

**UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ**  
**Telma Maria Silva Pinto**

**VINAGRE COMO AGENTE ANTIMICROBIANO NO  
CONTROLE DE *Candida* spp. EM PORTADORES DE  
PRÓTESE TOTAL**

**Taubaté - SP**  
**2006**

**UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ**  
**Telma Maria Silva Pinto**

**VINAGRE COMO AGENTE ANTIMICROBIANO NO  
CONTROLE DE *Candida* spp. EM PORTADORES DE  
PRÓTESE TOTAL**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia, do Departamento de Odontologia da Universidade de Taubaté.

Área de Concentração: Prótese Dentária  
Orientador: Prof. Dr. Antonio Olavo Cardoso Jorge

**Taubaté - SP**  
**2006**

**TELMA MARIA SILVA PINTO**

**VINAGRE COMO AGENTE ANTIMICROBIANO NO  
CONTROLE DE *CANDIDA* spp. EM PORTADORES DE  
PRÓTESE TOTAL**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia, do Departamento de Odontologia da Universidade de Taubaté.

Área de Concentração: Prótese Dentária

Data: \_\_\_\_\_

Resultado: \_\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

Prof. Dr. \_\_\_\_\_ Universidade \_\_\_\_\_

Assinatura \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_ Universidade \_\_\_\_\_

Assinatura \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_ Universidade \_\_\_\_\_

Assinatura \_\_\_\_\_

Dedico este trabalho,

Aos meus pais DERALDO e ALZIRA, pelo sacrifício que jamais poderei retribuir.

À minha irmã FÁTIMA, pelo apoio incondicional nas horas mais difíceis.

Aos meus sobrinhos, SAMANTHA e CAIO, pelo amor e carinho.

À minha afilhada MARIA CLARA, fonte de amor e esperança.

**AOS PARTICIPANTES DA PESQUISA, PELA PACIÊNCIA E VALIOSA  
CONTRIBUIÇÃO PARA A REALIZAÇÃO DESTA PESQUISA.**

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pelo presente inexplicável que é a vida.

À Universidade de Taubaté, pela oportunidade da realização do Curso.

Ao professor Doutor Antonio Olavo Cardoso Jorge, pela sua valiosa orientação, competência e convivência, que foram estímulos permanentes. Minha profunda admiração e respeito.

À professora Doutora Maria de Fátima da Silva Pinto Peixoto (minha irmã), pelos muitos ensinamentos e exemplos e, pela contribuição na parte estrutural deste trabalho. Meu eterno carinho.

Ao professor Doutor Clóvis Pereira Peixoto (meu cunhado) por toda ajuda dispensada, pela disponibilidade e pelas muitas contribuições.

A Marta pelo apoio, amizade e por acreditar sempre nos meus sonhos.

A professora Doutora Ana Christina Claro Neves, cuja finalidade essencial é ser útil a seu semelhante e por ter me dado o privilégio de desfrutar da sua convivência e amizade. Minha eterna gratidão.

Ao professor, Doutor Luciano de Castellucci Barbosa (meu grande incentivador) por aceitar o convite para participação da banca de defesa, enaltecendo desta maneira a mesma.

Às amigas e companheiras de curso Isabel e Roberta, pelo companheirismo e incentivo constante.

Ao amigo e colega Mardem, por me lembrar sempre das minhas obrigações.

Aos colegas de trabalho da Clínica Dental-Prev, pelo suporte nas constantes ausências, para a execução do curso.

Aos funcionários da Clínica Dental-Prev, pelo apoio logístico.

À minha querida amiga Fatita, pelo carinho e força nos momentos difíceis.

À tia Marioti e ao “tio Pedrinho” (*in memoriam*), minha eterna saudade.

Aos funcionários da Universidade de Taubaté, em especial à Adriana Pellogia e Alessandra Borges.

Ao professor Ivan da Silva de Faria, pela força e paciência na parte experimental deste trabalho.

Aos funcionários do laboratório de microbiologia da Universidade de Taubaté, e em especial, à Dona Luzia, Cristiane e Tânia.

À professora Ana Cristina Moreira, pela ajuda na parte experimental deste trabalho.

Ao professor Doutor Carlos Alberto da Silva Ledo, pela análise estatística.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

AMADO DEUS, QUE PODEMOS COMPREENDER.  
FAZ DE NÓS UM INSTRUMENTO DE AMOR.  
QUE POSSAMOS SER HOMENS E MULHERES,  
CONSCIENTES DE SUA GRANDE FORÇA,  
DE SEU IMENSO PODER E SUA INEFÁVEL BELEZA.  
TORNA-NOS ÚTEIS E SINCEROS, POIS O CONHECEMOS.  
PERMITA QUE POSSAMOS REVELAR, COM O NOSSO EXEMPLO,  
ÀQUELE QUE AINDA NÃO O CONHECE.

**Spencer Lewis**

## Resumo

A estomatite protética é a lesão bucal mais comumente encontrada nos usuários de prótese total. Sua etiologia é multifatorial, sendo *Candida albicans*, o agente etiológico primário. O objetivo do presente estudo foi avaliar a utilização do vinagre como agente antimicrobiano, no controle de *Candida* spp., em portadores de prótese total superior. Cinquenta e cinco indivíduos foram submetidos à anamnese, exame clínico bucal e ao estudo da prótese. No tratamento instituído, os indivíduos foram instruídos a higienizar a prótese com escova apropriada e sabão neutro, retirá-la durante a noite, aproximadamente oito horas por dia, fazendo sua desinfecção em solução de água com 10% de vinagre, com pH = 2,89. Antes e após quarenta e cinco dias do tratamento instituído, foram coletadas amostras de saliva para contagem das UFC/mL e posterior isolamento e identificação das espécies do gênero *Candida* por meio de provas bioquímicas, de microcultivo e formação de tubo germinativo. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de correlação de *Spearman* e ao teste *t* de *Student* para amostras pareadas, num nível de significância de 5%. As variáveis qualitativas foram tabuladas, sendo calculada a frequência relativa. Concluiu-se que a solução de vinagre à 10% testada, controlou as espécies de *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae* e *C. parapsilosis*, reduziu as espécies *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *C. krusei*, no entanto não controlou efetivamente o principal agente etiológico da estomatite protética (*C. albicans*) em portadores de prótese total superior. Desta forma, sugere-se novas pesquisas que visem a utilização deste produto, em concentrações mais elevadas.

Palavras-chave: *Candida*. *Candida albicans*. Prótese total. Vinagre.



## Abstract

The prosthetic estomatite is the lesion most commonly found in the users of total prosthesis. Its ethiology is multifactorial, being *Candida albicans* the primary ethiologic agent. The objective of the present study was to evaluate the use of vinegar as antimicrobial agent, in the control of *Candida* spp. in carriers of superior total prosthesis. Fifty five individuals were submitted to the anamnese, buccal clinical exam, and to the prosthesis study. In the instituted treatment, the individuals were well informed about the procedure used to clean up the prosthesis with an appropriate brush and coconut soap, and to remove the prosthesis during night time, approximately eight hours a day, disinfecting it in a 10% of vinegar solution in water, with pH lower than 3. Before and after forty five days of the instituted treatment, saliva samples were collected for counting the UFC/mL and for further identification of the *Candida* gender species by biochemical tests like microculture and germ tube formation. The obtained results were submitted to the Spearman's correlation analysis and to the *t* of Student test, for paired samples, within a significance level of 5%. The qualitative variables were tabulated, being calculated the relative frequency. The 10% vinegar solution controlled the *C. guillermondii*, *C. lusitaniae* and *C. parapsilosis* species, reduced the *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *C. krusei*, yet it didn't control, effectively, the main ethiologic agent of the proteic estomatite (*C. albicans*) within the people who carry superior total prosthesis. In this way, new searches are suggested in order to lead to the use of this product in higher concentrations.

Key -Words: *Candida*. *Candida albicans*. Complete denture. Vinegar.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Número (n) e porcentagem (%) de indivíduos avaliados segundo hiperplasia fibrosa inflamatória (HIPER), placas brancas (PB), quelite angular (QA), acúmulo de biofilme (AB), presença de cálculo (PC), uso noturno (UN), gênero (GEN), estado de conservação da prótese (EC), antes e após o tratamento.....	45
Tabela 2- Espécies de leveduras do gênero <i>Candida</i> isoladas da cavidade bucal de indivíduos portadores de prótese total superior antes (primeira coleta) e após 45 dias da instituição do tratamento (segunda coleta).....	46
Tabela 3 - Teste t de <i>Student</i> para amostras pareadas, comparando-se a média de UFC/mL antes do tratamento (tempo 0) e após o tratamento (tempo 1) em todos os indivíduos avaliados.....	47
Tabela 4 - Análise de correlação de <i>Sperman</i> entre as variáveis idade do indivíduo, idade da prótese, grau de estomatite e UFC, antes e após instituição do tratamento.....	48

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Estágio inicial com presença de inflamação.....	33
Figura 2	Inflamação simples e difusa (edema).....	33
Figura 3	Inflamação granular hiperplásica .....	33
Figura 4	“kit “ para realização do tratamento.....	35
Figura 5	Coletor plástico, universal e pré-identificado com amostra de saliva para análise.....	35
Figura 6A	Saliva semeada em placa de Petri contendo ágar-Sabouraud dextrose com cloranfenicol.....	36
Figura 6B	Placas apresentando crescimento de colônias características de leveduras.....	36
Figura 7A	Contagem das unidades formadoras de colônias (UFC/mL).....	37
Figura 7B	Isolamento de duas colônias sugestivas de leveduras.....	37
Figura 7C	Culturas puras em ágar- Sabouraud dextrose inclinado.....	37
Figura 8	Leitura da prova bioquímica em tubos de ensaio contendo meio de cultura caldo vermelho de fenol, observando-se a produção de ácido pela viragem do pH (mudança de cor do vermelho para o amarelo) e produção de gás no interior do tubo de Duhram.....	39
Figura 9	Halo de crescimento ao redor dos discos de papel, indicando que o microrganismo assimilou aquele carboidrato.Prova positiva.....	40
Figura 10	Contagem de UFC em um indivíduo antes (A) e após a instituição do tratamento (B).....	47

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

g	grama
M	molar
mg	miligrama
mL	mililitro
g L <sup>-1</sup>	gramas por litro
pH	potencial de hidrogênio iônico
ssp	espécies
UFC	unidades formadoras de colônia
UFC/mL	unidades formadoras de colônia de microrganismo por mililitro
UFCO	unidades formadoras de colônia antes do tratamento
UFCU	unidades formadoras de colônia após o tratamento
ESTO	grau de estomatite antes do tratamento
ESTU	grau de estomatite após o tratamento
IDA	idade do indivíduo
IP	idade da prótese
HIPER	hiperplasia fibrosa inflamatória
PB	placas brancas
QA	queilite angular
AB	acúmulo de biofilme
PC	presença de cálculo
EC	estado de conservação da prótese
UN	uso noturno
GEN	gênero

°C	graus Celsius
%	porcentagem
1°GL	um grau Gay Lussac
h	horas

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>18</b>
<b>2.1 Estomatite protética.....</b>	<b>18</b>
<b>2.2 Métodos de higienização de próteses.....</b>	<b>23</b>
<b>2.3 Utilização do vinagre, ácido acético e outras substâncias como agentes antimicrobianos.....</b>	<b>26</b>
<b>3 PROPOSIÇÃO.....</b>	<b>30</b>
<b>4 MATERIAL E MÉTODO.....</b>	<b>31</b>
<b>4.1 Critérios de inclusão.....</b>	<b>31</b>
<b>4.2 Critérios de exclusão.....</b>	<b>31</b>
<b>4.3 Anamnese.....</b>	<b>32</b>
<b>4.4 Exame clínico bucal.....</b>	<b>32</b>
<b>4.5 Estudo das próteses.....</b>	<b>33</b>
<b>4.6 Tratamento instituído.....</b>	<b>34</b>
<b>4.7 Coleta das amostras de saliva.....</b>	<b>35</b>
<b>4.8 Semeadura e isolamento.....</b>	<b>36</b>
<b>4.9 Identificação das amostras.....</b>	<b>37</b>
<b>4.9.1 Produção de tubo germinativo.....</b>	<b>38</b>
<b>4.9.2 Microcultivo para produção de clamidoconídeos.....</b>	<b>38</b>
<b>4.9.3 Fermentação de carboidratos.....</b>	<b>38</b>
<b>4.9.4 Assimilação de carboidratos.....</b>	<b>39</b>
<b>4.10 Interpretação dos resultados.....</b>	<b>41</b>
<b>4.11 Análise estatística.....</b>	<b>43</b>
<b>5 RESULTADOS.....</b>	<b>44</b>
<b>6 DISCUSSÃO.....</b>	<b>49</b>
<b>6.1 Características da mucosa bucal e estado de conservação da prótese antes e após a instituição do tratamento.....</b>	<b>49</b>
<b>6.2 Espécies de leveduras do gênero <i>Candida</i> isoladas da cavidade bucal antes e após a instituição do tratamento.....</b>	<b>51</b>
<b>6.3 Contagem da UFC /mL antes e após a instituição do tratamento.....</b>	<b>54</b>
<b>6.4 Correlação entre as variáveis idade do indivíduo, idade da prótese, grau de estomatite e UFC, antes e após a instituição do tratamento..</b>	<b>55</b>
<b>6.5 Considerações finais.....</b>	<b>56</b>
<b>7 CONCLUSÕES.....</b>	<b>58</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>59</b>
<b>APÊNDICE A- Termo de consentimento livre e esclarecido.....</b>	<b>66</b>
<b>APÊNDICE B- Ficha clínica e de anamnese.....</b>	<b>69</b>
<b>APÊNDICE C- Meios de cultura.....</b>	<b>71</b>
<b>APÊNDICE D- Espécies de leveduras do gênero <i>Candida</i> isoladas e identificadas da cavidade bucal de indivíduos portadores de prótese total superior, antes e após 45 dias da instituição do tratamanto.....</b>	<b>73</b>
<b>APÊNDICE E- Resultados da avaliação das características da mucosa bucal, estudo da prótese e contagem das unidades formadoras de colônias (UFC) dos 55 indivíduos que participaram do estudo antes do tratamento (tempo 0).....</b>	<b>75</b>

<b>APÊNDICE F-</b> Resultados da avaliação das características da mucosa bucal, estudo da prótese e contagem das unidades formadoras de colônias (UFC) dos 55 indivíduos que participaram do estudo, após o tratamento (tempo 1).....	76
<b>APÊNDICE G-</b> Resultados da avaliação das características da mucosa bucal e estudo da prótese dos 55 indivíduos que participaram do estudo, antes (tempo 0) e após o tratamento (tempo 1).....	77
<b>APÊNDICE H-</b> Número (n) e porcentagem (%) dos indivíduos avaliados segundo, gênero, estado e conservação da prótese, uso noturno, acúmulo de biofilme, presença de cálculo, hiperplasia fibrosa inflamatória, estomatite protética, placas brancas e queilite angular antes do tratamento (tempo 0).....	78
<b>APÊNDICE I -</b> Número (n) e porcentagem (%) dos indivíduos avaliados segundo, gênero, estado de conservação da prótese, uso noturno, acúmulo de biofilme, presença de cálculo, hiperplasia fibrosa inflamatória, estomatite protética, placas brancas e queilite angular após o tratamento (tempo 1).....	79
<b>ANEXO A -</b> Folha de aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa UNITAU.....	80

## 1 INTRODUÇÃO

A odontologia tem apresentado avanços científicos notáveis para a reabilitação da saúde bucal de pacientes parcial ou totalmente desdentados, com o desenvolvimento de novas técnicas, materiais e procedimentos laboratoriais para a confecção de próteses removíveis, totais ou parciais. No entanto, apesar desses fatores, as próteses podem atuar como potenciais causadoras de injúrias aos tecidos. Ainda existe, entre os usuários deste tipo de aparelho, falta de informações sobre a confecção, uso e manutenção das mesmas.

A satisfação com a instalação da prótese total e ausência de sintomas, muitas vezes leva o paciente a pensar erroneamente que as próteses são permanentes e não necessitam de manutenção. Porém, o uso contínuo das mesmas sobrecarregam os tecidos de suporte, podendo propiciar o aparecimento de lesões (BARBACHAN et al., 1995; HALFT et al., 1986; NEVALAINEN et al., 1997; ZANETTI et al., 1996).

