2-6.

de Andrade IM, Silva-Lovato CH, de Souza RF, Pisani MX, de Andrade KM, Paranhos Hde F. **Trial of experimental toothpastes regarding quality for cleaning dentures.** Int J Prosthodont. 2012b Mar-Apr;25(2):157-9.

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. 2015 Dec;32(4):260-6.

DeLegge MH. **Aspiration pneumonia: incidence, mortality, and at-risk populations** JPEN, 26 (2002), pp. S19-S24 discussion S24–S15.

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.** PLoS One 2016;11:e0145837.

Estrela C, Estrela CR, Barbin EL, Spanó JC, Marchesan MA, Pécora JD. **Mechanism of action of sodium hypochlorite.** Braz Dent J. 2002;13(2):113-7.

Everaars B, Weening-Verbree LF, Jerković-Ćosić K, et al. **Measurement properties of oral health assessments for non-dental healthcare professionals in older people: a systematic review.** BMC Geriatr. 2020;20(1):4.

Fisher MA, Taylor GW. **A prediction model for chronic kidney disease includes periodontal disease.** J Periodontol. 2009 Jan;80(1):16-23.

Freitas-Pontes KM, Silva-Lovato CH, Paranhos HF. **Mass loss of four commercially available heat-polymerized acrylic resins after toothbrushing with three different dentifrices.** J Appl Oral Sci. 2009 Mar-Apr;17(2):116-21.

Fukuzaki S. **Mechanisms of actions of sodium hypochlorite in cleaning and disinfection processes.** Biocontrol Sci. 2006 Dec;11(4):147-57.

Gandhi N, Daniel S, Benjamin S, Kurian N, Varghese VS. **Evaluation of Surface Microhardness Following Chemical and Microwave Disinfection of Commercially Available Acrylic Resin Denture Teeth.** J Clin Diagn Res. 2017;11(5):ZC87-ZC91.

Ganz FD, Ofra R, Khalaila R, Levy H, Arad D, Kolpak O, et al. **Translation of Oral Care Practice Guidelines into Clinical Practice by Intensive Care Unit Nurses.** J Nurs Scholarsh. 2013 Dec;45(4):355-62.

GBD 2015 LRI Collaborators. **Estimates of the global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of lower respiratory tract infections in 195 countries: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015.** Lancet Infect Dis. 2017;17(11):1133-1161.

GBD 2016 Lower Respiratory Infections Collaborators. **Estimates of the global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of lower respiratory infections in 195 countries, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016.** Lancet Infect Dis. 2018;18(11):1191-1210. .

Gleeson K, Eggli DF, Maxwell SL. **Quantitative aspiration during sleep in normal subjects.** Chest. 1997;111(5):1266-1272.

Grossi SG, Genco RJ. **Periodontal disease and diabetes mellitus: a two-way relationship.** Ann Periodontol. 1998 Jul;3(1):51-61.

Guimaraes MM, Rocco JR. **Prevalence of Ventilator-Associated Pneumonia in a University Hospital and Prognosis for the Patients Affected.** J Bras Pneumol. 2006 Jul- Aug;32(4):339-46.

Haraszthy VI, Zambon JJ, Trevisan M, Zeid M, Genco RJ. **Identification of periodontal pathogens in atheromatous plaques.** J Periodontol. 2000 Oct;71(10):1554-60.

Harrison Z, Johnson A, Douglas CW. **An in vitro study into the effect of a limited range of denture cleaners on surface roughness and removal of Candida albicans from conventional heat-cured acrylic resin denture base material.** J Oral Rehabil. 2004;31(5):460-467.

Hickling KG, Howard R. **A Retrospective Survey of Treatment and Mortality in Aspiration Pneumonia.** Intensive Care Med. 1988 14(6):617-22.

linuma T, Arai Y, Abe Y, Takayama M, Fukumoto M, Fukui Y, Iwase T, Takebayashi T, Hirose N, Gionhaku N, Komiyama K. **Denture wearing during sleep doubles the risk of pneumonia in the very elderly.** J Dent Res. 2015 Mar;94(3 Suppl):28S-36S.

Janssens JP, Krause KH. **Pneumonia in the very old.** The Lancet infectious diseases. 2004; 4(2): 112-124.

Kanli A, Demirel F, Sezgin Y. **Oral candidosis, denture cleanliness and hygiene habits in an elderly population.** Aging Clin Exp Res. 2005 Dec;17(6):502-7.

Kassebaum NJ, Bernabé E, Dahiya M, Bhandari B, Murray CJ, Marcenes W. **Global Burden of Severe Tooth Loss: A Systematic Review and Meta-analysis.** J Dent Res. 2014;93(7 Suppl):20S-28S.

Knight L, Fletcher J. **Growth of Candida albicans in saliva: stimulation by glucose associated with antibiotics, corticosteroids, and diabetes mellitus.** J Infect Dis. 1971;123(4):371-377.

Koivula I, Sten M, Makela PH. **Risk factors for pneumonia in the elderly.** Am J Med. Apr; 1994 96(4):313–320.

Koopmans AS, Kippuw N, de Graaff J. **Bacterial involvement in denture-induced stomatitis.** J Dent Res. 1988 Sep;67(9):1246-50.

