



**Faculdade de Odontologia de Piracicaba
Universidade Estadual de Campinas - Unicamp**



**VIVIANE MAIA BARRETO DE OLIVEIRA
Cirurgiã-Dentista**

**Efeito de um limpador de prótese na concentração de
Compostos Sulfurados Voláteis e na microbiota bucal de
pacientes idosos institucionalizados portadores de
próteses totais**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do grau de Doutor em Clínica Odontológica, área de concentração em Prótese Dental.

PIRACICABA
2003

**UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE**

$$f^{\prime\prime}(\sigma)$$

**Faculdade de Odontologia de Piracicaba
Universidade Estadual de Campinas - Unicamp**

VIVIANE MAIA BARRETO DE OLIVEIRA

**Efeito de um limpador de prótese na concentração de
Compostos Sulfurados Voláteis e na microbiota bucal de
pacientes idosos institucionalizados portadores de
próteses totais**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da
Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do grau de
Doutor em Clínica Odontológica, área de concentração em Prótese
Dental.

Orientadora: Profa. Dra. Altair A. Del Bel Cury
Co-Orientador: Prof. Dr. Pedro Luiz Rosalen

Banca Examinadora::
Profa. Dra. Maria Cristina Ferreira de Camargo
Profa. Dra. Renata Oliveira Mattos-Grainer
Profa. Dra. Renata Cunha Matheus Rodrigues Garcia
Profa. Dra. Rosema Sadami Arai Shinkai

o exemplar foi devidamente corrigido.
e acordo com a Resolução CPG-038/83
CPG. 02/02/04

Assinatura do Orientador

PIRACICBA
2003

UNIVERSIDADE BC
CHAMADA T/UNICAMP
OL4e
EX
IMBIO BC/ 57508
OC 16-117-04
D X
ECO 11,00
DATA 14/04/2004
CPD

.M00195B27-3

13 AD 313540

Ficha Catalográfica

Oliveira, Viviane Maia Barreto de

OL417

Efeito de um limpador de prótese na concentração de Compostos Sulfurados Voláteis e na microbiota bucal de pacientes idosos institucionalizados portadores de próteses totais./ Viviane Maia Barreto de Oliveira. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2003.

113p. : il.

Orientadora : Profª. Dra. Altair A. Del Bel Cury

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Prótese dentária. 2.Limpadores de prótese. 3.Microrganismo. I. Del Bel Cury, Altair A. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

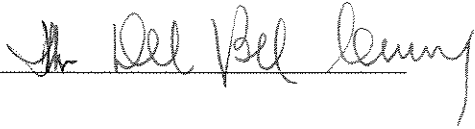
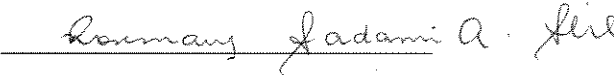
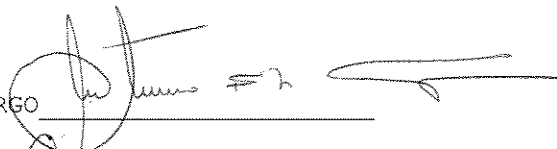
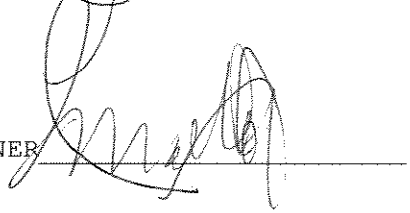
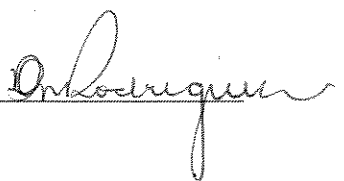
Ficha catalográfica elaborada pela bibliotecária Marilene Girello CRB / 8 – 6159, da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba / UNICAMP.



FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de DOUTORADO, em sessão pública realizada em 11 de Novembro de 2003, considerou a candidata VIVIANE MAIA BARRETO DE OLIVEIRA aprovada.

1. Profa. Dra. ALTAIR ANTONINHA DEL BEL CURY 
2. Profa. Dra. ROSEMARY SADAMI ARAI SHINKAI 
3. Profa. Dra. MARIA CRISTINA FERREIRA DE CAMARGO 
4. Profa. Dra. RENATA DE OLIVEIRA MATTOS GRANER 
5. Profa. Dra. RENATA CUNHA MATHEUS RODRIGUES GARCIA 

“Quando alguém decide realizar alguma atividade enriquecedora e nobre que apresenta desafios, pode-se dizer que a sua autodeterminação encontra-se definitivamente em movimento” Joana de Angelis, 2001

Dedico este trabalho

A **Deus**, que me amparou em todos os momentos.

“Não se esqueça de que Deus é o tema central de nossos destinos.” André Luiz, 1947

Ao meu marido, **Carlos**, por compreender todos os momentos em que estive ausente, pelas madrugadas em que ficou acordado comigo. À minha filha **Laís**, o meu maior tesouro.

Aos meus pais **Luiz** e **Lízia**, que sempre apostaram na minha capacidade. Aos meus irmãos **Vinícius** e **Vicente**, por serem tão pacientes. À minha tia **Beth**, a minha inspiração na profissão, e à minha madrinha **Elisete**, um exemplo de vida e de maturidade.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À Profª. Drª. Altair Antoninha Del Bel Cury, pela compreensão, paciência, dedicação e, principalmente, por não ter permitido que eu desistisse do projeto com o qual tinha sonhado. Obrigada por acreditar que eu conseguiria, quando muitos pensavam o contrário.

Ao Prof. Dr. Pedro Luiz Rosalen, pelos conselhos e pela atenção, sempre disposto a ajudar e pela confiança que sempre depositou em mim.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba, na pessoa do seu Diretor, Prof. Dr. Thales Rocha de Matos Filho, e do Diretor associado, Prof. Dr. Oslei Paes de Almeida.

À Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Clínica Odontológica da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas (FOP – UNICAMP).

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pelo apoio financeiro.

Ao Centro Universitário Hermínio Ometto, em especial à Reitora Profa. Dra. Maria Cristina Ferreira de Camargo e a Coordenadora do Curso de Odontologia, Profa. Dra. Rose Mary Coser.

Ao Prof. Dr. Jaime Aparecido Cury, da FOP-Unicamp, pela disponibilização de todos os recursos do Laboratório de Bioquímica Oral.

À Prof^ª. Dr^ª. Cinthia Tabchoury, por todo o carinho e atenção, pelo uso do laboratório e pelo empréstimo dos materiais. À Prof^ª. Dr^ª. Renata Garcia e à Prof^ª. Dr^ª. Marines Nobre, pela valorosa contribuição na qualificação da minha tese.

Ao Prof. Dr. Reginaldo B. Gonçalves e Prof. Dr. José Francisco Hoffling, contribuidores incansáveis para aprimorar os meus conhecimentos em microbiologia.

Aos diretores, enfermeiros e funcionários do Lar Betel, que me receberam com tanto carinho e permitiram a realização deste trabalho.

À técnica do Laboratório de Prótese Parcial Removível, Joselena Casati Lodi, pela ajuda, apoio e carinho. Aos técnicos dos laboratórios, Mariza, Waldomiro e Alfredo, do Laboratório de Bioquímica Oral, Wilma e Anderson, do Laboratório de Microbiologia, José Carlos e Eliane, do Laboratório de Farmacologia, pela ajuda e companheirismo.

Às secretárias da Pós Graduação, Érica e Sônia, pela atenção.

À Eloá, aluna da Graduação que me auxiliou no desenvolvimento deste trabalho. À Liliana, Emilena, Juliana, Rosena, Ana Claudia, Marlise e Regiane amigas e companheiras de laboratório, que me ajudaram em todos os momentos. À Gabriela e Lorena, amigas que resistiram à distância e aos afazeres.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Meus sinceros agradecimentos.

Sumário

RESUMO	01
ABSTRACT.....	03
1. INTRODUÇÃO.....	05
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	09
2.1 Halitose.....	09
2.2 Microrganismos associados à halitose.....	17
2.3 Limpadores de Próteses.....	24
2.4 Pacientes Geriátricos.....	38
3. PROPOSIÇÃO.....	47
4. METODOLOGIA.....	49
4.1 Considerações éticas.....	49
4.2 Delineamento experimental.....	49
4.3 Seleção dos voluntários.....	51
4.4 Utilização do limpador.....	52
4.5 Instruções aos voluntários no dia da pesquisa.....	53
4.6 Determinação da concentração de CSV.....	53
4.7 Coleta do biofilme e análise da microbiota bucal.....	55
4.8 Delineamento estatístico.....	62
5. RESULTADOS.....	65
5.1 Avaliação da correlação entre habilidade manual e análise do biofilme.....	65
5.2 Análise da concentração de CSV.....	66
5.3 Análise microbiológica.....	68
6. DISCUSSÃO.....	73
7. CONCLUSÕES.....	79
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	81

RESUMO:

O objetivo deste estudo foi verificar a eficácia do limpador de prótese Polident 5 minutes® (Block and Drug Corp.) quanto à redução da concentração de Compostos Sulfurados Voláteis (CSV), por meio do Halimeter® (Interscan Corp.) e a ação bactericida pela cultura microbiana em ágar sangue e MacConkey, além de avaliar a correlação entre a habilidade em higienizar as próteses (HA) e o índice de biofilme (IB) sobre as mesmas. Foram selecionados 19 voluntários, com idades entre de 62 a 86 anos, portadores de pelo menos prótese total superior. As análises foram realizadas em duas fases (F). F_I: avaliação IB e verificação HA, determinação da concentração de CSV e coleta do biofilme das próteses antigas, nos tempos T₀ (sem uso do limpador), T₁, T₂ e T₃ (uso contínuo do limpador por 7, 14 e 28 dias); F_{II}: novas próteses foram instaladas, a concentração de CSV foi determinada e o biofilme foi coletado após 30, 60 e 90 dias de uso contínuo do limpador (T_{1.1}, T_{2.2}, T_{3.3}). Os resultados para a concentração de CSV apresentaram diferença estatística entre os períodos T₀ e T₁, e T_{1.1} e T_{2.2}, verificada pelo Teste de Wilcoxon (p<0,05): T₀: 57,0^a; T₁: 64,0^b; T₂: 69,0^{ab}; T₃: 67,3^{ab}; T_{1.1}: 55,0^B; T_{2.2}: 64,67^A; T_{3.3}: 53,67^B. Na avaliação de microrganismos crescidos em aerobiose os resultados não mostraram diferença estatística significativa na F_I e na F_{II} houve diferença estatística entre todos os tempos, verificada pelo Teste T pareado (p<0,05): T₀: 3,34^a; T₁: 2,22^a; T₂: 2,92^a; T₃: 4,24^a; T_{1.1}: 0,14^C; T_{2.2}: 1,12^B; T_{3.3}: 2,74^B. Concluiu-se que houve uma correlação positiva entre a HA e IB, que o limpador não foi eficaz na remoção do biofilme aderido à prótese antiga e não impediu a formação de biofilme nas novas próteses, assim como não reduziu os níveis de CSV dos pacientes.

ABSTRACT:

The purpose of this study was to determine the effectiveness of the Polident 5 minutes[®] (Block and Drug Corp.) denture cleanser in reducing Volatile Sulphur Compounds (VSC) concentration, estimated by Halimeter[®] (Interscan Corp.) and the bactericide action by Blood Ágar and MacConkey culture, besides evaluating the correlation among the denture cleaning dexterity (DC) and the biofilm index (BI). 19 volunteers were selected with age range 62 to 86 years, wearing at least the upper denture. The analysis was conducted in two phases (P): P_I: BI evaluation, volunteers DC, determination of VSC concentration and the biofilm was collected from the old denture before the use of the treatment protocol (T₀), and after 7, 14 and 28 days of continuous cleanser use (T₁, T₂ and T₃); P_{II}: new denture was installed, VSC concentration was determined and biofilm was collected at 30, 60 and 90 days with daily use of the denture cleanser (T_{1.1}, T_{2.2}, T_{3.3}). The VSC concentration results showed statistical difference between T₀ and T₁, and T_{1.1} and T_{2.2}, by Wilcoxon Test (p<0.05): T₀: 57,0^a; T₁: 64,0^b; T₂: 69,0^{ab}; T₃: 67,3^{ab}; T_{1.1}: 55,0^B; T_{2.2}: 64,67^A; T_{3.3}: 53,67^B. At the total microorganisms evaluation the results did not show statistical difference at Phase I and, at Phase II, there was statistical difference between all the times, by paired-T test (p<0.05): T₀: 3,34^a; T₁: 2,22^a; T₂: 2,92^a; T₃: 4,24^a; T_{1.1}: 0,14^C; T_{2.2}: 1,12^B; T_{3.3}: 2,74^B. The results allowed conclude that the denture cleanser was not efficient to remove the old denture biofilm, did not prevent the new denture biofilm and did not reduce patients VCS levels.

1. INTRODUÇÃO

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), até 2020 haverá um acréscimo de 250% na população brasileira acima de 65 anos (IBGE, 1995). Tais projeções demandam um planejamento adequado para o atendimento desta população de idosos que, hoje, é carente de profissionais especializados, tendo em vista que, com o envelhecimento, tendem a aumentar as doenças sistêmicas e crônicas, o uso múltiplo de medicamentos (polifarmácia), a incidência de problemas nervosos, cardíacos, artrites, hipertensão e hipotensão postural além das dificuldades de audição, visão e locomoção.

Muitos destes pacientes idosos encontram-se em casas institucionalizadas, e apresentam múltiplos problemas de saúde que requerem a atenção multidisciplinar. Em estudos epidemiológicos, foram observados que a maioria dos pacientes idosos institucionalizados são desdentados e utilizam ao menos a prótese total superior, porém, na maioria dos pacientes, a higienização destas é deficiente (PIETROKOVSKY *et al.*, 1995; KULAK-OZKAN *et al.*, 2002).

Isto ocorre devido às limitações de habilidade manual do idoso e à diminuição da acuidade visual, que os impossibilita a manter uma boa higiene bucal, indispensável não só para a qualidade estética, como também para a redução dos casos de estomatite protética (ABELSON, 1985) e da halitose (TONZETICH, 1977; CHAN *et al.*, 1991).

A halitose, também chamada de mau hálito, é uma condição comum que afeta aproximadamente 50% da população adulta, principalmente durante o horário da manhã (TONZETICH & NG, 1976). Em muitos casos a halitose matutina é temporária porém, em alguns indivíduos, a halitose persiste e é considerada patológica (SPIELMAN *et al.*,

1996). Algumas condições intra e extra-orais afetam a qualidade do hálito como alimentos, desordens gastrintestinais e respiratórias e o fumo (ROSENBERG, 1996) porém, na maioria dos casos a cavidade bucal é o sítio de geração do odor (AYERS & COLQUHOUN, 1998).

De modo geral, o mau hálito é o resultado da degradação de grande quantidade de biofilme que fica depositado no terço posterior do dorso da língua (TONZETICH, 1977; SPIELMAN *et al.*, 1996), além da presença de biofilme nos dentes e nas próteses dentais (GOLDBERG *et al.*, 1997), portanto.

Muitos métodos têm sido utilizados na tentativa de medir a concentração de compostos sulfurados voláteis (CSV) e o Halimeter[®] é um instrumento capaz de medir a concentração de CSV apresentando vantagens como ser de fácil utilização, portátil e seu uso já estar consagrado há mais de 10 anos, porém este aparelho, isoladamente, não é capaz de diagnosticar o mau hálito.

Os níveis dos CSV não são constantes no indivíduo e testes adicionais, como cultura bacteriana ou métodos organolépticos, devem ser usados antes de estabelecer o diagnóstico (SPIELMAN *et al.*, 1996; ROSENBERG, 1996). A cultura bacteriana deve sempre ser usada como fator coadjuvante para o diagnóstico de halitose, pois as bactérias Gram-negativas são as responsáveis pela liberação dos odores, e gêneros da família das *Enterobacteriaceae*, principalmente *Klebsiella*, podem ter participação ativa na produção da halitose dos pacientes portadores de próteses totais (McNAMARA, *et al.*, 1972; SPIELMAN *et al.*, 1996; GOLDBERG *et al.*, 1997).

Apesar de estes microrganismos não serem considerados membros importantes da microbiota bucal de pacientes adultos saudáveis (GOLDBERG *et al.*, 1997), estudos relataram a elevação da concentração destas espécies em pacientes idosos, provavelmente por apresentarem maiores índices de placa bacteriana nas próteses e nos dentes (RUSSEL *et al.*, 1999), além da alta susceptibilidade às infecções pulmonares oportunistas provocadas por estas espécies (NIKAWA *et al.*, 1998; MONJON, 2002).

Diante disso, a remoção do biofilme aderido à resina acrílica das próteses, associada à escovação do dorso da língua, é importante no tratamento da halitose característica dos pacientes portadores de prótese total e na prevenção de infecções oportunistas. Os métodos de controle de biofilme disponíveis são: mecânico através de escovação e químico pela imersão das próteses removíveis em produtos químicos, porém a técnica utilizada pela maioria das pessoas para higienizar as próteses é a escovação com algum tipo de detergente, sabão, dentifrício ou sal (POLYZOIS, 1983).

No caso de pacientes idosos, em que alto índice de biofilme pode ser observado na prótese, possivelmente decorrente da diminuição da acuidade visual e da destreza manual, apenas a utilização convencional da escovação não parece ser suficiente para uma limpeza efetiva. A solução seria encontrar um produto ou uma técnica que fosse eficiente na remoção da placa das próteses, sem deteriorar a resina acrílica ou provocar danos aos tecidos orais, além de ser de fácil acesso e baixo custo (ÖDMAN, 1992).

Diversos produtos estão disponíveis no mercado com esta finalidade e novos continuam sendo avaliados na tentativa de encontrar o material ideal (NAKAMOTO *et al.*, 1991). De acordo com os fabricantes, o objetivo do limpador químico é o de promover a remoção de microrganismos da prótese e estabelecer um hálito agradável na

boca, a ser confirmado pelos pacientes (ÖDMAN, 1992). Adicionalmente, na literatura existem citações da halitose característica de pacientes portadores de prótese (ROSENBERG, 1996; GOLDBERG *et al.*, 1997), entretanto, foi encontrado apenas um estudo (HADA *et al.*, 1990) que correlacionava o uso de um agente limpador de prótese e a diminuição da halitose, porém não os associava com a redução da microbiota causadora do mau hálito.

Frente aos poucos dados encontrados na literatura, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia de um limpador de prótese na redução de microrganismos aeróbios em pacientes idosos institucionalizados portadores de prótese total, estabelecendo uma relação quantitativa entre a concentração dos compostos sulfurados voláteis (CSV) e a microbiota aderida às próteses antigas, bem como avaliar a sua eficácia em impedir ou diminuir a neocolonização de placa bacteriana em próteses recém-instaladas, além de avaliar a correlação entre a habilidade destes pacientes em realizar a higienização das próteses, bem como verificar o índice de biofilme sobre as mesmas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A revisão de literatura será apresentada em três partes; na primeira constam os estudos da halitose, bem como as maneiras de diagnosticá-la. Na segunda, serão detalhados os limpadores, classificados nas diversas categorias e na terceira serão analisadas as características comuns aos idosos, dando ênfase àqueles institucionalizados, no que diz respeito às suas condições gerais de saúde, em particular, a bucal.

2.1 Halitose

Em 1975, SOLIS-GAFFAR *et al.* afirmaram que os métodos de avaliação para análise do odor bucal aceitos eram baseados apenas em procedimentos organolépticos subjetivos e ressaltou a necessidade de um método imparcial e que fosse realizado através do uso de um equipamento. Este estudo determinou a viabilidade da cromatografia gasosa em combinação com um sistema de detecção fotométrico como um instrumento na avaliação clínica do mau hálito bucal. Amostras do ar bucal foram introduzidas diretamente da boca do paciente para o cromatógrafo gasoso através de uma válvula de gás e um tubo teflon de 3 polegadas que, na boca do voluntário, removia o ar bucal e levava ao aparelho. Foi indispensável para a pesquisa que os voluntários não fossem fumantes, não utilizassem próteses, tivessem altos níveis de CSV na amostra de ar durante a manhã e boa saúde bucal. No dia anterior à pesquisa os voluntários eram solicitados a não comer, beber, lavar a boca ou escovar os dentes. Durante o período de controle, todos os participantes foram instruídos a realizar bochechos com placebo, duas vezes ao dia, após o café da manhã e antes de deitar, à noite. No segundo e quarto dias, amostras do ar bucal matinal foram coletadas de cada voluntário para análise dos CSV. Após o café da manhã, os voluntários escovavam os dentes por um minuto, realizavam bochecho com o placebo e retornavam 3 horas depois

para novas coletas. No período de tratamento, os mesmos procedimentos foram realizados utilizando um produto comercial contendo antibacterianos. Os pesquisadores observaram que os voluntários que utilizaram o placebo durante o controle e o período de tratamento obtiveram uma leve redução dos níveis de CSV, enquanto que aqueles que realizaram o tratamento obtiveram uma redução estatisticamente significativa de 14%. Estudos preliminares demonstraram que os melhores períodos para a obtenção de amostras de ar bucal são pela manhã, ou três horas após o uso dos colutórios. Amostras de ar matutinas, logo após acordar normalmente apresentam índices concentrados de CSV, como resultado da estagnação da saliva e da putrefação durante o sono. Os autores concluíram que a cromatografia gasosa associada à detecção fotométrica é um sistema que pode ser utilizado para estudos clínicos de mau hálito e que o instrumento é capaz de avaliar a influência de colutórios experimentais nos CSV diretamente da boca do paciente.

TONZETICH & NG, precursores do estudo do mau hálito, em 1976, utilizaram o método organoléptico e a cromatografia gasosa para estabelecer um parâmetro sobre a halitose e os tipos de higienização que poderiam reduzir estes valores. Neste estudo, os autores observaram que existe uma concentração de metil-mercaptana e de ácido sulfídrico abaixo do qual o hálito não é considerado ruim. A análise da cromatografia gasosa indica que 50% da população adulta apresenta valores superiores no período matutino, em concentração suficiente para ser considerado mau hálito e que técnicas simples como uma boa higiene dental e a remoção da placa bacteriana que recobre a língua podem reduzir substancialmente os valores dos CSV.

TONZETICH, em 1977, realizou uma revisão dos mecanismos e métodos para analisar a presença da halitose. Segundo o autor, estudos organolépticos já indicavam que a

cavidade bucal era, usualmente, a principal origem do mau hálito fisiológico, associado com a halitose matutina. Em todas as pessoas, independente da idade e da condição de saúde bucal, o mau odor mais intenso é observado quando existe uma diminuição do fluxo salivar, ausência de alimentação e ingestão de líquidos. O mau hálito fisiológico pode facilmente ser resolvido através de medidas de higiene bucal como escovas dentais, limpeza das próteses e raspagem da língua, bem como o uso de enxaguatórios bucais. Apesar da identificação dos CSV na putrefação da saliva, ainda existia a necessidade de identificação destes elementos e a sua concentração. O uso da cromatografia gasosa foi fundamental para evidenciar a presença destas substâncias. Segundo o autor, estudos indicam que tanto a placa quanto a língua são fontes importantes da origem do mau hálito, principalmente o terço posterior da superfície do dorso da língua.

SCHIMIDT *et al.*, em 1978, tentaram determinar se existia correlação entre a avaliação subjetiva do mau odor (realizada por examinadores treinados) e os níveis de CSV determinados por amostras individuais da boca, em um mesmo intervalo de tempo, utilizando a cromatografia gás-líquido. Todos os voluntários requisitados foram solicitados a não beber ou comer, fumar, escovar os dentes, realizar bochechos ou utilizar refrescantes de hálito, loção pós-barba, cosméticos, perfumes, batons, a partir das 11 horas da noite do dia anterior à pesquisa. Em cada dia da pesquisa, 3 réplicas de CSV eram medidas, em intervalos de 3 minutos e posteriormente três examinadores calibrados realizavam os testes organolépticos. Os estudos demonstraram que existia uma correlação estaticamente significativa entre a intensidade de mau hálito percebida pelos examinadores e a concentração de CSV emitida pelos voluntários.