Apesar do cuidado na confecção das próteses, várias lesões podem se desenvolver na mucosa, associadas ao seu uso contínuo, sendo a mais comumente encontrada a estomatite protética. Este tipo de lesão caracteriza-se por apresentar eritema de grau variado e etiologia bastante discutida na literatura (ARENDORF; WALKER, 1979; CUMMING et al., 1990; DOROCKA-BOBKOWSKA et al., 1996; JEGANATHAN et al., 1997). De acordo com Budtz-Jørgensen e Bertram (1970), a estomatite protética é uma reação inflamatória dos tecidos bucais que mantêm contato direto com as próteses, sendo bastante comum em idosos. Pode estar associada a quadros de candidose atrófica e queilite angular.



Segundo Webb et al. (1998a;1998b), a candidose bucal, na forma de estomatite protética, ocorre em 65% de usuários de prótese total. Sua etiologia é multifatorial sendo *Candida albicans* o agente etiológico primário (NIKAWA et al., 1995). De acordo com Budtz-Jørgensen e Bertram (1970) e Nikawa et al. (1999), a estomatite pode estar associada ao uso contínuo da prótese, trauma, presença de biofilme dentário, falta de higiene, dieta inadequada, uso de antibióticos, reação alérgica ao material de base da prótese e condições de predisposição sistêmica. Considerando-se esses aspectos, é de extrema importância a limpeza mecânica e/ou química das próteses para evitar a estomatite protética. Existem métodos de limpeza químicos e mecânicos. Os mecânicos são o uso da escova com dentifrício ou sabonete e o uso de dispositivos ultra-sônicos. Os métodos químicos envolvem a imersão da prótese em produtos químicos como peróxidos alcalinos, hipocloritos alcalinos, ácidos diluídos, desinfetantes e enzimas (SESMA et al., 1999).

Hoje é amplamente reconhecido que, para estabelecer o tratamento adequado de doenças microbianas, é necessário conhecer o agente etiológico. Em suma, o produto de escolha para o tratamento deve apresentar atividade antimicrobiana para o agente infectante. Podem ser encontrados na literatura, trabalhos que avaliaram a ação antifúngica de diversas substâncias sobre *Candida albicans*. Essas substâncias incluem hipoclorito de sódio (BARNABÉ et al., 2004; WEBB et al.,1995), ácido acético - extraído de uma bebida fermentada denominada kombucha na concentração de 7 g L<sup>-1</sup> (GREENWALT et al., 1998), substâncias orgânicas voláteis tais como amônia, dissulfeto de carbono, dióxido de carbono, ácido acético glacial e peróxido de hidrogênio (JAIN; AGRAWAL,1994) e substâncias pertencentes ao grupo químico dos benzotiazóis como: 6-amino-2-n-pentylthiobenzothiazole, benzylester (6-amino-2-benzothiazolylythio) ácido acético e

3-butylthio-(1,2,4-triazolo)-2,3-benzothiazole (BUJDAKOVA et al., 1993). No caso específico de métodos caseiros de higienização e limpeza de próteses têm sido utilizadas as seguintes substâncias: peróxidos alcalinos (perborato de sódio), hipocloritos alcalinos (hipoclorito de sódio), ácidos diluídos (clorídrico, fosfórico ou benzóico), desinfetantes (digluconato de clorexidina) e as enzimas proteases e mutanases (SESMA et al., 1999).

Constata-se na literatura o uso do ácido acético e vinagre no campo da medicina, para tratamento de feridas abertas (UTYAMA, 2003), e também sua utilização como método caseiro para limpeza de próteses (ANTHONY; GIBBONS, 1958). O vinagre é um líquido azedo e adstringente que resulta da fermentação ácida de bebidas alcoólicas, particularmente dos vinhos branco e tinto, e é composto principalmente de ácido acético. O vinagre destilado ou vinagre de álcool é o produto da fermentação acética do álcool destilado diluído. Vinagre de vinho é o produto da destilação acética do vinho (BRASIL, 2004b). Deve conter, segundo a Legislação de Bebidas do Ministério da Agricultura, uma acidez volátil mínima de quatro gramas em cem mililitros ( $4 \text{ g } 100 \text{ mL}^{-1}$ ), expressa em ácido acético, e sua graduação alcoólica não deve exceder a 1ºGL (um grau Gay Lussac). A composição química em acidez do ácido acético do vinagre de vinho oscila entre 6 a 8 g/100 mL do produto (BRASIL, 2004a).

Considerando-se que existe controvérsia entre os cirurgiões-dentistas na indicação do melhor método para higienização das próteses e que, no Brasil, a maioria da população possui baixo poder aquisitivo, este trabalho teve como objetivo avaliar a utilização de uma solução de vinagre como agente antimicrobiano no controle de *Candida* spp., em portadores de prótese total superior.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Estomatite protética

Estomatite protética é o termo usado para descrever modificações patológicas encontradas na mucosa bucal que recobre os tecidos de suporte da prótese (BUDTZ-JÖERGENSEN, 1978). Pode atingir os indivíduos que utilizam prótese dentária por longos períodos, acometendo principalmente a mucosa maxilar e mandibular, podendo ser localizada ou generalizada. A mucosa sob a prótese torna-se edematosa, eritematosa, com ou sem áreas esbranquiçadas pela infecção por *C. albicans* ou pela presença de alimentos (SILVA; FERNANDES, 2001). Pode ser classificada em três tipos (Newton, 1962): tipo 1-) apresenta inflamação localizada; tipo 2-) apresenta um eritema difuso e o tipo 3-) apresenta hiperplasia papilar inflamatória. Frequentemente pode estar associada com queilite angular e glossite. As principais causas da estomatite protética são traumas e infecções por espécies de *Candida*, principalmente *C. albicans* que é considerado o único microrganismo com função patogênica estabelecida na estomatite protética. Não existem evidências científicas que comprovem que a alergia à base do material protético, em particular a resina acrílica, seja mais uma complicação secundária ao uso da prótese. Sabe-se que a estomatite tipo 1 é causada apenas por trauma, enquanto que as do tipo 2 e 3 são induzidas por *Candida*; no entanto, o trauma pode ser um fator de predisposição à infecção (BUDTZ-JÖERGENSEN, 1978).

Espécies de *Candida* são leveduras frequentemente isoladas da cavidade bucal, sendo a candidose bucal o resultado do aumento de crescimento das leveduras com conseqüente penetração nos tecidos, quando o hospedeiro está

física e imunologicamente debilitado (CANNON et al., 1995). *Candida albicans* é um patógeno oportunista, que pode causar doenças quando as defesas do organismo estão fragilizadas. A maioria dos fatores que predispõem o organismo à infecção estão associados à dieta, iatrogenia e ao trauma mecânico (FARAH et al., 2000). Próteses mal adaptadas e com má higiene podem aumentar o risco da penetração e colonização das leveduras do gênero *Candida*. As próteses dentárias podem produzir decréscimo do pH do meio e condições anaeróbias por diminuição do fluxo de oxigênio e saliva sobre o tecido adjacente, favorecendo o supercrescimento de fungos (SHERMAN et al., 2002)

Em trabalho realizado por Samaranayake et al. (1980), verificou-se que leveduras do gênero *Candida* têm afinidade ao acrílico da prótese total. Na cavidade bucal o estágio inicial da estomatite protética ocorre com a adesão de *Candida* às células epiteliais da mucosa, seguido pelo crescimento e invasão do tecido (WEBB et al., 1998b). Foi realizado por Jorge et al. (1997), um estudo para verificar a presença de leveduras do gênero *Candida* na saliva de indivíduos com diferentes fatores predisponentes. Esses autores concluíram que *Candida albicans* foi a espécie predominante em todos os grupos, incluindo os indivíduos portadores de prótese total, com maior diversidade de espécies naqueles com fatores predisponentes.

Objetivando determinar a prevalência de *C. albicans*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus mutans* na mucosa bucal e nas próteses dos pacientes com e sem estomatite protética e avaliar sua relação com outros cofatores clínicos potenciais, como o pH, Monroy et al. (2005) coletaram saliva de 105 pacientes (62 mulheres e 43 homens) com prótese total. Foram coletadas amostras da mucosa bucal e da prótese, para posteriores estudos microbiológicos convencionais. Identificaram

estomatite protética em cinquenta pacientes e um pH salivar médio de 5,2. A presença de *C. albicans*, *S. aureus* e *S. mutans* foi de 51,4%, 52,4% e 67,6%, respectivamente. *C. albicans* foi encontrada em 86% dos isolados com estomatite protética.

Os mecanismos envolvidos na produção de fatores de virulência em espécies de *Candida* são complexos e variam com o estágio da invasão local e resposta do hospedeiro (HAZEN, 1989). Estudos têm demonstrado que a estomatite protética está relacionada com o crescimento de *Candida*, principalmente associada ao biofilme da prótese, e não à mucosa do palato, sugerindo que o tratamento pode ser direcionado à prótese e não à mucosa (VAN-REENEN, 1973). Segundo Ramaje et al. (2004), embora os microrganismos pertencentes ao gênero *Candida* estejam associados com “placa protética”, sua função na formação do biofilme e na etiologia da estomatite protética ainda não foi amplamente estudada. Esses mesmos autores, avaliando a relação entre a presença de *Candida*, na cinética do desenvolvimento do biofilme *in vitro* com a estomatite protética, concluíram que a presença de *Candida* no biofilme da prótese, favorece a sobrevivência de células fúngicas, bem como intensifica o processo da doença em pacientes com estomatite protética.

Barbeau et al. (2003) estudaram a relação entre *Candida albicans* e estomatite protética, avaliando o processo inflamatório de acordo com a versão modificada da classificação de Newton. Verificaram que a presença de leveduras sobre a prótese estava significativamente associada à extensão da inflamação, sugerindo que o processo inflamatório da estomatite favorece a colonização de *Candida*. De acordo com Jorge et al. (1991), quando se avalia apenas o uso da prótese, *Candida albicans* é a espécie mais comum sendo responsável por cerca de

70% dos isolados. Além de *Candida albicans*, outras espécies incluem *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* e *Candida krusei*.

Pires et al. (2002) avaliaram a incidência de estomatite protética e seus fatores de predisposição em 77 pacientes desdentados, antes e após seis meses do uso de uma nova prótese total. Concluíram que o fluxo salivar, a população de *Candida* na saliva e as espécies de *Candida* foram similares em ambas as avaliações, sendo que a maior incidência de estomatite e *Candida* ocorreram em pacientes do sexo feminino. Afirmaram também que, considerando que a contagem de *Candida* na saliva permaneceu alta, a higiene bucal e da prótese deve ser contínua.

Avaliando a relação existente entre os hábitos de higiene, limpeza da prótese, presença de leveduras e estomatite protética em pessoas idosas, Kulak-Ozkan et al. (2002) concluíram que existe forte relação entre estomatite protética, presença de leveduras e limpeza da prótese. Verificaram também que, nas amostras retiradas do palato, *Candida albicans* era a espécie mais freqüente em comparação com *C. guilliermondii* e *C. parapsilosis*.

A habilidade de *C. albicans* em aderir à superfície da mucosa é certamente um pré-requisito para a infecção, entretanto, na candidose atrófica, o maior reservatório de fungos é a prótese. O biofilme dentário se forma sobre o material da prótese e *Streptococcus mutans* e *S. sanguis* são comumente encontrados neste biofilme. Parecem ter importante papel na colonização de *Candida* sobre a prótese total. O desenvolvimento da estomatite protética não é, portanto, uma simples consequência da aderência de *C. albicans* sobre a prótese total, mas pode depender da co-agregação ou interação entre *Candida* e estreptococos. O mecanismo de adesão pode muito bem ser dependente da sacarose, com *S. mutans* formando

glucano ao qual *Candida* se adere (LEHNER, 1996). Kulak et al. (1997a) verificaram em pacientes com estomatite protética, presença de grande número de *C. albicans* e *Streptococcus*, e envolvimento de outros microrganismos cujas importâncias específicas devem ser elucidadas. De acordo com estes autores, um mecanismo de adesão, resultante da ação conjunta de bactérias (principalmente *S. mutans*) e leveduras sobre a prótese, produzem ambiente ácido, ideal para crescimento de outros microrganismos. Isto foi constatado por Webb et al. (1995) em trabalho de pesquisa, no qual concluíram que a presença de *Streptococcus* facilitou a aderência de *C. albicans* ao acrílico da prótese. Segundo Borg e Ruchel (1988), Davey e Rogers (1984) e Kulak et al. (1997a), isso pode ser correlacionado com adesão à resina acrílica, onde, no estágio de hifa, as proteínas que são produzidas por espécies de *Candida*, auxiliam a aderência e penetração na mucosa. Desta forma, explica-se a forte relação entre colonização da base da prótese por *Candida albicans* e estomatite protética (BORG; RUCHEL, 1988; LEHNER, 1996).

Em trabalhos anteriores, Budz-Jørgensen (1978) e Budz-Jørgensen e Bertram (1970) verificaram que a constante falta de limpeza é um dos fatores etiológicos da estomatite protética e é, normalmente, negligenciado por pacientes e profissionais. Brito e Veloso (2004) avaliaram que as lesões causadas por próteses totais mal adaptadas ou em estado precário de uso e conservação são fatores favorecedores do surgimento de lesões no tecido mole da cavidade bucal e que infecções fúngicas são constantemente observadas em pacientes que não têm o hábito de remover as próteses ao dormir. De acordo com Silva e Fernandes (2001), a hiperplasia papilar do palato é considerada por alguns autores como uma forma granulomatosa inflamatória da estomatite protética. Caracteriza-se por várias pápulas eritematosas e edematosas com cerca de 2 mm cada, isoladas ou agrupadas, dando aspecto de

paralelepípedo. Isto ocorre dez vezes mais em indivíduos que dormem com a prótese e cinco vezes mais em associação a próteses de acrílico do que metálicas.

Arendorf e Walker (1979) afirmaram que o uso de próteses é um fator que favorece a presença e o desenvolvimento de várias espécies de *Candida*, ressaltando que o hábito de dormir com as mesmas, acentua a inflamação. Sakki et al. (1997) constataram alto índice de estomatite protética em idosos que tinham condição de vida mais precária e pouca noção de higiene bucal. Este fato também foi observado no Brasil por Sá (1995), que trabalhou com idosos institucionalizados. Pinto-Coelho et al. (2004), em trabalho para avaliar a frequência de lesões da mucosa bucal associadas ao uso de próteses removíveis parciais ou totais, verificaram que as mesmas estão diretamente relacionadas com a má confecção das próteses, tempo de uso e má higiene bucal, ressaltando a necessidade de controle periódico quanto à manutenção e limpeza da prótese.

A candidose é considerada uma infecção de múltiplas manifestações, tendo dentre outras causas, os longos tratamentos com antibióticos, higienização deficiente, imunodeficiência e diabetes. Desta forma, há necessidade de limpeza periódica dessas próteses, visando remover microrganismos e, conseqüentemente, diminuir a incidência da estomatite protética.

## **2.2 Métodos de higienização de próteses**

Os métodos de higienização de próteses descritos na literatura podem ser divididos em mecânicos e químicos. Os mecânicos incluem: uso de escova de dentes com dentifrício ou sabonete e uso de dispositivos ultra-sônicos. Os químicos envolvem a imersão da prótese em produtos químicos (SESMA et al., 1999). De



acordo com Paranhos et al. (1991), o método mecânico mais comumente usado para limpeza de próteses é a escovação com dentifrício ou sabonete, no entanto, Sesma et al. (1999) consideraram que sua maior desvantagem é o difícil acesso a certas áreas da prótese. O outro método mecânico, considerado como auxiliar na higienização das próteses, é o que utiliza dispositivos ultra-sônicos. Não é um método caseiro, no entanto, têm se mostrado eficiente na remoção de cálculo e manchas de café e cigarro (MEYERS; KROL, 1974).

A utilização de métodos químicos tem sido preferido por pacientes deficientes e geriátricos que não conseguem escovar adequadamente suas próteses (HOAD-REDDICK et al., 1990). Segundo Chan et al. (1991), os métodos químicos têm se mostrado, muitas vezes, mais eficientes que a própria escovação.