Kudo H, Ide H, Nakabayashi M, Goto T, Wakakuri A, Iwata N, Kuroki Y. **The effectiveness of the complete lateral position method in elderly patients with severe dysphagia].** Nihon Ronen Igakkai Zasshi. 2019;56(1):59-66.

Kusama T, Aida J, Yamamoto T, Kondo K, Osaka K. **Infrequent Denture Cleaning Increased the Risk of Pneumonia among Community-dwelling Older Adults: A Population-based Cross-sectional Study.** Sci Rep. 2019 Sep 24;9(1):13734..

Lanspa MJ, Jones BE, Brown SM, Dean NC. **Mortality, morbidity, and disease severity of patients with aspiration pneumonia.** J Hosp Med. 2013;8(2):83-90.

Liaqat I, Sabri AN. **Effect of biocides on biofilm bacteria from dental unit water lines.** Curr Microbiol. 2008 Jun;56(6):619-24.

Lima EMCS, Moura JS, Del Bel Cury AA, Garcia RC, Cury JA. **Effect of enzymatic and NaOCl treatments on acrylic roughness and on biofilm accumulation.** J Oral Rehabil 2007; 33: 356–62.

López NJ, Smith PC, Gutierrez J. **Higher risk of preterm birth and low birth weight in women with periodontal disease.** J Dent Res. 2002 Jan;81(1):58-63.

Loster BW, Loster J, Wieczorek A, Ryniewicz W. **Mycological analysis of the oral cavity of patients using acrylic removable dentures.** Gastroenterol Res Pract. 2012;2012:951572.

Loster BW, Loster J, Wieczorek A, Ryniewicz W. **Mycological analysis of the oral cavity of patients using acrylic removable dentures.** Gastroenterol Res Pract. 2012;2012:951572.

Mah TFC, O'Toole GA. **Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents.** Trends in Microbiology. 2001;9(1):34-9.

Manabe T, Teramoto S, Tamiya N, Okochi J, Hizawa N. **Risk Factors for Aspiration Pneumonia in Older Adults.** PLoS One. 2015;10(10):e0140060.

Mandell LA, Niederman MS. **Aspiration Pneumonia.** N. Engl. J. Med. 2019 Feb 14;380(7):651-663.

Marik PE, Kaplan D. **Aspiration pneumonia and dysphagia in the elderly.** Chest 2003; 124: 328–336.

Mattevi GS, Figueiredo Dde R, Patricio ZM, Rath IB. **[the Participation of the Dental Surgeon in the Multidisciplinary Health Team for Child Care in the Hospital Context].** Cien Saude Colet. 2011 Oct;16(10):4229-36

Mercado FB, Marshall RI, Klestov AC, Bartold PM. **Relationship between rheumatoid arthritis and periodontitis.** J Periodontol. 2001 Jun;72(6):779-87

Moffa EB, Izumida FE, Jorge JH, Mussi MC, Siqueira WL, Giampaolo ET. **Effectiveness of chemical disinfection on biofilms of relined dentures: A randomized clinical trial.** Am J Dent. 2016 Feb;29(1):15-9.

Moine P, Vercken JB, Chevret S, Chastang C, Gajdos P. **Severe community-acquired pneumonia. Etiology, epidemiology, and prognosis factors.** French Study Group for Community-Acquired Pneumonia in the Intensive Care Unit. Chest. 1994;105(5):1487- 1495.

Moraes GS, Albach T, Ramos IE, Kopacheski MG, Cachoeira VS, Sugio CYC, Galvão Arrais CA, Neppelenbroek KH, Urban VM. **A novel acrylic resin palatal device**

contaminated with *Candida albicans* biofilm for denture stomatitis induction in Wistar rats. J Appl Oral Sci. 2021 Apr 19;29:e20200865.

Munro CL, Grap MJ. **Oral Health and Care in the Intensive Care Unit: State of the Science.** Am J Crit Care. 2004 Jan;13(1):25-33; discussion 4.

Nakajima N, Aiba M, Fukuda Y, Boku S, Isonuma H, Tsuda H, Hayashida Y. Nihon Ronen Igakkai Zasshi. 2009;46(1):71–8.

Neill S, Dean N. **Aspiration pneumonia and pneumonitis: a spectrum of infectious/noninfectious diseases affecting the lung.** Curr. Opin. Infect. Dis. 2019 Apr;32(2):152-1577

Neppelenbroek KH, Pavarina AC, Palomari Spolidorio DM, Sgavioli Massucato EM, Spolidorio LC, Vergani CE. **Effectiveness of microwave disinfection of complete dentures on the treatment of *Candida*-related denture stomatitis.** J Oral Rehabil. 2008 Nov;35(11):836-46.

Neppelenbroek KH, Pavarina AC, Vergani CE, Giampaolo ET. **Hardness of heat-polymerized acrylic resins after disinfection and long-term water immersion.**J Prosthet Dent. 2005 Feb;93(2):171-6.

Nishi Y, Seto K, Kamashita Y, Take C, Kurono A, Nagaoka E. **Examination of denture- cleaning methods based on the quantity of microorganisms adhering to a denture.** Gerodontology. 2012 Jun;29(2):e259-66.