O único estudo encontrado na literatura que associa o uso de limpadores de próteses ao hálito humano dos portadores de dentaduras foi realizado por HADA *et al.*, em 1990, que mediu o hálito humano nos portadores de próteses totais, utilizando um sensor de halitose e avaliou a influência dos limpadores de próteses. Neste estudo foi utilizado um aparelho que mede o mau hálito através de um sensor. Após 30 segundos com a boca fechada, 2,5 mL de ar intrabucal foi coletado com uma seringa e injetado no aparelho. Para o grupo controle, o hálito foi medido duas vezes: sem a prótese e com a prótese após a lavagem da boca e da prótese com água, realizando-se então novas medidas após 2, 4, 6, 8, e 10 minutos. O grupo experimental executou as mesmas fases, entretanto a limpeza das próteses foi realizada com uma mistura de água com água oxigenada e colocadas dentro de um aparelho de ultrassom por 20 minutos. Os autores concluíram nesta pesquisa que existe a possibilidade de que o hálito dos portadores de prótese total tenha sua origem nas mesmas e que os colutórios bucais podem acobertar o cheiro oriundo da mucosa bucal do paciente reduzindo aparentemente o mau hálito humano porém, de qualquer maneira, o hálito humano de portadores de próteses totais reduz significativamente com o uso deste produto.

ROSENBERG *et al.*, em 1991, comparam a reprodutibilidade e a sensibilidade de métodos organolépticos de avaliação do mau odor bucal com o monitor de CSV. Para avaliar a reprodutibilidade dos dados, foram realizadas duas medidas, com intervalo de uma semana e para avaliar a sensibilidade dos métodos em detectar alterações de mau hálito os voluntários foram instruídos a realizar bochechos diários de 30 segundos com gluconato de Clorexidina a 0,2%. A concentração de CSV foi medida através do monitor portátil e as avaliações organolépticas foram realizadas de acordo com a metodologia descrita em estudos anteriores, utilizando um examinador experiente e outro sem experiência, sem

calibração prévia. Os avaliadores utilizaram uma escala de 0 a 5 para a análise do mau hálito. Foi também verificado o odor da língua, a partir da raspagem da porção do dorso posterior da língua, e dos espaços interdentais, com o uso de fio dental. Neste estudo, foi possível verificar que o monitor foi suficientemente sensível para detectar níveis reduzidos de CSV após o tratamento. Os autores ressaltaram que a medida do pico de CSV pode ser alterada por fatores prévios às medições como a maneira que o canudo é introduzido na cavidade bucal e nas atividades orais que estavam sendo executadas imediatamente antes das medições (falando, deglutindo, respirando pela boca). Neste estudo o aparelho demonstrou um leve decréscimo dos valores de CSV com o passar do tempo, o que poderia ser um reflexo da contaminação com enxofre nos compostos do sensor, portanto uma calibração periódica deve ser realizada para ajustar esta perda de sensibilidade.

ROSENBERG & McCULLOCH, em 1992, revisaram as técnicas diretas e indiretas para obtenção dos valores de mau hálito, discutindo os problemas associados à seleção de voluntários e criou algumas perspectivas de pesquisas futuras nesta área. Segundo os autores, no que diz respeito ao uso da técnica organoléptica para avaliação do mau odor, deve-se levar em consideração a variação entre os examinadores em classificar os diferentes odores desagradáveis, além do que, uma grande variedade de fatores físicos e psicológicos pode confundir os resultados, como a fome, o ciclo menstrual e a posição da cabeça. Estes fatores poderiam ser reduzidos com um número maior de examinadores calibrados, entretanto, na maioria das pesquisas isso se torna difícil. Entre os instrumentos de análise, a cromatografia gasosa apresenta muitas vantagens quando comparadas às avaliações organolépticas como: separação e medida quantitativa de gases, capacidade de medir valores de gases em concentrações extremamente baixas, porém existem

desvantagens como a necessidade de técnicos preparados, ser um aparelho grande e de alto custo, além de exigir mais tempo para cada medição. Já os monitores de enxofre portáteis são de baixo custo, não exigem grandes treinamentos para serem operados, são de fácil transporte e as medidas são realizadas em um pequeno espaço de tempo. Como desvantagens, pode-se citar a inabilidade do aparelho em distinguir os CSV individualmente, sofrer alterações das medidas na presença de óleos essenciais e etanol, impedindo que as avaliações sejam realizadas antes que o efeito destes compostos tenha sido dissipado e o aparelho apresenta perda de sensibilidade com o tempo, necessitando, eventualmente, de calibração.

Segundo ROSENBERG (1996), existem ainda muitos mitos e erros no diagnóstico do mau hálito. Para distinguir se a halitose tem origem no nariz ou na cavidade bucal, a melhor maneira de diagnosticar é através do cheiro, comparando o odor que vem do nariz com aquele que é oriundo da boca. Uma vez diagnosticada a origem bucal, é preciso avaliar as condições de higiene bucal do paciente. Naqueles pacientes em que a higiene é rigorosa e existe saúde periodontal, provavelmente a origem do mau hálito provém da língua. Embora a porção anterior da língua também tenha cheiro, a origem do odor geralmente provém da região posterior e esta diferença é facilmente testada. Se o paciente lambe o dorso da mão e esperar a saliva secar, perceberá que este não é o odor que o incomoda (ou aos outros); realizando uma raspagem da porção posterior do dorso da língua com uma colher ou um raspador, pode-se notar claramente que o odor é semelhante ao encontrado na cavidade bucal. Segundo o autor, as áreas interdentais e subgengivais também são áreas produtoras de mau cheiro. As próteses também são causas importantes, particularmente quando utilizadas durante toda a noite. Geralmente elas apresentam um odor adocicado

característico, principalmente quando colocadas dentro de um saco plástico por alguns minutos e depois é cheirado. Para o diagnóstico de halitose em consultório, foi desenvolvido o Halimeter[®] aparelho portátil que apresenta uma técnica fácil e confiável de medir a concentração dos CSV.

AYERS & COLQUHOUN, em 1998, alertaram sobre o crescente interesse das indústrias cosmetológicas em comercializar produtos que garantissem a redução ou até a eliminação do mau hálito. Segundo os autores, a indústria de enxaguatórios bucais tem um faturamento de 850 milhões de dólares nos Estados Unidos, mesmo considerando a divulgação de que muitos dos produtos disponíveis no mercado não têm efeito duradouro contra o mau hálito. Isto reflete a grande preocupação da população em eliminar o problema da halitose. Os autores citam que o tratamento da halitose em portadores de prótese pode ser realizado através de uma higiene adequada e que a remoção das mesmas durante a noite e a imersão em solução pode oferecer bons resultados. Produtos comerciais divulgam que efetivamente eliminam o odor bucal, entretanto muitas vezes acontece apenas o mascaramento dos sintomas. Os enxaguatórios bucais isoladamente oferecem 15 minutos de redução, enquanto que as pastas de dente reduzem a halitose por 2 horas. O uso de agentes oxidantes como cloreto de zinco, timol ou óleo de eucalipto têm sido sugeridos. As balas à base de óleos de menta podem causar um curto efeito benéfico enquanto que os colutórios com Triclosan e Clorexidina parecem ser mais eficazes.

Segundo estudos realizados por WILLIS *et al.*, em 1999, apesar de estar claro que a maioria dos casos de mau odor bucal é atribuída às atividades microbianas na boca, muitas espécies bacterianas responsáveis por esta degradação ainda não estão bem definidas. Tem

sido proposto que os CSV são os responsáveis pelo mau hálito, entretanto a relação entre a intensidade do odor e o número de bactérias na boca que são produtoras de compostos sulfurados está sendo investigada. Neste estudo foi avaliada a relação entre a intensidade do mau hálito, o crescimento de bactérias redutoras de sulfato e a proporção da redução do sulfato na boca humana. Os autores avaliaram a halitose dos voluntários utilizando o Halimeter® e o método organoléptico e encontraram apenas uma fraca correlação entre os dois métodos. De acordo com os autores, a técnica organoléptica parece estar mais próxima das situações bucais, já o Halimeter® avalia apenas os CSV, portanto, a pouca correlação deixa supor que não são apenas os compostos sulfurados voláteis os responsáveis pela halitose na população estudada.

Segundo LOESCHE & KAZOR (2002), a halitose durante muito tempo foi negligenciada pelos cirurgiões-dentistas, entretanto, devido à grande divulgação sobre etiologia e tratamento do mau hálito, novas clínicas especializadas têm surgido. Embora a causa microbiológica do mau hálito esteja pouco esclarecida, muitas estratégias de tratamento estão sendo desenvolvidas, baseadas em achados não comprovados e muitos agentes químicos e mecânicos têm sido utilizados para reduzir a camada bacteriana que recobre a língua e os dentes. Um dos elementos que contribuem para este descaso é que a FDA (Federal Drug Administration), órgão que regulamenta medicamentos nos Estados Unidos, tem considerado o tratamento de halitose um problema cosmetológico; sendo assim, produtos como enxaguatórios, colutórios ou limpadores podem ter ação apenas desodorizante, embora seu componente ativo seja um agente antimicrobiano. No intuito de ampliar a divulgação sobre a halitose e promover estes produtos que reduzem o mau hálito,

a internet tem sido amplamente utilizada. Segundo os autores, para que estes transtornos diminuam é preciso divulgar, principalmente, como detectar corretamente o mau hálito. Muitos têm sido os estudos no sentido de avaliar corretamente o grau de halitose que o paciente apresenta, quais os microrganismos responsáveis pela degradação orgânica e, principalmente, quais os gases envolvidos com o mau odor oriundo da cavidade bucal. O método organoléptico utiliza uma ou mais pessoas treinadas e calibradas para detectar o mau odor. O grande inconveniente desta técnica é a grande variabilidade que pode existir entre um estudo e outro e que este é um procedimento desconfortável, tanto para o paciente, quanto para o pesquisador. Os aparelhos capazes de medir os compostos sulfurados voláteis são a Cromatografia gasosa, utilizada desde a década de 70 (porém não foi possível utilizar este aparelho em consultório) e, a partir da década de 90, o Halimeter[®] foi desenvolvido para realizar a mensuração dos CSV em consultório, por ser um aparelho portátil. O teste BANA é também uma nova tecnologia que parece apresentar maior correlação com a cromatografia gasosa que o Halimeter pois pode detectar produtos como a cadaverina que não parecem ser detectados pelo monitor portátil.

2.2 Microrganismos associados à halitose

McNAMARA *et al.*, em 1972, detectou, *in vitro*, os microrganismos orais responsáveis pela produção de mau hálito, utilizando um pool de saliva estimulada, esterilizada através de um filtro milipore e inoculada em vários meios para determinar os substratos que seriam capazes de produzir o mau odor. Para testar o efeito dos carboidratos no mau odor, foi utilizada a glicose diluída em solução aquosa. Os microrganismos que

foram representativos da flora normal incluíram *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, *Candida* e *Klebsiella pneumoniae*, entre outros, sendo que a *Klebsiella pneumoniae* foi observada como produtora de odor desagradável. Os autores concluíram que a simulação *in vitro* foi capaz de estabelecer as causas intrínsecas do mau odor *in vivo*, confirmando estudos anteriores que identificaram os microrganismos gram negativos como produtores essenciais da halitose e que a adição de glicose inibe a produção intrínseca de halitose.

BOSY *et al.*, em 1994, examinaram quantitativamente a associação entre o mau hálito e a periodontite para obter a relação entre a medida de CSV e a quantidade de bactérias em locais da língua e dos dentes, apenas em portadores de mau hálito. Os voluntários também foram avaliados organolepticamente várias vezes por dois pesquisadores previamente calibrados, para análise da variação entre as técnicas. Após a segunda medida, os pacientes foram orientados a bochechar com Gluconato de Clorexidina a 0,2%, para avaliar a diminuição dos odores e da atividade antimicrobiana. As medidas de CSV foram realizadas utilizando o monitor portátil de sulfetos. Cada voluntário permaneceu sem falar durante 3 minutos antes da medida dos níveis de CSV e, no momento do exame, foi solicitado aos mesmos que respirassem apenas pelo nariz. O valor máximo (pico) foi determinado em partes por bilhão através da leitura direta do monitor. Não foi encontrada uma diminuição na sensibilidade das medidas obtidas pelo monitor durante o transcorrer do estudo (6 meses), indicando que o aparelho não apresentou falhas como relatado em estudos anteriores. Os autores puderam concluir que os bochechos com Clorexidina resultam em uma diminuição significativa de CSV e de microrganismos, mas não elimina o problema periodontal.

Apesar da correlação entre os CSV e os níveis de mau hálito, acreditava-se que outros compostos também podiam estar associados à halitose. Diante disso, GOLDBERG *et al.*, em 1994, avaliaram a possibilidade de correlação entre o mau hálito e as diaminas, como cadaverina e putrecina. A presença destes compostos foi avaliada pela cromatografia líquida de alta resolução utilizando amostras de saliva de 52 voluntários. O índice de mau hálito foi obtido da boca, da língua e da saliva dos voluntários utilizando a técnica organoléptica; os picos de CSV e o ponto de estabilização foram medidos através do Halimeter®. Os níveis de CSV, os valores da análise de diamina e as medidas do método organoléptico foram analisados estatisticamente. Não houve associação entre os níveis de putrecina e o método organoléptico ou as medidas obtidas pelo halímetro. Houve alta correlação entre os níveis de cadaverina e os resultados organolépticos, entretanto não foi relatada associação entre os resultados das medidas de CSV e os níveis de cadaverina. É provável que a cadaverina esteja associada à halitose, entretanto os resultados independem dos níveis de CSV.

Segundo DE BOEVER & LOESCHE, em 1995, muitas pesquisas sugeriam a língua como um dos mais importantes nichos de produção do mau odor bucal. Neste estudo, os autores avaliaram as características da superfície da língua e as bactérias envolvidas no desenvolvimento da halitose, associando as medidas de odor, os compostos sulfurados voláteis, parâmetros periodontais, presença de atividade do tipo tripsina e parâmetros microbiológicos em voluntários com mau hálito diagnosticado. Para estabelecer um baseline foram feitas avaliações dentais e medidas de odor bucal e todos os pacientes foram submetidos ao protocolo de tratamento. Como parte do protocolo, foi removida uma camada bacteriana da superfície dorsal da língua para estabelecer as espécies bacterianas.

Por este motivo, o primeiro período só foi realizado 7 dias após o baseline. Os voluntários foram instruídos a realizar um regime de 7 dias de higiene bucal com bochechos de gluconato clorexidina a 0,12%, escovar os dentes com pasta de sua preferência, porém higienizar a língua com escova molhada com o gluconato de clorexidina e bochechar por 60 segundos com a mesma substância. Foi realizada nova análise dental, avaliação dos níveis de odor e análise microbiológica. A análise quantitativa dos níveis de CSV através do Halimeter® foi registrada após uma média aritmética de 3 medidas para a análise estatística. Imediatamente depois das medidas de CSV, foi realizada a avaliação organoléptica. A saburra lingual foi avaliada utilizando uma escala que variava desde ausência até recobrimento total e, posteriormente, o odor da língua também foi avaliado. O teste BANA foi realizado da placa bacteriana da porção mesial do primeiro molar. As amostras bacteriológicas foram obtidas através de uma alça de inoculação que transferia uma alçada da placa da língua para 10 mL de meio de transporte. Após sonicação e incubação anaeróbica, foram realizadas diluições seriadas, as amostras foram plaqueadas com o auxílio da Spiral Plater e incubadas a 37° C por 7 dias, em condição de anaerobiose. As proporções dos diferentes microrganismos foram obtidas a partir de um percentual do total de bactérias do meio enriquecido. Os resultados mostraram que a atividade proteolítica da flora anaeróbia residente da língua representa uma parte essencial no desenvolvimento da halitose, entretanto o ar expelido da boca, além de conter os CSV, apresentou também ácidos graxos e cadaverina, que podem contribuir para o mau hálito e são percebidos organolepticamente, mas não através do monitor Halimeter®.

Devido à necessidade de maiores esclarecimentos sobre halitose, SPIELMAN *et al.*, em 1996, realizaram uma revisão quanto à origem, diagnóstico e tratamento do mau hálito. Segundo os autores, a halitose é causada primeiramente pela putrefação bacteriana e pela geração de CSV. O mau hálito é uma condição comum que afeta 50% da população adulta, principalmente durante as primeiras horas da manhã, entretanto, na grande maioria, ela é temporária e vai desaparecendo com o passar do dia, pois, nestes casos, a sua origem se dá por causa do acúmulo de produtos bacterianos durante o sono. Em 90% dos casos de halitose a origem é bucal, devido a fatores como higiene bucal deficiente, doença periodontal, saburra lingual, impacção alimentar, próteses mal higienizadas, restaurações deficientes, carcinomas orais e infecções de garganta. Os 10% restantes apresentam a halitose por problemas sistêmicos, que inclui deficiências renais ou hepáticas, carcinomas, diabetes ou trimetilmetanúria. Para que a halitose de origem bucal se desenvolva é preciso haver a associação de uma tríade: hospedeiro, patógeno e substrato. Quanto ao hospedeiro, pode-se dizer que existe uma correlação entre a higiene bucal deficiente e a intensidade do mau hálito, e a maioria dos pacientes que manifestam mau hálito são aqueles que apresentam grande quantidade de placa depositada no terço posterior do dorso da língua. O segundo componente necessário para que ocorra a halitose é a presença de microrganismos que geram CSV, ácidos graxos odoríferos ou ambos. Existem inúmeros microrganismos causadores da halitose: *Fusobacterium nucleatum*, *Veillonella alcalescens*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella*, *Treponema denticola* e *Klebsiella pneumoniae*. O terceiro componente da tríade, o substrato, geralmente é de origem externa como os alimentos, porém podem ser oriundas também da degradação de proteínas do fluido bucal e dos tecidos. Para o tratamento da halitose deve-se realizar a eliminação dos fatores da tríade, o

que envolve a manutenção de uma higiene bucal apropriada, tratamento periodontal, incluindo a escovação da língua.

Segundo LOESCHE, em 1997, acredita-se que devem existir aproximadamente 200 espécies de diferentes microrganismos na cavidade bucal. Para lidar com este grau de diversidade, alguns bacteriologistas reconhecem espécies bacterianas normais e transientes, com base apenas na prevalência. Uma espécie normal está quase sempre presente, enquanto que a transiente está apenas ocasionalmente. Quando a espécie normal está presente em proporções numericamente dominantes ela é definida como indígena (maiores que 1%), ou suplementar quando o número é reduzido (abaixo de 1%). A flora transiente compreende microrganismos que estão apenas “passando” pelo hospedeiro, mas não é representante da flora, como as bactérias presentes nas bebidas ou nos alimentos.

GOLDBERG *et al.*, em 1997, examinou o mau hálito produzido por *Klebsiella* bucal e espécies correlatas. Para a realização da medida dos CSV foi utilizado o Halimeter® e para a verificação da presença de Cadaverina e Putrecina foi utilizada a análise Cromatografia Líquida de Alta Resolução. Nos experimentos iniciais, foram isoladas cepas de *Enterobactérias* obtidas da saliva, da bolsa periodontal e do dorso da língua e, após o crescimento bacteriano, as colônias isoladas foram inoculadas em meio de descarboxilase para a determinação do odor, utilizando o método organoléptico e os níveis de CSV. Para esta finalidade, quatro populações de voluntários (portadores de próteses totais, pacientes ortodônticos, indivíduos dentados atendidos na clínica de mau hálito e uma população jovem saudável) foram testadas quanto à prevalência de *Enterobactéria* bucal e níveis de halitose. Subseqüentemente, as propriedades da produção de mau hálito das culturas

isoladas de *Enterobactérias* foram comparadas sob diversas condições. A prevalência da *Enterobactéria* na cavidade bucal da população portadora de prótese total foi extremamente alta (48%) quando comparada com os demais grupos: 27,1% nos pacientes com halitose, 16,4% na população normal e 13% entre os pacientes ortodônticos. Culturas bacterianas puras de *Klebsiella* e *Enterobactéria* emitiram odores *in vitro* que se assemelhavam ao mau hálito, com produção concomitante de sulfetos voláteis e cadaverina, ambos compostos relacionados à halitose. Quando culturas puras de *Enterobactérias* foram incubadas em uma dentadura estéril, a técnica organoléptica foi capaz de detectar o mau hálito típico emanado das próteses totais. Os resultados, observados em conjunto, sugerem que *Klebsiella* e *Enterobactéria* podem atuar no mau hálito das próteses, principalmente devido à sua alta capacidade de adesão à resina acrílica.

QUIRYNEN *et al.*, em 1998, avaliaram se a desinfecção de toda a boca em uma única sessão, em pacientes com periodontite, resultaria em uma melhora significativa do mau hálito, quando comparada à terapia periodontal fracionada (regularização radicular em quadrantes consecutivos, com intervalos de 1 a 2 semanas). A concentração de CSV da boca e a avaliação organoléptica (do ar expirado e do ar total da boca) foram realizadas no baseline e após 1 e 2 meses. Foram coletadas amostras de placa do dorso da língua para calcular o número de UFC por mL (culturas anaeróbicas) bem como o número de UFC/mL de pigmentados. Tanto a avaliação organoléptica quanto os escores de CSV do baseline apresentaram correlação com a presença de saburra lingual, mas não com a rugosidade da língua. Como não foi detectada a correlação entre a saburra lingual e a camada microbiana, foi levantada a hipótese de que a saburra lingual por si, e não as bactérias, são responsáveis pelo mau hálito. A desinfecção em um único estágio resultou em uma redução mais rápida

da halitose na avaliação organoléptica, após 2 meses. Isto pode ser explicado pela melhora dos resultados periodontais e/ou pela redução significativa da UFC/mL de espécies pigmentadas. Em contrapartida, quando comparados os índices de CSV, não houve variações. Segundo os autores, as diferenças entre a análise organoléptica e os valores de CSV podem ser explicados pela baixa sensibilidade do Halimeter® em captar compostos como as mercaptanas, que são eliminadas através da terapia periodontal. Outros gases não sulfurados como indol, metilamina, cadaverina, uréia, ácido lático e amônia também estão envolvidos no mau odor e não são captados pelo Halimeter®.

2.3 Limpadores

NEILL, em 1968, estudando a formação de placa bacteriana em próteses, descreveu o processo em três fases: na primeira, a mucina e os detritos alimentares se acumulam na superfície da prótese, formando um depósito que oferece pouca resistência à remoção através dos procedimentos rotineiros de higiene bucal, sendo uma etapa reversível. Na segunda fase, o depósito ganha aderência à superfície da resina, formando um complexo, similar à película adquirida que se forma nos dentes naturais, sendo chamado de “película da dentadura”. As bactérias orais aderem ao depósito, resultando em acúmulo de placa, a qual se desenvolve e matura, podendo ser invadida por sais de cálcio liberados pela saliva. Na terceira fase, a calcificação progride até a matriz orgânica tornar-se completamente solidificada, formando o cálculo. O autor também teceu algumas considerações a respeito dos materiais utilizados na higiene das próteses, dentre eles, hipocloritos, peróxidos alcalinos e ácidos minerais. No entanto, ressaltou que a escovação adequada das próteses é um método seguro e eficaz.

Em 1977, BUDTZ-JÖRGENSEN & KELSTRUP, testaram a eficácia de três enzimas na remoção de placa sobre a prótese, utilizando 100 portadores de prótese com estomatite protética. As enzimas foram dispensadas na forma de tabletes, tanto puras quanto misturadas e foram usados como grupos controle, tabletes placebo e um limpador de próteses comercial. Foram estudados os seguintes parâmetros: a quantidade de placa sobre a prótese, o grau de eritema de palato e a concentração de fungos e células inflamatórias sobre a mucosa. O efeito benéfico do preparo de enzimas misturadas inclui uma redução significativa da quantidade de placa sobre a prótese e uma melhora da condição clínica da mucosa do palato.

Em um outro estudo, no mesmo ano, BUDTZ-JÖRGENSEN testou a eficácia de tabletes solúveis contendo mutanase e protease na prevenção da formação de placa na superfície de adaptação das próteses totais em 60 pacientes com estomatite protética. Após a confecção das próteses, os voluntários foram instruídos a utilizar os limpadores, por trinta dias e nada foi alterado nos demais hábitos de higiene bucal. A quantidade de placa sobre a prótese, as condições clínicas da mucosa do palato e a concentração de fungos na mucosa e na prótese foram registradas antes e depois do tratamento. Para a remoção da placa sobre as próteses e do tecido mucoso, uma espátula foi friccionada sobre estas regiões. Em todos os voluntários houve neoformação de placa, entretanto, no grupo que utilizou enzimas, houve uma redução no escore de placa. Os tabletes do limpador comercial e do placebo não foram eficientes.