Dentre os produtos químicos mais utilizados encontram-se: a) os peróxidos alcalinos, substâncias que, quando dissolvidas em água, tornam-se soluções alcalinas de peróxido de hidrogênio e liberam oxigênio na solução. A efervescência criada realiza a limpeza mecânica da prótese e os agentes oxidantes auxiliam na remoção de manchas e podem atuar como agente antimicrobiano; b) os hipocloritos alcalinos têm se mostrado eficientes na eliminação do biofilme dentário, além disso apresentam efeito bactericida e fungicida (ABELSSON, 1985). De acordo com Chau et al. (1995), a solução de hipoclorito de sódio a 0,5%, com tempo de imersão de dez minutos, permite desinfecção da superfície e também penetra 3 mm na resina, eliminando bactérias em profundidade; c) soluções de ácidos diluídos (clorídrico, fosfórico, benzóico) atuam na remoção de depósitos inorgânicos e manchas e já foi constatada sua ação fungicida, principalmente sobre *Candida albicans* (ABELSSON, 1985; BOONE et al., 1987; LAMBERT; KLOSTAD, 1986); d) desinfetantes e anti-sépticos como digluconato de clorexidina reduzem a formação do biofilme dentário e

melhoram as condições da mucosa subjacente à prótese (BRACE; PLUMMER, 1993; MA et al., 1997); e) enzimas proteases e mutanases desagregam glicoproteínas salivares e polissacarídeos bacterianos do biofilme presente na prótese (TMAMOTO et al., 1985).

São vários os métodos para higienização das próteses, no entanto, cada um deles, exibem vantagens e desvantagens. Este fato tem estimulado os pesquisadores desta área a buscarem o método ideal.

O vinagre, isoladamente, ou vinagre de vinho é o produto obtido da fermentação acética do vinho e deve conter acidez volátil mínima de 4 g/100 mL, expressa em ácido acético e sua graduação alcoólica não deverá exceder 1º GL (BRASIL, 2004b). As substâncias que se encontram em maior proporção no vinagre são o etanol (30-400 g L<sup>-1</sup>) e o ácido acético com 60-70 g L<sup>-1</sup> (BRASIL, 2004a).

O número de ácidos orgânicos conhecidos ultrapassa mil, dentre eles, o ácido acético, que pertence à classe dos carboxílicos, é considerado um dos mais importantes. É bastante difundido no reino vegetal em estado livre, sendo conhecido em forma de vinagre, desde a antiguidade. O acético do latim “*acetum*” significa vinagre. Possui a fórmula molecular CH<sub>3</sub>COOH e é resultante da fermentação do álcool etílico por ação da bactéria *Acetobacter aceti* (CH<sub>3</sub>COOH + ½ O<sub>2</sub> + CH<sub>3</sub>COOH). Seu peso molecular é de 60,05 com 40% de carbono, 6,71% de hidrogênio e 53,29% de oxigênio. É um líquido transparente e incolor, de cheiro forte, picante e irritante, paladar azedo, e, quando muito diluído em água, tem sabor ácido. O máximo de concentração corresponde a um líquido com 76 a 79 partes de ácido por cem partes da mistura que forma o vinagre. É miscível em todas as proporções com água, álcool, éter, carbono tetracloreto e a glicerina; também dissolve fósforo, ácidos halogênicos e sulfúrico. Sua conservação deve ser em

frascos bem fechados (MOLINEROS et al., 1991; MORRISON; BOYD,1983; UTYAMA, 2003).

### **2.3 Utilização do vinagre, ácido acético e outras substâncias como agentes antimicrobianos**

Na literatura encontram-se trabalhos sobre o uso do ácido acético e vinagre no tingimento de tecidos como a seda, no tratamento de verrugas, no tratamento de cortes na pele, no gargarejo para combater processos inflamatórios da boca e garganta, no tratamento de otites e como agente anti-séptico para feridas abertas (BENASSATTI et al., 1994; THORP et al., 1998). Verifica-se também sua utilização (diluído em água) como antimicrobiano para *Pseudomonas* spp. e como antifúngico (vinagre ou 3 a 10% de solução de ácido acético) (MARTINDALE, 1996).

A utilização do vinagre como método caseiro para limpeza de próteses foi reportada no trabalho de Anthony e Gibbons (1958), no qual os autores avaliaram os métodos caseiros de limpeza, visando a possibilidade de uso por parte dos pacientes, de produtos mais acessíveis. Os pacientes foram submetidos a um questionário no qual informaram o tipo de método de higiene usado, frequência do uso, grau de satisfação e sugestões para melhora. Do total de 120 pacientes, embora 41% usasse principalmente produtos comerciais para limpeza, cerca da metade achava necessária a imersão de suas próteses em produtos caseiros como vinagre, soda, cal ou o uso de escova com material abrasivo, geralmente dentífrico. Além desses autores, Augsburg e Elahi (1982) citaram que, dentre os vários métodos sugeridos para limpeza de próteses, inclui-se a utilização de produtos caseiros como vinagre ou solução de hipoclorito de sódio diluído.

A utilização de ácidos orgânicos é outra opção utilizada como método químico na redução de *C. albicans* na superfície das próteses. Este método foi testado por Lambert e Kolstad (1986), utilizando um germicida obtido da mistura de detergente e ácido benzóico. Os resultados indicaram que o produto era efetivo para reduzir a população de *C. albicans* na superfície das próteses, quando essas eram imersas no germicida durante a noite.

Várias outras substâncias têm sido testadas por pesquisadores de diversas áreas, visando sua ação antimicrobiana e antifúngica, tais como o ácido acético (na forma volátil ou não), um dos principais componentes do vinagre. Muck et al. (1991) propuseram um modelo para examinar o papel de leveduras e bolores na deterioração no processo de silagem. O pH teve pouca influência no crescimento das leveduras e não afetou os bolores. Os ácidos acético e láctico, não dissociados, diminuíram a taxa de crescimento dos fungos; fato que pode ser importante na estabilidade do processo de silagem.

Sete substâncias voláteis (amônia, dissulfeto de carbono, benzeno do petróleo, dióxido de carbono, metanol, ácido acético glacial e peróxido de hidrogênio) foram testadas para verificar sua ação fungitóxica em cinco espécies de fungos (*Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium migricans* e *Absidia corymbifera*), isoladas de pacientes que sofriam de infecções fúngicas otológicas (otomicoses). Constatou-se que todas as substâncias voláteis testadas foram eficientes não só para inibir o crescimento micelial dos fungos, bem como sua esporulação (JAIN; AGRAWAL, 1994).

O kombucha é uma bebida fermentada que se supõe possuir substâncias com ação antimicrobiana. Partindo deste princípio, Greenwalt et al. (1998) avaliaram a ação antimicrobiana desta bebida com uma amostra fermentada com

concentração de 33 g L<sup>-1</sup> do princípio ativo, e destes, 7 g L<sup>-1</sup> de ácido acético. Os microrganismos utilizados para o teste foram: *Candida albicans*, *Bacillus cereus*, *Salmonella choleraesuis*, *Staphylococcus aureus* e *Echerichia coli*. Verificaram que *Candida albicans* não foi inibida, no entanto a ação antimicrobiana, encontrada para outras espécies de microrganismos, foi atribuída ao teor de ácido acético desta bebida.

Atualmente os principais agentes de limpeza, utilizados em imersão, são o peróxido ou hipoclorito de sódio (HARRISON et al., 2004). A ação antifúngica dessas substâncias já é bem conhecida, bem como sua capacidade de dissolver materiais orgânicos (KULAK et al., 1997b). São de fácil uso, mas podem levar à deterioração do material da base da prótese (HARRISON; JAGGAR, 1997).

Barnabé et al. (2004) avaliaram a eficácia do hipoclorito de sódio e sabão de coco como agentes desinfetantes na redução da estomatite protética e no controle da população de *Streptococcus mutans* e *Candida albicans*. A característica da mucosa foi avaliada de acordo com a classificação de Newton e a concentração da solução de hipoclorito de sódio foi 0,5% com tempo de imersão de dez minutos, em um período total de 15 dias. Concluíram que a associação do sabão de coco e hipoclorito de sódio à 0,5% reduziu significativamente os sinais clínicos da estomatite protética, porém não diminuiu a contagem de *C. albicans* e *Streptococcus mutans*. Já Webb et al. (1995), verificando o efeito do hipoclorito de sódio sobre características patogênicas de *C. albicans* e outras espécies de *Candida*, constataram que esta substância reduziu a adesão de todas as linhagens de *C. albicans* e das outras espécies deste gênero, tanto nas células epiteliais da boca quanto no acrílico.

Na busca de um agente de desinfecção capaz de diminuir a incidência de espécies de *C. albicans* em portadores de prótese total, os pesquisadores têm testado vários produtos. Ota et al. (2001), avaliando a atividade antifúngica do própolis, verificaram que nas amostras retiradas da mucosa de portadores de prótese assim como todas as linhagens isoladas da saliva, foram sensíveis ao própolis, sendo a mais sensível a *C. albicans*.

### **3 PROPOSIÇÃO**

Este trabalho teve como objetivo avaliar a utilização de uma solução de vinagre como agente antimicrobiano no controle de *Candida* spp., em portadores de prótese total superior, visando sua desinfecção.

## **4 MATERIAL E MÉTODO**

Participaram do presente estudo 55 indivíduos adultos, na faixa etária de 32 a 81 anos, de ambos os gêneros, portadores de prótese total superior. Os participantes compareceram à Clínica Odontológica DENTAL-PREV, na cidade de Serrinha-Ba, para avaliação periódica rotineira durante a qual foram realizadas anamnese, exame clínico e fornecida instruções sobre a higiene bucal e das próteses.

Foram coletadas amostras de saliva de cada participante que foram semeadas em meio de cultura apropriado para isolamento de *Candida* spp. Após crescimento das colônias, foram selecionados os indivíduos que apresentaram cultura positiva para espécies de *Candida*.

### **4.1 Critérios de inclusão**

Foram considerados critérios de inclusão: uso de prótese total superior há mais de seis meses.

### **4.2 Critérios de exclusão**

Foram considerados critérios de exclusão: ausência de leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal, uso de antifúngicos, terapia antibiótica três meses antes do estudo, imunocomprometidos, xerostomia e presença de neoplasias.

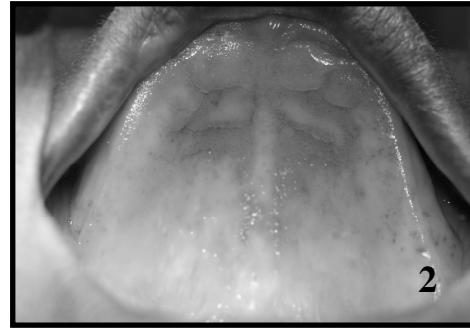
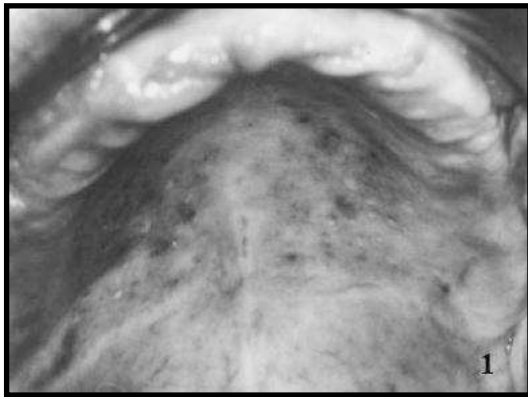


### **4.3 Anamnese**

Foram coletados os dados pessoais e àqueles relativos às condições de saúde geral de todos os sujeitos da pesquisa. Foi explicado, a todos os participantes, o objetivo e a metodologia do estudo, cujo protocolo foi submetido e aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Taubaté (ANEXO A). Os indivíduos que concordaram em participar do estudo assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A) e, posteriormente, responderam a um questionário sobre saúde geral (APÊNDICE B).

### **4.4 Exame clínico bucal**

Foi observada toda mucosa bucal verificando-se possível presença de estomatite protética, através de critério visual e por um único examinador previamente calibrado, para obter um diagnóstico padronizado da inflamação. A calibração foi realizada no laboratório de Estomatologia da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), com um estomatologista. Avaliou-se 55 indivíduos com estomatite protética, onde foram atribuídos os graus da inflamação (grau 1, 2 e 3), por dois examinadores. Após os resultados, foi realizado o teste de correlação. A estomatite foi avaliada através do aspecto clínico da mucosa, baseado em Newton (1962), que considera como: grau 1, o estágio inicial com presença de inflamação; grau 2 a inflamação simples e difusa (edema) e grau 3, a inflamação granular hiperplásica (Figuras, 1, 2 e 3). Também foi verificada ou não, a presença de placas brancas e hiperplasia fibrosa inflamatória.



Figuras 1, 2 e 3 – Classe I, II e III de Newton (1962), respectivamente  
Fonte: LEMOS et al. (2003)

#### 4.5 Estudo das próteses

A avaliação das próteses foi feita por um único examinador, através de critério visual, considerando-se: estado de conservação, idade da prótese, higienização e uso noturno, de acordo com Oliveira et al. (2000).

- a) Estado de conservação - O estado de conservação da prótese foi considerado insatisfatório quando apresentou perda e/ou fratura de dentes, fratura da base com perda de fragmentos, reembasamentos inadequados, consertos e trincas. O estado de conservação foi considerado satisfatório quando não apresentou nenhuma das condições acima;

- b) Idade da prótese - Esta informação foi obtida através de uma ficha clínica (APÊNDICE B) elaborada previamente pelo avaliador e submetida ao participante;
- c) Higienização – A higienização da prótese foi considerada insatisfatória quando ocorreu a presença de cálculo, acúmulo de biofilme, ou ambos, facilmente visível em qualquer área da prótese. A higienização foi considerada satisfatória quando não apresentou nenhuma das condições acima;
- d) Uso noturno - Esta informação foi obtida através de uma ficha clínica (APÊNDICE B) elaborada previamente pelo avaliador e submetida ao participante.

#### **4.6 Tratamento instituído**

Todos os indivíduos foram instruídos a higienizar a prótese três vezes ao dia, após as refeições, com escova apropriada, marca Bitufo (fornecida pelo pesquisador) e sabão neutro (sabão de coco marca Dias D`Avila), retirar a prótese durante a noite, aproximadamente oito horas por dia, mantendo-a num recipiente contendo 100 mL da solução de água destilada e esterilizada com 10% de vinagre e pH inferior à 3 (Figura 4). A solução foi trocada diariamente e fornecida pelo pesquisador durante todo o tratamento. Para o preparo da solução de 10%, partiu-se de uma solução base de vinagre, marca Minhoto, composta de fermentado acético de vinho tinto e água com acidez volátil de 4%. O pH em água da solução foi determinado em pHmetro com eletrodo de vidro (INSTITUTO ADOLF LUTZ, 1985).

Este tratamento foi realizado durante 45 dias. Após este período, os indivíduos retornaram para novo exame clínico, durante o qual uma nova coleta de saliva foi realizada.

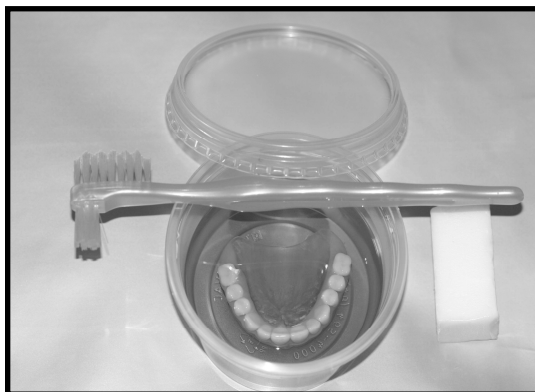


Figura 4 - "kit " para realização do tratamento

#### 4.7 Coleta das amostras de saliva

Foram coletadas amostras de saliva dos indivíduos (aproximadamente 2 mL), sem estimulação e com a prótese, em um coletor plástico universal estéril e descartável, previamente identificado (Figura 5). Em seguida, as amostras foram mantidas em gelo e bolsa térmica até serem levadas ao laboratório de Microbiologia Bucal do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia/UFBA, respeitando-se o período máximo de três horas entre a coleta e o processamento das amostras.