Ochoa-Gondar O, Vila-Córcoles A, de Diego C, et al. **The burden of community-acquired pneumonia in the elderly: the Spanish EVAN-65 study.** BMC Public Health. 2008;8:222. Published 2008 Jun 27.

O'Donnell LE, Smith K, Williams C, Nile CJ, Lappin DF, Bradshaw D, Lambert M, Robertson DP, Bagg J, Hannah V, Ramage G. **Dentures are a Reservoir for Respiratory Pathogens.** J Prosthodont. 2016 Feb;25(2):99-104

Osmari D, Fraga S, Braun KO, Unfer B. **Behaviour of the Elderly with Regard to Hygiene Procedures for and Maintenance of Removable Dentures.** Oral Heal Prev Dent. 2016;14(1):21-6.

Paju S, Scannapieco FA. **Oral Biofilms, Periodontitis, and Pulmonary Infections.** Oral Dis. 2007 Nov;13(6):508-12.

Panariello BH, Izumida FE, Moffa EB, Pavarina AC, Jorge JH, Giampaolo ET. **Effect of mechanical toothbrushing combined with different denture cleansers in reducing the viability of a multispecies biofilm on acrylic resins.** Am J Dent. 2016 Jun;29(3):154-60

Panariello BH, Izumida FE, Moffa EB, Pavarina AC, Jorge JH, Giampaolo ET. **Effects of short-term immersion and brushing with different denture cleansers on the roughness, hardness, and color of two types of acrylic resin.** Am J Dent. 2015;28(3):150-156.

Panzeri H, Lara EH, Paranhos Hde F, Lovato da Silva CH, de Souza RF, de Souza Gugelmin MC, Tirapelli C, Cruz PC, de Andrade IM. **In vitro and clinical evaluation of specific dentifrices for complete denture hygiene.** Gerodontology. 2009 Mar;26(1):26- 33.

Papadiochou S, Polyzois G. **Hygiene practices in removable prosthodontics: A systematic review.** International Journal of Dental Hygiene. 2018;16(2):179-201

Paranhos HF, Peracini A, Pisani MX, Oliveira Vde C, de Souza RF, Silva-Lovato CH. **Color stability, surface roughness and flexural strength of na acrylic resin submitted to simulated overnight immersion in denture cleansers.** Braz Dent J. 2013;24(2):152-6.

Pavarina AC, Machado AL, Giampaolo ET, Vergani CE. **Effects of chemical disinfectants on the transverse strength of denture base acrylic resins.** J Oral Rehabil. 2003c;30(11):1085-1089. doi:10.1046/j.1365-2842.2003.01150.x

Pavarina AC, Neppelenbroek KH, Guinesi AS, Vergani CE, Machado AL, Giampaolo ET. **Effect of microwave disinfection on the flexural strength of hard chairside reline resins.** J Dent. 2005 Oct;33(9):741-8.

Pavarina AC, Pizzolitto AC, Machado AL, Vergani CE, Giampaolo ET. **An infection control protocol: effectiveness of immersion solutions to reduce the microbial growth on dental prostheses.** J Oral Rehabil. 2003a May;30(5):532-6.

Pavarina AC, Vergani CE, Machado AL, Giampaolo ET, Teraoka MT. **The effect of disinfectant solutions on the hardness of acrylic resin denture teeth.** J Oral Rehabil. 2003b;30(7):749-752.

Pawashe KG, Tewary S, Sanyal PK, Nilesh K. **An In vitro Comparative Evaluation of Disinfectants on Standard and Clinical Microbial Strains on Heat Cure Resins.** J Clin Diagn Res. 2017 May;11(5):ZC54-ZC58.

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.** Braz Dent J. 2012;23(5):547-54.

Pereira-Cenci T, Del Bel Cury AA, Crielaard W, Ten Cate JM. **Development of Candida-associated denture stomatitis: new insights.** J Appl Oral Sci. 2008;16(2):86-94.

Pero AC, Scavassin PM, Nunes ÉM, Policastro VB, Giro G, Compagnoni MA. **Bond Strength of Artificial Teeth Attached to a Microwave-Polymerized Denture Base Resin after Immersion in Disinfectant Solutions.** J Prosthodont. 2016;25(7):576-579.

Pina GDMS, Lia EN, Berretta AA, Nascimento AP, Torres EC, Buszinski AFM, et al. **Efficacy of Propolis on the Denture Stomatitis Treatment in Older Adults: A Multicentric Randomized Trial.** Evidence-based Complement Altern Med. 2017;2017:8971746.

Pires CW, Fraga S, Beck AC, Braun KO, Peres PE. **Chemical Methods for Cleaning Conventional Dentures: What is the Best Antimicrobial Option? An In Vitro Study.** Oral Health Prev Dent. 2017;15(1):73-77.

Pisani MX, Macedo AP, Paranhos Hde F, Silva CH. **Effect of experimental Ricinus communis solution for denture cleaning on the properties of acrylic resin teeth.** Braz Dent J. 2012;23(1):15-2

Policastro VB, Giro G, Leite AR, Mendoza-Marin DO, Paleari AG, Compagnoni MA, Pero AC. **In Vitro Assessment of the Abrasion Resistance of Two Types of Artificial Teeth Submitted to Brushing.** J Prosthodont. 2016 Aug;25(6):485-8.