Em 1978, o mesmo autor testou a eficácia de tabletes contendo mutanase e protease na remoção de placa sobre as próteses de 40 voluntários geriátricos institucionalizados. As enfermeiras ficaram responsáveis pela utilização dos limpadores, uma vez que já eram as

responsáveis pela higienização das próteses dos internos. As próteses eram imersas diariamente no limpador dissolvido durante 15 minutos, por três meses. Nada foi alterado na técnica de higienização dos internos. A avaliação de placa foi realizada utilizando um corante e a superfície interna da prótese foi fotografada. Uma camada de placa foi removida da superfície interna das próteses superiores para a avaliação da ocorrência de *Candida albicans*, além da quantificação do número de microrganismos. Após seis semanas, foi possível observar uma redução significativa na quantidade de placa sobre as próteses e uma melhora das condições clínicas da mucosa do palato. Após a imersão por 20 semanas, as condições melhoraram ainda mais quando foram comparados o grupo de enzimas com o grupo placebo, entretanto não houve uma higiene ótima das próteses, mesmo no grupo que utilizou as enzimas, provavelmente devido à diluição das enzimas e do pouco tempo de permanência na solução.

No estudo realizado por BUDTZ-JORGENSEN & KNUDSEN, em 1978, foi testada a eficácia da escovação com um gel de Clorexidina a 1% ou de uma solução limpadora comercial, na prevenção da formação de placa bacteriana na superfície suporte de novas próteses. A quantidade de placa sobre as próteses, as condições clínicas da mucosa e a concentração de fungos na mucosa e na prótese foram avaliadas após 1 mês de instaladas as próteses. Em todas as próteses houve neoformação de placa bacteriana, entretanto no grupo de tratamento com clorexidina gel e no placebo gel a neoformação foi quantitativamente inferior, levantando a hipótese de que a escovação cuidadosa, independente do produto utilizado, parece ser capaz de diminuir a colonização bacteriana de maneira mais eficaz que o limpador de prótese por imersão.

Em 1979, BUDTZ-JORGENSEN realizou uma revista crítica da literatura sobre os limpadores de prótese, e concluiu que a limpeza das próteses freqüentemente é precária devido à higienização mecânica inadequada e uma relativa ineficácia da maioria dos produtos comerciais de limpeza química das dentaduras, ressaltando a importância da compreensão, por parte de cirurgiões-dentistas e pacientes, de que a placa microbiana sobre as próteses pode ser prejudicial, tanto para a mucosa bucal quanto para a saúde geral do paciente. O autor cita que é responsabilidade do paciente manter a higiene bucal através de uma rotina diária de cuidados caseiros e é obrigação do dentista motivar e instruir o paciente e promover meios e métodos de controle de placa. Já nesta época o autor previa que pesquisas futuras poderiam direcionar para o desenvolvimento de soluções limpadoras que pudessem manter as próteses livres de placa com uma imersão diária de 15 a 30 minutos, sem afetar a cor ou o brilho da superfície das próteses de resina acrílica.

Outros materiais para limpeza de prótese continuaram sendo estudados, em conjunto com os limpadores, no intuito de melhorar os resultados. ABELSON, em 1981, realizou um estudo para testar a eficácia de um novo produto para a higienização de próteses. O autor analisou a eficácia de um aparelho ultrassônico em remover a placa aderida às superfícies dos dentes artificiais e da superfície que entra diretamente em contato com a mucosa, comparando-o com dois tipos comerciais de limpadores à base de peróxido alcalino. Para a avaliação, foram utilizados escores quanto ao índice de placa nos dentes artificiais e um escore para a superfície de adaptação das próteses. O ultra-som apresentou resultados superiores aos dois limpadores, mesmo quando a substância utilizada foi apenas água, o que deixa claro que a energia ultrassônica do aparelho é quem promove a limpeza das dentaduras.

AUGSBURGER & ELAHI, em 1982, relataram que as bases de resina acrílica, além de atuarem como depósitos orgânicos e inorgânicos produtores de odores, estão também associadas à colonização de microrganismos. Segundo os autores, a placa bacteriana aderida às próteses é responsável pela halitose e pela inflamação gengival em muitos portadores de dentaduras e relatam que pacientes geriátricos, ou com incapacidade manual, podem utilizar os limpadores químicos com mais vantagens. Este estudo comparou a eficácia de higienização de 7 limpadores de imersão em 100 pacientes utilizando próteses totais superiores e inferiores. Os voluntários foram instruídos a utilizar os procedimentos normais de limpeza durante o período anterior à fase teste do produto e que interrompessem a escovação 24 horas antes do início da pesquisa. As próteses superiores foram coradas e o escore de placa realizado por 2 investigadores. Após o uso dos limpadores, as próteses foram imersas novamente no revelador de placa e os escores foram realizados da mesma forma que o anterior. Segundo os resultados encontrados, não houve diferenças estatísticas entre os sete grupos de tratamento, comparando com o baseline. Neste estudo, o Polident® não foi efetivo na remoção de nenhum tipo de mancha ou placa.

No estudo realizado por GHALICHEBAF *et al.*, em 1982, foi comparada a eficácia de três limpadores de prótese comerciais. Foram selecionados 15 voluntários, com idade variando de 35 a 79 anos, com próteses totais duplas, utilizando 4 tratamentos. Antes do início do estudo, todas as próteses foram coradas para evidenciação de placa e posteriormente foram limpas para remoção completa de placa bacteriana e cálculo em cada estágio do experimento, utilizando um limpador ultrassônico. Durante 24 horas o paciente foi instruído a não fazer nenhuma higienização das próteses para permitir o acúmulo de

placa. Todos os voluntários passaram pelos 4 tratamentos, além do estágio de controle, no qual foi realizada a escovação com escova e pasta para limpeza de próteses. Os autores observaram que havia uma variação no acúmulo de placa bacteriana, de indivíduo para indivíduo, que não puderam ser explicados por fatores como idade do paciente, idade da prótese e sexo. Na avaliação da eficácia dos diferentes tipos de limpadores, foi possível concluir que Mersene® foi mais efetivo na remoção de placa da prótese em 15 minutos de imersão. Calgon® com Clorox® representaram o segundo limpador mais efetivo, enquanto que Efferdent® e Polident® apresentaram resultados inferiores. É possível que a eficácia do Mersene® e do Clorox-Calgon® se deva ao pH, que é superior aos demais e, no caso do Mersene®, também devido ao hipoclorito.

BUDTZ-JORGENSEN *et al.*, em 1983, avaliaram a prevenção do acúmulo de placa bacteriana por uma protease (alcalase). Eles analisaram o efeito clínico de diferentes concentrações da enzima e os procedimentos de limpeza através da identificação e quantificação de placa bacteriana. Após o tratamento, as próteses foram coradas e fotografadas de maneira padronizada. Observou-se redução significativa nos escores de placa bacteriana com o aumento da concentração da enzima, indicando ser este produto eficaz para limpeza de próteses principalmente quando associados à escovação.

POLYZOIS, em 1983, realizou um amplo levantamento para determinar os métodos e materiais populares de higienização de próteses através de questionários respondidos por 534 pacientes que compareceram à Clínica de Prótese Removível. De acordo com os dados obtidos, pode-se observar que os pacientes utilizavam uma grande variedade de mecanismos de higienização, indo desde as convencionais escova com dentífrico ou sabão

até o uso de sais e soda. A limpeza mecânica foi o método mais comum, enquanto que o uso de limpadores químicos como único método compreendeu apenas 6,7%. Daqueles que utilizavam os limpadores químicos, 77,33% preferiam os peróxidos alcalinos.

MOORE *et al.*, em 1984 avaliaram vários métodos de higienização de próteses e compararam sua habilidade em remover microrganismos das mesmas. A primeira parte do trabalho foi um estudo com condições controladas para avaliar a capacidade de vários limpadores em eliminar *Candida albicans*. Uma cultura de *Candida albicans* foi diluída em água estéril. Nesta diluição, 200 mL foi tratado com os limpadores de prótese. Foi realizado um controle positivo (água destilada esterilizada inoculada com a cultura de *Candida albicans*) e um controle negativo (água destilada estéril sem inoculação). Os limpadores foram testados em $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$, e 1 vez da concentração que indicava o fabricante. As amostras foram coletadas após 15, 30 e 60 minutos de exposição, plaqueadas em ágar Sabouraud Dextrose e incubados por 72 horas à temperatura ambiente e o número de UFC foi registrado. Nesta etapa, os autores concluíram que os limpadores de prótese Mersene[®], Clorox[®] com Calgon[®] e Miller's[®] tiveram atividade fungicida semelhante tanto na concentração indicada pelo fabricante quanto nas proporções de $\frac{1}{2}$ e $\frac{1}{4}$ durante os tempos de 15, 30 e 60 minutos. Efferdent[®], Polident[®] e Denalan[®] foram menos efetivos que os demais em $\frac{1}{4}$ e $\frac{1}{2}$ da concentração recomendada, Denalan[®] e Polident[®] permitiram o crescimento microbiano em 30 e 60 minutos. Na segunda etapa deste estudo, os limpadores foram testados quanto à eficácia em remover e/ou destruir microrganismos de próteses que estavam em uso pelos pacientes. Os voluntários foram instruídos a usar as próteses da maneira usual e não utilizar nenhum limpador químico ou abrasivo durante o estudo.

Metade da prótese foi escovada por 60 segundos com uma escova estéril e as amostras foram coletadas em 100cc de solução salina. As cerdas foram cortadas e adicionadas à solução, posteriormente as próteses foram higienizadas de acordo com os tratamentos selecionados. Todos os métodos produziram redução estatisticamente significativa na contagem de microrganismos em relação ao controle. A imersão por 30 minutos da associação de Clorox® com Calgon®, Efferdent® e Polident® não representaram uma redução estatisticamente significativa das UFC de *Candida albicans*.

ABELSON, 1985, em uma revisão de literatura, classificou os produtos para higienização de próteses em: pós e pastas abrasivas, produtos químicos para imersão, ácidos, enzimas, agentes antibacterianos e aparelhos ultrassônicos. Segundo o autor, a escovação é o método mais comumente utilizado, geralmente associado a um dentífrico abrasivo, entretanto exige motivação e destreza para ser eficiente. A combinação desta técnica com a imersão em produtos químicos pode melhorar a eficácia, sendo os peróxidos contendo enzimas os mais indicados para próteses estruturas metálicas. Em próteses totalmente de resina, os produtos mais efetivos são as soluções à base de hipoclorito, no entanto, apresenta a desvantagem de possuir odor e sabor desagradáveis. O autor concluiu que as metodologias devem ser padronizadas e novos produtos avaliados *in vivo*, já que ainda não existe o produto ideal para limpeza de próteses. Além disso, ressaltou a importância da orientação de higiene bucal aos pacientes a fim de manter a saúde bucal.

MINAGI *et al.*, em 1987, realizaram um estudo que utiliza um método objetivo para a avaliação *in vitro* dos agentes limpadores de próteses. Três próteses, duas superiores e uma inferior, utilizadas por mais de 2 anos, foram amostras deste estudo. Cada prótese foi

dividida em 25 zonas para a superior e 15 zonas para a inferior e cada zona foi sub-dividida em 4 partes teste de aproximadamente 5 X 5 mm e distribuídas aleatoriamente em 4 grupos: controle (água destilada) e 3 agentes de limpeza. Os produtos foram manipulados de acordo com instruções do fabricante, as amostras foram imersas em 150 mL de solução por 6 horas a 20° C. Após a imersão, as amostras foram lavadas e coradas durante 60 segundos. O percentual de placa para cada amostra foi calculado por computação gráfica. A eficácia fungicida dos limpadores foi avaliada através da concentração mínima de produto que inibisse o crescimento fúngico. De acordo com os resultados, os agentes de limpeza Pika® e Polident® (limpadores contendo enzimas) mostraram-se mais efetivos do que o Efferdent®. Além disso, foi possível estabelecer uma relação entre o tipo de placa e o agente de limpeza de próteses adequado para sua remoção.

DILLS *et al.*, em 1988, compararam a habilidade de 2 métodos populares de limpeza de próteses em remover microrganismos da placa das dentaduras. Uma pasta abrasiva para próteses e uma pastilha efervescente à base de peróxido alcalino, foram utilizados isolados e em combinação, além do grupo controle (sem tratamento) para determinar o nível de placa bacteriana sobre as próteses. Trinta voluntários com mucosa bucal saudável foram selecionados e a higienização das próteses foi interrompida no intuito de permitir o acúmulo de placa bacteriana para posterior uso dos tratamentos. Os autores concluíram que a imersão de prótese em limpadores químicos causa uma redução significativamente maior de microrganismos que escovar com pasta para prótese. Além disso, a combinação de escovação e imersão não reduziu o nível de microrganismos que recobriam as próteses, quando comparados apenas à imersão. De maneira geral, apenas a

escovação não remove consistentemente mais microrganismos que o observado no grupo sem tratamento. Os limpadores de prótese por imersão apresentaram maior efetividade contra os anaeróbicos gram-negativos (*Fusobacterium sp.*), cocos gram-positivos facultativos (*Streptococcus*) e cocos anaeróbicos gram-negativos (*Veillonella sp.*), bem como o recobrimento total de microrganismos.

CHAN *et al.*, em 1991, compararam a eficácia de uma solução de imersão com a limpeza mecânica de uma dentifício para dentaduras para remover e eliminar a placa bacteriana das próteses removíveis. Antes de iniciar o estudo, as próteses foram completamente limpas e a higienização das próteses foi interrompida 48 horas antes de iniciar cada estudo. A cada visita clínica, os voluntários foram randomizados para um dos tratamentos: 1) sem tratamento, 2) escovação com pasta para prótese, 3) imersão em limpador e 4) escovação seguida do uso de limpador. Amostras microbiológicas da placa foram tomadas da região interna de suporte da prótese, do lado direito, antes e depois dos tratamentos. As amostras foram diluídas serialmente e plaqueadas em Ágar Schaedler suplementado (para anaeróbios totais) e em Ágar CVE (para fusobactérias). Os resultados demonstraram que a performance do limpador é superior ao dentifício, entretanto os autores afirmam que, apesar dos resultados, para uma higienização adequada, o tratamento combinado deve ser sugerido.

NAKAMOTO *et al.* (1991), classificaram os limpadores químicos para próteses em: peróxidos alcalinos, hipocloritos alcalinos, ácidos, desinfetantes e enzimas e, para testar a eficácia dos mesmos, compararam quatro produtos com enzima e um sem. As soluções limpadoras foram avaliadas quanto à capacidade fungicida e de remoção da *Candida albicans* aderida à resina acrílica. Uma suspensão de *Candida albicans* foi preparada e

adicionada a cada solução limpadora em tubos de ensaio, armazenados a 37°C por 120 minutos e, em seguida, a solução foi diluída e inoculada em meio de cultura. Após 24 horas, foi feita a contagem do número de colônias. Para o teste de remoção do fungo, os discos de resina acrílica foram cobertos com a suspensão de *Candida albicans* e armazenados a 37°C por 90 minutos. Posteriormente, os discos foram lavados em solução tampão de fosfato, imersos em soluções limpadoras por 60 minutos e lavados novamente. As células fúngicas aderidas à resina acrílica foram fixadas com formaldeído e contadas em microscópio. Os autores concluíram que a capacidade fungicida depende principalmente do peróxido alcalino e não das enzimas e que todas as soluções limpadoras foram eficientes na remoção da *Candida albicans*.

Em 1992, ÖDMAN, avaliou a eficácia de um limpador de prótese contendo enzima através de análise microbiológica. Durante 3 semanas, 13 pacientes utilizaram o Enzydent (alcalase) somente para imersão das próteses em 150 mL de água morna ($\pm 45^{\circ}\text{C}$) durante 10 minutos. Num período de mais 3 semanas, os pacientes foram instruídos primeiro a fazer a imersão e depois escovar as próteses, da maneira habitual anterior. Para a coleta de microrganismos, o autor utilizou uma espátula de madeira que percorria uma área de 10mm X 10mm, na superfície interna da região de palato, a 10 mm da linha média e a 20mm da região posterior. A suspensão da placa foi diluída e inoculada ágar sangue, incubadas anaerobicamente por 7 dias a 37°C. De acordo com os resultados obtidos, o autor concluiu que o uso do limpador enzimático foi mais eficiente do que a técnica de escovação anterior, entretanto a associação dos dois métodos obteve melhores resultados. A maioria dos pacientes relatou uma sensação de hálito refrescante após o uso do produto.

McCABE *et al.*, em 1995, avaliaram a eficácia de dois limpadores de imersão, um dentífrico associado à escovação e uso de escova com sabão e água em relação à habilidade de remover três tipos de manchas. Um ensaio de 4 semanas de cross-over, envolvendo 80 voluntários foi usado nesta pesquisa. Cada prótese foi classificada quanto às manchas, cálculo e placa, tanto antes quanto depois da limpeza com um dos limpadores escolhidos. O limpador de imersão utilizado a 50° C foi mais efetivo que os demais produtos na remoção de placas e manchas. Não houve diferença entre os materiais quanto à remoção de cálculo, os escores foram baixos em todos os casos. A confiabilidade dos escores é influenciada pela presença de baixos valores antes da limpeza. Este problema pode ser superado utilizando uma seleção criteriosa na qual seja exigido um nível mínimo de manchas antes da limpeza.

A formação de placa nas superfícies das próteses é um problema comum entre os usuários de dentaduras e por este motivo KENG & LIM, em 1996, conduziram um estudo para determinar a distribuição de placa nas próteses. A placa das próteses foi corada e medida através da escala modificada de Quigley-Hein. Um método fotográfico foi utilizado para determinar a distribuição da placa nas próteses. A efetividade do limpador de prótese contendo perborato foi avaliada através da análise das fases pré e pós-tratamento. A placa sobre a prótese foi mais evidente nas superfícies de suporte (interface resina-mucosa) que nas áreas livres, dentes e palato. O uso do limpador de imersão isoladamente não é completamente efetivo na remoção da placa mais resistente. Segundo os autores, limpadores à base de peróxido alcalino contém perborato de sódio, monopersulfato de potássio, enzimas proteolíticas, detergentes e uma base efervescente mas é o processo de agitação causado pela dissolução do tablete que promove a maior atividade de limpeza

Outra maneira de avaliar a eficácia dos métodos de limpeza de prótese é a microscopia eletrônica de varredura utilizada por KULAK *et al.*, 1997. Segundo os autores, o método mais popular de higienização de próteses é o uso de escovas com pastas abrasivas e, se a técnica for utilizada corretamente, este método remove eficientemente a placa bacteriana. Entretanto, o uso de escovas exige um grau de destreza manual que geralmente é deficiente, principalmente nas pessoas mais velhas. Neste estudo foi avaliado o efeito das escovas e das soluções químicas de imersão na superfície de próteses contendo placa, cálculo e microrganismos. Foram obtidos oito fragmentos de 1 cm² em cinco próteses totais superiores. Uma prótese nova, sem uso e polida foi utilizada como controle. Cada um dos fragmentos foi submetido a um tipo de tratamento: 3 limpadores efervescentes, hipoclorito de sódio a 5%, colutório à base de Clorexidina 1,5%, enxaguatório bucal e escovação com escova macia e pasta para prótese. Todas as amostras que foram submetidas ao tratamento de imersão permaneceram em solução por toda a noite. As observações foram feitas através de microscopia eletrônica e análise fotográfica das amostras. Não houve diferença estatisticamente significante entre os julgadores, mas foi observada diferença estatística entre os tratamentos. A imersão em hipoclorito e colutório à base de Clorexidina 1,5% obtiveram os melhores resultados, enquanto que a imersão em enxaguatório bucal apresentou resultados inferiores aos demais. A escovação e os limpadores efervescentes apresentaram efeitos similares.

SESMA *et al.*, em 1999, avaliaram a eficiência de três métodos de higienização e limpeza de próteses, através de uma análise em microscópio eletrônico de varredura (MEV). Os voluntários foram orientados a higienizar as próteses com escova de dente e dentífrico durante uma semana. Na segunda semana, este método foi associado à imersão

em um produto químico efervescente à base de peróxido alcalino e, na última semana, associaram a escovação com aplicação de um algodão embebido em clorexidina 2% apenas na parte interna da prótese. Após cada período, foram obtidas amostras de 5 mm² da região interna das selas das próteses para análise em MEV. Observou-se que o uso de escovas de dente e dentífrico não foi eficiente na remoção da placa bacteriana da superfície da prótese. A associação desse método mecânico com a imersão da prótese em um produto químico efervescente à base de peróxido alcalino melhorou a higienização, em comparação ao método anterior, porém a aplicação da clorexidina a 2% na parte interna da sela das próteses, associada ao método mecânico, foi o método mais eficiente na eliminação de microrganismos.

PARANHOS *et al.*, em 2000, analisaram a eficácia de um dentífrico para dentaduras por meio de avaliação da capacidade de remoção de placa/biofilme e ação antimicrobiana contra microrganismos específicos, através da determinação de UFC de *Streptococcus* do grupo mutans e leveduras em 120 portadores de dentaduras completas com mucosa palatina saudável e como controle utilizou um dentífrico convencional. O dentífrico em estudo foi amplamente aceito pelos pacientes e efetivo quanto à remoção de placa e ação antimicrobiana. Entre as leveduras, a *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. glabrata* foram as espécies mais frequentemente isoladas. Concluiu-se que é possível manter a higiene das próteses com o uso regular de um produto de higiene sob a forma de creme.

Em 2002, GORNITSKY *et al.* realizaram um estudo para atestar a eficácia de 3 limpadores de prótese em reduzir o número de microrganismos nas próteses de uma população geriátrica hospitalizada. Três marcas comerciais de limpadores foram comparadas e a água foi utilizada como controle. Amostras microbiológicas foram obtidas

antes e após 3 períodos de 1 semana de uso do limpador. Foi avaliado também o nível da diferença de escores entre o “antes e depois do tratamento”, a eficácia de cada limpador em reduzir o acúmulo de placa, mancha e comida. O grau de diferenças no número de UFC de *Candida spp.* antes e depois de uma semana do uso do Denture-Brite® e Polident®, foi significativamente maior que o do grupo controle, mas não houve diferenças entre o Efferdent® e o grupo controle. Não foram observadas diferenças significantes na redução de *Streptococcus mutans* entre o Denture-Brite® ou Polident® e o grupo controle, enquanto que próteses limpas com o Efferdent® exibiram uma redução significativamente maior de *Streptococcus mutans* que as próteses higienizadas com água. Em todos os períodos estudados, não houve diferenças significantes entre os limpadores na redução de *Candida spp.* ou de *Streptococcus mutans*. As próteses limpas com Denture-Brite®, Polident® ou Efferdent® apresentaram redução similar no nível de placa, manchas e alimentos, e todas tiveram redução substancialmente maior que as próteses higienizadas apenas com água. Os autores concluíram que os limpadores de prótese reduzem significativamente o número de microrganismos nas próteses de uma população geriátrica hospitalizada.

2.4 Pacientes Geriátricos

MARSH *et al*, em 1992, realizaram um estudo para avaliar o efeito do uso de próteses e a idade na prevalência de microrganismos selecionados de significado bucal e na transmissão de doenças oportunistas em 120 voluntários saudáveis. Os voluntários foram divididos em quatro grupos de acordo com a idade 20-39 anos (A), 40-59 anos (B), 60-79 anos (C) e acima de 80 anos (D). Foi coletada saliva não estimulada e placa bacteriana dos primeiros molares inferiores. As amostras de saliva foram diluídas e plaqueadas em ágar

sangue Columbia e incubadas em anaerobiose, a 37° C, por 4 dias, para a determinação de número total de UFC. As amostras também foram plaqueadas em meios seletivos como o ágar Sabouraud (para *Candida spp.*), MacConkey (para *enterobactéria*), Ágar Rogosa (*Lactobacilli*) e outros para *Staphylococci* e *Streptococcus mutans*. As Enterobactérias foram identificadas através de teste bioquímico API 20E. As enterobactérias identificadas como *E. cloacae* estavam presentes em apenas 3 voluntários, todos usuários de próteses e pertencentes ao grupo mais velho (acima de 80 anos). Neste estudo, os autores concluíram que muitos fatores podem influenciar na microflora em idosos e que, tanto a idade quanto o uso de próteses parciais podem interferir independentemente nesta alteração microbiana.