Figura 5 - Coletor plástico universal pré-identificado com amostra de saliva para análise

#### 4.8 Semeadura e isolamento

As amostras de saliva foram homogeneizadas durante um minuto, em agitador mecânico (Vortex) e a seguir, 0,1 mL semeadas com pipeta automática em duplicata, em placas de Petri contendo ágar Sabouraud dextrose (Difco) (APÊNDICE C) com cloranfenicol (Carlo Erba, 0,1 mg por mL de meio) e incubadas a 37 °C em estufa bacteriológica por 48 horas. As placas que não apresentaram crescimento foram mantidas por mais cinco dias em temperatura ambiente, para confirmação do crescimento (Figuras 6a e 6b).

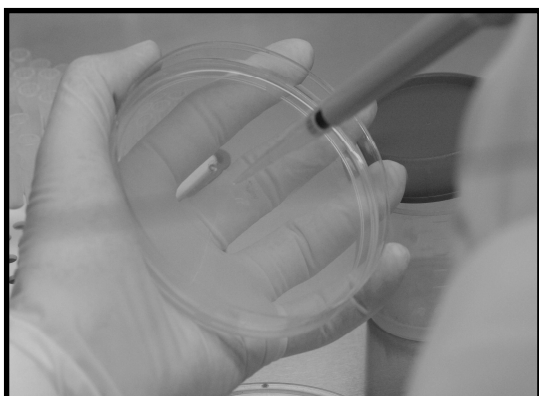


Figura 6a -Saliva semeada em placa de Petri contendo ágar Sabouraud dextrose com cloranfenicol

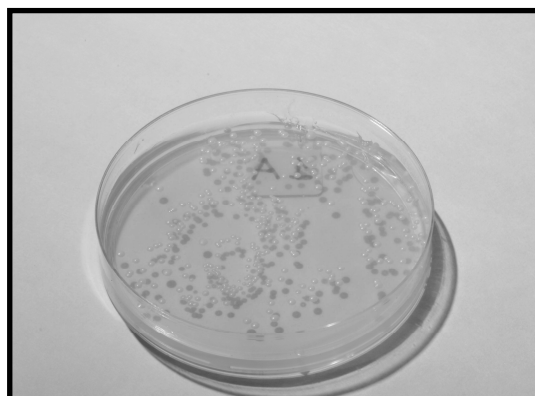


Figura 6b - Placas apresentando crescimento de colônias características de leveduras

Após o período de incubação, foi efetuada a contagem para determinação do número de Unidades Formadoras de Colônias e calculados os valores de UFC/mL. Em seguida foram isoladas duas colônias sugestivas de leveduras em cada par de placas e realizado esfregaço em lâminas de microscopia, que foram coradas pelo método de Gram. Após confirmação microscópica da presença de leveduras, as colônias foram transferidas para ágar Sabouraud dextrose inclinado, para obtenção de culturas puras (Figuras 7a, 7b e 7c).

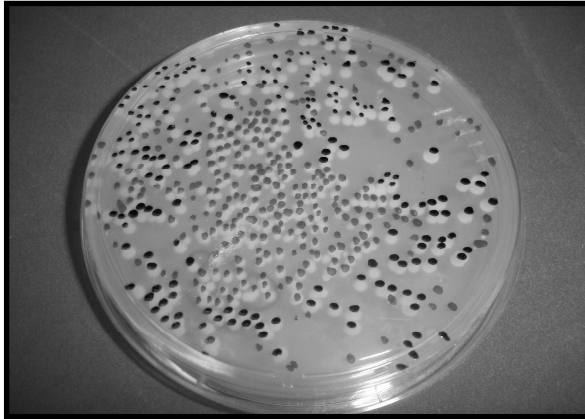


Figura 7a - Contagem das unidades formadoras de colônias (UFC)



Figura 7b - Isolamento de duas colônias sugestivas de leveduras

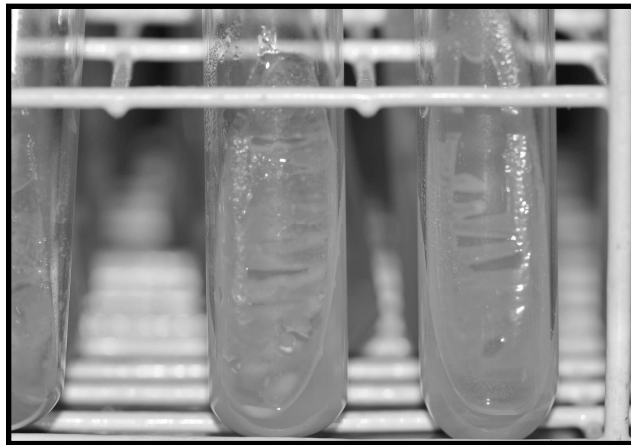


Figura 7c - Culturas puras em ágar Sabouraud dextrose inclinado

#### 4.9 Identificação das amostras

Posteriormente, as culturas armazenadas foram semeadas em ágar-Sabouraud dextrose e identificadas no laboratório de Microbiologia da Universidade de Taubaté/UNITAU, de acordo com a metodologia proposta por Sandvén (1990). Foram utilizadas provas fenotípicas (formação de tubo germinativo e produção de clamidoconídeos) e bioquímicas (fermentação e assimilação de carboidratos).

#### 4.9.1 Produção de tubo germinativo

Uma alçada de cultura pura de 24 h de levedura foi adicionada em tubo de ensaio (13X17mm) contendo 0,5 mL de soro humano estéril e incubada em banho maria a 37 °C por até três horas. Para visualização do tubo germinativo, uma gota da suspensão foi colocada entre lâmina e lamínula e observada à microscopia de luz com um aumento de quatrocentas vezes.

#### 4.9.2 Microcultivo para produção de clamidoconídeos

Foi utilizado o meio de cultura Corn Meal Ágar (Difco), adicionado de 1% de Tween 80 (APÊNDICE C). Para a execução da prova, o ágar previamente fundido foi depositado em lâminas de vidro colocadas dentro de placas de Petri esterilizadas. Após solidificação do ágar, cada amostra a ser testada foi semeada em estria única sobre a superfície do meio, colocando-se uma lamínula no centro da lâmina. No interior da placa de Petri colocou-se um chumaço de algodão esterilizado e embebido em água destilada também esterilizada, para manter a umidade do meio. Após a incubação por um período de 48 a 72 h a temperatura ambiente, a leitura foi feita em microscopia de luz com aumento de quatrocentas vezes, observando-se a presença de clamidoconídeos, leveduras, hifas e pseudo-hifas.

#### 4.9.3 Fermentação de Carboidratos (Zimograma)

Para a realização da prova foi utilizado o meio caldo vermelho de fenol (Difco) (APÊNDICE C), em cinco tubos de ensaio com tubos de Durhan em seu

interior. Em cada tubo foi adicionado um carboidrato (glicose, galactose, sacarose, maltose e lactose), de modo a obter concentração de 1%. Após autoclavagem por 15 min a 121 °C, os tubos foram semeados com cultura de 24 h da amostra mantida em ágar Sabouraud dextrose e incubados em estufa bacteriológica a 37 °C. A leitura foi realizada após 72 h, considerando-se a produção de ácido pela viragem de pH (mudança de cor do vermelho para o amarelo) e produção de gás no interior dos tubos de Durham (Figura 8 ).

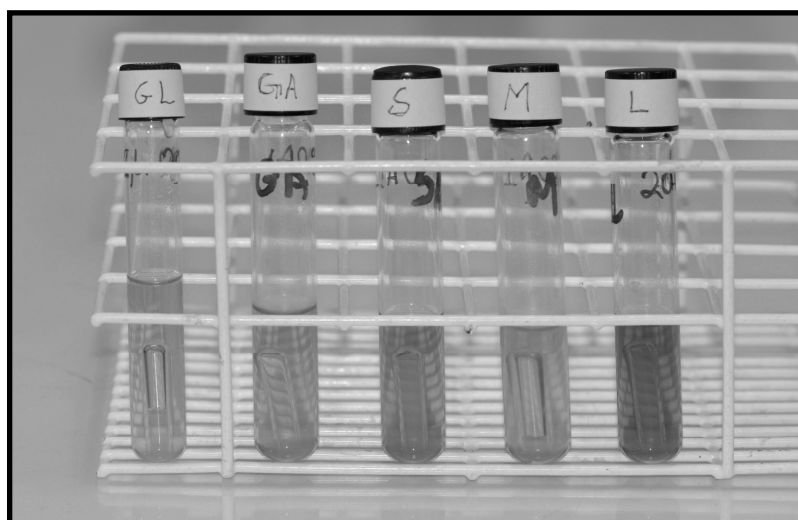


Figura 8 - Leitura da prova bioquímica em tubos de ensaio contendo meio de cultura caldo vermelho de fenol, observando-se a produção de ácido pela viragem do pH (mudança de cor do vermelho para o amarelo) e produção de gás no interior do tubo de Durham

#### 4.9.4 Assimilação de Carboidratos (Auxanograma)

Para este teste foi utilizado meio de cultura quimicamente definido, sem a presença de fontes de carbono (APÊNDICE C).



Após a dissolução em banho-maria, o meio foi distribuído (18-20mL) em tubo de ensaio, autoclavado a 121 °C por 15 min e armazenado em geladeira. Para execução da prova foi preparada uma suspensão da levedura em solução fisiológica esterilizada, com turvação equivalente ao tubo número dez da escala de Mac Farland, a partir de cultura de 24 h em ágar Sabouraud dextrose. Desta suspensão foi colocado 0,1 mL em placa de Petri esterilizada. O meio previamente liquefeito e resfriado a 45 °C foi vertido na placa sobre a suspensão de levedura. Após a solidificação, discos de papel filtro, esterilizados e embebidos nos açúcares (glicose, galactose, sacarose, maltose e lactose) a 10% e secos em estufa, foram colocados de forma equidistante na superfície do meio. Após a incubação por 72 h a 37 °C, a leitura foi feita pela observação de halo de crescimento ao redor do disco de papel, que ocorreu na prova positiva e não ocorreu na prova negativa (Figura 9).

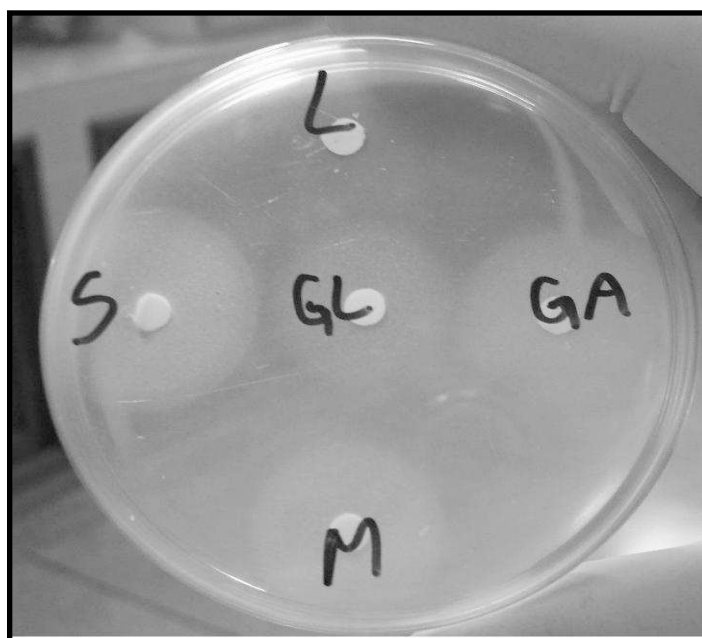


Figura 9 - Halo de crescimento ao redor do disco de papel, indicando que o microrganismo assimilou aquele carboidrato. Prova positiva

#### **4.10 Interpretação dos resultados**

Para a interpretação dos resultados de leitura foi utilizado o padrão mostrado no Quadro 1, segundo Sandvén (1990). Pode-se observar as características fenotípicas como a formação de tubo germinativo e de microcultivo, bem como as bioquímicas (fermentação e assimilação de carboidrato), das espécies do gênero *Candida* que foram identificadas.

ESPÉCIES DE  <i>CANDIDA</i>	FERMENTAÇÃO					ASSIMILAÇÃO					TUBO GERM	CLAM	HIFA
	GLIC	SAC	MAL	LACT	GAL	GLIC	SAC	MAL	LACT	GAL			
<i>C. albicans</i>	A/G	A/-	A/G	-/-	A/G	+	+	+	-	+	+	+	+
<i>C. glabrata</i>	A/G	-/-	-/-	-/-	-/-	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. tropicalis</i>	A/G	A/G	A/G	-/-	V	+	+	+	-	+	-	V	+
<i>C. krusei</i>	A/G	-/-	-/-	-/-	-/-	+	-	-	-	-	-	-	+
<i>C. guilliermondii</i>	A/G	A/G	-/-	-/-	A/G	+	+	+	-	+	-	-	+
<i>C. lusitaniae</i>	A/G	A/G	-/-	-/-	A/G	+	+	+	-	+	-	-	+
<i>C. parapsilosis</i>	A/G	-/-	-/-	-/-	V	+	+	+	-	+	-	-	+

Quadro 1 - Características fenotípicas (formação de tubo germinativo e microcultivo) e bioquímicas (fermentação e assimilação de carboidratos), das espécies do gênero *Candida* identificadas

A= produção de ácido; G= produção de gás; + = prova positiva; - = prova negativa; V = positivo ou negativo; GLIC = Glicose; Maltose; LACT = Lactose; GAL = Galactose; TUBO GERM = Formação de tubo germinativo; CLAM = Produção de clamidoconídeo

#### 4.11 Análise estatística

As variáveis qualitativas foram tabuladas e foi calculada a frequência relativa. Para avaliar o efeito do tratamento instituído na contagem das unidades formadoras de colônias (UFC/mL) (tempo 0 = antes do tratamento e tempo 1 = após o tratamento), aplicou-se o teste t de *Student* para amostras pareadas, ao nível de significância 5%, utilizando-se o programa BIOESTAT (AYRES et al., 2000).

As variáveis quantitativas idade do indivíduo, idade da prótese e grau de estomatite, antes e após do tratamento instituído, bem como a contagem de UFC/mL, foram submetidas à análise de correlação de *Spearman* utilizando-se o programa estatístico SAS - Statistical Analysis System (SAS INSTITUTE, 2000).

## 5 RESULTADOS

Neste estudo foram avaliados 55 indivíduos, que apresentaram média de idade de 57 anos, (desvio padrão  $\pm 11,26$ ), do gênero masculino (9) e feminino (46), sendo o mais jovem com 32 e o mais velho com 81 anos. Todos usavam prótese total superior, variando de seis meses a 25 anos de uso, com variabilidade média em torno de 7,6 anos.

Observa-se na Tabela 1 a freqüência em número e porcentagem de hiperplasia fibrosa inflamatória, placas brancas, queilite angular, acúmulo de biofilme, presença de cálculo, uso noturno e estado de conservação da prótese, antes e após a instituição do tratamento. Verifica-se a ausência de hiperplasia e placas brancas, bem como a não variação do quadro de queilite angular nos indivíduos avaliados, antes e depois do tratamento. Entretanto, houve uma melhora substancial na higienização das próteses, evidenciada pela redução do acúmulo de biofilme (87,28% para 16,36%) e da presença de cálculo (27,27% para 18,18%). Constatou-se ainda, que apenas 3,64% dos indivíduos continuaram com o uso noturno das próteses durante o tratamento instituído e a predominância do sexo feminino na amostra, com as mulheres representando 83,64%. Com relação ao estado de conservação da prótese, houve aumento da porcentagem de indivíduos que apresentaram uma avaliação satisfatória (76,36% para 81,82%) após o tratamento.

Tabela 1- Número (n) e porcentagem (%) de indivíduos avaliados segundo hiperplasia fibrosa inflamatória (HIPER), placas brancas (PB), quelite angular (QA), acúmulo de biofilme (AB), presença de cálculo (PC), uso noturno (UN), gênero (GEN), estado de conservação da prótese (EC), antes e após o tratamento

Características da mucosa bucal e estudo da prótese	Antes do tratamento		Após o tratamento	
	n	%	n	%
<b>HIPER</b>	-	-	-	-
<b>PB</b>	-	-	-	-
<b>QA</b>	19	34,54	19	34,55
<b>AB</b>	48	87,28	9	16,36
<b>PC</b>	15	27,27	10	18,18
<b>UN</b>	51	92,73	2	3,64
<b>EC</b>	<b>S</b>	42	<b>S</b>	45
	<b>I</b>	13	<b>I</b>	10
		76,36		81,82
		23,64		18,81

S = satisfatório I = Insatisfatório Mas = Masculino Fem= Feminino

A Tabela 2 refere-se às espécies de leveduras do gênero *Candida* isoladas e identificadas da cavidade bucal de 55 indivíduos portadores de prótese total superior, antes e após 45 dias da instituição do tratamento (APÊNDICE D). Dos indivíduos examinados, 48 apresentaram leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal, o que resultou em um percentual de isolamento correspondente a 87,3% dos indivíduos.