Prakash B, Shekar M, Maiti B, Karunasagar I, Padiyath S. **Prevalence of Candida spp. among healthy denture and nondenture wearers with respect to hygiene and**

Procópio ALF, da Silva RA, Maciel JG, Sugio CYC, Soares S, Urban VM, et al. **Antimicrobial and cytotoxic effects of denture base acrylic resin impregnated with cleaning agents after long-term immersion.** Toxicol Vitr. 2018;52:8-13.

Przybyłowska D, Mierzwińska-Nastalska E, Rubinsztajn R, Chazan R, Rolski D, Swoboda-Kopeć E. **Influence of denture plaque biofilm on oral mucosal membrane in patients with chronic obstructive pulmonary disease.** Adv Exp Med Biol. 2015;839:25-30.

Ramage G, Tomsett K, Wickes BL, López-Ribot JL, Redding SW. **Denture stomatitis: A role for Candida biofilms.** Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology. 2004; 174(1):11-19.

Reza Shariatzadeh M, Huang JQ, Marrie TJ. **Differences in the features of aspiration pneumonia according to site of acquisition: community or continuing care facility.** J Am Geriatr Soc. 2006;54(2):296-302.

Ribeiro DG, Pavarina AC, Dovigo LN, Machado AL, Giampaolo ET, Vergani CE. **Prevalence of Candida spp. associated with bacteria species on complete dentures.** Gerodontology. 2012 Sep;29(3):203-8

Rossetto C, Soares JV, Brandão ML, Rosa NG, Rosset I. **Causes of hospital admissions and deaths among Brazilian elders between 2005 and 2015.** Rev Gaúcha Enferm. 2019;40e20190201.

Ruma M, Boggess K, Moss K, Jared H, Murtha A, Beck J, Offenbacher S. **Maternal periodontal disease, systemic inflammation, and risk for preeclampsia.** Am J Obstet Gynecol. 2008 Apr;198(4):389.e1-5. doi: 10.1016/j.ajog.2007.12.002.

Russell FM, Biribo SS, Selvaraj G, Oppedisano F, Warren S, Seduadua A, Mulholland EK, Carapetis JR. **As a bacterial culture medium, citrated sheep blood agar is a practical alternative to citrated human blood agar in laboratories of developing countries.** J Clin Microbiol. 2006 Sep;44(9):3346-51.

Saddki N, Mohamad Sani FE, Tin-Oo MM. **Oral Care for Intubated Patients: A Survey of Intensive Care Unit Nurses.** Nurs Crit Care. 2014 Oct 28.

Sahyoun NR, Lentzner H, Hoyert D, Robinson KN. **Trends in causes of death among the elderly.** Aging trends. 2001 (1): 1-10.

Sakashita R, Takami M, Ono H, et al. **Preventing Aspiration Pneumonia among the Elderly: A Eeview Focused on the Impact of the Consistency of Food Substances Springer Japan, Tokyo (2015), pp. 335-351.**

Salles AE, Macedo LD, Fernandes RA, Silva-Lovato CH, Paranhos Hde F. **Comparative analysis of biofilm levels in complete upper and lower dentures after brushing associated with specific denture paste and neutral soap.** Gerodontology. 2007 Dec;24(4):217-23.

Salles MM, Badaró MM, Arruda CN, Leite VM, Silva CH, Watanabe E, Oliveira Vde C, Paranhos Hde F. **Antimicrobial activity of complete denture cleanser solutions**

based on sodium hypochlorite and *Ricinus communis* - a randomized clinical study. *J Appl Oral Sci.* 2015 Nov-Dec;23(6):637-42.

Shay K. **Denture hygiene: a review and update.** *J Contemp Dent Pract.* 2000;1(2):28-41. Published 2000 Feb 15.

Sheridan PJ, Koka S, Ewoldsen NO, Lefebvre CA, Lavin MT. **Cytotoxicity of denture base resins.** *Int J Prosthodont.* 1997 Jan-Feb;10(1):73-7.

Shi T, Denouel A, Tietjen AK, et al. **Global and Regional Burden of Hospital Admissions for Pneumonia in Older Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis** [published online ahead of print, 2019 Mar 8]. *J Infect Dis.* 2019;jiz053.

Silva MM, Mima EG, Colombo AL, Sanitá PV, Jorge JH, Massucato EM, Vergani CE. **Comparison of denture microwave disinfection and conventional antifungal therapy in the treatment of denture stomatitis: a randomized clinical study.** *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2012 Oct;114(4):469-79.

Sjögren P, Nilsson E, Forsell M, Johansson O, Hoogstraate J. **A systematic review of the preventive effect of oral hygiene on pneumonia and respiratory tract infection in elderly people in hospitals and nursing homes: effect estimates and methodological quality of randomized controlled trials.** *J Am Geriatr Soc.* 2008;56(11):2124-2130.

Skupien JA, Valentini F, Boscato N, Pereira-Cenci T. **Prevention and treatment of *Candida* colonization on denture liners: a systematic review.** *J Prosthet Dent.* 2013 Nov;110(5):356-62.

Sumi Y, Kagami H, Ohtsuka Y, Kakinoki Y, Haruguchi Y, Miyamoto H. **High correlation between the bacterial species in denture plaque and pharyngeal microflora.** *Gerodontology.* 2003 Dec;20(2):84-7.