MacENTEE, em 1994, realizou uma investigação quanto à saúde bucal de idosos avaliando a magnitude das doenças e disfunções, e as necessidades de tratamento. Segundo o autor, a população está envelhecendo em todo o mundo e, felizmente, a maioria dos idosos apresenta saúde suficiente para manter a sua higiene bucal. Existe um número pequeno, mas com rápida evolução de pacientes institucionalizados, muitos deles com inflamações na mucosa bucal associadas à falta de dentes e cáries, principalmente devido à dieta cariogênica e higienização deficiente. Os problemas parecem ser maiores entre os inválidos, incapacitados e os institucionalizados que geralmente necessitam de reabilitação protética. Considerando que os cirurgiões-dentistas geralmente demonstram menor entusiasmo em oferecer seus serviços fora da prática tradicional, o futuro tratamento destes pacientes, especialmente, os protéticos, deixam substancialmente sem resposta.

A preocupação com os pacientes geriátricos já havia sido demonstrada por SHAY (1994) quando relatou em seu artigo sobre as considerações do tratamento dental em pacientes geriátricos institucionalizados, que os idosos, em geral, e os internos em casas de

repouso, em particular, são crescentemente frágeis e debilitados. Segundo o autor, os cirurgiões-dentistas devem estar preparados para lidar com as necessidades orais destes pacientes idosos que são afligidos pela inaptidão de médicos e cirurgiões-dentistas, devendo haver um compromisso formal entre as partes para que haja um tratamento de qualidade, apesar dos obstáculos que este tipo de tratamento impõe. Para o início da avaliação, deve existir uma atenção às probabilidades de um atendimento domiciliar. Com o avanço da idade, é freqüente observar que os impactos visuais e manuais, as deteriorações de braços e ombros impedem que haja uma efetiva manipulação de escovas dentais, fios e outros artificios. A seqüela das doenças orais não diagnosticadas em idosos também pode causar um impacto sistêmico superior ao que acontece quando jovem: comprometimento nutricional, pneumonia, bacteremia, abscesso cerebrais e outras conseqüências ainda são reportadas. O autor classifica três fatores fundamentais para que o atendimento ao idoso, principalmente os institucionalizados, seja funcional e ético: a variabilidade, a fragilidade e a dependência. Idosos de uma mesma idade podem apresentar variações gritantes nestes três aspectos que são capazes de alterar qualquer plano de tratamento genérico que possa ser realizado e, na ausência de um tratamento interdisciplinar, é impossível que haja uma reabilitação segura e de qualidade.

PIETROKOVSKY *et al.*, em 1995, também realizaram um estudo em 610 pacientes internados em 7 casas de abrigo de idosos em 4 países diferentes (EUA, Peru, Argentina e Israel), obtendo resultados semelhantes. Segundo os autores, muitos portadores de próteses totais não são capazes de manter suas próteses limpas e um dos resultados da higiene bucal deficiente é o acúmulo de placa e/ou restos de alimento nas superfícies das próteses, nos tecidos orais, nas cristas residuais, no palato, na mucosa jugal e na língua. Após o

levantamento dos dados, os autores puderam concluir que a limpeza das próteses e a eliminação de placa bacteriana são funções negligenciadas na maioria dos asilos. Pacientes, parentes e enfermeiras demonstraram pouco entendimento sobre os cuidados na higiene bucal que os pacientes geriátricos necessitam, especialmente os portadores de próteses. Apesar de 96% dos pacientes relatarem que escovam suas próteses e a boca pelo menos duas vezes ao dia, a maioria apresentava próteses mal higienizadas.

BLAIR *et al.*, em 1995, desenvolveram uma técnica microbiológica simples de medir a higiene das próteses. Foram utilizados 57 voluntários, residentes em asilos, com média de idade de 76 anos (40 a 93) e que usavam próteses totais superiores. As próteses foram removidas da boca e examinadas por apenas um examinador para diminuir a variabilidade e classificadas quanto a quantidade de placa. Amostras microbiológicas foram obtidas de um local padronizado na superfície interna da prótese. A área selecionada foi lateral à linha média e correspondente às rugosidades palatinas, com um disco de papel de filtro de 1,3 cm pré-esterilizado e imerso em um tubo de ensaio contendo solução tampão fosfato. As amostras foram transportadas ao laboratório em um tempo máximo de 3 horas, agitadas por 10 segundos e diluídas. Cada diluição foi inoculada através da Spiral Plater em placas de ágar sangue, em duplicata. Uma das placas foi incubada aerobicamente enquanto a outra, incubada anaerobicamente, ambas a 37° C. Após 48 horas de incubação, eram obtidas colônias totais a partir de cada placa. Amostras também foram inoculadas no ágar Sabouraud dextrose e ágar Pagano-Levin para fungos e no ágar MacConkey para coliformes. Todas as placas seletivas foram inoculadas a 37° C aerobicamente por 48 horas. Os coliformes foram identificados através do Índice de Perfil Analítico. Houve uma forte correlação positiva entre a limpeza das próteses e a transformação logarítmica das

contagens aeróbicas e anaeróbicas. Os coliformes foram isolados em apenas 5 voluntários e estavam presentes em pequeno número: *Klebsiella pneumoniae* (1), *Escherichia coli* (1), *Acinetobacter calcoaceticus* (1) e espécies de *Enterobacter* (3).

NIKAWA *et al.*, em 1998, realizaram uma revisão crítica da literatura, relacionando a presença de placa bacteriana com a incidência de *Candida albicans*. Segundo os autores, a literatura mostra não só a associação da *Candida albicans* à estomatite protética, mas também a cáries dentárias, radiculares e periodontites e ressaltou que a deglutição ou a aspiração contínua dos microrganismos das placas das próteses expõe o paciente, particularmente idosos imunocomprometidos ou sob efeito de medicamentos, a infecções pulmonares.

Embora já esteja estabelecido que a aspiração de bactérias da faringe seja a maior rota de infecções no desenvolvimento da pneumonia, tem sido demonstrado que a colonização da mucosa faríngeal por patógenos respiratórios é um fenômeno transitório, portanto a placa dental pode constituir, adicionalmente, uma possibilidade mais estável de reservatório de patógenos respiratórios. Desta forma, o estudo realizado por RUSSEL *et al.*, em 1999, avaliou a prevalência da colonização bucal por patógenos respiratórios em um grupo de idosos (média de idade de 75,9 anos), residentes em asilos (n=28) e um grupo controle de pacientes não institucionalizados, com idade, raça, gênero semelhantes (n=30), com atenção específica quanto à presença de placa presente nos dentes, próteses e superfícies da mucosa bucal. Foram realizadas avaliações quanto à história médica e dental dos pacientes, especificando histórias de pneumonia, infecções urinárias e relacionadas à tuberculose e vícios como álcool ou drogas intravenosas. Todos os exames e a coleta microbiológica foram executados por um único examinador. Foi realizada uma avaliação

quanto ao Índice de Placa sobre os dentes presentes e sobre as próteses. A placa foi coletada de dentes e próteses através de uma cureta periodontal e um swab foi vigorosamente friccionado sobre a mucosa, para a coleta de microrganismos das mesmas. Todas as amostras foram colocadas em um recipiente estéril com meio de transporte e transportadas ao laboratório no intervalo de duas horas. As diluições apropriadas foram plaqueadas em duplicata nos meios de ágar sangue, manitol, chocolate e MacConkey. O número total de colônias foi enumerado e cada espécie de interesse foi expressa no percentual do total de colônias que cresceu em ágar sangue. Os índices de placa em dentes e próteses foram significativamente maiores nos pacientes institucionalizados em relação ao grupo controle. Enquanto nenhum voluntário do grupo controle apresentou colonização por patógenos respiratórios, 14,3% dos institucionalizados possuíam este tipo de colonização. A colonização bucal com patógenos respiratórios em idosos institucionalizados estava associada com a presença de doença pulmonar obstrutiva crônica e altos índices de placa bacteriana. Estes resultados sugerem que o controle de placa dental deficiente e a presença de doença pulmonar obstrutiva crônica podem estar relacionados à presença de colonização dos patógenos respiratórios na placa dental de pacientes idosos institucionalizados.

A pesquisa desenvolvida por BUDTZ-JORGENSEN *et al.*, em 2000, avaliou a eficácia de um programa de prevenção na prevalência de candidíase bucal em 137 voluntários frágeis ou dependentes, residentes em um asilo. Metade dos residentes foi incluída no grupo controle e a outra metade no grupo de estudo, cujos cuidadores receberam um programa de instrução de higiene bucal. Para todos os pacientes foi realizado um exame intra-bucal, e a cultura de fungos da mucosa bucal e da superfície de suporte das próteses, antes (baseline) e 18 meses após o tratamento. Após 18 meses da primeira

consulta, 78 residentes haviam morrido ou estavam em estágio terminal, impedindo o prosseguimento da coleta. A severidade da estomatite protética diminuiu significativamente no grupo experimental e tanto a quantidade de UFC quanto a contagem de fungos diminuiu no grupo controle. Os autores puderam concluir que o programa é efetivo na redução da colonização bacteriana, tanto na mucosa quanto na prótese, aumentando a saúde da mucosa bucal, entretanto, os autores salientam que a implementação destes programas em asilos necessita da colaboração dos órgãos superiores para garantir a manutenção por parte dos cuidadores e enfermeiros, visto as dificuldades encontradas para a implementação do programa, principalmente devido ao pouco conhecimento dos cuidadores sobre saúde bucal e o baixo nível educacional que muitos deles apresentam, sendo pouco receptivos às informações.

KULAK-OZKAN *et al.*, em 2002, realizaram um levantamento para determinar os hábitos de higiene bucal, a higienização das próteses e a presença de fungos e estomatite na população idosa. 70 pacientes portadores de prótese total foram examinados clínica e micologicamente. Os voluntários foram avaliados de acordo com presença de estomatite protética, fungos, higiene da prótese, frequência com que as escovava e os métodos utilizados para a limpeza destas. Para a análise da presença e identificação de fungos utilizou-se um swab para remover o material. Não foi encontrada relação estatística entre a estomatite protética e a frequência de escovação ou o método de limpeza utilizado. Entretanto, houve diferença estatisticamente significante entre a presença de estomatite protética, a existência de infecção fúngica e o grau de higienização das próteses.

MONJON, em 2002, realizou uma revisão de literatura sobre a associação entre infecção pulmonária e doenças orais e pode destacar pelo menos 12 estudos que forneceram

evidências diretas desta correlação. Segundo o autor, esta associação parece ocorrer apenas em pacientes com a saúde severamente comprometida, em pessoas idosas frágeis e em pacientes com doenças pulmonares crônicas. O acúmulo de placa em dentes ou dentaduras e alguns patógenos periodontais são os maiores culpados por esta relação. Estes resultados confirmam as sugestões dadas anteriormente de que a melhora da higiene bucal pode reduzir a possibilidade de contrair pneumonia entre os sujeitos que estejam em risco. Ainda de acordo com os dados levantados pelo autor, uma intervenção mais rápida pode ser o uso de um desinfetante bucal, na forma de antibióticos em solução, mas estudos longitudinais sobre este tipo de medicação ainda são poucos. Além disso, uma associação causal ainda não está provada e muitos estudos, em particular estudos de intervenção, ainda são necessários.

3. PROPOSIÇÃO

Este trabalho teve o objetivo de avaliar a eficácia de um limpador de prótese em reduzir a microbiota aeróbia total aderida sobre as próteses de pacientes idosos institucionalizados e seus efeitos sobre a concentração dos compostos sulfurados voláteis (CSV), bem como avaliar a sua eficácia em impedir ou diminuir a neoformação de placa bacteriana em próteses recém-instaladas, além de observar a correlação entre a habilidade destes pacientes em higienizar as próteses e o índice visual de biofilme sobre as mesmas.

4. METODOLOGIA

4.1 Considerações éticas

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FOP – UNICAMP, sob Protocolo número 019/2001 (ANEXO II). Todos os voluntários receberam um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), explicando a realização do estudo, os objetivos, os riscos e os benefícios aos quais estariam expostos (Anexo III), de acordo com as Diretrizes e Normas Regulamentadoras do Conselho Nacional de Saúde (Resolução nº 196/96). Aqueles pacientes considerados incapazes de compreender o TCLE foram autorizados por parentes e os estudos só foram iniciados após assinatura dos Termos de Consentimento.

4.2 Delineamento experimental

Este estudo *in vivo* consistiu na avaliação da eficácia de um limpador de prótese em reduzir a microbiota e a concentração de CSV em próteses totais de pacientes idosos e de impedir a neo-formação de biofilme e controle da halitose sobre próteses totais novas. Para tanto, o mesmo foi realizado em duas fases, sendo que na primeira foram utilizadas as próteses antigas dos pacientes e na segunda, próteses novas.

Na Fase I foram realizadas coletas do biofilme e determinação da concentração de CSV antes do uso do limpador (T_0), após 7, 14 e 28 dias (T_1 , T_2 e T_3) de tratamento contínuo. Na Fase II, novas próteses foram confeccionadas e instaladas após a esterilização por energia de microondas (3 minutos em potência alta), para garantir a ausência de microrganismos. Nesta fase, as coletas de microrganismos e a determinação de CSV foram realizadas após 30, 60 e 90 dias de uso do limpador ($T_{1.1}$, $T_{2.2}$ e $T_{3.3}$).

As coletas realizadas em T_0 permitiram que cada paciente fosse o controle dele mesmo. Antes do uso do limpador, sem ter sido executada a higiene habitual das próteses, foi realizada, por um único examinador calibrado, uma análise visual da quantidade de biofilme existente na superfície interna das mesmas, utilizando escores zero para próteses sem biofilme visível, 1 para próteses com menos de 50% da prótese com biofilme visível e 2 para próteses com mais de 50% da prótese com biofilme visível. Esta técnica foi uma modificação do índice de placa utilizado por ABELSON, em 1981, reduzindo o número de escores, uma vez que não seria possível realizar a análise de biofilme corado, pois seria necessária a sua remoção, o que alteraria o objetivo inicial da Fase I. Esta redução diminuiu a chance de erro durante a análise.

Os voluntários também foram classificados quanto à capacidade de higienizar as próteses em paciente com ou sem habilidade, tomando como padrão a habilidade manual, utilizando como referência a dificuldade de realizar a preensão da escova de dentes tradicional, sob pressão moderada, e a capacidade visual dos pacientes, sendo que aqueles que apresentavam dificuldades graves de visão foram considerados como “sem habilidade”. Esta avaliação foi realizada por um único examinador calibrado, no intuito de diminuir as variações inter-examinadores.

Durante a anamnese, a técnica de higiene habitual do paciente foi descrita pelos mesmos e anotadas pelo pesquisador e a técnica de cada voluntário foi mantida durante todo o experimento, para evitar que o estímulo à higienização pudesse mascarar os resultados. Também para evitar alterações microbiológicas e o estímulo aos cuidados bucais que poderia causar a presença de cirurgiões-dentistas no asilo, as novas próteses

foram confeccionadas antes do início da Fase I. Desta forma, todos os pacientes da pesquisa já estavam acostumados com o atendimento odontológico.

4.3 Seleção dos voluntários

A seleção dos voluntários foi realizada em uma instituição localizada na cidade de Piracicaba (Lar Betel), no estado de São Paulo. Trata-se de uma Instituição que abriga 76 internos, idosos de ambos os sexos e com idade superior a 60 anos. Para o procedimento da seleção, todos os pacientes foram submetidos à entrevista e ao exame clínico (ANEXO I). Foram considerados critérios de inclusão gozar de boa saúde geral, não necessitar de uso constante de antibióticos, serem desdentados totais e utilizarem pelo menos a prótese total superior por mais de seis meses e como critérios excludentes: ser fumante, possuir ulcerações da mucosa bucal, alterações naso-faríngeas, ou grande acúmulo de biofilme no dorso da língua (saburra lingual), pois estes fatores poderiam contribuir para a produção de CSV no hálito. Após a realização dos questionários e a avaliação clínica, 41 internos foram pré-selecionados por serem desdentados totais e utilizarem ao menos a prótese total superior por um período superior a 6 meses.

Dos 41 internos, oito foram eliminados durante a entrevista pois não se enquadravam nos fatores de inclusão, três pacientes se recusaram a participar da pesquisa, 4 faleceram e 3 tiveram o tratamento interrompido durante a fase de confecção das próteses. Quatro voluntários participaram do estudo piloto. Dezenove pacientes participaram de todas as fases da pesquisa, 6 homens e 13 mulheres, com idade entre 62 e 86 anos (média de 75,5 anos).

A condição de saúde geral dos voluntários foi detalhada pelos mesmos e confrontada com os prontuários médicos disponibilizados pela Instituição. No momento da análise microbiológica, os pacientes não estavam fazendo uso de antibióticos por um período mínimo de 15 dias, segundo informações da enfermeira-chefe da Instituição.

4.4 Utilização do limpador

Para o desenvolvimento deste estudo foi utilizado um limpador de próteses comercial Polident 5 minutes® (Block & Drug Co., Inc. Jersey City, New Jersey), conforme descrito na Tabela 1.

Tabela 1: Composição e ação do Polident 5 minutes®
Composição *

Ácido cítrico Anidro
Carbonato de sódio Anidro
Bissulfato mono potássico
Perborato de sódio monohidratado
Polifosfato de Sódio
Benzoato de sódio
Polietilenoglicol
Lauril – sulfato acetato de sódio
Vinil pirrolidona (VPK)
Estearato de sódio
Aromas
FD & C azul no. 1 e no. 2
FD & C amarelo no. 5

*Segundo informação do fabricante

O limpador de prótese foi utilizado diariamente para imersão das próteses totais dos voluntários. Diariamente, no período da manhã, para cada paciente foi preparada pelo pesquisador uma solução contendo um tablete do limpador dissolvido em 150 mL de água morna (aproximadamente 45° C) e a prótese foi imersa por 5 minutos, uma vez ao dia, após a escovação habitual das mesmas.

4.5 Instruções aos voluntários no dia da pesquisa

No dia anterior a cada tempo da pesquisa, os pacientes foram instruídos a permanecer em jejum de 8 horas, não realizar a higiene bucal matutina, de forma que o mau hálito, caso estivesse presente, apresentasse as maiores concentrações de compostos sulfurados voláteis, de acordo com os estudos realizados por SOLIS-GAFFAR *et al.*, em 1975 e TONZETICH, em 1977. Os voluntários também foram instruídos a não fazerem uso de perfumes, desodorantes ou qualquer outro produto cujo odor pudesse interferir nos resultados, pois o aparelho também é sensível à presença de etanol e óleos essenciais (SCHIMIDT *et al.*, 1978; ROSENBERG & McCULLOCH, 1992).

Como todos os voluntários eram internos, a alimentação foi controlada, evitando o uso de alimentos como queijo, alho ou cebola nas refeições dos voluntários no dia anterior ao exame.

4.6 Determinação da concentração de CSV

O nível de CSV intrabucal foi estimado com um monitor portátil denominado Halimeter® (Interscan Model RH 17-K Halimeter, Interscan Corporation, Chatsworth,

CA) (Figura 1). O interior deste aparelho contém um circuito elétrico e uma bomba para succionar amostras de ar através de um sensor eletroquímico volumétrico que vai gerar sinais quando expostos aos CSV. Quando estes compostos atingem o sensor do aparelho, eles se ionizam liberando elétrons que sensibilizam o circuito elétrico, gerando uma corrente elétrica diretamente proporcional à concentração de gás ionizado. Esta corrente é convertida em voltagem para ser medida e assim o visor digital do aparelho fornece o valor em partes por bilhão (ppb), ou seja 1 grama de CSV para 1 bilhão de gramas de ar (ROSENBERG *et al.*, 1991)

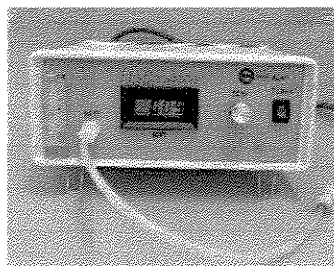


Figura 1: Halímetro

As mensurações de CSV foram realizadas no período da manhã, no mesmo período. Para isto, o halímetro foi zerado nas condições do ambiente, 30 minutos antes do início da primeira determinação de CSV.

Para a determinação do CSV, um canudo flexível descartável de 15 cm foi inserido na cânula de teflon do monitor e apenas 3 cm do comprimento do canudo foi introduzido na boca do voluntário. Este foi instruído a respirar apenas pelo nariz e não permitir que a língua obstruísse o fluxo de ar na saída do canudo (o indicador de fluxo presente no aparelho permitia observar se o paciente estava obstruindo o conduto ou se estava soprando pela boca). Foram realizadas 3 medidas de 20 segundos, com intervalos de 1 minuto entre elas, para cada voluntário. O valor considerado para cada medida foi o

maior valor lido no monitor. Para cada voluntário foi obtida uma média aritmética das três leituras, sendo que este valor é considerado na análise estatística (ROSENBERG, 1996).

4.7 Coleta do biofilme e análise da microbiota bucal

a) Coleta

A coleta do biofilme formado sobre a prótese foi executada por um único examinador, utilizando um *swab* descartável estéril que percorria uma superfície delimitada de 1,0 x 1,0 cm, a 1,0 cm da linha mediana (ÖDMAN, 1992) e a 1,0 cm da borda posterior interna na região de palato (KENG & LIM, 1996). A delimitação desta área se deu através do uso de um gabarito de papel estéril, que foi posicionado sobre a linha mediana da prótese (Figura 2).

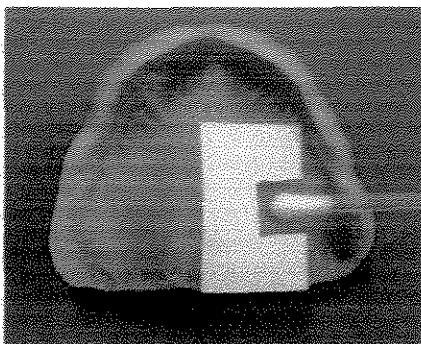


Figura 2: Gabarito sobre a prótese para obtenção a coleta do biofilme.

Os *swabs* contendo o biofilme foram acondicionados em tubos de ensaio estéreis descartáveis com 15mL de capacidade (GREINER) em 3,0mL de solução salina 0,9% (RUSSEL *et al.*, 1999). Cada tubo foi identificado com um número correspondente ao paciente, armazenado em banho de gelo e transportado ao laboratório, num intervalo máximo de duas horas.

b) Inoculação das amostras

Os tubos foram agitados em agitador (MARCONI PA 162) por 60 segundos para a homogeneização do conteúdo. Após a agitação, o swab foi descartado. Em seguida, as suspensões passaram pelo processo de diluição seriada, partindo-se da diluição zero até 10^{-2} em solução salina. Para a obtenção das diluições, 0,2 mL da suspensão original foi diluída em 1,8 mL de solução salina, originando a diluição 10^{-1} e para a diluição 10^{-2} , 0,2 mL da primeira diluição foi incorporada a 1,8 mL de solução salina.

A suspensão original e as duas diluições foram semeadas, em duplicata, em meio MacConkey (MC), que é um meio seletivo para Enterobactérias (GOLDBERG *et al.*, 1997), e em meio Ágar Sangue (AS), que é um meio enriquecido e favorece o crescimento geral da microbiota bucal, possibilitando a comparação entre a quantidade de enterobactérias em relação aos microrganismos crescidos em aerobiose.

O meio MC (MERCK) foi preparado diluindo 50 gramas de pó para 1000 mL de água destilada deionizada, autoclavado, resfriado e vertido sobre as placas com auxílio de pipetas descartáveis no volume exato de 20 mL.

O meio AS foi obtido pela adição de sangue de carneiro desfibrinado na proporção de 50 mL de sangue por 1000 mL do meio Ágar (MERCK) preparado, através da diluição prévia de 40 gramas de pó em 1000 mL de água destilada deionizada, autoclavado e resfriado até uma temperatura entre 45 a 50° C, para que fosse realizada a incorporação do sangue.

As amostras foram semeadas automaticamente pelo aparelho *Spiral Plater* (DW SCIENTIFIC) (Figura 3). O mecanismo deste aparelho se baseia em sua capacidade de aspirar, por meio de uma cânula, uma quantidade determinada da amostra e depositá-la

uniformemente sobre a placa, em espiral. Isto é possível porque ao mesmo tempo em que a cânula contendo a diluição se movimenta em sentido horizontal centrípeto, a plataforma onde se localiza a placa realiza um movimento de rotação, em sentido anti-horário. Desta forma, as células que formarão as unidades formadoras de colônia (UFC) são distribuídas na placa em espiral (Figura 4).