Na primeira coleta foram isoladas 62 cepas de leveduras dos 48 pacientes examinados, das quais 37 (59,7%) eram *Candida albicans*. As outras espécies de *Candida* presentes nestes indivíduos foram *Candida glabrata* (12,9%), *Candida krusei* (9,7%), *Candida tropicalis* (9,7%), *Candida guilliermondii* (4,8%), *Candida parapsilosis* (1,6%) e *Candida lusitaniae* (1,6%).

Na segunda coleta, após instituição do tratamento, a espécie *Candida albicans* foi a mais prevalente, sendo que das 44 cepas identificadas 34 (77,3%) foram desta espécie. Seguiu-se o isolamento de *Candida tropicalis* (9,1%), *Candida glabrata* (6,8%) e *Candida krusei* (6,8%).

Observou-se redução no número de isolados para a segunda coleta, de 62 para 44 cepas, representando um decréscimo de 29%. Verificou-se ainda, que as espécies *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae* e *C. parapsilosis* não estavam presentes após a instituição do tratamento (Tabela 2).

Tabela 2 Espécies de leveduras do gênero *Candida* isoladas da cavidade bucal de indivíduos portadores de prótese total superior antes (primeira coleta) e após 45 dias da instituição do tratamento (segunda coleta)

ESPÉCIES	Primeira coleta		Segunda coleta	
	n	%	n	%
<i>C. albicans</i>	37	59,7	34	77,3
<i>C. glabrata</i>	8	12,9	3	6,8
<i>C. tropicalis</i>	6	9,7	4	9,1
<i>C. krusei</i>	6	9,7	3	6,8
<i>C. guilliermondii</i>	3	4,8	-	-
<i>C. lusitaniae</i>	1	1,6	-	-
<i>C. parapsilosis</i>	1	1,6	-	-
<b>TOTAL</b>	<b>62</b>	<b>100</b>	<b>44</b>	<b>100</b>

n = número de espécies

A Tabela 3 apresenta resultados do teste t de *Student* para amostras pareadas, comparando-se a média de UFC/mL antes e após o tratamento. Observou-se que o valor de t calculado, 8,91880, permite afirmar que é altamente significativo, indicando que o tratamento com vinagre alterou o número de UFC/mL. Como o valor de t é positivo, a contagem de UFC antes do tratamento era bem

superior (1251,02) àquela obtida após o tratamento com vinagre (451,25). Verificou-se que o tratamento instituído reduziu em média as UFC em 36,07%. A Figura 10 ilustra um caso isolado de um indivíduo, onde ocorreu redução de aproximadamente 100%.

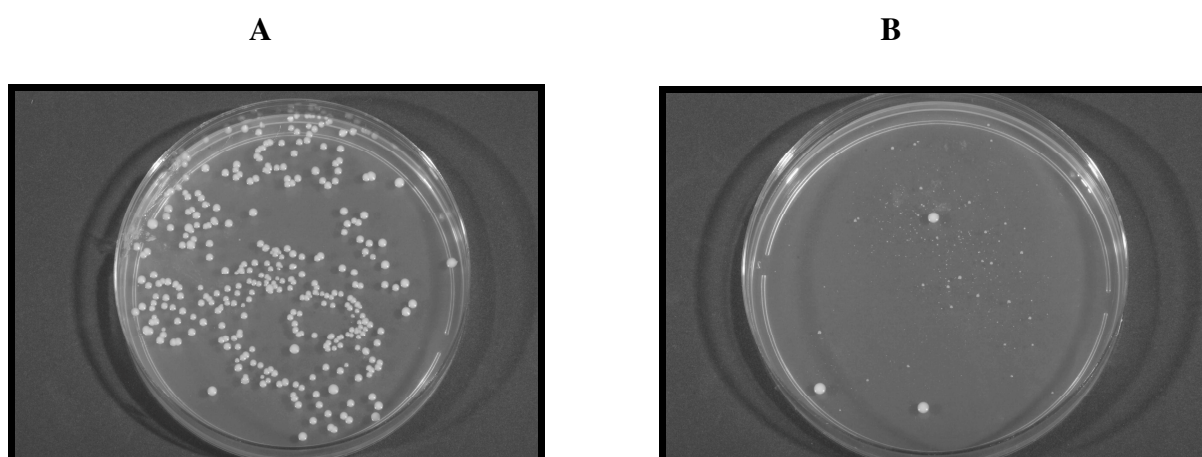


Figura 10 – Contagem de UFC/mL em um indivíduo isolado, antes (A) e após (B) a instituição do tratamento

Tabela 3 - Teste t de *Student* para amostras pareadas, comparando-se a média de UFC/mL antes do tratamento (tempo 0) e após o tratamento (tempo 1) em todos os indivíduos avaliados

	<b>Antes do tratamento (tempo 0)</b>	<b>Após o tratamento (tempo 1)</b>
Indivíduos	48	48
<b>Média</b>	<b>1251,02080</b>	<b>451,25000</b>
Desvio Padrão	667,33990	380,18540
Erro Padrão	96,32220	54,87500
Desv. Padrão da Diferença	621,26980	---
Erro Padrão da Diferença	89,67260	---
Média das diferenças	799,77080	---
(t) =	8,91880	---
Graus de Liberdade	47	---
(p) unilateral =	0,0000	---
(p) bilateral =	0,0000	---
IC (95%)	619,4471 a 980,0945	---
IC (99%)	559,2353 a 1040,3064	---

IC= Intervalo de confiança

Os resultados da análise de correlação de *Sperman* entre as variáveis quantitativas (idade do indivíduo, idade da prótese, grau de estomatite e unidades formadoras de colônias), antes e após instituição do tratamento são apresentados



na Tabela 4. Observou-se correlação positiva (aproximadamente 38%) entre as unidades formadoras de colônias antes e após o tratamento, com significância ao nível de 5% ( $p < 0,05$ ). Os indivíduos que apresentaram as maiores contagens antes do tratamento (tempo 0), também foram àqueles que apresentaram as maiores contagens após a instituição do mesmo (tempo 1). Da mesma forma, verificou-se correlação positiva (29%) entre o grau estomatite protética após o tratamento e contagem das unidades formadoras de colônias, após o tratamento. Os indivíduos que apresentaram as maiores contagens após o tratamento (tempo 1) foram os mesmos que apresentaram o maior grau de estomatite após o mesmo (tempo 1).

Tabela 4 - Análise de correlação de *Sperman* entre as variáveis idade do indivíduo, idade da prótese, grau de estomatite e UFC, antes e após instituição do tratamento

	IDA	IP	UFCO	UFCU	ESTO	ESTU
<b>IDA</b>	1,00000	0,12267	0,05962	0,13537	0,13440	0,11519
		0,4062	0,6873	0,3589	0,3634	0,4356
<b>IP</b>	0,122267	1,000000	-0,09762	0,01104	0,15945	0,21218
	0,4062		0,5092	0,9406	0,1121	0,2790
<b>UFCO</b>	0,05962	-0,09762	1,00000	0,37963	0,08460	0,14266
	0,6873	0,5092		<b>0,0078</b>	0,5675	0,3334
<b>UFCU</b>	0,13537	0,01104	0,37963	1,00000	0,19689	0,29179
	0,3589	0,9406	0,0078		0,1798	0,0442
<b>ESTO</b>	0,13440	0,15945	0,08460	0,19689	1,00000	0,79869
	0,3624	0,2790	0,5675	0,1798		<,0001
<b>ESTU</b>	0,5119	0,21218	0,14266	0,29179	0,79869	1,00000
	0,4356	0,1477	0,3334	<b>0,0442</b>	<,0001	

IDA = Idade do indivíduo; IP= Idade da prótese; UFCO = unidade formadora de colônia antes do tratamento; UFCU = unidade formadora de colônia após o tratamento; ESTO = grau de estomatite antes do tratamento; ESTU = grau de estomatite após o tratamento

## 6 DISCUSSÃO

### 6.1 Características da mucosa bucal e estudo da prótese antes e após a instituição do tratamento

Os resultados apresentados neste trabalho referem-se a uma população de 55 indivíduos avaliados, que apresentavam média de idade de 57 anos, (desvio padrão  $\pm 11,26$ ), sendo usuários de prótese total superior, com média de uso em torno de oito anos. Dos indivíduos avaliados, 48 apresentaram leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal. Segundo Webb et al. (1998a), espécies de *Candida* são leveduras freqüentemente isoladas da cavidade bucal. *Candida albicans* é um patógeno oportunista, que pode causar doenças quando as defesas do organismo estão fragilizadas.

Próteses mal adaptadas e com má higiene podem aumentar o risco da penetração e colonização de leveduras do gênero *Candida* na mucosa do palato (SHERMAN et al., 2002). Segundo esses autores, as próteses dentárias podem produzir decréscimo do pH do meio bucal e condições anaeróbias por diminuição do fluxo de oxigênio e saliva sobre o tecido adjacente, favorecendo o crescimento de fungos. Na cavidade bucal o estágio inicial da estomatite protética ocorre com a adesão de *Candida* às células epiteliais da mucosa, seguido pelo crescimento e invasão do tecido (WEBB et al., 1998b).

Modificações patológicas encontradas na mucosa bucal e que recobre os tecidos de suporte da prótese é denominada de estomatite protética e frequentemente está associada com queilite angular, e normalmente atingem indivíduos que utilizam prótese dentária por longos períodos, acometendo principalmente a mucosa maxilar e mandibular (BUDTZ- JÖRGENSEN, 1978).

A constante falta de limpeza é um dos fatores etiológicos da estomatite protética e é normalmente negligenciado por pacientes e profissionais. Brito e Veloso (2004) afirmaram que infecções fúngicas são constantemente observadas em pacientes que não têm o hábito de remover as próteses ao dormir.

Analisando-se a Tabela 1, verifica-se ausência de hiperplasia e placas brancas em todos os indivíduos avaliados e que não houve redução de queilite angular com a instituição do tratamento (incidência de 34,54%). A não redução da queilite angular neste caso, provavelmente está relacionada com o baixo controle da estomatite (Tabela 4), já que segundo Budtz-Jørgensen (1978), existe uma associação estreita entre queilite angular e os sinais clínicos da estomatite protética.

Com relação à higienização das próteses, avaliadas através do acúmulo de biofilme e presença de cálculo, houve redução significativa dos mesmos, demonstrando a eficiência do método mecânico de escovação. De acordo com Paranhos et al. (1991), a escovação com dentífrício ou sabão neutro é o método mecânico mais comumente utilizado para limpeza de próteses.

A remoção das próteses no período noturno fez parte do tratamento instituído. Este procedimento foi adotado em função do fato de já ser constatado na literatura (BRITO; VELOSO, 2004) que infecções fúngicas são constantemente observadas em pacientes que não têm o hábito de remover as próteses ao dormir. De forma que 92,73% dos indivíduos avaliados não tinham o hábito noturno de remover as próteses antes do tratamento, e que, após o mesmo, apenas 3,64% continuaram com esse hábito.

Do total de indivíduos avaliados 83,64% pertencem ao gênero feminino e 16,36% ao masculino. Em relação ao estado de conservação da prótese, este foi satisfatório em 76,36% do total de indivíduos, antes do tratamento, e 81,82% após a

instituição do mesmo. Esta melhora no estado de conservação, está relacionada ao fato de que os indivíduos foram orientados a corrigir os defeitos encontrados na prótese durante o período do tratamento (Tabela 1).

## **6.2 Espécies de leveduras do gênero *Candida* isoladas da cavidade bucal antes e após a instituição do tratamento**

Neste estudo verificou-se a prevalência da espécie *C. albicans*, que é considerado o principal microrganismo com função patogênica estabelecida na estomatite protética (BUDZT-JÖERGENSEN, 1978). Na Tabela 2, estão relacionadas as espécies de leveduras do gênero *Candida* que foram isoladas e identificadas, da cavidade bucal de indivíduos portadores de prótese total superior, antes e após a instituição do tratamento.

Analisando-se de forma geral, observa-se redução da quantidade total de cepas de 62 para 44, na primeira e segunda coleta, respectivamente, com decréscimo de 29%. Este fato evidencia que o tratamento instituído, propiciou uma diminuição das espécies de *Candida*, resultante, provavelmente, dentre outras causas, da melhora da higienização das próteses e remoção das mesmas no período noturno. Arendorf e Walker (1979) afirmaram que o uso de próteses é um fator que favorece presença e desenvolvimento de várias espécies de *Candida*, ressaltando que o hábito de dormir com as mesmas, acentua a inflamação. Kulak - Oskan et al. (2002) demonstraram que existe forte relação entre a presença de leveduras, estomatite protética e limpeza de prótese. Segundo Sherman et al. (2002), próteses mal adaptadas e com má higiene, podem aumentar o risco de penetração e colonização por leveduras do gênero *Candida*.

Com relação às espécies do gênero *Candida*, isoladas na primeira e segunda coleta (Tabela 2), verificou-se alta prevalência de *Candida albicans* nos dois tempos (59,7% e 77,3%, respectivamente). Não houve praticamente modificação na porcentagem de *Candida tropicalis* comparando-se a primeira coleta (9,7%) com a segunda (9,1%). Para as espécies de *Candida glabrata* e *Candida krusei*, ocorreu uma pequena diminuição na segunda coleta. É importante registrar também, que as espécies de *Candida guilliermondii*, *Candida lusitanae* e *Candida parapsilosis*, que se encontravam em pequena quantidade na primeira coleta, não estavam presentes após a instituição do tratamento.

Esses resultados concordam com os de Jorge et al. (1991), que afirmaram que quando se avalia apenas o uso da prótese, *Candida albicans* é a espécie mais comum, sendo responsável por 70% dos isolados. Em trabalho posterior, Jorge et al. (1997) constataram ser *Candida albicans* a espécie predominante em indivíduos portadores de prótese total, com maior diversidade de espécies naqueles que apresentavam fatores predisponentes. Kulak-Ozkan et al. (2002) verificaram nas amostras retiradas do palato, ser *Candida albicans* a espécie mais freqüente em comparação com *Candida guilliermondii* e *Candida parapsilosis*. Da mesma forma, Monroy et al. (2005) detectaram a presença de *Candida albicans* em 86% dos indivíduos portadores de prótese total com estomatite protética.

O tratamento instituído envolveu a imersão da prótese em solução de vinagre a 10%, (pH inferior a 3). A ação antifúngica do vinagre e do ácido acético já foi constatada em trabalhos de literatura (MARTINDALE,1996; MUCK et al.,1991). No entanto, no caso específico de *Candida albicans* (a espécie mais prevalente encontrada antes e após a instituição do tratamento), Geenwalt et al. (1998), testando a ação antimicrobiana de uma bebida fermentada (Kombucha) com

concentração de 33g L<sup>-1</sup> do princípio ativo, e destas, 7 g L<sup>-1</sup> de ácido acético, não encontraram ação inibitória para esta espécie, mas sim, para *Bacillus cereus*, *Salmonella choleraesius*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, que foi atribuída ao teor de ácido acético nesta bebida.

Verifica-se que o tratamento instituído no presente estudo foi eficiente na diminuição do número de cepas das espécies de *Candida glabrata*, *Candida tropicalis* e *Candida krusei* e também na eliminação das espécies de *Candida guilliermondii*, *Candida lusitanae* e *Candida parapsilosis*, com baixa prevalência na primeira coleta (variação de 1,6% à 12,9%). Entretanto, não foi efetivo no controle de *Candida albicans* (37 cepas na primeira coleta e 34 na segunda), considerando o principal agente etiológico da estomatite protética.