Sumi Y, Miura H, Sunakawa M, Michiwaki Y, Sakagami N. **Colonization of denture plaque by respiratory pathogens in dependent elderly.** *Gerodontology.* 2002 Jul;19(1):25-9.

Sun T, Sun L, Wang R, Ren X, Sui DJ, Pu C, Ren Y, Liu Y, Yang Z, Li F. **Clinical efficacy and safety of moxifloxacin versus levofloxacin plus metronidazole for community-acquired pneumonia with aspiration factors.** *Chin Med J.* 2014;127(7):1201-5.

Takeuchi K, Izumi M, Furuta M, et al. **Association between posterior teeth occlusion and functional dependence among older adults in nursing homes in Japan.** *Geriatr Gerontol Int.* 2017;17(4):622-627.

Takeuchi K, Izumi M, Furuta M, et al. **Posterior Teeth Occlusion Associated with Cognitive Function in Nursing Home Older Residents: A Cross-Sectional Observational Study.** *PLoS One.* 2015;10(10):e0141737. Published 2015 Oct 29

Teramoto S, Fukuchi Y, Sasaki H, Sato K, Sekizawa K, Matsuse T. **High incidence of aspiration pneumonia in community- and hospital-acquired pneumonia in hospitalized patients: a multicenter, prospective study in Japan.** *J Am Geriatr Soc* 2008; 56: 577– 579.

Teramoto S, Yoshida K, Hizawa N. **Update on the pathogenesis and management of pneumonia in the elderly-roles of aspiration pneumonia.** *Respir Investig.* 2015;53(5):178-184.

Terezakis E, Needleman I, Kumar N, Moles D, Agudo E. **The impact of hospitalization on oral health: a systematic review.** *Journal of clinical periodontology.* 2011; 38(7): 628-636.

Terpenning M. **Geriatric oral health and pneumonia risk.** *Clin Infect Dis.* 2005;40(12):1807-1810.

Terpenning MS, Taylor GW, Lopatin DE, Kerr CK, Dominguez BL, Loesche WJ. **Aspiration Pneumonia: Dental and Oral Risk Factors in an Older Veteran Population.** *J Am Geriatr Soc.* 2001 May;49(5):557-63.

Torres A, Serra-Batlles J, Ferrer A, et al. **Severe community-acquired pneumonia. Epidemiology and prognostic factors.** *Am Rev Respir Dis.* 1991;144(2):312-318.

Watando A, Ebihara S, Ebihara T, et al. **Daily oral care and cough reflex sensitivity in elderly nursing home patients.** *Chest.* 2004;126(4):1066-1070.

Wu CP, Chen YW, Wang MJ, Pinelis E. **National trends in admission for aspiration pneumonia in the United States, 2002-2012.** *Ann Am Thorac Soc.* 2017;14(6):874-879.

Yanagisawa S, Yoshioka M, Shirayama Y. **Survey on Nursing Home Caregivers' Basic Knowledge of Oral Health Management: Dental Terminology.** *Dent J (Basel).* 2018;6(3):28. Published 2018 Jul 2.

Yoneyama T, Yoshida M, Ohrui T, et al. **Oral care reduces pneumonia in older patients in nursing homes.** J Am Geriatr Soc. 2002;50(3):430-433.

ANEXOS

ANEXO I – PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA FOB-USP

USP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE BAURU DA
USP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efetividade antimicrobiana de diferentes protocolos de higienização de próteses totais em pacientes internados em ambiente hospitalar

Pesquisador: JANAINA GOMES MACIEL

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 02314318.1.0000.5417

Instituição Proponente: Universidade de São Paulo

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.909.489

Apresentação do Projeto:

Serão coletadas dos prontuários as principais informações relacionadas de 340 pacientes selecionados que possam interferir com a qualidade e quantidade de biofilme protético: idade, sexo, hipótese diagnóstica, tempo de internação e uso de antibióticos, antifúngicos e esteroides. Especificamente em relação aos antibióticos e antifúngicos serão anotados o tipo (nome do sal) e dia de tratamento no qual o paciente se encontra no momento da coleta do biofilme para o estudo.

Objetivo da Pesquisa:

Comparar diferentes protocolos de higienização de próteses removíveis acrílicas, especificamente as totais superiores, de pacientes internados em hospital, visando determinar aquele com maior eficiência na redução dos microrganismos presentes no biofilme protético.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

A aplicação dos métodos de limpeza nas dentaduras não oferece risco direto ao participante, pois eles serão realizados fora de boca, sendo as próteses completamente enxaguadas de qualquer resíduo de produto antes da devolução. Esses métodos são considerados seguros pelos tempos escolhidos neste estudo, sendo recomendados para limpeza caseira de rotina da prótese.