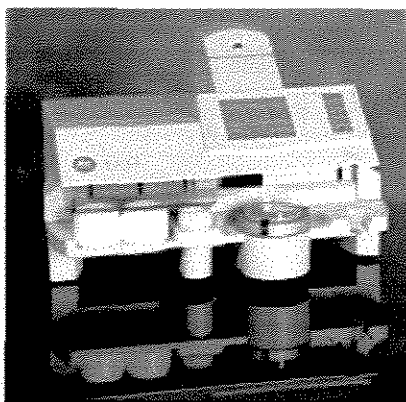


Figura 3: Spiral Plater.

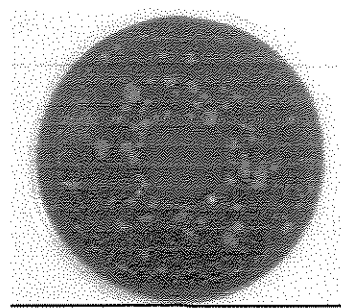
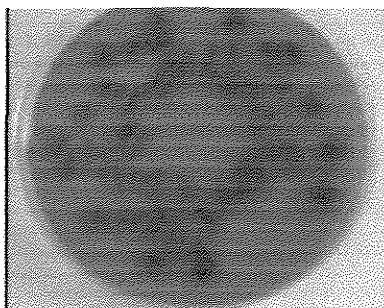


Figura 4: Meio de cultura MC e AS, respectivamente, semeados pela *Spiral Plater* para contagem de enterobactérias.

fabricante, onde o mesmo é transformado em UFC total da placa, levando-se em consideração a quantidade de diluição inoculada (50 µL) e que a inoculação foi realizada de forma logarítmica sobre a placa.

O número total de colônias (UFC/mL) em ágar sangue para cada amostra foi obtido, as médias aritméticas entre as duplicatas foram calculadas e o número de colônias de Enterobactérias observado no meio MC foi expresso como percentual do total de colônias que cresceram em meio de ágar sangue após a incubação em aerobiose (RUSSEL *et al.*, 1999).

d) Identificação das colônias

Após a incubação, as colônias crescidas em meio MC foram identificadas de acordo com os aspectos morfológicos e através do teste de Rugai com Lisina (NEWPROV, Londrina, Paraná, Brasil).

De acordo com os aspectos morfológicos, as colônias de *E. coli* são lisas, circulares e convexas, com bordas bem definidas; as *Enterobacter* são semelhantes, porém mais mucóides enquanto que as colônias de *Klebsiella* são grandes e muito mucóides.

O meio de Rugai com Lisina é um meio de cultura destinado à triagem bioquímica de Enterobactérias e fornece um diagnóstico presuntivo. Este meio se apresenta em tubo de ensaio, com o meio de Rugai na porção superior, cera de vascar (vaselina/carnaúba) para separação com o meio de lisina que vai ser responsável pela observação da motilidade.

Com a agulha bacteriológica, coletou-se uma colônia isolada que foi inoculada através de uma picada central até o fundo do tubo e, retornando à superfície inclinada,

semeando na forma de estrias no meio de Rugai. Os tubos foram incubados em estufa a $\pm 37^{\circ}\text{C}$ por 24 horas e posteriormente as colônias foram interpretadas.

INTERPRETAÇÃO DO MEIO DE RUGAI COM LISINA

- 1) Meio de Rugai (cor original – azul esverdeada)
 - Região superior do tubo
 - i. Desaminação do L-Triptofano (LTD)
 - (+) sacarose negativa: cor verde musgo intenso
 - (-) sacarose positiva: marrom
 - ii. Fermentação de Sacarose
 - (+) amarela
 - Base
 - i. Fermentação da Glicose
 - (+) amarela
 - ii. Produção de gás
 - (+) bolhas ou arrebentamento do meio
 - iii. Hidrólise da uréia
 - (+) azul intenso
 - iv. Produção de gás sulfídrico
 - (+) cor negra
- 2) Meio de Lisina (cor original –púrpura)
 - i. Descarboxilação da L-lisina
 - (+) qualquer cor diferente do amarelo
 - (-) amarelo
 - ii. Motilidade
 - (+) crescimento além da picada e/o turvação do meio
- 3) Tampa – papel filtro – prova do indol – Reativo de Covacs no Papel de Filtro
 - (+) vermelha

Tabela 2: Aspecto bioquímico presuntivo (maioria das cepas)

Microrganismo	Indol	LTD	Sacarose	Glicose	Gás	Uréia	H ₂ S	Lisina	Motilidade
E. coli	+	-	+	+	+	-	-	+	+
Salmonela	-	-	-	+	+	-	-	+	+
Enterobacter	-	-	+	+	+	-	-	-	+
Klebsiella	-	-	+	+	+	+	-	+	-

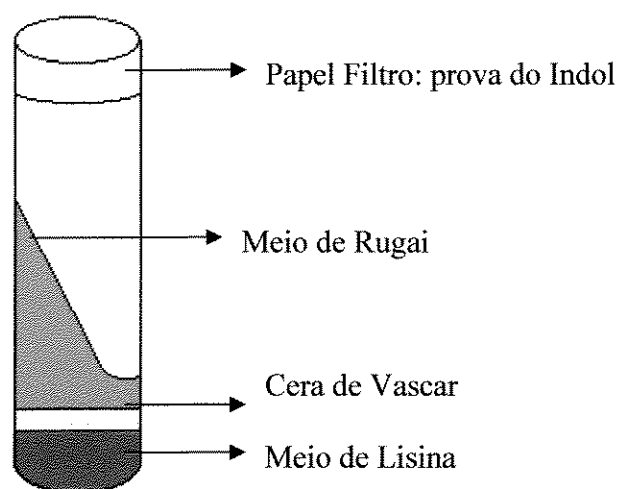


Figura 6a: Figura esquemática do Meio de cultura Rugai com Lisina.

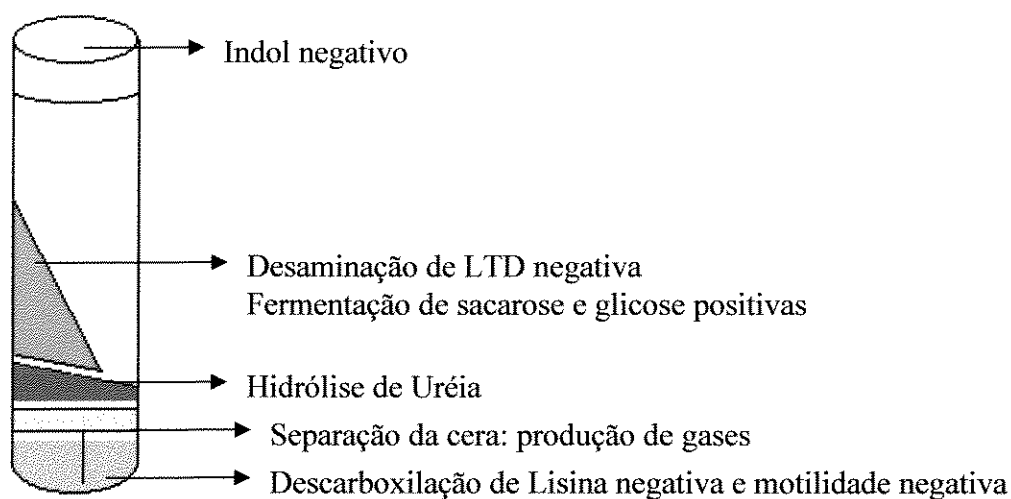


Figura 6b: Figura esquemática do Meio de cultura Rugai com lisina com reação de identificação para *Klebsiella*.

e) Escores de colonização para o Crescimento de Enterobactérias

Para a análise estatística, os resultados das colônias de Enterobactérias foram classificados de acordo com o grau de colonização: (0) sem colonização, se não houver

crescimento bacteriano; (1) colonização mínima, se for encontrado um percentual inferior a 1,0 %; (2) colonização positiva, se houver crescimento bacteriano em um percentual superior a 1,0%. Esta classificação deve ser feita, uma vez que um percentual inferior a 1,0% poderia representar uma colonização temporária, porém, uma vez que o percentual ultrapassar este valor, pode-se considerar uma relação estável com o hospedeiro (LOESCHE, 1997; RUSSEL *et al.*, 1999).

4.8 Delineamento estatístico

❖ Avaliação da Correlação entre habilidade manual e análise visual de biofilme

De acordo com a análise visual da quantidade de biofilme existente na superfície interna das próteses, foi possível separar os 19 voluntários em três grupos e classificá-los em dois grupos, relativos à habilidade manual. Estas duas classificações possibilitaram o cruzamento dos dados e compará-los através dos testes para dados ordinais em tabelas de contingência (Tau de Kendall).

❖ Concentração de CSV nos tempos

Para a comparação da concentração de CSV entre o tempo T_0 e os demais tempos da Fase I e para comparar os tempos, isoladamente, entre si, em cada uma das fases, foi utilizado o Teste de Ordens Assinaladas de Wilcoxon. Para a comparação entre todos os tempos conjuntamente, em cada Fase, foi utilizado o Teste de Friedman. Em ambos os testes o intervalo de confiança foi de 95%. Para avaliar a correlação entre o tempo T_0 e o tempo $T_{3,3}$ da Fase II, foi realizada a Correlação de Spearman.

❖ Análise Microbiológica

Os dados provenientes da análise microbiológica foram transformados em base logarítmica (Log_{10}), que permitiu a aplicação do teste paramétrico. As diferenças das contagens de UFC para comparar o tempo T_0 e os demais das Fases I foram realizadas através do Teste T pareado para os dados transformados. O intervalo de confiança usado foi de 95%. As diferenças entre os demais tempos na Fase II foram verificadas para observar se ocorreram modificações em relação ao tempo. Para este fim foi utilizado o Teste T pareado aos dados transformados, ao nível de 5% de significância.

Considerando-se os tempos conjuntamente em cada uma das fases, realizou-se a análise de variância com o Teste F para testar os demais tempos contra o tempo T_0 na Fase I e para a Fase II, após observada a diferença através do Teste F, foi realizado o Teste t de Student para comparação conjunta entre os tempos.

Para comparar os escores de Enterobactérias e a concentração de CSV, nos diversos tempos, utilizou-se o Teste de Kruskal-Wallis. Nos casos em que apenas dois escores foram encontrados, foi utilizado o Teste T para duas amostras independentes.

5. RESULTADOS

5.1 Avaliação da correlação entre habilidade manual e análise visual de biofilme

Os valores encontrados permitiram agrupar os resultados em três grupos: 7 voluntários sem biofilme visível (escore 0), 9 voluntários com pouco biofilme visível (escore 1) e 3 com muito biofilme visível (escore 2). Além dessa classificação, os voluntários puderam ser alocados em dois grupos, relativos à habilidade e destreza manual, verificando-se que havia 6 pacientes sem habilidade e 13 considerados com habilidade.

Tabela 3: Associação entre escores da análise visual de biofilme e habilidade manual dos voluntários

Análise Visual	Habilidade	
Índice de Biofilme	sem	com
0	1	6
1	2	7
2	3	0

Contingência Tau de Kendall ($p=0,027$)

Utilizando Teste para dados ordinais em tabelas de contingência (Tau de Kendall) observa-se um p-valor de 0,027, indicando que existe associação entre as variáveis. Além disso, através da análise visual da tabela 3 é possível observar que há um aumento do escore de biofilme quando se consideram os voluntários sem habilidade em relação aos com habilidade.

5.2 Análise da concentração de CSV

A tabela 4 e a figura 7 apresentam as médias originais da concentração de CSV para cada tempo, nas Fases I e II.

Tabela 4: Médias e desvios padrão (n=19) da concentração de CSV (ppb) em função dos tempos para as Fases I e II.

Tempos	Fase I	Fase II
	Media (Desvio padrão)	Media (Desvio padrão)
0	77,19 (85,18)	...
1	87,58 (61,10)	62,70 (30,52)
2	67,74 (22,11)	70,3 (18,21)
3	70,23 (25,47)	72,53 (53,36)

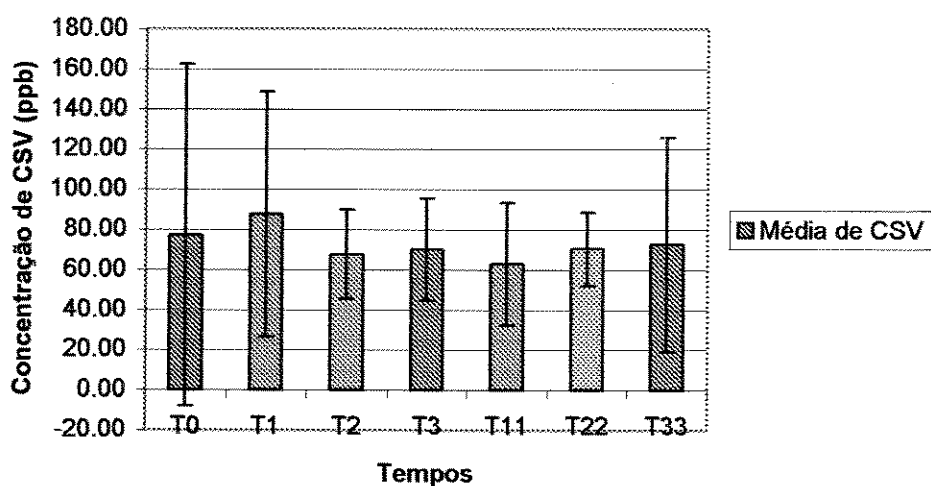


Figura 7: Gráfico das médias e desvios padrão da concentração de CSV para cada tempo, nas Fases I e II.

Como não foi observada a normalidade dos dados, a análise estatística foi realizada utilizando-se o Teste de ordens assinaladas de Wilcoxon e para a comparação conjunta dos tempos foi utilizado o Teste de Friedman tanto para Fase I quanto para a Fase II (tabela 5).

Tabela 5: Medianas (n=19) da concentração de CSV (ppb) em função dos tempos para Fase I e II.

Tempos	Fase I	Fase II
	Mediana	Mediana
0	57,0 a ∇	...
1	64,0 b *	55,00 B ∞
2	69,0 ab ∇*	64,67 A #
3	67,3 ab ∇*	53,67 B ∞#

*Medianas seguidas de letras distintas diferem entre si pelo *Teste de ordens assinaladas de Wilcoxon*, ao nível de 5% de significância. Medianas seguidas de símbolos distintos diferem entre si pelo *Teste de Friedman*, ao nível de 5% de significância.

De acordo com a tabela 5, avaliando os tempos isoladamente, foram encontradas diferenças significativas ($p < 5\%$) apenas quando se comparou T_1 da Fase I em relação ao tempo inicial (T_0) e na Fase II a diferença foi observada entre $T_{1.1}$ e $T_{2.2}$; e $T_{2.2}$ e $T_{3.3}$.

Para a avaliação considerando os tempos conjuntamente, na Fase I observa-se diferença significativa apenas para o T_1 ($p=0,03$) quando comparado ao tempo T_0 , enquanto que na Fase II, pode-se observar diferença apenas entre os tempos T_1 e T_2 ($p=0,008$).

A variável concentração de CSV apresentou um aumento significativo do tempo T_0 para o tempo T_1 , na Fase I e do tempo $T_{1.1}$ para o tempo $T_{2.2}$, entretanto não foram encontradas diferenças significativas entre os demais pares de tempos.

Comparação entre o tempo T_0 e o $T_{3.3}$

Ao realizar a comparação entre a tempo inicial (T_0) e o tempo final do trabalho em que a nova prótese estava instalada há 90 dias, foi verificado que não há diferença significativa no valor da concentração de CSV pelo *Teste de ordens assinaladas de Wilcoxon*, superior ao nível de significância (5%), como pode ser observado na tabela 6.

Tabela 6: Medianas (n=19) da concentração de CSV (ppb) em comparação do tempo T_0 com o tempo T_{33}

Tempos	Mediana
T_0	57,00 a
T_{33}	53,67 a

*Medianas seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo *Teste de ordens assinaladas de Wilcoxon*, ao nível de 5% de significância.

A análise visual da Figura 8 possibilita a confirmação do teste, observando a correlação positiva detectada pela Correlação de Spearman, ressaltando que a maioria dos voluntários apresentou pouca variação entre os dois tempos.

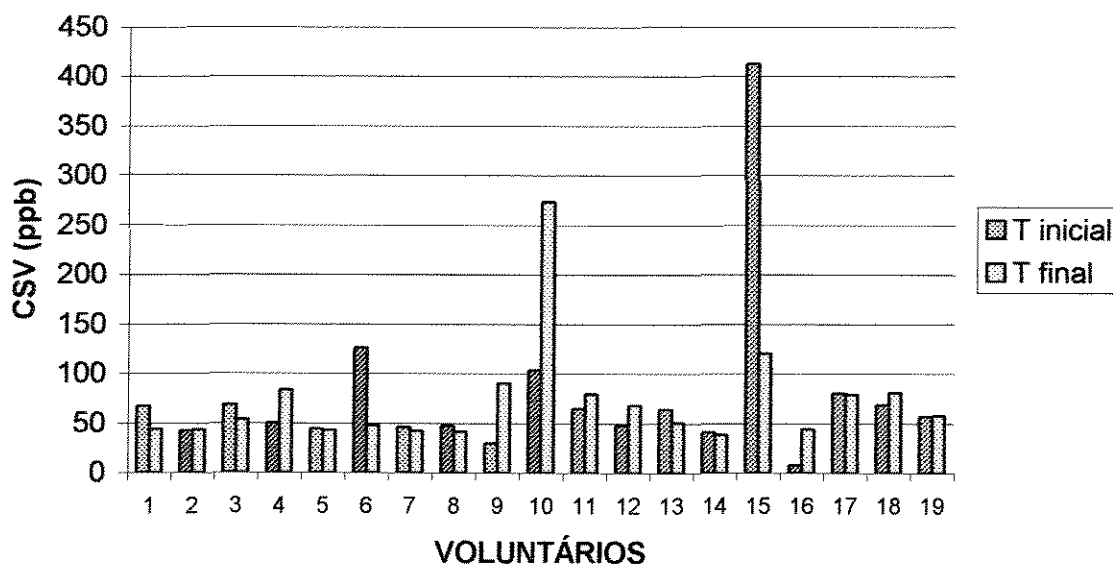


Figura 8: Valores da concentração de CSV nos tempos T_0 e $T_{3.3}$ ($p=0,024$).

5.3 Análise microbiológica

Análise da concentração de microrganismos crescidos em aerobiose

A tabela 7 apresenta as médias e os desvios padrão da concentração de microrganismos crescidos em aerobiose para cada tempo, nas Fases I e II.

Tabela 7: Médias originais e desvios padrão (n = 19) de UFC/mL de microrganismos crescidos em aerobiose em função dos tempos, nas Fases I e II.

Tempos	Fase I	Fase II
	Média/Desvio Padrão (10^6)	Media/Desvio Padrão (10^6)
0	3,34 (3,61) a	...
1	2,22 (3,44) a	0,14 (0,35) C
2	2,92 (3,92) a	1,12 (2,13) B
3	4,24 (5,24) a	2,74 (4,98) A

*Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo *Teste T pareado*, ao nível de 5% de significância.

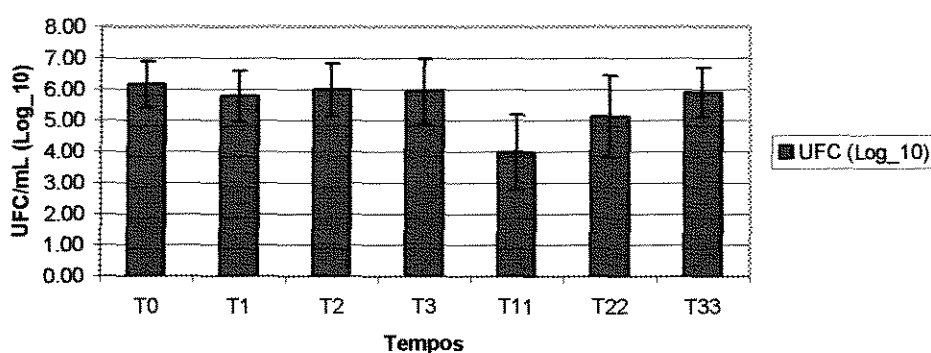


Figura 9: Médias e desvios padrão dos valores transformados de UFC/mL de microrganismos crescidos em aerobiose em função dos tempos nas Fases I e II.

Para a variável concentração de microrganismos crescidos em aerobiose, na Fase I, não foram encontradas diferenças entre os tempos T_1 , T_2 e T_3 em relação ao tempo T_0 e o mesmo resultado observa-se quando são comparados os outros tempos entre si (T_1 vs T_2 , T_1 vs T_3 e T_2 vs T_3), ao nível de 5% de significância.

Considerando-se os tempos da Fase I conjuntamente, realizou-se a análise de variância com o Teste F. A análise dos dados transformados fornece a tabela de análise de variâncias (tabela 8), não mostrando também diferenças significativas entre os tempos, pois o p-valor do Teste F foi de 0,479, bem acima do valor normativo 5%.

Tabela 8: Resultado da Análise de Variância para a concentração de microrganismos crescidos em aerobiose em função dos tempos na Fase I.

Causa de Variação	G.L.	Somas de Quadrados	Quadrados Médios	Valor de F	p-valor
Voluntários (Blocos)	18	35,377	17,689	22,328	
Grupos (tempos)	2	39,905	2,217	0,837	0,479
Resíduo	36	28,520	0,792		
Total	75				

Considerando-se os tempos da Fase II conjuntamente, a análise de variância (tabela 9) mostrou diferenças entre os tempos e para compará-las foi realizado o Teste t de Student, obtendo os mesmos resultados estatísticos resultantes do Teste T pareado (Tabela 7).

Tabela 9: Resultado da Análise de Variância para a concentração de microrganismos crescidos em aerobiose em função dos tempos na Fase II.

Causa de Variação	G.L.	Somas de Quadrados	Quadrados Médios	Valor de F	p-valor
Voluntários (Blocos)	18	26,672	1,487	2,839	0,000
Grupos (tempos)	3	1,316	0,439	2,798	0,004
Resíduo	54	28,280	0,524		
Total	56				

Análise dos escores de Enterobactérias

A tabela 10 apresenta os escores de Enterobactérias em função dos tempos nas Fases I e II, relacionada com o número de voluntários.

Tabela 10: Escore de Enterobactérias (número de voluntários), em função do tempo, nas Fases I e II

Escore	Fase I					Fase II	
	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₁₁	T ₂₂	T ₃₃
0	15	11	17	17	16	14	15
1	4	7	2	2	0	3	2
2	0	1	0	0	3	2	2
Total	19	19	19	19	19	19	19

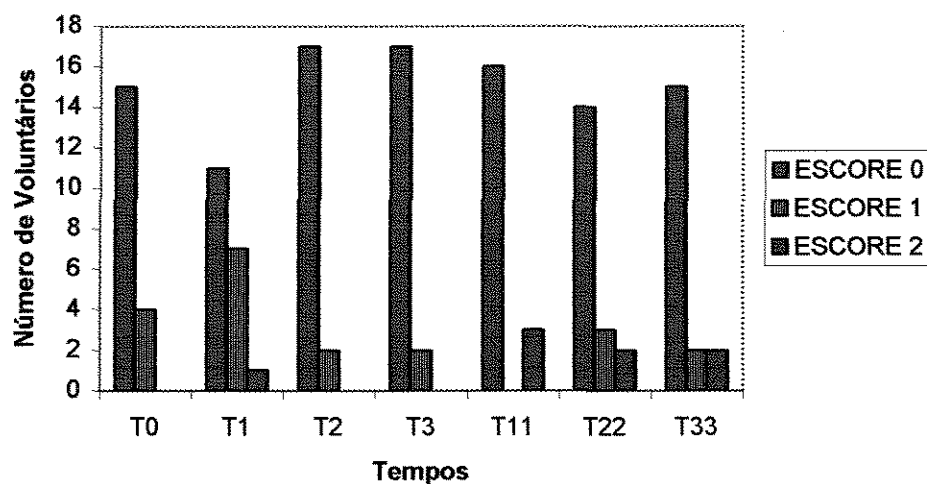


Figura 10: Escores de Enterobactérias em função dos tempos nas Fases I e II.

❖ *Comparação entre os escores de Enterobactérias e a concentração de microrganismos crescidos em aerobiose*

Os escores de Enterobactérias, verificando se existiam diferenças, em cada tempo da Fase I, foram comparados através do Teste T para duas amostras independentes, apresentados na tabela 11, sobressaindo a não significância dos escores na diferenciação da quantidade de microorganismos totais.

Tabela 11: Diferenças entre a concentração de microorganismos totais (UFC/mL) e o escore de Enterobactérias em função dos tempos na Fase I.