A estomatite protética está associada com *Candida albicans*, diversas bactérias e outros co-fatores como o pH ácido (Monroy, 2005), sendo que as próteses dentárias podem produzir decréscimo do pH do meio e condições anaeróbias por diminuição do fluxo de saliva sobre o tecido adjacente, favorecendo o crescimento de fungos (SHERMAN et al., 2002). Verifica-se também que um ambiente ácido ideal para outros microrganismos é um fator importante no mecanismo de adesão das espécies de leveduras sobre a prótese (Kulak et al., 1997a), o que pode ser comprovado no trabalho de Monroy et al. (2005), que observaram estomatite protética em cinquenta pacientes, com pH médio da saliva de 5,2 e a presença de *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus mutans*.

Considerando-se que *C. albicans* foi a espécie prevalente após a instituição do tratamento, supõe-se que o ambiente ácido seja um fator coadjuvante no processo de aderência das leveduras sobre a prótese. Sendo que neste trabalho, a

solução do vinagre a 10% (com pH inferior a 3), provavelmente deve ter contribuído para a não efetividade do controle desta espécie, indicando resistência da mesma a ambientes altamente ácidos (pH muito baixo). Por outro lado, é possível supor que as espécies de *Candida guilliermondii*, *Candida lusitanae* e *Candida parapsilosis* não possuem esta capacidade, uma vez que não foram encontradas após o tratamento.

Barnabé et al. (2004) em trabalho para avaliar a eficácia do hipoclorito de sódio a 0,5% e sabão de coco como agentes antimicrobianos, verificaram que não houve redução na contagem de *Candida albicans*. No tratamento instituído neste estudo, a escovação com sabão de coco associada ao vinagre, também não reduziu a presença de *Candida albicans*.

### **6.3 Contagem de UFC/mL antes e após a instituição do tratamento**

A candidose bucal na forma de estomatite protética ocorre em torno de 65% dos usuários de prótese total. A sua etiologia é multifatorial sendo *Candida albicans* o agente etiológico primário (NIKAWA et al., 1995). Em função disso, têm sido usados métodos químicos que envolvem a imersão da prótese em produtos químicos tais como: peróxidos alcalinos, hipocloritos alcalinos, ácidos diluídos, desinfetantes e enzimas (SESMA et al., 1999). Esses produtos devem apresentar ação antimicrobiana para o agente infectante. Esta ação foi constatada no trabalho de Greenwalt et al. (1998), utilizando o ácido acético extraído de uma bebida fermentada denominada kombucha.

Considerando-se esses aspectos, a contagem de UFC/mL antes e após a instituição do tratamento utilizando o vinagre como agente antimicrobiano, é um

parâmetro importante quando se busca avaliar a ação desses agentes no controle das espécies de *Candida* que causam a estomatite protética.

A Tabela 3 mostra que a contagem de UFC/mL foi de 1.251,02 e 451,25 antes e após a instituição do tratamento, respectivamente, verificando-se uma redução de 36,07%. Levando-se em consideração que a imersão das próteses por um período de 45 dias e por um tempo de aproximadamente 8 horas diárias, em uma solução de vinagre a 10% com pH inferior a 3, utilizado como tratamento, provavelmente a redução na contagem de UFC/mL, pode ter sido causada pela ação antifúngica dessa solução. O principal componente do vinagre é o ácido acético, que oscila entre 6 a 8 g por 100 mL do produto (BRASIL, 2004b).

Vários trabalhos têm demonstrado a ação antifúngica de ácidos orgânicos, inclusive o acético. A utilização de ácidos orgânicos tais como o benzóico é uma opção de método químico na redução de *Candida albicans* na superfície das próteses (LAMBERT; KOLSTAD, 1986). Os ácidos acético e láctico não dissociado inibiram a taxa de crescimento de fungos no processo de silagem (MUCK et al., 1991). Martindale (1996) constatou a ação antimicrobiana para *Pseudomonas*, bem como antifúngica testando o vinagre com concentrações que variaram de 3 a 10% de uma solução de ácido acético.

#### **6.4 Correlação entre as variáveis: idade do indivíduo, idade da prótese, grau de estomatite e UFC, antes e após instituição do tratamento**

Leveduras do gênero *Candida* têm afinidade ao acrílico da prótese total (SAMARANAYAKE et al., 1980). Na cavidade bucal o estágio inicial da estomatite protética ocorre com adesão de *Candida* às células epiteliais da mucosa (WEBB et al., 1998b). Esta relação entre o grau de estomatite protética e espécies de



leveduras do gênero *Candida*, está evidenciada na Tabela 4, onde se verifica correlação positiva entre a contagem de UFC e o grau de estomatite protética, após a instituição do tratamento.

Outro aspecto a considerar é que, apesar de ter ocorrido redução de 36,07% nas contagens de UFC (Tabela 3), aqueles indivíduos com maiores contagens, continuaram com este número elevado em relação aos demais do grupo, após a instituição do tratamento. Este fato ficou evidenciado na Tabela 4, quando observa-se correlação positiva entre contagem de UFC antes e após o tratamento.

## **6.5 Considerações finais**

Dentre os métodos de higienização de próteses descritos na literatura, existem os mecânicos como o uso de escovas com dentifrício ou sabonete, bem como o uso de dispositivos ultra-sônicos, além dos químicos que envolvem a imersão da prótese nestes produtos.

Apesar do desenvolvimento de novas técnicas, materiais e novos procedimentos laboratoriais, a desinformação do paciente, seu baixo poder aquisitivo e a dificuldade entre os cirurgiões dentistas em indicar o melhor método para a higienização das próteses, estas podem atuar como potenciais causadoras de injúrias aos tecidos, sendo uma delas, a estomatite protética.

As principais causas da estomatite protética são traumas e infecções por espécies de *Candida*, principalmente *C. albicans* que é considerado o único microrganismo com função patogênica estabelecida na estomatite protética.

Consta na literatura a utilização do vinagre como método caseiro para limpeza de próteses (ANTHONY; GIBBONS,1958), visando a possibilidade de uso por parte

dos pacientes, de produtos mais acessíveis. Neste contexto, este trabalho propôs a utilização de uma solução de vinagre como agente antimicrobiano no controle de *Candida* spp. em portadores de prótese total superior, visando sua desinfecção e utilização de um método caseiro, acessível à população.

Para tanto, o grupo de estudo, constando de indivíduos de ambos os sexos, foram instruídos a higienizar a prótese com escova apropriada (fornecida pelo pesquisador) e sabão neutro (sabão de coco), retirar a prótese durante a noite, aproximadamente oito horas por dia, mantendo-a num recipiente contendo 100mL da solução de água com 10% de vinagre. Este tratamento foi realizado durante 45 dias e após este período, retornaram para novo exame clínico, durante o qual uma nova coleta de saliva foi realizada.

Os resultados evidenciam que a busca de novas alternativas para o controle de *C. albicans* em portadores de prótese total superior, se faz necessário, uma vez que, como demonstrado neste trabalho, a solução de vinagre a 10% testada, não controlou efetivamente o principal agente etiológico da estomatite protética, sugere-se novas pesquisas que visem à utilização deste produto em concentrações mais elevadas. Para que seja utilizado clinicamente, deve-se também levar em consideração, seu efeito à longo prazo sobre as características intrínsecas da resina, tais como a cor e a rugosidade superficial.

## 7 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos permitem a seguinte conclusão:

A solução de vinagre à 10% testada, controlou as espécies de *C.guilliermondii*, *C.lusitaniae* e *C. parapsilosis*, reduziu as espécies *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *C. krusei*, no entanto, não controlou efetivamente o principal agente etiológico da estomatite protética (*C. albicans*) em portadores de prótese total superior. Desta forma, sugere-se novas pesquisas que visem a utilização deste produto, em concentrações mais elevadas.

## REFERÊNCIAS

ABELSSON, D. C. Denture plaque and denture cleansers: review of a literature. **Gerodentics.**, Copenhagen, v. 1, n. 1, p. 202-206, Oct. 1985.

ANTHONY, D. H.; GIBBONS, P. The nature and behavior of denture cleansers. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v. 8, n. 5, p. 797-810, Oct. 1958.

ARENDORF, T. M.; WALKER, D. M. Oral candidal population in health and disease. **Brit. Dent. J.**, London, v. 147, n. 10, p. 267-271, Nov. 1979.

AUGSBURGER, R. H.; ELAHI, J. H. Evaluation of seven proprietary denture cleansers. **J. Prosthet Dent.**, St. Louis, v. 47, n. 4, p. 356-359, Apr. 1982.

AYRES, M. et al. **BIOESTAT 2.0**: Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. 1. ed. Belém: Sociedade Civil Mamiravá. Brasília : CNPq, p. 272, 2000.

BARBACHAN, J. J. D. et al. Estudo clínico da estomatite protética: avaliação preliminar. **Rev. Fac. Odontol.**, Porto Alegre, v. 36, n. 1, p. 27-31, set. 1995.

BARBEAU, J. et al. Reassessing the presence of *Candida albicans* in denture-related stomatitis. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St Louis, v. 95, n. 1, p. 51-59, Jan. 2003.

BARNABÉ, W. et al. Efficacy of sodium hypochlorite and coconut soap used as disinfecting agents in the reduction of denture stomatitis, *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. **J. Oral Rehabil.**, Oxford, v. 31, n. 5, p. 453-459, May 2004.

BENASSATI, H. E. et al. Ácido acético: su capacidad desinfectante. **Acta Clin. Latinoam.**, La Plata, v. 28, n. 3, p. 411-419, 1994

BOONE, M. E. et al. Removal of denture strains associated with porcelain teeth: an alternative method. **Quintessence Dent Technol.**, Chicago, v. 11, n. 5, p. 335-337, Sept/Oct. 1987.

BORG, M.; RUCHEL, R. Expression of extracellular proteinase by proteolytic *Candida* spp. during experimental infection of oral mucosa. **Infect. Immu.**, Bethesda, v. 56, n. 3, p. 626-631, Mar. 1988.

BRACE, M. L.; PLUMMER, K. D. Practical denture disinfection. **J. Prosthet. Dent.**, St Louis, v. 70, n. 6, p. 538-540, Dec. 1993.

BRASIL. Ministério de Agricultura. **Composição química do vinagre**. Disponível em: < [http://www.ufrgs.br/tecvege/feira/prfruta/vinagre/legisl\\_b.htm](http://www.ufrgs.br/tecvege/feira/prfruta/vinagre/legisl_b.htm) > Acesso em: 28 out. 2004.

\_\_\_\_\_. **Vinagre**: legislação de bebidas. Disponível em: < [http://www.ufrgs.br/tecvege/feira/prfruta/vinagre/legisl\\_b.htm](http://www.ufrgs.br/tecvege/feira/prfruta/vinagre/legisl_b.htm) > Acesso em: 26 out. 2004.

BRITO, A. M.; VELOSO, K. M. M. Lesões causadas por próteses totais mal adaptadas em pacientes idosos-relatos de casos clínicos. **Medcenter**. Disponível em: <<http://www.ododontologia.com.br/artigos.asp?id=189&idesp=5&ler=s>>. Acesso em: 26 out. 2004.

BUDTZ-JÖRGENSEN, E.; BERTRAM, U. Denture stomatitis 1. The etiology in relation to trauma and infection. **Acta Odontol. Scand.**, Stockholm, v. 28, n. 1 p. 71-92, Mar. 1970.

BUDTZ-JÖRGENSEN, E. Clinical aspects of *Candida* infection in denture wearers. **J Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v. 96, n. 3, p. 474-479, Mar. 1978.

BUJDAKOVA, H. et al. Anti-candida activity of 4 antifungal benzothiazolis. **Fems Microbiol. Letters.**, Amsterdam, v. 112, n. 3, p. 329-333, Sept. 1993.

CANNON, R. D. et al. Oral *Candida*: clearance, colonization, or candidiasis. **J. Dent. Res.**, Chicago, v. 74, n. 5, p. 1152-1161, May 1995.

CHAN, E. C. S. et al. Comparison of two popular methods for removal and killing of bacteria from dentures. **J. Can. Dent. Assoc.**, Ottawa, v. 57, n. 12, p. 937-939, Dec. 1991.

CHAU, V. B. et al. In-depth disinfection of acrylic resins. **J. Prosthet. Dent.**, St Louis, v. 74, n. 3, p. 309-313, Sept. 1995.

CUMMING, C. G. et al. Denture stomatitis in the elderly. **Oral Microbiol. Immunol.**, Copenhagen, v. 5, n. 2, p. 82-85, Apr. 1990.

DAVEY, A. L.; ROGERS, A. H. Multiples types of the bacterium *Streptococcus mutans* in the human mouth and inter-familiae transmission. **Archs Oral Biol.**, Oxford, v. 6, n. 29, p.453-460, June 1984.

DOROCCA-BOBKOWSKA, B. et al. Non-insulin-dependent diabetes mellittus as a risk factor denture stomatitis. **J. Oral Pathol. Med.**, Copenhagen, v. 25, n. 8, p. 411-415, Sept. 1996.

FARAH, C. S. et. al. Oral Candidosis. **Clinics in Dermatol.**, Philadelphia, v. 18, n. 5, p. 553-562, Sept./Oct. 2000.

GREENWALT, C. J. et al. Determination and characterization of the antimicrobial activity of the fermented tea kombucha. **Food Sci. Technol. Res.**, Tsukuba, v. 31, n. 3, p. 291-296, Nov. 1998.

HALFT, M. et al. The prevalance of denture related injuries in patients resident at two Israeli geriatric hospitals. **Gerodontoly.**, Mount Desert, v. 5, n. 2, p. 123-127, Autum 1986.

HARRISON, A.; JAGGAR, D. C. An *in vitro* investigation of the abrasive qualities of a selection of denture cleaning pastes of poly (methyl methacrylate) denture base material. **Prim. Dent. Care**, London, v. 4,n. 1, p. 21-25, Jan. 1997.

HARRISON, Z. et al. An *in vitro* study into the effect of a limited range of denture cleaners on surface roughness heat-cured acrylic resin denture base material. **J. Oral Rehabil.**, Oxford, v. 31, n. 5, p. 460-467, May 2004.

HAZEN, K. C. Participation of yeast cell surface hydrophobicity in adherence of *Candida albicans* to human ephitelial cells. **Infect Immunol.**, Bethesda, v. 57, n. 7, p. 1894 -1900, July 1989.

HOAD-REDDICK, G. et al. Investigation into the clealiness of dentures in an elderly populations. **J. Prosthet. Dent.**, St Louis, v. 64, n. 1, p. 48-52, July 1990.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos químicos e físicos para análises de alimentos.** 3. ed. São Paulo, 1985. v.1. 533 p.

JAIN, S. K.; AGRAWAL, S. C. Fungitoxic effect of some organic volatile substances against fungi causing oromycosis. **Mycoses**, Berlin, v. 37, n. 7-8, p. 299-301, July/Aug. 1994.

JEGANATHAN, S. et al. Denture stomatitis in a elderly edentulous. Asian population. **J. Oral Rehabil.**, Oxford, v. 24, n. 6, p. 468-472, June 1997.

JORGE, A. O. C. et al. Presença de leveduras do gênero *Candida* na saliva de pacientes com diferentes fatores predisponentes e de indivíduos controle. **Rev. Odontol. Univ. São Paulo.**, São Paulo, v. 11, n. 4, p. 279 -285, out./dez. 1997.

JORGE, J. et al. Oral mucosal health an disease in institucionalized elderly in Brazil. **Community Dent. and Oral Epidemiol.**, Copenhagen, v. 19, p. 173-178, July 1991.

KULAK, Y. et al. Existence of *Candida albicans* and microorganisms in denture stomatitis patients. **J. Oral Rehabil.**, Oxford, v. 24, n. 10, p. 788-790, Oct. 1997.

KULAK, Y. et al. Scanning electon microscopic examination of different cleners: surface contaminant removal from dentures. **J. Oral Rehabil.**, Oxford, v. 24, n. 3, p. 209 -215, Mar. 1997.

KULAK-OZKAN, E. et al. Oral hygiene habits denture cleanliness, presence of yeats and stomatitis in elderly people. **J. Oral Rehabil.**, Istanbul, v. 29, n. 3, p. 300-304, Mar. 2002.

LAMBERT, J. P.; KOLSTAD, R. Effect of a benzoic acid detergent germicid on denture-borne *Candida albicans*. **J. Prosthet. Dent.**, St Louis, v. 55, n. 6, p. 699-700, June 1986.