Benefícios:

Endereço: DOUTOR OCTAVIO PINHEIRO BRISOLLA 75 QUADRA 9

Bairro: VILA NOVA CIDADE UNIVERSITÁRIA **CEP:** 17.012-901

UF: SP **Município:** BAURU

Telefone: (14)3235-8356

Fax: (14)3235-8356

E-mail: cep@fob.usp.br

USP - FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU DA USP



Continuação do Parecer: 2.909.489

A concordância do participante com esta pesquisa poderá trazer benefícios como um método de limpeza efetivo para sua dentadura que ele poderá usar como rotina em sua casa, pois é fácil de aplicar e com custo baixo. Com a remoção adequada dos microrganismos da dentadura, o participante irá prevenir-se de infecções de boca e, até mesmo, de outras de ordem geral. Na observação de condições insatisfatórias da dentadura superior, o

responsável pela pesquisa encaminhará o participante ao Setor de Triagem da FOB-USP para a realização de tratamento protético. Além disso, o participante ganhará escova de dente para limpeza de sua dentadura bem como será instruído quanto à realização correta desse procedimento. Também será devidamente orientado em relação à higiene da gengiva, língua, dentes (quando presentes) e outras próteses (se houverem).

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Todas as pendências apontadas o parecer 2.812.895 foram esclarecidas.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os Termos obrigatórios forma apresentados

Recomendações:

Sem recomendações

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências

Considerações Finais a critério do CEP:

Esse projeto foi considerado APROVADO na reunião ordinária do CEP de 19/09/2018, com base nas normas éticas da Resolução CNS 466/12. Ao término da pesquisa o CEP-FOB/USP exige a apresentação de relatório final. Os relatórios parciais deverão estar de acordo com o cronograma e/ou parecer emitido pelo CEP. Alterações na metodologia, título, inclusão ou exclusão de autores, cronograma e quaisquer outras mudanças que sejam significativas deverão ser previamente comunicadas a este CEP sob risco de não aprovação do relatório final. Quando da apresentação deste, deverão ser incluídos todos os TCLEs e/ou termos de doação assinados e rubricados, se pertinentes.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_P	14/08/2018		Aceito

Endereço: DOUTOR OCTAVIO PINHEIRO BRISOLLA 75 QUADRA 9

Bairro: VILA NOVA CIDADE UNIVERSITARIA CEP: 17.012-901

UF: SP Município: BAURU

Telefone: (14)3235-8356

Fax: (14)3235-8356

E-mail: cep@fob.usp.br

**USP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE BAURU DA
USP**



Continuação do Parecer: 2.909.482

Básicas do Projeto	ETO_1142820.pdf	22:16:26		Aceito
Outros	Oficio_resposta.pdf	14/08/2018 22:02:57	JANAINA GOMES MACIEL	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_Aquiescencia_Beneficiencia_2.pdf	14/08/2018 22:01:35	JANAINA GOMES MACIEL	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_corrigido.pdf	14/08/2018 21:54:21	JANAINA GOMES MACIEL	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_Aquiescencia_Unimar_2.pdf	14/08/2018 21:25:13	JANAINA GOMES MACIEL	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto_compactada.pdf	14/08/2018 21:00:29	JANAINA GOMES MACIEL	Aceito
Outros	cep_docs_proj_pesquisa_carta_de_encaminhaemento_termo_de_aquiescencia.pdf	18/06/2018 18:57:59	JANAINA GOMES MACIEL	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_CEP.pdf	15/06/2018 20:14:43	JANAINA GOMES MACIEL	Aceito
Declaração de Pesquisadores	declaracao_de_compromisso.pdf	15/06/2018 15:46:50	JANAINA GOMES MACIEL	Aceito
Outros	QuestionarioTecnicoPesquisador.pdf	15/06/2018 01:24:24	JANAINA GOMES MACIEL	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BAURU, 21 de Setembro de 2018

Assinado por:

Ana Lúcia Pompéia Fraga de Almeida
(Coordenador(a))

Endereço: DOUTOR OCTAVIO PINHEIRO BRISOLLA 75 QUADRA 9

Bairro: VILA NOVA CIDADE UNIVERSITARIA CEP: 17.012-901

UF: SP Município: BAURU

Telefone: (14)3235-8356 Fax: (14)3235-8356 E-mail: cep@fob.usp.br

ANEXO II - Termo de aquiescência do Hospital da Base de Bauru

Odontologia Beneficência Portuguesa Bauru
Rua: Rio Branco, 13-83
Cep.: 17015-31. Bauru, SP. Fone: (14) 4009-8622 / Celular 24hs (14) 98164-0055



Bauru, 20 de maio de 2018.

Senhora Coordenadora,

Como parte da documentação solicitada por este Colegiado para a avaliação de projetos de pesquisas envolvendo seres humanos, autorizamos o desenvolvimento da pesquisa **"Efetividade antimicrobiana de diferentes protocolos de higienização de próteses totais em pacientes internados em ambiente hospitalar"** tendo como Responsável Principal Janaína Gomes Maciel e equipe de pesquisa composta por Anna Clara Gurgel Gomes, Paulo Domingos Ribeiro Junior, Graziela Rodrigues da Costa, Leonardo Marques, Letycia Accioly Simões Coelho e Karin Hermana Neppelenbroek nas dependências do Hospital Beneficência Portuguesa de Bauru, SP. A pesquisa tem como objetivo avaliar diferentes protocolos de higienização de próteses totais superiores de pacientes internados em hospital, visando determinar aquele com maior eficiência na redução dos microrganismos presentes no biofilme protético. Assim, será possível estabelecer um protocolo fácil, eficiente, de custo acessível e aplicável em ambiente hospitalar para controle de biofilme protético, visando minimizar riscos de infecções respiratórias, em especial a pneumonia aspirativa.