Escore de Enterobactérias	T0	T1	T2	T3
Análise de Variância (Teste F)	0,538	1,230	0,172	0,429
	0,473	0,319	0,683	0,521

Nas comparações, levando em conta o escore de Enterobactérias em cada tempo da Fase II não foram encontradas diferenças entre os valores da contagem de microorganismos

crescidos em aerobiose e o escore Enterobactérias em nenhum dos tempos, como pode-se observar na tabela 12, utilizando a Análise de Variância.

Tabela 12: Diferença entre a concentração de microorganismos totais (UFC/mL) e o escore de Enterobactérias em função dos tempos na Fase II.

	T1	T2	T3
Estatística de Kruskal-Wallis	0,613	0,999	0,498
p-valor	0,487	0,607	0,779

❖ *Comparação entre os escores de Enterobactérias e a Concentração de CSV*

Para a Fase I, a comparação entre os escores de Enterobactérias e a Concentração de CSV, nos diversos tempos, foi realizada através do Teste de Kruskal-Wallis. Não foram detectadas diferenças entre a concentração de CSV e escore de Enterobactérias, como pode ser observada na tabela 13.

Tabela 13: Diferenças entre a concentração de CSV (ppb) e o escore de Enterobactérias em função dos tempos na Fase I.

Escore de Enterobactérias	T0	T1	T2	T3
Kruskal-Wallis	0,010	1,357	0,442	0,282
p-valor	0,920	0,507	0,506	0,595

Comparação entre tempo T_0 e o $T_{3,3}$

Na comparação entre o tempo $T_{3,3}$ e o tempo T_0 , pode-se observar que a comparação entre os valores transformados da contagem de microrganismos crescidos em aerobiose, considerando o Teste de ordens assinaladas de Wilcoxon, existe uma correlação positiva.

Tabela 14: Médias e desvios padrão (n=19) dos valores transformados (Log₁₀) da contagem de microrganismos crescidos em aerobiose (UFC/mL) comparando o tempo T_0 com o tempo T_{33}

Tempo	Média/Desvio padrão
T_0	6,15 (0,75) a
T_{33}	5,89 (0,79) a

*Medianas seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo *Teste de ordens assinaladas de Wilcoxon*, ao nível de 5% de significância.

6. DISCUSSÃO

A continuidade anatômica entre o pulmão e a cavidade bucal faz com que esta se torne o reservatório potencial de patógenos respiratórios, conforme estudos recentes realizados por MONJON (2002). Segundo o autor, o fator principal que relaciona a infecção pulmonar aos microrganismos da boca, é a higiene bucal deficiente, que pode resultar na alta concentração de patógenos na saliva, e no biofilme aderido aos dentes e à prótese como um reservatório patogênico incluindo, a *Klebsiella*.

Levando-se em conta que a higiene da prótese inadequada é inversamente proporcional à quantidade de bactérias nas mesmas (BLAIR *et al.*, 1995) e que a pneumonia é mais comum em idosos e que estes pacientes freqüentemente apresentam co-morbidade, fatores de risco como deficiência nutricional, doenças sistêmicas crônicas e dificuldades para cuidar da sua própria higiene, existe uma necessidade real de atentar para a higienização de dentes e próteses de pacientes idosos, principalmente os mais incapacitados (MacENTEE, 1994; SHAY, 1994; RUSSEL *et al.*, 1999).

PIETROVSKI *et al.*, em 1995, já ressaltavam que os pacientes institucionalizados apresentavam um percentual maior de deficiência na higienização, principalmente devido ao pouco entendimento sobre as necessidades de higiene bucal, especialmente os portadores de próteses. Esta deficiência foi demonstrada tanto pelos próprios pacientes e familiares, quanto pelas enfermeiras uma vez que, apesar de 96% dos pacientes relatarem que escovavam suas próteses e a boca pelo menos duas vezes ao dia, a maioria apresentava próteses mal higienizadas. BUDTZ-JORGENSEN *et al.*, em 2000, relataram a dificuldade de instituir programas de higiene bucal em asilos, principalmente devido à falta de colaboração de cuidadores, enfermeiros e, muitas vezes, das diretorias dos asilos, o que

reforça a necessidade da criação de um produto prático, rápido e eficiente na remoção da biofilme aderido às próteses e, conseqüentemente, reduzindo a halitose e os riscos de infecções oportunistas.

Considerando estas características, torna-se falho comparar estudos realizados em pacientes de Clínicas Odontológicas das Faculdades com aqueles realizados com pacientes institucionalizados. Na maioria dos trabalhos em que é feita a associação de escovação ao uso de limpadores, não foi levantada a capacidade manual dos mesmos em realizá-las, bem como os seus conhecimentos quanto à higienização de próteses (BUDTZ-JORGENSEN, 1977; DILLS *et al.*, 1988; CHAN *et al.*, 1991; ÖDMAN, 1992; KULAK *et al.*, 1997; PARANHOS *et al.*, 2000). Muitas vezes estes estudos foram realizados utilizando uma faixa etária bastante ampla, não atingindo exclusivamente os idosos, o que pode interferir tanto na capacidade manual, quanto na acuidade visual e nas exigências estéticas que fazem para si mesmos.

A escolha de idosos institucionalizados como voluntários desta pesquisa permitiu que estas variáveis detectadas nos estudos anteriores fossem, pelo menos, diminuídas. Foi possível manter uma reduzida diferença entre as idades máxima e mínima (86 e 62, respectivamente), o convívio limitado dentro do asilo, a ausência de outros profissionais da área da odontologia que pudesse interferir nas técnicas de higienização dos pacientes diminuíram as variações durante a pesquisa, além de permitir uma relativa padronização da alimentação, a utilização de um mesmo local para a coleta dos dados e, como os limpadores foram administrados pelo pesquisador em todos os períodos do trabalho, foi possível garantir que todos os procedimentos indicados pelo fabricante eram rigorosamente seguidos.

Algumas limitações, entretanto, também foram observadas como o número reduzido de pacientes habilitados a participar da pesquisa e a mortalidade entre os voluntários, dados compatíveis com BUDTZ-JORGENSEN *et al.*, 2000.

Os resultados encontrados mostraram que, com o uso contínuo do Polident 5 minutes[®], não houve redução estatisticamente significativa de microrganismos em nenhum dos tempos da Fase I, comparando o tempo inicial (T₀) com os demais, bem como não houve diferença quando comparados os tempos entre si, sugerindo que o produto não apresentou a eficácia informada pelo fabricante quanto à remoção de microrganismos em próteses antigas, resultados que vão de acordo com os estudos de AUGSBURGER *et al.*, 1982; GHALICHEBAF *et al.*, 1982; MOORE *et al.*, 1984; KENG & LIM, em 1996.

Estudos como o de MINAGI *et al.*, em 1987; DILLS *et al.*, em 1988, e de CHAN *et al.*, em 1991, que observaram eficácia dos limpadores em remover microrganismos, devem ser analisados cuidadosamente, pois a freqüente alteração na fórmula dos produtos da mesma marca tem sido um fator que impossibilita a comparação efetiva entre as pesquisas realizadas nesta área (McCABE *et al.*, 1995).

Durante a pesquisa realizada por MINAGI *et al.*, em 1987, o Polident[®] foi um produto enzimático cujo resultado do estudo apresentou eficácia na imersão por 20 minutos. Mesmo nos estudo em que os resultados foram semelhantes a este, podemos notar alterações da formulação como no caso do estudo realizado por MOORE *et al.*, em 1984, que não obteve resultados satisfatórios com o Polident[®] quanto à capacidade de impedir o crescimento e/ou destruir *Candida albicans*, entretanto um dos fatores que os autores consideraram relevante foi a ausência do Lauril Sulfato de Sódio nos produtos que

apresentaram menor eficácia. Porém, de acordo com as informações do fabricante, o Polident 5 minutes[®], produto analisado nesta pesquisa, já apresenta a incorporação deste eficiente detergente, que é capaz de solubilizar proteínas.

GORNITSKY *et al.*, em 2002, também realizaram um estudo em pacientes geriátricos institucionalizados e observaram eficácia do Polident[®] na redução de microrganismos, entretanto, o produto em questão foi uma variação do Polident[®] denominada OVERNIGHT, em que a prótese deve ficar imersa durante toda a noite e, segundo informações do fabricante, um componente especial é adicionado a este produto, uma enzima proteolítica denominada *everlace* o que vai ao encontro com os primeiros estudos realizados por BUDTZ-JORGENSEN, em 1978 e em 1979, que afirmava ser indispensável a imersão das próteses por um tempo superior a 30 minutos, entretanto, em 1977, BUDTZ-JORGENSEN & KELSTRUP já ressaltavam a grande resistência dos pacientes em fazer a imersão noturna das próteses, fato também encontrado com grande frequência entre a população portadora de prótese total no Brasil.

Assim como nos estudos de BUDTZ-JORGENSEN, em 1977, e BUDTZ-JORGENSEN & KNUDSEN, em 1978, os resultados da contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) desta pesquisa comprovaram a neoformação de biofilme, semelhante ao que ocorre com o biofilme dental (NEILL, 1968), uma vez que próteses novas esterilizadas foram re-colonizadas progressivamente até chegar a percentuais semelhantes aos das próteses antigas, em um intervalo de apenas 90 dias, com uso contínuo e diário do Polident 5 minutes[®].

Os percentuais de colonização por enterobactérias (índice de colônias superior a 1% do total de UFC em ágar sangue) neste estudo foram de no máximo 5%, concordando com os resultados encontrados por MARSH *et al.*, em 1992 e BLAIR *et al.*, em 1995. Os valores encontrados por GOLDBERG *et al.*, 1997, são muito superiores ao deste estudo (48% dos voluntários desdentados) e dos demais.

Também diferente dos resultados encontrados por GOLDBERG *et al.*, 1997, não foi observada uma correlação entre a concentração de CSV e o escore de enterobactérias, tanto na Fase I quanto na Fase II. Esta diferença nos resultados pode estar associada ao uso do Halimeter, que tem se apresentado incapaz de detectar a presença da cadaverina, que possivelmente representam os valores mais significantes da halitose dos portadores de prótese total (GOLDBERG *et al.*, 1994; DE BOEVER & LOESCHE, 1995; QUIRYNEN *et al.*, 1998; WILLIS *et al.*, 1999).

Analisando a concentração de CSV, observa-se um aumento significativo dos Compostos Sulfurados quando o tempo inicial (T_0) é comparado com o T_1 e no $T_{2,2}$, quando comparado ao $T_{1,1}$, diferindo do esperado. Estes aumentos podem estar associados à substituição por parte de alguns pacientes da técnica da escovação pelo uso exclusivo do limpador de prótese, e que posteriormente retornaram ao hábito anterior, uma vez que não foram detectadas diferenças estatisticamente significativas quando o T_0 foi comparado com os demais tempos ou fatores externos ao uso do limpador como alterações da alimentação.

Apesar da dificuldade de higienização das próteses apresentadas pelos voluntários, o nível de CSV mostrou-se, na maioria dos casos, abaixo dos valores considerados como Halitose. Este fato pode estar diretamente associado aos critérios

utilizados para a seleção dos voluntários, em que foi fundamental a ausência de saburra lingual, fator de maior representatividade na presença de mau hálito (SPIELMAN *et al.*, 1996), bem como a inespecificidade do Halímetro em detectar a presença da Cadaverina.

7. CONCLUSÕES

Diante da análise dos resultados pode-se concluir que:

- 1) Existe uma correlação entre a habilidade manual dos voluntários e a análise visual do biofilme da superfície interna das próteses, de forma que quanto menor a habilidade do paciente, maior o índice de biofilme aderido à prótese.
- 2) O limpador de prótese não foi eficiente na remoção de microrganismos crescidos em aerobiose ou de enterobactérias nas próteses antigas nem foi capaz de impedir a neocolonização bacteriana das próteses novas no período de 90 dias.
- 3) O uso contínuo do limpador não foi eficiente na redução dos níveis de CSV dos pacientes utilizando as próteses antigas bem como não foi capaz de reduzi-lo quando da instalação de próteses novas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

- Abelson DC. Denture plaque and denture cleansers. *J Prosthet Dent*. 1981, Apr; 45(4): 376-9.
- Abelson DC. Denture plaque and denture cleansers: review of the literature. *Gerodontology*. 1985, Oct; 1(5):202-6.
- Augsburger RH & Elahi JM. Evaluation of seven proprietary denture cleansers. *J Prosthet Dent*. 1982, Apr; 47(4): 356-9.
- Ayers KMS & Colquhoun ANK. Halitosis: causes, diagnosis, and treatment. *N Z Dent J*. 1998, Dec; 94(418): 156-60.
- Blair Y, Bagg J, Macfarlane TW, Chestnutt I. Microbiological assessment of denture hygiene among patients in longstay and daycare community places. *Community Dent Oral Epidemiol*. 1995, Apr; 23(2): 100-3.
- Bosy A, Kulkarni GV, Rosenberg M, McCulloch CAGJ. Relationship of oral malodor to periodontitis: evidence of independence in discrete subpopulations. *Periodontol*. 1994, Jan; 65(1): 37-46.
- Budtz-Jørgensen E & Kelstrup J. Enzymes as denture cleansers. *Scand J Dent Res*. 1977, Mar; 85(3): 209-15.
- Budtz-Jørgensen E. Prevention of denture plaque formation by an enzyme denture cleanser. *Jour Biol Buccale*. 1977, Sep; 5(3): 239-44.
- Budtz-Jørgensen E. A 3-months' study of enzymes as denture cleansers. *J Oral Rehabil*. 1978, Jan; 5(1): 35-9.
- Budtz-Jørgensen E. & Knudsen AM. Chlorhexidine gel and Steraent employed in cleaning dentures. *Acta Odontol Scand*. 1978, 36(2): 83-7.
- Budtz-Jørgensen E. Materials and methods for cleaning dentures. *J Prosthet Dent*. 1979, Dec; 42(6): 619-23.
- Budtz-Jørgensen E, Kelstrup J, Poulsen S. Reduction of formation of denture plaque by a Protease (Alcalase). *Acta Odontol Scand*. 1983, 41(2): 93-8.

* De acordo com as normas Vancouver elaborado pelo Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas (ICMJE) baseado no padrão ANSI, adaptado pela U.S. National Library of Medicine –1997.

- Budtz-Jørgensen E, Monjon E, Rentsch A, Deslauriers N. Effects of an oral health program occurrence of oral candidosis in a long-term care facility. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2000, Apr; 28 (2): 141-9.
- Chan ECS, Iugovaz I, Siboo R, Bilyk M, Barolet R, Amsel R, Wooley C, Klitorinos A. Comparison of two popular methods for removal and killing of bacteria from dentures. *Scientific Journal.* 1991, Dec; 57(12): 937-9.
- DE Boever EH & Loesche WJ. Assessing the contribution of anaerobic microflora of the tongue to oral malodor. *J Am Dent Assoc.* 1995, Oct; 126(10): 1384-93.
- Dills SS, Olshan AM, Goldner S, Brogdon C. Comparison of the antimicrobial capability of an abrasive paste and chemical-soak denture cleaners. *J Prosthet Dent.* 1988, Oct; 60(4): 467-70.
- Ghalichebaf M, Grasser GN, Zander HA. The efficacy of denture-cleansing agents. *J Prosthet Dent.* 1982, Nov; 48(5): 515-20.
- Goldberg S, Kozlovsky A, Gotdon D, Sintov A, Rosenberg M. Cadaverine as a putative component of oral malodor. *J Dent Res.* 1994, June 73(6): 1168-72.
- Goldberg S, Cardash H, Browning III H, Sahly, H, Rosenberg M. Isolation of enterobacteriaceae from the mouth and potential association with bad breath. *J Dent Res.* 1997, Nov. 76(11): 1770-5.
- Gornitsky M, Paradis I, Landaverde G, Malo AM, VELLY AM. A clinical and microbiological evaluation of denture cleansers for geriatric patients in long term-care institutions. *J Can Dent Assoc.* 2002, Jan. 68(1): 39-45.
- Hada M, Watanabe H, Kohada A, Tsunoda T, Yano N, Minagi S, Akagawa Y, Nagasawa T, Tsuru H. A study of the effectiveness of denture cleanser on human breath. *J Jpn Prosthodont Soc.* 1990, June 34(3): 438-41.
- Keng SB & Lim M. Denture plaque distribution and the effectiveness of a perborate-containing denture cleanser. *Quintessence Int.* 1996, May 27(5): 341-5.
- Kulak Y, Arikan A, Albak S, Okar I, Kazazoglu E. Scanning electron microscopic examination of different cleaners: surface contaminant removal from dentures. *J Oral Rehabil.* 1997, Sep. 24(3): 209-15.

- Kulak-Ozkan Y, Kazazoglu E & Arikan A. Oral hygiene habits, denture cleanliness, presence of yeasts and stomatitis in elderly people. J Oral Rehabil. 2002, Mar. 29(3): 300-4.
- Loesche WJ. Ecologia da Flora Oral In: Microbiologia Oral e Imunologia. NISENGARD, R.J., NEWMAN, M.G., autores. 2^a. edição, p. 308, Rio de Janeiro: editora Guanabara Koogan. 395p. 1997.
- Loesche W & Kazor C. Microbiology and treatment of halitosis. Periodontol 2000, 2002, 28: 256-79.
- MacEntee MI. Clinical epidemiologic concerns and the geriatric prosthodontic patient. J Prosthet Dent. 1994, Nov. 72(5): 487-91.
- Marsh PD, Percival RS & Challacombe SJ. The influence of denture-wearing and age on the microflora. J Dent Res. 1992, July, 71(7): 1374-81.
- McCabe JF, Murray ID & Kelly PJ. The efficacy of denture cleansers. Eur J Prosthodont Restor Dent. 1995, Sep. 3(4): 203-7.
- McNamara TF, Alexander JF, Lee M, Plains M. The role of microorganisms in the production of oral malodor. Oral Surg. 1972, July. 34(1): 41-8.
- Minagi S, Tsunoda T, Yoshida K, Tsuru H. Objective testing of the efficiency of denture-cleansing agents. J Prosthet Dent. 1987, Nov. 58(5): 595-8.
- Mojon P. Oral health and respiratory infection. J Can Dent Assoc. 2002, June. 68(6): 340-5.
- Moore TC, Smith DE & Kenny GE. Sanitization of dentures by several denture hygiene methods. J Prosthet Dent. 1984, Aug. 52(2): 158-63.
- Nakamoto K, Tamamoto M. & Hamada T. Evaluation of denture cleansers with and without enzymes against *Candida albicans*. J Prosthet Dent. 1991, Dec. 66 (6): 792-5.
- Neill DJ. A study of materials and methods employed in cleaning dentures. Br Dent J. 1968, Feb. 124(3):107-15.
- Nikawa H, Hamada T & Yamamoto T. Denture plaque - past and recent concerns. J Dent. 1998, May. 26(4): 299-304.
- Ödman PA. The effectiveness of an enzyme-containing denture cleanser. Quintessence Int. 1992, Mar. 23(3): 187-90.

- Paranhos HFO, Panzeri H, Lara EHG, Candido RC, Ito IY. Capacity of denture plaque/biofilm removal and antimicrobial action of a new denture paste. *Braz Dent J*. 2000, 11(2): 97-104.
- Pietrokovski J, Azuelos J, Tau S, Mostavoy R. Oral findings in elderly nursing home residents in selected countries: oral hygiene conditions and plaque accumulation on denture surfaces. *J Prosthet Dent*. 1995, Feb. 73(2): 136-41.
- Polyzois GL. Denture cleansing habits. A survey. *Aust Dent Journal*. 1983, June. 28(3): 171-3.
- Quirynen M, Mangardini C & van Streenberghe D. The effect of a 1-stage full-mouth disinfection on oral malodor and microbial colonization of the tongue in periodontitis patients. A pilot study. *J Periodontol*. 1998, Mar. 69(3): 374-82.
- Rosenberg M, Kulkarni GV, Bosy, A, McCulloch, CAG. Reproducibility and sensitivity of oral malodor measurements with a portable sulphide monitor. *J Dent Res*. 1991, Nov. 70(11): 1436-40.
- Rosenberg M & McCulloch CAG. Measurement of oral malodor: current methods and future prospects. *J Periodontol*. 1992 Sep. 63(9): 776-82.
- Rosenberg, M. Clinical assessment of bad breath. Current concepts. *J Am Dent Assoc*. 1996, Apr. 127(4): 475-82.
- Russel SL, Boylan RJ, Kaslick RS, Scannapieco FA, Katz RV. Respiratory pathogen colonization of the dental plaque of institutionalized elders. *Spec Care Dent*. 1999, May-June. 19(3): 128-34.
- Schmitd NF, Missant SR, Tarbet WJ, Cooper AD. The correlation between organoleptic mouth-odor ratings and levels of volatile sulfur compounds. *Oral Surg*. 1978, Apr. 45(4): 560-7.
- Sesma N, Takada S K, Laganá DC, Jarger RG, Azambuja JR. Eficiência de métodos caseiros de higienização e limpeza de próteses parciais removíveis. *Rev Assoc Paul Cir Dent São Paulo*. 1999, nov/dez. 53(6): 463-8.
- Shay K. Dental management considerations for institutionalized geriatric patients. *J Prosthet Dent*. 1994, Nov. 72(5): 510-6.

Solis-Gaffar MC, Niles HP, Rainieri WC, Kestenbaum RC. Instrumental evaluation of mouth odor in a human clinical study. J Dent Res. 1975, Mar-Apr. 54(2): 351-7.

Spielman AI, Bivona P & Rifkin BR. Halitosis – A common oral problem. N Y State J. 1996, Dec. 62(10): 36-42.

Tonzetich J & NG SK. Reduction of malodor by oral cleansing procedures. Oral Surg, v. 42, n. 2, p.172-181, Aug., 1976.

Tonzetich J. Production and origin of oral malodor: a review of mechanisms and methods of analysis. Periodontol. 1977, Jan; 48(1): 13-20.

Willis CL, Gibson GR, Holt J, Allison C. Negative correlation between oral malodour and numbers and activities of sulphate-reducing bacteria in the human mouth. Arch Oral Bilology. 1999, Aug; 44(8): 665-70.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

BRANDÃO L. INDEX ABC – Ingredientes para a indústria de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes. 2^a. edição, São Paulo: editora RSC.1070p. 2000.

BRASIL Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Anuário Estatístico do Brasil. Rio de Janeiro: IBGE, 1995.

ANEXO I

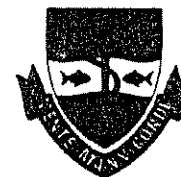
Nome :		Nº :	
Data Nasc: / /	Sexo : ☐ Feminino ☐ Masculino	Est. Civil :	
Profissão:	Consciência:	Chegada no Lar	
Início Tratamento :		Término Tratamento :	
Sensib. Anestésico :		Sensib. Antibiótico :	
Dentes - Cor :	Escala :	Formato :	

FICHA DE ANAMNESE DO PACIENTE

1. Como é seu estado geral de saúde? ☐ Ótimo ☐ Bom ☐ Regular ☐ Ruim
2. Já teve algum problema no dentista? ☐ Sim ☐ Não
3. Fuma? ☐ Sim ☐ Não Quantos cigarros por dia?
4. Bebe? ☐ Sim ☐ Não
5. Está sob tratamento médico ou tomando alguma medicação?
Quais? _____
6. Tem alergia a algum remédio? Ou a alguma substância?
Quais? _____
7. Tem algum problema de hipertensão ou hipotensão? Alguém na família? ☐ Sim ☐ Não
8. Problemas de coração? Alguém na família? ☐ Sim ☐ Não
9. Já teve hemorragia ou dificuldade de cicatrização de alguma ferida? ☐ Sim ☐ Não
10. Asma/sinusite/rinite? ☐ Sim ☐ Não
11. Dores de cabeça freqüentes, desmaios ou convulsões? ☐ Sim ☐ Não
12. Diabetes? Alguém na família? ☐ Sim ☐ Não
13. Hepatite? Alguém na família? ☐ Sim ☐ Não
14. Câncer? Alguém na família? ☐ Sim ☐ Não
15. Úlcera, gastrite? ☐ Sim ☐ Não
16. Problemas renais? Alguém na família? ☐ Sim ☐ Não
17. Tuberculose? Alguém na família? ☐ Sim ☐ Não
18. Epilepsia? Alguém na família? ☐ Sim ☐ Não



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
CERTIFICADO

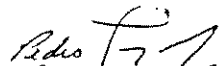


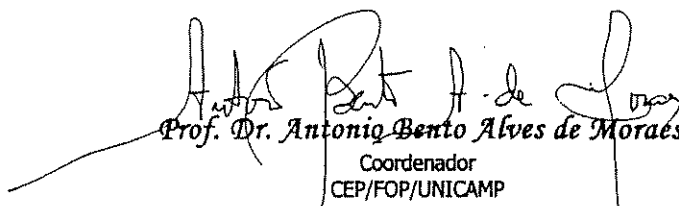
Certificamos que o Projeto de pesquisa intitulado "Efeito do limpador de prótese na halitose e microbiota de pacientes idosos institucionalizados portadores de prótese total", sob o protocolo nº **019/2001**, da Pesquisadora **Viviane Maia Barreto de Oliveira**, sob a responsabilidade da Profa. Dra. **Altair Antoninha Del Bel Cury**, está de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/MS, de 10/10/96, tendo sido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa – FOP.