LEHNER, T. **Imunologia das doenças da boca**. São Paulo: Santos, 1996. 190 p.

LEMOS, M. M. C. et al. Estudo clínico, microbiológico e histopatológico da estomatite por dentadura. **RBPO.**, Natal, v. 2, n. 1, p. 3-10, jan./mar. 2003.

MA, T. et al. Effects of chemical desinfectants on the surface characteristics and color of denture resins. **J. Prosthet. Dent.**, St Louis, v. 77, n. 2, p. 197-204, Feb. 1997.

MARTINDALE, W. **The extra pharmacopeia**. Thiry-first edition- London: evaluated information on the world's drugs and medicines. The Royal pharmaceuticals society. Editad by Janes E. F. Reynolds. 2739 p. 1996

MEYERS, H. M.; KROL, A. J. Effectiveness of a sonic-action denture cleaning program. **J. Prosthet. Dent.**, St Louis, v. 32, n. 6, p. 613-618, Dec. 1974.

MOLINEROS, J.R. et al. El empleo del ácido acético como antiséptico: un enfoque racional. **Rev. Colomb. Ortop. Traumatol.**, Bogotá, v. 52, n. 2, 117-124, feb. 1991.

MONROY, T. B. et al. *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* colonization in patients wearing dental prosthesis. **Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal.**, Valencia, v. 10, p. 27-39, May 2005.

MORRISON, R. T.; BOYD, R. N. **Química orgânica**. 4. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1983.

MUCK, R. E. et al. A model of aerobic fungal growth in silage in microbial characteristics. **Grass and Forage Science**, Oxford, v. 46, n. 3, p. 283-299, Sept. 1991.

NEVALAINEN, M. J. et al. Oral mucosal lesions and oral hygiene habits in the home-living elderly. **J. Oral Rehabil.**, Oxford, v. 24, n. 5, p. 332-337, May 1997.

NIKAWA, H. et al. Cleansing efficacy of commercial denture cleansers: ability to reduce *Candida albicans* biofilm activity. **Int. J. Prosthodont.**, Lombard, v. 8, n. 6, p. 527-533, Nov./Dec. 1995.

NIKAWA, H. et al. A review of *in vitro* and *in vivo* methods to evaluate the efficacy of denture cleansers. **Int. J. Prosthodont.**, Lombard, v. 12, n. 2, p. 153-159, Mar./Apr. 1999.

NEWTON, A. V. Denture sore mouth, a possible aetiology. **Br. Dent. J.**, London, v. 1, p. 357-363, May 1962.

OLIVEIRA, T. R. C. et al. Avaliação da estomatite protética em portadores de próteses totais. **Pesqui. Odontol. Brás.**, São Paulo, v. 14, n. 3, p. 219-224, jul./set. 2000.

OTA, C. et al. Antifungal activity of propolis on different species of *Candida*. **Mycoses**, Berlin, v. 44, n. 9, p. 375-378, Nov. 2001.



PARANHOS, H. F. O. et al. Hábitos de higienização de portadores de prótese total. **Rev. Paul. Odontol.**, São Paulo, v. 1, n. 1, p. 11-21, jan./fev. 1991.

PINTO-COELHO, C. M. et al. Avaliação preliminar das lesões da mucosa bucal associadas ao uso da prótese total removível. **Medcenter**. Disponível em: <<http://www.odontologia.com.br/artigos>>. Acesso em: 26 out. 2004.

PIRES, F. R. et al. Denture stomatitis and salivary *Candida* in Brazilian edentulous patients. **J. Oral Rehabil.**, Oxford, v. 29, n. 11, p. 1115-1119, Nov. 2002.

RAMAJE, G. et al. Denture stomatitis; a role for *Candida* biofilms. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St Louis, v. 98, n. 1, p. 53-59, July 2004.

SÁ, A. M. P. **Alterações fisiológicas e patológicas freqüentes na cavidade bucal do paciente idoso do asilo de mendicidade de São Luis**. 1995. 48 f. Monografia (Graduação em Odontologia) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Maranhão, São Luis, 1995.

SAKKI, T. K. et al. The association of yeasts and denture stomatitis with behavioural and biological factors. **Oral Surg.**, St. Louis, v. 84, n. 6, p. 624-629, Dec. 1997.

SAMARANAYAKE, L. P. et al. Factors affecting the *in vitro* adherence of *Candida albicans* to acrylic surfaces. **Archs Oral Biol.**, Oxford, v. 25, n. 8-9, p. 611-615, 1980.

SANDVÉN, P. Laboratory identification and sensitivity testing of yeast isolated. **Acta Odontol. Scand.**, Stockholm, v. 48, n. 1, p. 27-36, Feb. 1990.

SAS INSTITUTE. SAS language and procedures: usage. Version 6, 1. ed. Cary NC: **SAS Institute**, 1995. 373 p.

SESMA, N. et al. Eficiência de métodos caseiros de higienização e limpeza de próteses parciais removíveis. **Rev. Ass. Paul. Cir. Dent.**, São Paulo, v. 53, n. 6, p. 463-468, nov./dez. 1999.

SHERMAN, R. G. et al. Oral Candidosis. **Quintessence Int.**, Berlin, v. 33, n. 7, p. 521-532, July/Aug. 2002.

SILVA, M. R.; FERNANDES, N. C. Afecções das mucosas e semi-mucosas. **J. Bras. Medicina**, Rio de Janeiro, v. 80, n. 3, p. 50-66, mar. 2001.

THORP, M. A. et al. The antimicrobial activity of acetic acid and Burow's solution as topical otological preparations. **J. Laryngol. Otolology.**, Londres, v. 112, n. 10, p. 925-928, Oct. 1998.

TMAMOTO, M. et al. Ability of enzymes to remove *Candida*. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v. 53, n. 2, p. 214-215, Fev. 1985.

UTYAMA, I. K. A. **Avaliação da atividade antimicrobiana e citotóxica *in vitro* do vinagre e ácido acético: perspectivas na terapêutica de feridas.** 2003. 108 f. Dissertação (Mestrado em Enfermagem) - Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2003.

VAN-REENEN, J. F. Microbiologic studies of denture stomatitis. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v. 30, n. 4, p. 493 -505, Oct. 1973.

WEBB, B. C. et al. *Candida*-associated denture stomatitis. A etiology and management: A review Part 1. **Aust. Dent. J.**, Sydney, v. 43, n. 1, p. 45-50, Feb. 1998.

WEBB, B. C et al. *Candida* associated denture stomatitis. A etiology and management: a review. Part 2. Oral diseases caused by *Candida species*. **Aust. Dent. J.**, Sidney, v. 43, n. 3, p. 160-166, June 1998.

WEBB, B.C. et al. The effect of sodium-hypoclorite on potencial pathogenic traits of *Candida* spp. **Oral Microbiol. Immunol.**, Copenhagen, v. 10, n. 6, p. 334-341, Dec. 1995.

ZANETTI, R. V. et al. Estudo de 60 pacientes portadores de prótese parcial removível: avaliação clínica das lesões nas áreas de suporte da mucosa bucal. **Rev. Pós Grad.**, São Paulo, v. 3, n. 3, p. 175-184, jul./ago./set. 1996.

## APÊNDICE

### APÊNDICE A - Termo de consentimento livre e esclarecido

#### Termo de consentimento livre e esclarecido

**Título:** Vinagre como agente antimicrobiano no controle de *Candida* spp. em portadores de prótese total superior.

#### Pesquisadores:

TELMA MARIA SILVA PINTO  
ANTONIO OLAVO CARDOSO JORGE  
Faculdade de Odontologia, Universidade de Taubaté

**1 Introdução:** as informações a seguir descreverão esta pesquisa e o papel que você terá como participante. Os pesquisadores responsáveis pelo estudo responderão a todas as perguntas que você possa ter sobre o estudo. Por favor, leia esse termo cuidadosamente e não tenha dúvida em perguntar qualquer coisa sobre as informações abaixo.

**2 Propósito:** você está sendo convidado a participar de uma pesquisa clínica cujo objetivo é determinar a prevalência de um fungo chamado *Candida* na cavidade bucal de indivíduos portadores de prótese total superior.

**3 Descrição do estudo:** serão selecionados 55 indivíduos com faixa etária entre 32 a 81 anos, portadores de prótese total superior. Não participarão deste estudo usuários de antifúngicos, imunosuprimidos e indivíduos que passaram por terapia antibiótica 3 meses antes do estudo.

**4 Desconforto, riscos e benefícios esperados:** você será convidado a cuspir em um coletor plástico universal esterilizado. Também será instruído a realizar o tratamento por 45 dias da seguinte forma: higienizar a prótese com escova apropriada e sabão neutro (sabão de coco), tirá-la aproximadamente 8 horas por dia e colocá-la num recipiente contendo uma solução de água + 10% de vinagre (de vinho tinto). Esses procedimentos não provocarão qualquer risco ou custo a você. Por outro lado irá oferecer a possibilidade de gerar conhecimento para compreensão, diagnóstico e prevenção desta infecção por fungo.

**5 Resultados:** após o término da pesquisa você será informado dos resultados obtidos. Caso os exames demonstrarem que você tem candidose, você terá direito a um relatório para apresentar ao seu dentista e também será orientado a realizar o preparo da solução de vinagre à 10%.

**6 Compensação:** não existe dano imediato ou futuro previsível decorrente da pesquisa, por tanto a mesma não inclui a possibilidade de indenização.

**7 Confidencialidade dos registros:** concordando em participar desta pesquisa, você permite acesso aos dados obtidos durante o estudo, aos pesquisadores nele envolvidos, a banca examinadora e aos membros do Comitê de Ética responsáveis pela análise deste projeto. Os resultados científicos deste projeto de pesquisa poderão ser apresentados em congressos ou em publicações, porém sua identidade não será revelada.

**8 Direito de participar, recusar ou sair:** ao participar você concorda em cooperar com os procedimentos que serão executados e que foram descritos acima, não abrindo mão de seus direitos legais ao assinar o termo de consentimento informado. Sua participação neste estudo é voluntária e você poderá recusar-se a participar ou poderá interromper sua participação a qualquer momento sem penalidades ou perda dos benefícios aos quais de outra forma tenha direito.

**9 Contatos:** se ainda houver qualquer dúvida sobre o estudo, ou se você sentir algum tipo de problema depois de realizados os exames você poderá receber mais esclarecimentos falando com:

C.D Telma Maria Silva Pinto

Prof. Dr. Antonio Olavo Cardoso Jorge

Departamento de Odontologia, Universidade de Taubaté

Telefones: (12) 3625-4149 (Antonio Olavo)

(71) 3351-8259 (Telma Pinto)

(75) 3261-2456 (Telma Pinto)

## **TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Fui esclarecido sobre a finalidade da pesquisa, quanto aos procedimentos a serem realizados, através de uma descrição sucinta e acessível a minha compreensão. Estou ciente de que será mantido sigilo sobre os dados individuais coletados na pesquisa.

### **AUTORIZAÇÃO**

Autorizo após ter sido informado sobre as características da pesquisa: Vinagre como agente antimicrobiano no controle de *Candida* spp., em portadores de prótese total superior.

Paciente: \_\_\_\_\_

RG. \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

## APÊNDICE B - Ficha clínica e de Anamnese

### FICHA DOS PACIENTES

Autora: Telma Maria Silva Pinto

Nome: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

Idade: \_\_\_\_\_

Gênero: \_\_\_\_\_

CEP: \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_

TEL: ( ) \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_

### ANAMNESE:

Hipertenso? \_\_\_\_\_

Diabético? \_\_\_\_\_

Fuma? \_\_\_\_\_

Bebe? \_\_\_\_\_

Transplantado? \_\_\_\_\_

Doenças Infecto-contagiosa? \_\_\_\_\_

Antifúngicos? \_\_\_\_\_

Fez uso de antibiótico 3 meses antes da coleta? \_\_\_\_\_

### CARACTERÍSTICA DA MUCOSA BUCAL:

Presença de lesões? \_\_\_\_\_

Tipos: 1. Estomatite protética? \_\_\_\_\_

    Graus 1 - Estágio Inicial (presença de inflamação)? ( )

        2 - Inflamação simples e difusa (edema)? ( )

        3 - Inflamação granular hiperplásica? ( )

2. Hiperplasia fibrosa inflamatória? \_\_\_\_\_

3. Placas brancas? \_\_\_\_\_

4. Queilite angular? \_\_\_\_\_

### ESTUDO DA PRÓTESE:

Estado de conservação: ( ) satisfatório ( ) insatisfatório

Idade da prótese: \_\_\_\_\_

Higienização da prótese: ( ) acúmulo de biofilme ( ) presença de cálculo

Uso noturno: ( ) sim ( ) não

## HIGIENIZAÇÃO DA PRÓTESE:

Escova a prótese? \_\_\_\_\_

Quantas vezes ao dia? \_\_\_\_\_

O que usa? \_\_\_\_\_

Qual o tipo de escova? \_\_\_\_\_

Utiliza algum outro método de higiene? \_\_\_\_\_

Qual? \_\_\_\_\_

## APÊNDICE C – Meios de cultura utilizados no presente trabalho

### Ágar Sabouraud dextrose (difco) com cloranfenicol

Peptona .....	10 g
Dextrose .....	40 g
Ágar .....	15 g
Água destilada .....	1000 mL
pH 5,6	
cloranfenicol .....	0,1 mg
(Quemeticina Succinato – Carlo Erba)	

Após dissolução dos constituintes em banho-maria, o meio será autoclavado a 121°C por 15 minutos. Imediatamente ao seu resfriamento a 50-55°C, será acrescida a solução de cloranfenicol, (esterilizada por filtração) vertido em placas de Petri e armazenado em geladeira.

### Solução de cloranfenicol

Cloranfenicol.....	100 mg
Álcool 95%.....	10 mL

Dissolver o cloranfenicol no álcool e utilizar.

### Ágar corn meal tween 80

Corn Meal Infusion (Difco).....	50 g
Bacto Agar .....	20 g
Água destilada.....	1000 mL
Tween 80.....	10 mL
pH 5,6	

Autoclavar a 121°C por 15 minutos, esperar esfriar e armazenar em geladeira. No momento de usar, dissolver em banho-maria e distribuir em lâminas esterilizadas, dentro de placas de Petri.

### Caldo vermelho de fenol para fermentação de carboidrato

Peptona.....	10 g
Extrato de carne.....	1 g



Cloreto de sódio..... .5 g  
Vermelho de fenol..... 0,18 g  
Água destilada.....1000 mL

pH 7,4

Meio quimicamente definido para assimilação de carboidrato

Sulfato de amônia (Reagen).....5 g  
Fosfato de potássio básico (Merck).....1 g  
Sulfato de magnésio (Reagen).....0,5 g  
Ágar (Difco).....15 g  
Água destilada.....1000 mL

Após total dissolução dos constituintes, o meio será distribuído em tubo de ensaio (20mL), autoclavado a 121°C por 15 minutos e armazenado em geladeira.

**APÊNDICE D-** Espécies de leveduras do gênero *Candida*, isoladas e identificadas da cavidade bucal de indivíduos portadores de prótese total superior, antes e após 45 dias da instituição do tratamento.