Declaramos estar ciente da realização da pesquisa bem como a existência de infraestrutura necessária para o seu desenvolvimento e solução de eventuais problemas dela resultantes, nos termos das normas vigentes, e nos comprometemos a cumprir as exigências contidas na Resolução CNS Nº 486, de 12.12.12.

O trabalho só poderá ser iniciado em nossas instalações, após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa, da FOB-USP.

Atenciosamente,

Dr. Paulo Domingos Ribeiro Junior
Cirurgião Bucomaxilofacial
CROSP 56806 CROMS 3269
Responsável pelo Serviço de Cirurgia e Traumatologia
Buco Maxilo Facial e Odontologia do Hospital Beneficência
Portuguesa de Bau

Profª Drª Ana Lúcia Pompéia Fraga de Almeida
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa-FOB-USP

ANEXO III

Tabela A1 - Valores originais, médias finais e respectivos desvios-padrão (DP) de UFC/mL (culturas em ágar sangue e ágar Sabouraud) e dos percentuais de biofilme das PTS dos pacientes do grupo ESC/AD antes e após a aplicação dos protocolos de higienização

Paciente	ANTES			APÓS		
	UFC/mL (Ágar Sabouraud)	UFC/mL (Ágar sangue)	%BIOFILME	UFC/mL (Ágar Sabouraud)	UFC/mL (Ágar sangue)	%BIOFILME
1	1,20E+10	1,60E+12	86,0	1,20E+10	8,00E+08	75,0
2	1,20E+10	1,68E+12	76,8	1,20E+10	1,20E+04	50,0
3	4,00E+08	1,20E+04	100,0	2,60E+08	1,20E+04	97,0
4	1,60E+09	4,20E+11	58,1	9,20E+08	0,00E+00	58,0
5	7,20E+03	8,00E+09	80,7	9,40E+03	8,74E+03	80,7
6	1,20E+07	1,06E+06	90,0	6,80E+06	1,12E+06	68,0
7	1,20E+04	1,20E+08	100,0	1,20E+04	1,20E+04	79,0
8	2,80E+08	6,80E+11	73,1	1,60E+08	9,36E+03	70,0
9	1,20E+10	1,60E+11	58,3	1,20E+10	5,80E+02	50,0
10	8,00E+08	1,90E+12	35,8	9,20E+08	1,20E+04	30,0
11	5,60E+05	4,00E+10	80,0	4,80E+05	8,80E+05	80,0
12	1,00E+09	5,90E+05	80,0	8,20E+08	1,60E+05	80,0
13	1,60E+08	1,90E+12	84,0	1,60E+08	2,06E+09	75,0
14	1,32E+03	3,40E+11	54,7	1,32E+03	2,22E+03	55,0
15	2,00E+08	1,80E+11	31,5	2,80E+08	7,60E+03	30,0
16	2,16E+06	6,08E+12	65,0	2,02E+06	6,46E+03	65,0
17	1,96E+06	1,20E+08	31,1	1,60E+06	1,20E+04	30,0
18	9,60E+05	6,20E+11	86,0	1,48E+06	1,20E+04	78,0
19	1,20E+04	1,60E+11	78,0	1,20E+04	1,20E+04	55,0
20	4,40E+05	6,00E+10	100,0	4,40E+05	4,00E+04	79,0
Média	1,98E+09	7,91E+11	72,4	6,00E+08	1,43E+08	64,9
DP	4,22E+09	1,42E+12	21,5	2,68E+09	4,85E+08	18,4

Tabela A2 - Valores originais, médias finais e respectivos desvios-padrão (DP) de UFC/mL (culturas em ágar sangue e ágar Sabouraud) e dos percentuais de biofilme das PTS dos pacientes do grupo HIP antes e após a aplicação dos protocolos de higienização

Paciente	ANTES			APÓS		
	UFC/mL (Ágar Sabouraud)	UFC/mL (Ágar sangue)	%BIOFILME	UFC/mL (Ágar Sabouraud)	UFC/mL (Ágar sangue)	%BIOFILME
1	2,24E+12	5,78E+09	100,0	0,0	0,0	15,0
2	1,70E+09	9,20E+11	37,0	0,0	0,0	0,0
3	1,84E+09	8,00E+10	100,0	0,0	0,0	8,0
4	1,80E+08	1,20E+09	88,0	0,0	0,0	0,0
5	1,16E+09	5,01E+11	84,0	0,0	0,0	9,0
6	3,20E+08	2,80E+11	82,0	0,0	0,0	12,0
7	6,30E+09	1,78E+12	13,0	0,0	0,0	0
8	1,56E+09	3,20E+11	76,0	0,0	0,0	20,0
9	4,20E+08	1,12E+12	31,0	0,0	0,0	0
10	6,00E+07	1,62E+09	80,0	0,0	0,0	17,0
11	2,14E+06	4,00E+11	52,0	0,0	0,0	28,0
12	3,60E+05	2,38E+09	71,0	0,0	0,0	0,0
13	1,20E+05	2,40E+11	90,0	0,0	0,0	0,0
14	1,60E+05	1,68E+12	100,0	0,0	0,0	1,0
15	3,20E+05	1,62E+09	100,0	0,0	0,0	28,0
16	6,00E+05	1,02E+12	52,0	0,0	0,0	0,0
17	4,80E+05	4,40E+11	19,0	0,0	0,0	0,0
18	2,40E+05	3,80E+11	23,0	0,0	0,0	0,0
19	1,56E+09	1,00E+09	15,0	0,0	0,0	0,0
20	4,20E+08	3,20E+11	46,0	0,0	0,0	0,0
Média	1,13E+11	4,75E+11	63,0	0,0	0,0	6,9
DP	4,88E+11	5,49E+11	31,3	0,0	0,0	9,8