Piracicaba, 27 de abril de 2001

We certify that the research project with title "Effect of denture cleaners on bad breath and oral flora of elderly nursing home residents complete denture user", protocol nº **019/2001**, by Researcher **Viviane Maia Barreto de Oliveira**, responsibility by Prof. Dr. **Altair Antoninha Del Bel Cury**, is in agreement with the Resolution 196/96 from National Committee of Health/Health Department (BR) and was approved by the Ethical Committee in Resarch at the Piracicaba Dentistry School/UNICAMP (State University of Campinas).

Piracicaba, SP, Brazil, April 27 2001


Prof. Dr. **Pedro Luiz Rosalen**
Secretário
CEP/FOP/UNICAMP


Prof. Dr. **Antonio Bento Alves de Moraes**
Coordenador
CEP/FOP/UNICAMP

ANEXO III

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da Pesquisa:

Efeito de um limpador para prótese contendo enzima na halitose e na microbiota bucal de pacientes idosos institucionalizados portadores de próteses totais.

Objetivo da Pesquisa:

Esta pesquisa tem o objetivo de analisar qual a ação dos limpadores de próteses para promover a limpeza das próteses, diminuindo a quantidade de bactérias e o mau hálito.

Procedimento:

Todos os exames serão executados no consultório odontológico do Lar Betel e durante os dias de coleta, você deverá estar em jejum para a análise da halitose e a coleta das bactérias.

Para fazer a análise do hálito você colocará um canudo plástico descartável na boca um pouco aberta e permanecerá assim durante 20 segundos; esta medida será feita três vezes seguida.

A coleta das bactérias será feita apenas na sua prótese, fora da boca, utilizando um cotonete, o que não causará nenhum problema ou desconforto.

A confecção de novas dentaduras será feita de acordo com a maneira convencional, a que você já está habituado.

Desconfortos e Riscos:

Não haverá nenhum tipo de desconforto ou risco para você.

Métodos Alternativos para determinação do mau hálito:

Para a coleta destes dados existem técnicas alternativas como o uso de outros aparelhos mais sofisticados, porém isso exigiria o seu deslocamento e a obtenção dos dados seria semelhante.

Acompanhamento e Garantia de esclarecimento:

Durante todo o tratamento, vocês serão acompanhados pelos pesquisadores, que estarão dispostos a esclarecer todas as dúvidas que possam surgir, além de acompanhar a sua saúde geral.

Ressarcimento e Formas de Indenização:

Não haverá nenhum custo adicional para você, nem durante a coleta de dados, nem durante a confecção das novas próteses que serão inteiramente gratuitas e confeccionadas da mesma forma que a de um paciente que não fizesse parte da pesquisa.

Garantia de sigilo:

Será garantido a você o sigilo e a privacidade das informações, não citando nomes ou fotografias que possa identificá-lo.

Liberdade para se recusar em participar da pesquisa:

A decisão de fazer parte desta pesquisa é voluntária. Você pode escolher se quer ou não participar, assim como poderá desistir de participar a qualquer momento. Se você decidir não participar da pesquisa, isso não afetará seu tratamento no Lar Betel.

Se você tiver alguma dúvida com relação a este estudo, poderá entrar em contato pessoalmente com a Profa. Altair ou com a Dra. Viviane ou telefonar para os telefones 430-5294 (Faculdade) ou 420-9264 (residência da Dra. Viviane)

SUA ASSINATURA INDICA QUE VOCÊ DECIDIU PARTICIPAR DA PESQUISA COMO VOLUNTÁRIO E QUE LEU E ENTENDEU TODAS AS INFORMAÇÕES ACIMA EXPLICADAS

Nome do paciente

Assinatura do paciente

Nome do Representante Legal

Assinatura do Representante Legal

Documento: _____

ATENÇÃO: A SUA PARTICIPAÇÃO EM QUALQUER TIPO DE PESQUISA É VOLUNTÁRIA. EM CASO DE DÚVIDA QUANTO AOS SEUS DIREITOS ESCREVA PARA O COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA FOP-UNICAMP.

Endereço: Av Limeira, 901 CEP – FOP, CEP 13.414-903 Piracicaba, SP

T0

VOLUNTÁRIO	ESCORE DE ENTEROBACTÉRIA	TOTAL DE UFC	MÉDIA DE CSV
1	0	$5,6 \cdot 10^6$	67
2	0	$8,0 \cdot 10^6$	42
3	0	$1,4 \cdot 10^7$	68
4	0	$7,1 \cdot 10^6$	50
5	1	$3,6 \cdot 10^6$	44
6	0	$2,2 \cdot 10^6$	126
7	0	$8,4 \cdot 10^4$	46
8	0	$2,5 \cdot 10^4$	47
9	0	$2,5 \cdot 10^6$	30
10	0	$2,1 \cdot 10^6$	103
11	0	$2,2 \cdot 10^5$	65
12	0	$1,1 \cdot 10^6$	48
13	1	$6,8 \cdot 10^6$	64
14	0	$1,2 \cdot 10^5$	41
15	0	$2,3 \cdot 10^6$	412
16	0	$5,9 \cdot 10^5$	8
17	0	$4,1 \cdot 10^6$	80
18	1	$6,0 \cdot 10^5$	69
19	1	$2,6 \cdot 10^6$	57
20			

T1

VOLUNTÁRIO	ESCORE DE ENTEROBACTÉRIA	TOTAL DE UFC	MÉDIA DE CSV
1	0	$2,2 \cdot 10^6$	83
2	0	$2,2 \cdot 10^4$	64
3	1	$1,1 \cdot 10^7$	80
4	0	$3,4 \cdot 10^6$	62
5	2	$3,0 \cdot 10^5$	60
6	0	$5,7 \cdot 10^4$	95
7	0	$2,3 \cdot 10^5$	47
8	1	$2,6 \cdot 10^5$	61
9	1	$7,7 \cdot 10^6$	112
10	0	$3,6 \cdot 10^5$	56
11	0	$1,9 \cdot 10^5$	69
12	1	$1,9 \cdot 10^6$	82
13	1	$99,8 \cdot 10^5$	55
14	0	$2,1 \cdot 10^4$	57
15	0	$1,6 \cdot 10^6$	98
16	1	$2,4 \cdot 10^5$	52
17	0	$3,4 \cdot 10^5$	115
18	0	$1,0 \cdot 10^7$	322
19	1	$1,3 \cdot 10^6$	61
20			

T2

VOLUNTÁRIO	ESCORE DE ENTEROBACTÉRIA	TOTAL DE UFC	MÉDIA DE CSV
1	0	$1,2 \cdot 10^6$	53
2	0	$2,9 \cdot 10^6$	46
3	1	$8,3 \cdot 10^6$	76
4	0	$2,3 \cdot 10^6$	81
5	1	$3,4 \cdot 10^5$	72
6	0	$9,3 \cdot 10^4$	64
7	0	$9,5 \cdot 10^3$	56
8	0	$1,0 \cdot 10^6$	69
9	0	$4,6 \cdot 10^5$	85
10	0	$9,5 \cdot 10^5$	83
11	0	$3,0 \cdot 10^6$	49
12	0	$1,4 \cdot 10^6$	77
13	0	$2,4 \cdot 10^6$	45
14	0	$1,7 \cdot 10^5$	45
15	0	$3,7 \cdot 10^6$	121
16	0	$1,1 \cdot 10^7$	32
17	0	$2,3 \cdot 10^6$	106
18	0	$2,5 \cdot 10^4$	69
19	0	$1,4 \cdot 10^7$	56
20			

T3

VOLUNTÁRIO	ESCORE DE ENTEROBACTÉRIA	TOTAL DE UFC	MÉDIA DE CSV
1	0	$9,8 \cdot 10^5$	54
2	0	$9,4 \cdot 10^6$	67
3	0	$4,9 \cdot 10^6$	46
4	0	$1,2 \cdot 10^7$	138
5	1	$1,7 \cdot 10^7$	74
6	0	$1,4 \cdot 10^5$	82
7	0	$6,0 \cdot 10^4$	52
8	0	$3,0 \cdot 10^4$	43
9	0	$1,8 \cdot 10^4$	92
10	0	$1,2 \cdot 10^7$	58
11	0	$8,1 \cdot 10^6$	75
12	0	$2,9 \cdot 10^4$	53
13	0	$5,2 \cdot 10^6$	41
14	0	$4,1 \cdot 10^4$	40
15	0	$2,3 \cdot 10^6$	82
16	0	$6,1 \cdot 10^6$	59
17	0	$21,5 \cdot 10^6$	99
18	0	$2,0 \cdot 10^5$	96
19	1	$3,6 \cdot 10^5$	49
20			

T1.1

VOLUNTÁRIO	ESCORE DE ENTEROBACTÉRIA	TOTAL DE UFC	MÉDIA DE CSV
1	0	$3,0 \cdot 10^2$	58
2	0	$25,0 \cdot 10^4$	48
3	0	$2,1 \cdot 10^3$	57
4	0	$1,9 \cdot 10^5$	158
5	2	$1,0 \cdot 10^3$	39
6	2	$1,0 \cdot 10^4$	53
7	0	$2,8 \cdot 10^2$	43
8	0	$1,4 \cdot 10^4$	52
9	0	$1,4 \cdot 10^6$	79
10	0	$5,2 \cdot 10^4$	67
11	0	$7,9 \cdot 10^4$	73
12	0	$5,1 \cdot 10^3$	56
13	0	$1,6 \cdot 10^3$	42
14	0	$6,3 \cdot 10^2$	46
15	0	$1,8 \cdot 10^4$	117
16	0	$7,0 \cdot 10^5$	20
17	2	$2,5 \cdot 10^3$	54
18	0	$1,3 \cdot 10^2$	75
19	0	$1,4 \cdot 10^3$	55
20			

T2.2

VOLUNTÁRIO	ESCORE DE ENTEROBACTÉRIA	TOTAL DE UFC	MÉDIA DE CSV
1	0	$1,4 \cdot 10^6$	55
2	1	$1,2 \cdot 10^6$	57
3	0	$7,6 \cdot 10^6$	59
4	1	$2,0 \cdot 10^4$	84
5	2	$1,3 \cdot 10^6$	65
6	0	$1,3 \cdot 10^6$	88
7	0	$2,6 \cdot 10^5$	50
8	0	$7,3 \cdot 10$	59
9	0	$1,1 \cdot 10^5$	90
10	0	$6,0 \cdot 10^5$	85
11	1	$1,9 \cdot 10^5$	79
12	0	$7,6 \cdot 10^3$	84
13	0	$1,7 \cdot 10^5$	51
14	0	$4,0 \cdot 10^3$	55
15	0	$2,1 \cdot 10^5$	109
16	0	$6,3 \cdot 10^6$	38
17	2	$5,5 \cdot 10^5$	83
18	0	$2,7 \cdot 10^4$	83
19	0	$5,8 \cdot 10^3$	65
20			

T3.3

VOLUNTÁRIO	ESCORE DE ENTEROBACTÉRIA	TOTAL DE UFC	MÉDIA DE CSV
1	0	$3,8 \cdot 10^6$	44
2	0	$9,7 \cdot 10^3$	43
3	0	$1,8 \cdot 10^7$	53
4	0	$1,3 \cdot 10^6$	83
5	1	$1,2 \cdot 10^6$	42
6	1	$6,7 \cdot 10^3$	48
7	0	$1,5 \cdot 10^4$	42
8	0	$2,9 \cdot 10^4$	41
9	2	$1,4 \cdot 10^4$	91
10	0	$2,3 \cdot 10^3$	273
11	0	$1,3 \cdot 10^6$	79
12	0	$3,4 \cdot 10^3$	68
13	0	$2,1 \cdot 10^6$	51
14	2	$1,2 \cdot 10^3$	38
15	0	$3,2 \cdot 10^6$	120
16	0	$1,5 \cdot 10^7$	44
17	0	$7,1 \cdot 10^3$	79
18	0	$1,9 \cdot 10^3$	81
19	0	$1,5 \cdot 10^6$	58
20			

Análise Visual da quantidade de biofilme antes do uso dos limpadores e avaliação da destreza manual dos voluntários

Voluntário	Escore	Destreza manual
01	1	sem habilidade
02	1	habilidade
03	0	habilidade
04	1	habilidade
05	2	sem habilidade
06	0	habilidade
07	0	habilidade
08	1	habilidade
09	1	habilidade
10	1	habilidade
11	0	habilidade
12	0	habilidade
13	0	sem habilidade
14	1	habilidade
15	2	sem habilidade
16	2	sem habilidade
17	1	habilidade
18	0	habilidade
19	1	sem habilidade
20	2	

RELATÓRIO ESTATÍSTICO

AValiação da Correlação entre Habilidade Manual e Quantidade de Biofilme

Os dados apresentados referem-se a três variáveis: concentração de CSV (para a análise da HALITOSE), concentração de microrganismos totais e a presença de Enterobacterias (PM) através da análise da microbiota oral.

Inicialmente os 19 voluntários foram divididos em três grupos de acordo com a análise visual da quantidade de biofilme existente na superfície interna das próteses: 7 voluntários sem biofilme visível (escore 0), 9 voluntários com pouco biofilme visível (escore 1) e 3 com muito biofilme visível (escore 2). Além desta classificação, os voluntários puderam ser divididos em dois grupos, relativos à habilidade e destreza manual, verificando-se que havia 6 pacientes sem habilidade (escore 0) e 13 considerados com habilidade (escore 1). A TABELA 1 mostra ambos os escores para os pacientes e a TABELA 2 o relacionamento existente entre estas duas classificações.

TABELA 1. Escores para Análise Visual e Habilidade

Voluntário	Análise Visual	Habilidade
1	1	0
2	1	1
3	0	1
4	1	1
5	2	0
6	0	1
7	0	1
8	1	1
9	1	1
10	1	1
11	0	1
12	0	1
13	0	0
14	1	1
15	2	0
16	2	0
17	1	1
18	0	1
19	1	0

É possível verificar se existe alguma relação entre as classificações feitas para Análise Visual e a Habilidade, através dos dados da TABELA 2, utilizando o teste para dados ordinais em tabelas de contingência (Tau de Kendall), proporcionando um p-valor de 0,027, indicando que existe associação entre as variáveis. Além disso, o coeficiente da correlação de Spearman (-0,496) informa que há um aumento do biofilme quando se consideram os voluntários sem habilidade em relação aos com habilidade. Esta verificação também pode ser feita visualmente constatando que na coluna referente aos voluntários sem habilidade (escore 0), há um aumento do percentual conforme aumenta o escore da análise visual e que o inverso ocorre na coluna referente aos pacientes considerados com habilidade (escore 1 para habilidade).

Coeficiente de Spearman (r_s) = -0,4956

t = -2,3527

(p) = 0,0309

TABELA 2. Tabulação Cruzada entre Análise Visual e Habilidade

Análise Visual	Habilidade		Total AV
	0	1	
0	1 (14,3%)	6 (85,7%)	7
1	2 (22,2%)	7 (77,8%)	9
2	3 (100,0%)	0 (0,0%)	3
Total Hab.	6	13	19

As demais variáveis em estudo serão analisadas separadamente. Para cada uma delas serão verificadas as condições para aplicação da análise paramétrica (normalidade, homogeneidade de variâncias e não presença de variáveis discrepantes - outliers).

Caso não seja possível a aplicação de testes paramétricos verificar-se-á a possibilidade de transformações para estabilização da variância e obtenção da proximidade para a distribuição normal. Caso não surtam efeitos desejados as transformações, os testes não-paramétricos serão utilizados. Ao final serão feitas algumas verificações unindo as informações obtidas para ambas.

VARIÁVEL CONCENTRAÇÃO DE CSV (HALITOSE)

FASE 1

As medidas obtidas para a halitose foram feitas em duas etapas. Na primeira, foram tomadas quatro medidas no tempo: medida inicial (T_0), aos sete dias (T_1), aos catorze dias (T_2) e aos 28 dias (T_3). Cada medida obtida é resultado da média de três medidas efetuadas no paciente. A TABELA 3 mostra as médias das medidas para os tempos considerados.

TABELA 3. Valor da Concentração de CSV para os tempos T_0 a T_3 - Fase 1

Voluntário	T_0	T_1	T_2	T_3
1	67,00	83,33	53,33	87,00
2	41,67	64,00	46,00	67,33
3	68,33	79,67	76,33	46,33
4	49,67	62,33	81,33	138,33
5	44,00	60,33	71,67	74,33
6	126,00	128,33	64,33	81,67
7	46,00	47,00	56,00	51,67
8	47,33	61,33	69,00	43,33
9	30,00	112,33	85,33	92,00
10	103,33	55,67	83,00	57,67
11	64,67	68,67	49,00	75,00
12	47,67	82,33	77,00	53,33
13	64,00	55,00	45,33	41,00
14	40,67	57,00	45,33	39,67
15	412,33	97,67	121,33	82,33
16	8,00	51,67	32,33	59,00
17	80,33	115,33	105,67	99,00
18	68,67	320,67	69,00	96,33
19	57,00	61,33	55,67	49,00

Como pode ser verificado no gráfico "normal-plot" (Gráfico 1), não é possível ajustar uma distribuição normal aos dados. Além da presença de dados discrepantes, há também um desvio da normalidade evidente. Ao utilizar o teste de Kolmogorov-Smirnov obtém-se um p-valor menor que 0,01, indicando esta impossibilidade. Retirando-se o efeito do tempo e dos pacientes, o quadro não se

modifica (ver Gráfico 2). A adoção de transformação logarítmica aos dados melhora a situação mas o teste de Kolmogorov-Smirnov continua a indicar a não-normalidade dos dados ($p\text{-valor} = 0,036$). Assim, é possível assumir que os dados são normais.

Gráfico 1. Normal-plot (para verificar a normalidade dos dados)

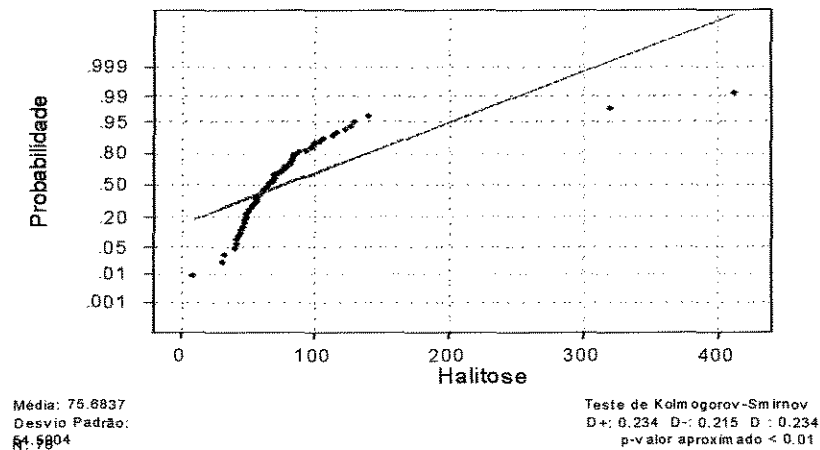
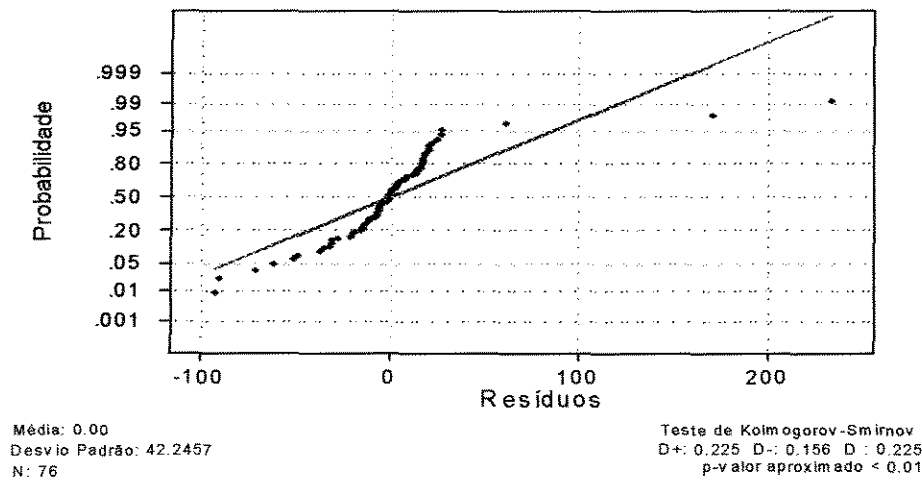


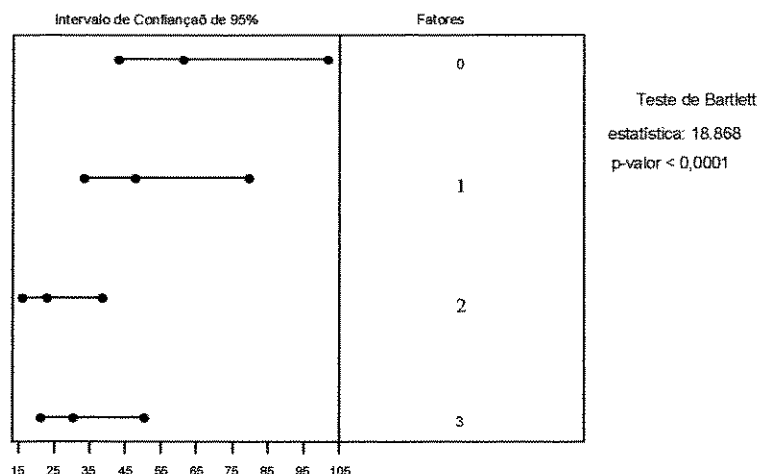
Gráfico 2. Normal-plot (normalidade dos resíduos)



Outros fatores que indicam a possibilidade da utilização de testes paramétricos sejam robustos são a homogeneidade de variâncias e a não-presença de dados discrepantes (outliers). A homogeneidade de variâncias pode ser testada através do teste de Levene. O resultado indica a heterogeneidade de variâncias (estatística de teste igual a 40,212 com um $p\text{-valor}$ menor que 0,0001). Isto pode ser verificado visualmente no Gráfico 3, onde se evidencia a diferença da dispersão existente nos grupos, especialmente entre os grupos 0 e

2. Como no caso do grupo 1, a variação no grupo 2 é grande também. Por outro lado, as variações existentes nos grupos 4 e 3 são semelhantes.

Gráfico 3. Teste de Homogeneidade de Variâncias



A TABELA 4 apresenta os valores médios, desvios-padrão, valores mínimo e máximo e mediana de cada um dos grupos (tempos).

TABELA 4. Medidas de posição e de dispersão da halitose em função do tempo.

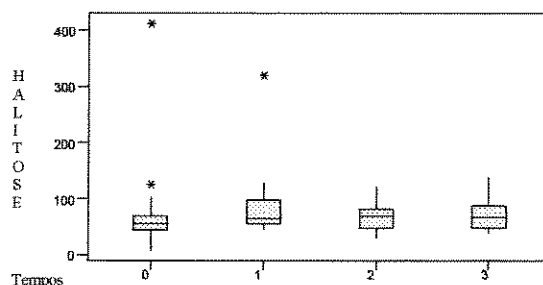
Tempos	Média	Mediana	Desvio-Padrão	Coefficiente de Variação (%)	Mínimo	Máximo
0	77,19	57,0	85,178	110,3	8,00	412,33
1	87,58	64,0	61,104	69,8	47,00	320,67
2	67,74	69,0	22,111	32,6	32,33	121,33
3	70,23	67,3	25,468	36,3	39,67	138,33

Para os dados do tempo 0 e 1 observa-se que o desvio-padrão tem valores próximos da média, indicando grande variação interna. Mesmo para os tempos 2 e 3 a variação é grande com coeficiente de variação maior do que 30%. Comparando-se ainda os valores das medianas com as respectivas médias, percebe-se que nos casos em que o desvio padrão (a variação dos dados) é menor, as medianas tendem a ter valores próximos da média. Esta característica é de distribuições simétricas (como é o caso da distribuição normal) e isto não ocorre nos tempos 0 e 1.