INDIVÍDUO NÚMERO	ESPÉCIES DE LEVEDURAS	
	ANTES TRATAMENTO	APOS TRATAMENTO
1	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
2	<i>Candida guilliermondii</i>	-
3	<i>Candida glabrata, C. guilliermondii</i>	<i>Candida glabrata</i>
4	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
5	<i>Candida krusei</i>	<i>Candida krusei</i>
6	<i>Candida albicans, C. krusei</i>	-
7	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
8	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
9	<i>Candida guilliermondii</i>	-
10	<i>Candida albicans, C. glabrata</i>	<i>Candida albicans</i>
11	<i>Candida albicans, C. glabrata</i>	<i>Candida albicans</i>
12	<i>Candida krusei</i>	<i>Candida krusei</i>
13	<b>NEGATIVO</b>	
14	<i>C. albicans, C. glabrata, C. parapsilosis</i>	<i>Candida glabrata</i>
15	<b>NEGATIVO</b>	
16	<i>Candida albicans, C. krusei</i>	<i>Candida albicans, Candida krusei</i>
17	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
18	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
19	<b>NEGATIVO</b>	
20	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
21	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
22	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
23	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
24	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
25	<i>Candida albicans, C. glabrata</i>	<i>Candida albicans</i>
26	<i>Candida tropicalis</i>	<i>Candida albicans</i>
27	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
28	<i>Candida albicans, C. glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i>
29	<b>NEGATIVO</b>	
30	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
31	<i>Candida albicans, C. glabrata</i>	<i>Candida albicans</i>
32	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
33	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
34	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
35	<b>NEGATIVO</b>	
36	<i>Candida tropicalis</i>	<i>Candida tropicalis</i>
37	<i>Candida albicans, C. glabrata, C. tropicalis</i>	<i>Candida tropicalis</i>
38	<b>NEGATIVO</b>	
39	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>

40	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
41	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
42	<i>Candida krusei</i>	<i>Candida albicans</i>
43	<i>Candida albicans, C. lusitaniae</i>	<i>Candida albicans</i>
44	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
45	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
46	<i>Candida albicans</i>	-
47	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
48	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
49	<i>Candida tropicalis</i>	-
50	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
51	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
52	<i>Candida krusei, C. tropicalis</i>	<i>Candida tropicalis</i>
53	<i>Candida tropicalis</i>	<i>Candida tropicalis</i>
54	<b>NEGATIVO</b>	
55	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>

**APÊNDICE E** Resultados da avaliação das características da mucosa bucal, estudo da prótese e contagem das unidades formadoras de colônias (UFC) dos 55 indivíduos que participaram do estudo, antes do tratamento (tempo 0)

Indivíduo	UFC	HIPER	PB	QA	EST	EC	IP	AB	PC	UN	GEN	IDA
1	1660	0	0	1	2	0	1	1	0	0	F	44
2	2165	0	0	0	2	1	2	1	0	0	F	47
3	1430	0	0	0	0	0	2	1	0	0	F	50
4	1865	0	0	1	1	1	20	1	1	0	F	54
5	710	0	0	0	2	0	5	1	0	0	F	32
6	365	0	0	0	0	0	5	1	0	0	F	63
7	1300	0	0	0	3	0	3	1	0	0	F	59
8	1125	0	0	1	2	0	2	1	1	0	M	76
9	1249	0	0	0	1	0	4	1	0	1	F	43
10	305	0	0	0	1	1	10	1	1	0	F	50
11	525	0	0	0	1	1	15	1	1	0	F	52
12	1155	0	0	0	0	0	3	1	0	0	F	52
13	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0	M	59
14	370	0	0	1	1	0	2	0	0	0	M	59
15	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	F	58
16	430	0	0	0	1	0	0.5	1	1	0	F	51
17	3000	0	0	0	0	0	6	1	1	0	F	46
18	1225	0	0	0	1	0	3	1	0	0	M	60
19	0	0	0	0	0	0	3	1	0	0	F	81
20	1835	0	0	0	2	0	20	1	0	0	F	64
21	1870	0	0	1	3	0	1	1	1	1	F	52
22	2155	0	0	1	2	1	6	1	0	0	F	53
23	1130	0	0	1	1	1	25	1	1	0	F	54
24	565	0	0	0	2	0	25	1	0	0	F	64
25	1640	0	0	0	0	0	4	1	0	0	F	64
26	340	0	0	1	1	0	10	0	1	0	M	48
27	515	0	0	1	1	1	3	0	0	0	F	53
28	930	0	0	0	2	0	20	1	1	0	F	48
29	0	0	0	0	0	0	3	1	0	0	F	68
30	760	0	0	1	2	0	15	1	0	0	F	69
31	1890	0	0	1	1	0	10	1	1	0	F	58
32	1760	0	0	1	2	1	3	1	0	0	F	69
33	640	0	0	1	2	1	25	1	0	0	F	56
34	1495	0	0	1	3	0	14	1	1	0	F	72
35	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	F	65
36	1000	0	0	1	2	0	5	1	0	0	F	59
37	1325	0	0	1	2	0	2	1	0	0	F	59
38	0	0	0	0	0	0	4	1	0	0	M	75
39	550	0	0	0	1	1	20	1	1	1	F	69
40	800	0	0	0	1	0	10	1	0	0	F	43
41	735	0	0	1	2	0	4	1	0	0	F	46
42	735	0	0	0	1	0	1	1	0	0	F	78
43	1635	0	0	1	0	0	4	1	0	0	F	66
44	2100	0	0	0	0	0	10	1	0	0	F	61
45	1295	0	0	0	1	0	15	1	0	0	F	42
46	930	0	0	0	0	0	2	1	1	0	M	77
47	2185	0	0	0	1	0	3	1	1	0	M	59
48	615	0	0	0	0	0	6	0	0	0	F	49
49	2035	0	0	0	0	0	1	0	0	0	F	43
50	590	0	0	0	0	0	0.5	1	0	1	F	41
51	1650	0	0	0	0	0	2	1	0	0	F	38
52	755	0	0	0	0	0	4	1	0	0	F	62
53	2510	0	0	0	2	0	5	0	0	0	F	64
54	0	0	0	0	0	0	5	1	0	0	M	40
55	2200	0	0	1	1	0	8	1	0	0	F	70

HIPERPLASIA (HIPER), PLACAS BRANCAS (PB), QUELITE ANGULAR (QA), ACÚMULO DE BIOFILME (AB), PRESENÇA DE CÁLCULO (PC): 0=ausência e 1=presença; ESTOMATITE (EST): 0=ausência, 1=grau 1, 2=grau 2 e 3=grau 3; ESTADO DE CONSERVAÇÃO DA PRÓTESE: 0= satisfatório e 1= insatisfatório; IDADE DA PRÓTESE (IP) (resultados em anos); USO NOTURNO (UN): 0=sim e 1=não; GENERO (GEN): M=masculino e F= Feminino; IDADE (IDA).

Os indivíduos, 13, 15, 19, 29, 35, 38 e 54, não foram considerados nos resultados, pois foram negativos para levedura na primeira coleta.

**APÊNDICE F** – Resultados da avaliação das características da mucosa bucal, estudo da prótese e contagem das unidades formadoras de colônias (UFC) dos 55 indivíduos que participaram do estudo, após o tratamento (tempo 1)

Indivíduo	UFC	HIPER	PB	QA	EST	EC	IP	AB	PC	UN	GEN	IDA
1	490	0	0	1	2	0	1	0	0	1	F	44
2	265	0	0	0	1	1	2	0	0	1	F	47
3	180	0	0	0	0	0	2	0	0	1	F	50
4	25	0	0	1	1	1	20	0	1	1	F	54
5	270	0	0	0	1	0	5	1	0	1	F	32
6	70	0	0	0	0	0	5	0	0	0	F	63
7	865	0	0	0	2	1	3	0	0	1	F	59
8	695	0	0	1	1	1	2	1	0	1	M	76
9	215	0	0	0	0	0	4	0	0	1	F	43
10	70	0	0	0	1	1	10	0	1	1	F	50
11	195	0	0	0	1	1	15	1	1	1	F	52
12	960	0	0	0	0	0	3	0	0	1	F	52
13	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	M	59
14	120	0	0	1	0	0	2	0	0	1	M	59
15	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	F	58
16	200	0	0	0	0	0	0.5	0	0	1	F	51
17	690	0	0	0	0	0	6	1	0	1	F	46
18	850	0	0	0	0	0	3	0	0	1	M	60
19	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	F	81
20	760	0	0	0	1	1	20	0	0	1	F	64
21	1425	0	0	1	3	0	1	1	1	1	F	52
22	1645	0	0	1	1	0	6	0	0	1	F	53
23	520	0	0	1	1	1	25	1	1	1	F	54
24	210	0	0	0	1	1	25	0	0	1	F	64
25	1150	0	0	0	0	0	4	0	0	1	F	64
26	355	0	0	1	0	0	10	0	0	1	M	48
27	25	0	0	1	0	0	3	0	0	1	F	53
28	425	0	0	0	1	1	20	0	1	1	F	48
29	0	0	0	0	0	0	3	1	0	0	F	68
30	40	0	0	1	1	0	15	0	0	1	F	69
31	155	0	0	1	0	0	10	0	0	1	F	58
32	940	0	0	1	1	0	3	0	0	1	F	69
33	835	0	0	1	1	1	25	0	0	1	F	56
34	415	0	0	1	2	1	14	0	1	1	F	72
35	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	F	65
36	75	0	0	1	0	0	5	0	0	1	F	59
37	605	0	0	1	1	0	2	0	0	1	F	59
38	0	0	0	0	0	0	4	1	0	0	M	75
39	845	0	0	0	1	0	20	0	1	1	F	69
40	245	0	0	0	0	1	10	0	0	1	F	43
41	30	0	0	1	1	0	4	0	0	1	F	46
42	45	0	0	0	0	0	1	0	0	1	F	78
43	185	0	0	1	0	0	4	0	0	0	F	66
44	790	0	0	0	0	0	10	0	0	0	F	61
45	590	0	0	0	0	0	15	0	0	1	F	42
46	350	0	0	0	0	0	2	0	1	0	M	77
47	645	0	0	0	1	0	3	0	1	1	M	59
48	150	0	0	0	0	0	6	0	0	1	F	49
49	25	0	0	0	0	0	1	0	0	0	F	43
50	280	0	0	0	0	0	0.5	0	0	1	F	41
51	475	0	0	0	0	0	2	0	0	0	F	38
52	440	0	0	0	0	0	4	0	0	0	F	62
53	585	0	0	0	1	0	5	0	0	0	F	64
54	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	M	40
55	240	0	0	1	0	0	8	0	0	1	F	70

HIPERPLASIA (HIPER), PLACAS BRANCAS (PB), QUELITE ANGULAR (QA), ACÚMULO DE BIOFILME (AB), PRESENÇA DE CÁLCULO (PC): 0=ausência e 1=presença; ESTOMATITE (EST): 0=ausência, 1=grau 1, 2=grau 2 e 3=grau 3; ESTADO DE CONSERVAÇÃO DA PRÓTESE: 0= satisfatório e 1= insatisfatório; IDADE DA PRÓTESE (IP) (resultados em anos); USO NOTURNO (UN): 0=sim e 1=não; GENERO (GEN): M=masculino e F= Feminino; IDADE (IDA).

Os indivíduos, 13, 15, 19, 29, 35, 38 e 54, não foram considerados nos resultados, pois foram negativos para levedura na segunda coleta.

**APÊNDICE G** - Resultados da avaliação das características da mucosa bucal e estudo da prótese dos 55 indivíduos que participaram do estudo, antes (tempo 0) e após o tratamento (tempo 1)

IND..	HIPER		PB		QA		EC		AB		PC		UN		GEN
	A	D	A	D	A	D	A	D	A	D	A	D	A	D	
1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	F
2	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	F
3	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	F
4	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	F
5	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	F
6	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	F
7	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	F
8	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	0	0	1	M
9	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	F
10	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	0	1	F
11	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	F
12	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	F
13	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	M
14	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	M
15	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	F
16	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	F
17	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	F
18	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	M
19	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	F
20	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	F
21	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	F
22	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	1	F
23	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	F
24	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	F
25	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	F
26	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	M
27	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	F
28	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	F
29	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	F
30	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	F
31	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0	1	F
32	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	1	F
33	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	F
34	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	1	1	0	1	F
35	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	F
36	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	F
37	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	F
38	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	M
39	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	1	1	F
40	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	F
41	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	F
42	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	F
43	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	F
44	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	F
45	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	F
46	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	M
47	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	M
48	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	F
49	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	F
50	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	F
51	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	F
52	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	F
53	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	F
54	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	M
55	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	F

IND= indivíduo, HIPER= Hiperplasia, PLACAS BRANCAS (PB), QUELITE ANGULAR (QA), ACÚMULO DE BIOFILME (AB), PRESENÇA DE CÁLCULO (PC): 0=ausência e 1=presença; ESTADO DE CONSERVAÇÃO DA PRÓTESE: 0= satisfatório e 1= insatisfatório; USO NOTURNO (UN): 0=sim e 1=não; GÊNERO (GEN): M=masculino e F= Feminino;  
A= antes do tratamento D= depois do tratamento

**APÊNDICE H** – Número (n) e porcentagem (%) dos indivíduos avaliados segundo gênero, estado de conservação da prótese, uso noturno, acúmulo de biofilme, presença de cálculo, hiperplasia fibrosa inflamatória, estomatite protética, placas brancas e queilite angular antes do tratamento (tempo 0)

<b>Característica da mucosa bucal e estudo da prótese</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>Gênero</b>		
Masculino	9	16,36
Feminino	46	83,64
<b>Estado de conservação da prótese</b>		
Satisfatório	45	76,36
Insatisfatório	10	23,64
<b>Uso noturno</b>		
Sim	51	92,73
Não	4	7,27
<b>Acúmulo de biofilme(Higienização)</b>		
Sim	48	87,28
Não	7	12,72
<b>Presença de cálculo(Higienização)</b>		
Sim	15	27,27
Não	40	72,73
<b>Presença de hiperplasia fibrosa inflamatória</b>		
Sim	-	-
Não	-	-
<b>Presença de estomatite protética</b>		
Não	20	36,36
Grau 1	17	30,91
Grau 2	15	27,28
Grau 3	3	5,45
<b>Placas brancas</b>		
Sim	-	-
Não	-	-
<b>Queilite angular</b>		
Sim	19	34,54
Não	36	65,46

**APÊNDICE I** – Número (n) e porcentagem (%) dos indivíduos avaliados segundo gênero, estado de conservação da prótese, uso noturno, acúmulo de biofilme, presença de cálculo, hiperplasia fibrosa inflamatória, estomatite protética, placas brancas e queilite angular após o tratamento (tempo 1)

<b>Características da mucosa bucal e estudo da prótese</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>Gênero</b>		
Masculino	9	16,36
Feminino	46	83,64
<b>Estado de conservação da prótese</b>		
Satisfatório	42	81,82
Insatisfatório	13	18,81
<b>Uso noturno</b>		
Sim	2	3,64
Não	53	96,36
<b>Acúmulo de biofilme(Higienização)</b>		
Sim	9	16,36
Não	46	83,64
<b>Presença de cálculo(Higienização)</b>		
Sim	10	18,18
Não	45	81,82
<b>Presença de hiperplasia fibrosa inflamatória</b>		
Sim	-	-
Não	-	-
<b>Presença de estomatite protética</b>		
Não	32	58,19
Grau 1	19	34,55
Grau 2	3	5,45
Grau 3	1	1,81
<b>Placas brancas</b>		
Sim	-	-
Não	-	-
<b>Queilite angular</b>		
Sim	19	34,55
Não	36	65,45



## ANEXO A - Folha de aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa – UNITAU



Universidade de Taubaté  
Autarquia Municipal de Regime Especial  
Reconhecida pelo Dec. Fed. Nº 78.924/76  
Recredenciada pela portaria CEE/GP nº 3003  
CNPJ 43.176.153/0001-22

Reitoria  
Rua 4 de Março, 432 Centro Taubaté-SP 12020-270  
tel: (12) 225.4100 fax: (12) 232.7660 www.unitau.br reitoria@unitau.br

PRPPG - Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-graduação  
Comitê de Ética em Pesquisa  
Rua Visconde do Rio Branco, 210 Centro Taubaté-SP 12020-040  
tel: (12)225.4217 225.4143 fax: (12)232.2947 edwipes@unitau.br

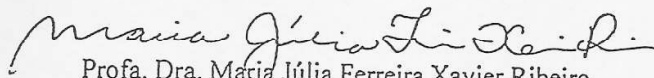
### DECLARAÇÃO

Registro CEP/UNITAU nº 018/05 (Esse número de registro deverá ser citado pelo pesquisador nas correspondências referentes a este projeto) Eficácia do "vinagre" como agente antimicrobiano no controle de *Candida ssp* em indivíduos portadores de prótese total

Pesquisador(a) Responsável: Telma Maria Silva Pinto  
Apresentar relatório final da pesquisa: 31/05/2006

O Comitê de Ética em Pesquisa, em reunião de 11/11/05 e no uso das competências definidas na Resolução CNS/MS 196/96, considerou aprovada a alteração do Título, solicitada pelos autores, que passa a vigorar como: Vinagre como agente antimicrobiano no controle de *Candida ssp* em portadores de prótese total.

Taubaté, 23 de novembro de 2005

  
Prof. Dra. Maria Júlia Ferreira Xavier Ribeiro  
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Taubaté