Tabela A3 - Valores originais, médias finais e respectivos desvios-padrão (DP) de UFC/mL (culturas em ágar sangue e ágar Sabouraud) e dos percentuais de biofilme das PTS dos pacientes do grupo ESC+HIP antes e após a aplicação dos protocolos de higienização

Paciente	ANTES			APÓS		
	UFC/mL (Ágar Sabouraud)	UFC/mL (Ágar sangue)	%BIOFILME	UFC/mL (Ágar Sabouraud)	UFC/mL (Ágar sangue)	%BIOFILME
1	8,00E+07	1,68E+12	100,0	0,0	0,0	7,6
2	2,40E+08	2,60E+11	90,5	0,0	0,0	5,0
3	1,20E+10	3,20E+11	10,0	0,0	0,0	0,0
4	1,20E+03	6,62E+12	87,0	0,0	0,0	0,0
5	1,00E+08	6,60E+11	58,7	0,0	0,0	0,0
6	1,12E+06	2,80E+11	100,0	0,0	0,0	0,0
7	1,04E+06	1,20E+04	100,0	0,0	0,0	0,0
8	0,00E+00	2,46E+12	100,0	0,0	0,0	0,0
9	1,04E+06	2,28E+12	100,0	0,0	0,0	0,0
10	1,18E+09	1,84E+06	81,8	0,0	0,0	0,0
11	1,60E+08	6,02E+12	70,1	0,0	0,0	41,2
12	1,28E+09	7,40E+11	60,9	0,0	0,0	35,1
13	1,20E+10	1,00E+12	78,5	0,0	0,0	41,4
14	9,80E+08	2,20E+11	100,0	0,0	0,0	76,8
15	1,04E+09	4,00E+10	66,1	0,0	0,0	0,0
16	1,20E+03	4,00E+10	100,0	0,0	0,0	20,0
17	1,04E+06	1,70E+12	100,0	0,0	0,0	59,0
18	1,04E+09	1,04E+12	100,0	0,0	0,0	70,7
19	8,00E+04	1,20E+13	87,9	0,0	0,0	15,8
20	1,18E+09	6,40E+12	75,2	0,0	0,0	10,0
Média	1,56E+09	2,19E+12	75,4	0,0	0,0	19,1
DP	3,51E+09	3,16E+12	19,8	0,0	0,0	25,7

Tabela A4 - Valores originais, médias finais e respectivos desvios-padrão (DP) de UFC/mL (culturas em ágar sangue e ágar Sabouraud) e dos percentuais de biofilme das PTS dos pacientes do grupo ESC/HIP antes e após a aplicação dos protocolos de higienização

Paciente	ANTES			APÓS		
	UFC/mL (Ágar Sabouraud)	UFC/mL (Ágar sangue)	%BIOFILME	UFC/mL (Ágar Sabouraud)	UFC/mL (Ágar sangue)	%BIOFILME
1	8,00E+07	3,60E+11	90,2	0,0	0,0	0
2	2,40E+08	1,00E+09	86,9	0,0	0,0	0
3	1,20E+10	5,20E+11	90,9	0,0	0,0	0
4	1,20E+03	1,26E+12	92,0	0,0	0,0	0
5	1,00E+08	1,76E+12	70,1	0,0	0,0	0
6	1,12E+06	3,20E+11	85,9	0,0	0,0	0
7	1,04E+06	1,20E+04	77,9	0,0	0,0	0
8	0,00E+00	3,20E+11	88,8	0,0	0,0	0
9	1,04E+06	2,28E+12	100,0	0,0	0,0	0
10	1,18E+09	6,40E+11	82,4	0,0	0,0	0
11	1,60E+08	1,40E+11	65,9	0,0	0,0	0
12	1,28E+09	1,20E+11	76,5	0,0	0,0	0
13	1,20E+10	4,00E+10	70,1	0,0	0,0	0
14	9,80E+08	2,22E+12	83,8	0,0	0,0	6,0
15	1,04E+09	4,00E+10	86,0	0,0	0,0	0
16	1,20E+03	1,20E+11	78,8	0,0	0,0	5,0
17	1,04E+06	8,20E+02	87,7	0,0	0,0	0
18	1,04E+09	2,00E+12	100,0	0,0	0,0	0
19	8,00E+04	2,20E+11	87,3	0,0	0,0	1,5
20	1,18E+09	1,38E+12	86,9	0,0	0,0	0
Média	7,63E+08	6,87E+11	72,4	0,0	0,0	0,63
DP	2,66E+09	8,08E+11	13,7	0,0	0,0	1,71