A presença ou não de outliers pode ser verificada visualmente através do box-plot (Gráfico 4). Observam-se dois outliers no tempo 0 e um no tempo 1.

Assim, tendo em vista a heterogeneidade das variâncias, a não normalidade dos dados e a presença de outliers, serão utilizados testes não-paramétricos para a variável Halitose.

Gráfico 4. Boxplot de Halitose nos tempos t0, t1, t2 e t3



Inicialmente, serão verificadas as diferenças entre o tempo inicial (t_0) e os tempos restantes (t_1 , t_2 e t_3) para verificar se ocorreram modificações em relação ao tempo inicial aos 7, 14, 21 e 28 dias. Para este fim será utilizado o teste de Ordens Assinaladas de Wilcoxon, onde serão calculadas, para cada paciente, as diferenças entre os valores de halitose entre os tempos a serem comparados. O p-valor para o teste de Ordens Assinaladas de Wilcoxon pode ser obtido de tabelas ou através da utilização de softwares. Para a comparação entre os tempos T_0 e T_1 encontramos diferenças significativas pois o p-valor foi de 0,026. Procedendo para todas as diferenças temos os resultados apresentados na TABELA 5.

TABELA 5. Estatística e p-valores para o Teste de Ordens Assinaladas de Wilcoxon

Diferenças	Wilcoxon	
	Estatística de Teste	p-valor
Fase 1 – T_1 vs T_0	150	0,026
Fase 1 – T_2 vs T_0	117	0,395
Fase 1 – T_3 vs T_0	115	0,441

Conclui-se que para a variável halitose foram encontradas diferenças significativas apenas do tempo 1 em relação ao tempo inicial. Por outro lado, quando comparados os outros tempos entre si (T_1 vs T_2 , T_1 vs T_3 e T_2 vs T_3) não se constatam diferenças significativas ao nível de 5% de significância (os p-valores para o teste de Wilcoxon são, respectivamente, 0,145; 0,056 e 0,791).

Quando se consideram os tempos T_0 , T_1 , T_2 e T_3 conjuntamente, utilizou-se o teste de Friedman. A estatística obtida foi $S = 7,674$ com um p-valor igual a 0,05167, um pouco acima do valor habitualmente considerado para a significância (5%). Procedendo as comparações múltiplas dos tratamentos (tempos) contra o controle, obteve-se diferença significativa apenas para o tempo 1 (p-valor = 0,0173). O mesmo resultado foi obtido quando se comparam todos os tratamentos entre si (p-valor = 0,032 para a comparação entre T_0 e T_1). A variável HALITOSE apresentou um aumento significativo do tempo T_0 para o tempo T_1 . Entretanto não foram encontradas diferenças significativas entre os outros pares de tempos. Examinando mais detidamente os resultados, vê-se que apesar da mediana do tempo T_1 ser menor que a dos tempos T_2 e T_3 , a variabilidade dos dados foi decisiva para que houvesse significância na diferença em relação ao tempo 0.

FASE 2

Os mesmos procedimentos utilizados com os dados da Fase 1 serão utilizados para a Fase 2, verificando a possibilidade de utilização de testes paramétricos, procedeu-se à análise visual do gráfico e os testes de normalidade e heterogeneidade de variâncias.

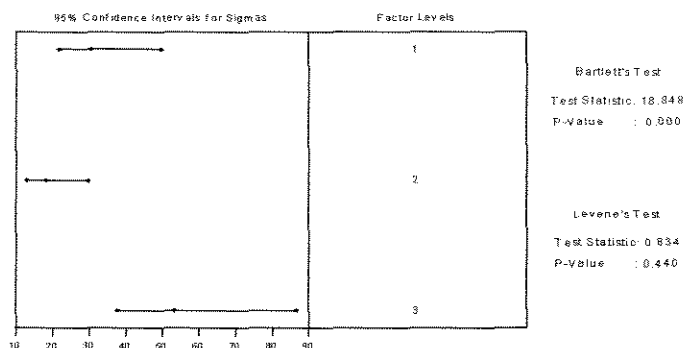
TABELA 6. Valor da Concentração de CSV para os tempos T_1 a T_3 - Fase 2

Voluntário	T_1	T_2	T_3
1	58,00	55,33	43,67
2	48,33	57,00	43,00
3	57,00	59,00	53,67
4	158,00	83,67	83,33
5	38,67	64,67	42,33
6	53,33	88,00	47,67
7	42,67	49,67	42,00
8	51,67	59,00	41,33
9	78,67	89,67	90,67
10	67,00	85,33	273,00
11	72,67	78,67	79,33
12	55,67	83,67	67,67
13	41,67	50,67	50,67
14	46,00	54,67	38,33
15	117,33	108,67	120,00
16	20,00	37,67	44,00
17	54,33	82,67	78,67
18	75,33	83,00	81,00
19	55,00	64,67	57,67

GRÁFICO 5. Teste de homogeneidade de variâncias

Bartlett's Test (normal distribution)

Homogeneity of Variance Test for fase2



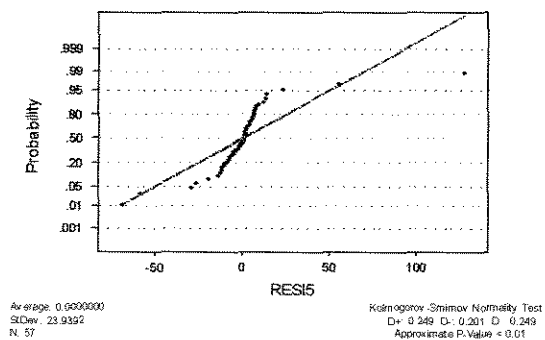
Test Statistic: 18,848
P-Value : 0,000

Levene's Test (any continuous distribution)
Test Statistic: 0,834
P-Value : 0,440

Como no caso da Fase 1, o teste de Levene indica que existe heterogeneidade de variâncias entre os grupos.

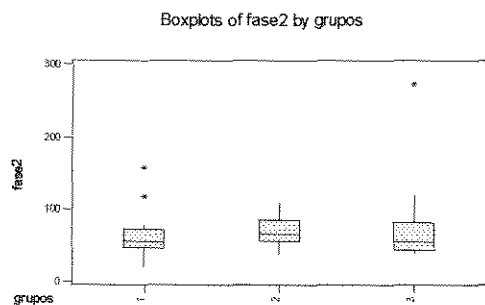
GRÁFICO 6. Verificação da normalidade dos resíduos

Gráfico para verificar a normalidade dos resíduos



Os resíduos não apresentam normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov e ainda o box-plot indica a presença de outliers nos tempos 1 e 3.

GRÁFICO 7. Box plot de halitose nos tempos T1, T2 e T3 da Fase 2



Assim como no caso anterior, é recomendada a utilização de testes não-paramétricos. Observa-se que a transformação dos dados não foi discutida aqui para não haver variação na metodologia utilizada.

TABELA 7. Medidas de posição e de dispersão da Concentração de CSV em função do tempo.

Tempos	Média	Mediana	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação (%)	Mínimo	Máximo
1	62,7021	55,0000	30,5245	45,086	20,00	158,00
2	70,3000	64,6700	18,2090	25,902	37,67	108,67
3	72,5268	53,6700	53,3568	73,568	38,33	273,00
Total	68,5096	57,6700	36,5946		20,00	273,00

TABELA 8. Teste das ordens assinaladas de Wilcoxon

	T2 -T1	T3 -T1	T3 -T2
Z	-2,696	-,886	-1,982
Exact Sig. (2-tailed)	,005	,390	,048

São detectadas diferenças entre os tempos T₂ e T₁ e entre os tempos T₃ e T₂.

Observando as medianas verifica-se que o tempo 2 apresenta valores medianamente maiores que os tempos 1 e 3. Neste caso ocorre correlação significativa entre todos os tempos, quando consideramos o coeficiente de correlação de Spearman, entre os tempos 1 e 2 e entre os tempos 2 e 3; entre os tempos 1 e 3 o coeficiente de correlação é de 0,337 com um p-valor igual a 0,158 e portanto, não significativo.

Quando se consideram os tempos T₁, T₂ e T₃ conjuntamente, utilizou-se o teste de Friedman. A estatística obtida foi S = 9,500 com um p-valor igual a 0,0087, considerado para a significância (5%). Procedendo as comparações múltiplas dos tratamentos (tempos) pode-se observar que há diferença estatística entre T₁ e T₂, não observando diferenças entre T₁ e T₃ e entre T₂ e T₃.

Friedman (Fr)

(p) = 0,0087

Comparações:	Diferença (p)
Ranks 1 e 2 =	18,5 < 0,05
Ranks 1 e 3 =	5,5 > 0,05
Ranks 2 e 3 =	13 > 0,05

COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE CSV ENTRE O TEMPO INICIAL (T₀ DA FASE 1) E O TEMPO FINAL (T₃ DA FASE 2)

Ao realizar a comparação entre a Fase inicial (antes do tratamento) e a Fase final do trabalho em que a nova prótese já estava com o paciente há 90 dias, sob tratamento, foi verificado que não há diferença significativa no valor da halitose pelo teste de Postos Assinalados de Wilcoxon. O p-valor é 0,952, bem maior que o nível de significância em geral empregado nos trabalhos deste tipo (5%). Verificou-se que em nove pacientes a halitose foi menor no tempo 3 da fase 2 e nos dez restantes foi menor, evidenciando a igualdade existente. Utilizando o coeficiente de correlação de Spearman (para postos) verifica-se que há uma correlação positiva significativa ($r_s = 0,514$ com p-valor igual a 0,024). Observação: até na compensação houve igualdade - os valores extremos referentes aos pacientes 10 e 15 se compensaram.

VARIÁVEL CONCENTRAÇÃO DE MICROORGANISMOS (CMO)

FASE 1

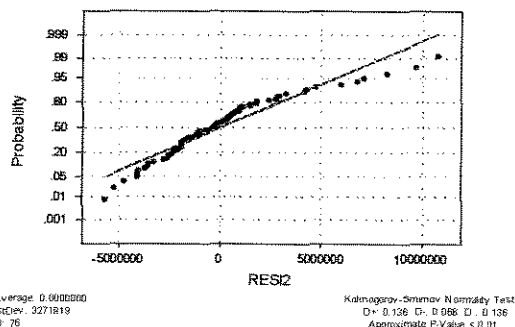
As medidas obtidas para a concentração de microorganismos foram feitas em duas etapas. Na primeira, foram tomadas quatro medidas no tempo: medida inicial (T₀), aos sete dias (T₁), aos catorze dias (T₂) e aos 28 dias (T₃). Cada medida obtida é resultado da média obtida através da contagem de UFC/ml em duplicatas de placas. A TABELA 10 mostra as médias das medidas para os tempos considerados, onde Cmo representa a contagem de UFC de Microorganismos Totais e MC representa o escore de enterobactérias.

TABELA 10 Valor da Concentração de Microorganismos (Cmo) e Escores de enterobactérias (MC) para os tempos T₀ a T₃ - Fase 1

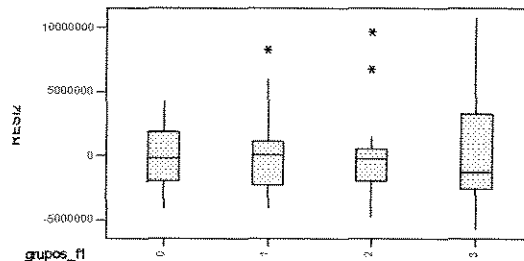
Vol	T0		T1		T2		T3	
	CMo	MC	CMo	MC	CMo	MC	CMo	MC
1	5550000	0	2200000	0	1235000	0	975000	0
2	8000000	0	22000	0	2900000	0	9400000	0
3	14000000	0	11000000	1	8300000	1	4900000	0
4	7100000	0	3400000	0	2300000	0	12000000	0
5	3600000	1	300000	2	340000	1	17200000	1
6	2215000	0	57333	0	93333	0	143333	0
7	84333	0	230667	0	9533	0	59667	0
8	25333	0	256667	1	1025000	0	30000	0
9	2500000	0	7700000	1	460000	0	18000	0
10	2050000	0	356667	0	945000	0	12000000	0
11	219500	0	193333	0	3000000	0	8100000	0
12	1075000	0	1900000	1	1350000	0	29000	0
13	6800000	1	980000	1	2400000	0	5200000	0
14	115667	0	20500	0	166667	0	40667	0
15	2300000	0	1600000	0	3700000	0	2300000	0
16	590000	0	240000	1	11000000	0	6100000	0
17	4050000	0	340000	0	2250000	0	1486667	0
18	595000	1	10000000	0	25000	0	203000	0
19	2600000	1	1300000	1	14000000	0	355000	1

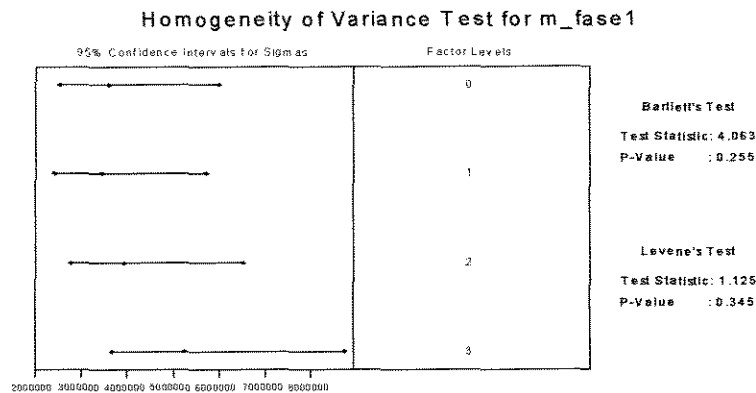
Como pode ser verificado no gráfico "normal-plot" (Gráfico 1), não é possível ajustar uma distribuição normal aos dados. Além da presença de dados discrepantes, que pode ser vista nos tempos 1 e 2 no boxplot (Gráfico 2), há também um desvio da normalidade evidente. Retirando-se os efeitos do tempo e dos pacientes e utilizando o teste de Kolmogorov-Smirnov obtém-se um p-valor menor que 0,01, indicando que os dados não seguem uma distribuição normal.

Gráfico para verificar a normalidade dos resíduos

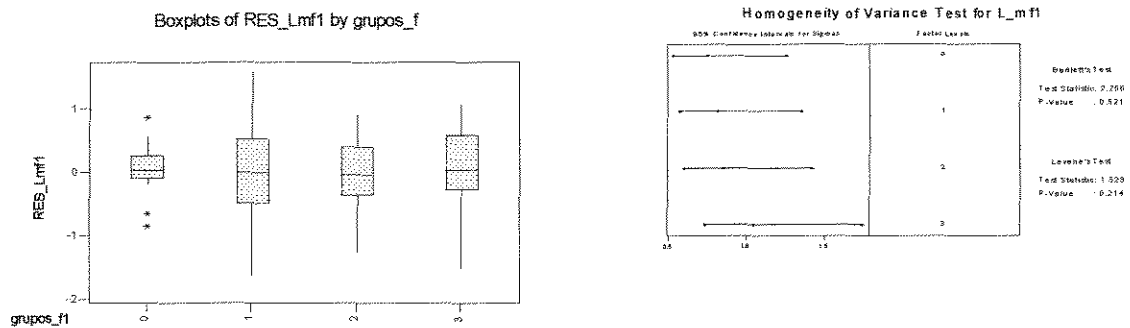


Boxplots of RESI2 by grupos_f

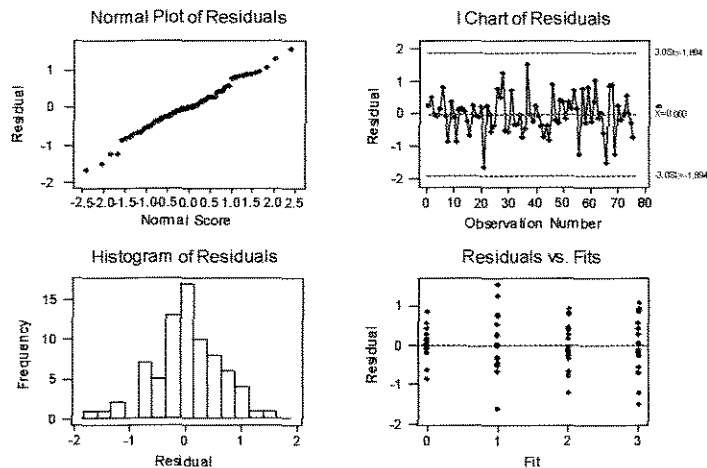




Para esta variável a adoção de transformação logarítmica aos dados melhora bastante a situação. Com a transformação são eliminados os empecilhos para a realização dos testes paramétricos. Obtém-se a homogeneidade de variâncias (p-valor para o teste de Bartlett e o de Levene maiores do que 5%), mas o teste de Kolmogorov-Smirnov continua a indicar a não-normalidade dos dados (p-valor = 0,036).



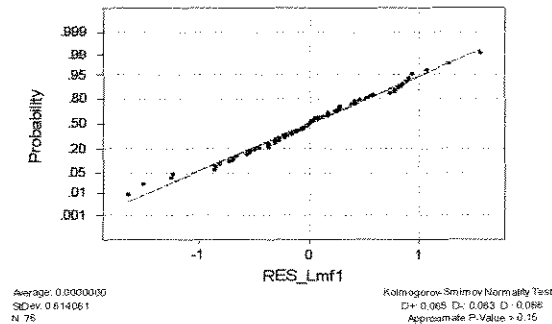
Residual Model Diagnostics



O box-plot mostra alguns pontos discrepantes, agora no tempo T_0 . Tais pontos, entretanto, não merecem atenção pois estão abaixo do limite em geral definido de três desvios padrões da média. Além disso, estão distribuídos abaixo e acima da média.

Por fim, a normalidade foi testada e obteve-se a adequação dos dados transformados a esta condição tendo em vista que o p-valor para o teste de Kolmogorov-Smirnov foi maior que 0,15, indicando assim que a distribuição normal é adequada aos dados.

Gráfico para verificar a normalidade dos resíduos



Assim, para os dados referentes à Concentração de Microrganismos, serão utilizados os dados transformados através da função logarítmica.

Inicialmente, tem-se a TABELA 11 com as médias, medianas, valores máximos e mínimos, os desvios padrão e o coeficiente de variação por grupos (tempos) tanto para os dados sem transformação como na TABELA 12 para os dados transformados pelo logaritmo (base 10).

TABELA 11 Dados sem transformação (MICRO FI)

TEMPOS	MÉDIA	MEDIANA	DESVIO PADRÃO	C.V.	MÍNIMO	MÁXIMO
0	3340517,5	2300000,0	3606542,7	108,0	25333	14000000
1	2215640,4	356667,0	3438259,3	155,1	20500	11000000
2	2921028,1	1350000,0	3920335,8	134,2	9533	14000000
3	4238965,0	1486667,0	5235075,1	123,5	18000	17200000

TABELA 12 DADOS TRANSFORMADOS (L MIC)

TEMPOS	MÉDIA	MEDIANA	DESVIO PADRÃO	C.V.	MÍNIMO	MÁXIMO
0	6,146522	6,361728	0,751540	12,2	4,4037	7,1461
1	5,779060	5,552263	0,814993	14,1	4,3118	7,0414
2	5,983152	6,130334	0,852349	14,2	3,9792	7,1461
3	5,925464	6,172214	1,049949	17,7	4,2553	7,2355
Total	5,958550	6,151274	0,866858		3,9792	7,2355

Como pode ser verificado nas TABELAS 11 e 12, a transformação dos dados através da função logarítmica cumpre bem o seu papel no intuito de diminuir a variação dos dados. Assim, o coeficiente de variação passou a girar em torno de 14%, valor bem razoável para os dados serem testados. Também pode ser verificado que as medianas, para os dados transformados, estão bem mais próximas dos valores das médias, indicando simetria dos dados.

Inicialmente serão verificadas as diferenças entre o tempo inicial (T_0) e os tempos restantes (T_1 , T_2 e T_3) buscando saber se ocorreram modificações em relação ao tempo inicial aos 7, 14, 21 e 28 dias. Para este fim serão utilizados o teste T pareado.

TABELA 13 Estatísticas e p-valores para o teste T pareado²

Diferenças	Teste T pareado	
	Estatística de Teste	p-valor
Fase I - T_1 vs T_0	1,801	0,088
Fase I - T_2 vs T_0	0,833	0,416
Fase I - T_3 vs T_0	1,081	0,294

Conclui-se que para a variável concentração de microrganismos não foram encontradas diferenças entre os tempos 1, 2 e 3 em relação ao tempo inicial. O mesmo resultado observa-se quando são comparados os outros tempos entre si (T_1 vs T_2 , T_1 vs T_3 e T_2 vs T_3), ou seja, não se constata diferenças significativas ao nível de 5% (os p-valores são respectivamente 0,428, 0,643 e 0,798).

Considerando-se agora os tempos T₀, T₁, T₂ e T₃ conjuntamente, realizou-se a Análise de Variância com o teste F e o teste de Dunnet para testar os tempos contra o controle (T₀). A estatística obtida foi um p-valor de 0,479, acima do valor habitualmente considerado para a significância (5%), ou seja, não são constatadas diferenças entre os valores da concentração de microrganismos nos tempos considerados. Assim, não é necessária a realização do teste de comparações múltiplas pois certamente não teremos nenhum resultado significativo, que pode ser observado na TABELA 14.

TABELA 14 Análise de Variância paramétrica.

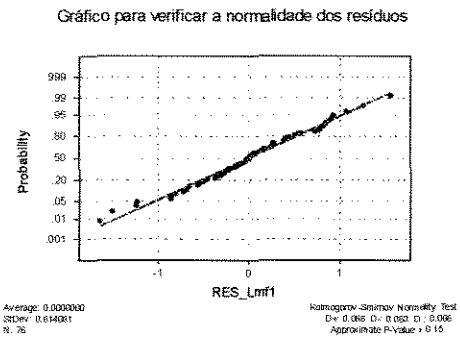
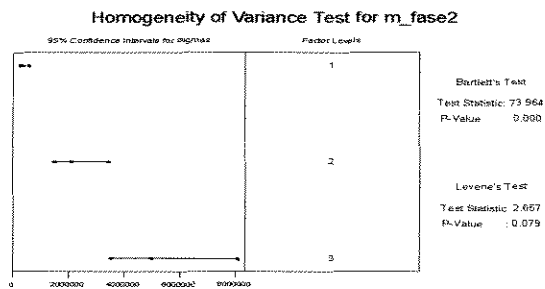
Causa de Variação	G.L.	Somas de Quadrados	Quadrados Médios	Valor de F	p-valor
Voluntários (Blocos)	18	26,672	1,487	2,839	
Grupos (tempos)	3	1,316	0,439	0,837	0,479
Resíduo	54	28,280	0,524		
Total	75				

FASE 2

TABELA 15. Quantidade de microorganismos totais para os tempos T₁ a T₃ - Fase 2

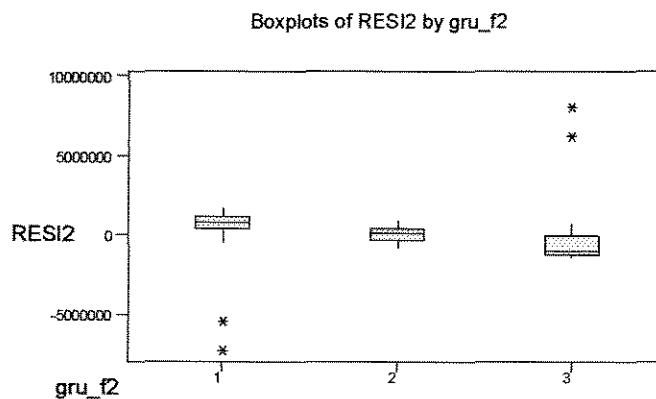
Vol	T1		T2		T3	
	CMo	MC	CMo	MC	CMo	MC
1	300	0	1400000	0	3800000	0
2	50000	0	1210000	1	965000	0
3	210000	0	7600000	0	18000000	0
4	190000	0	19500	1	1300000	0
5	1000	2	1300000	2	1200000	1
6	6900	2	1300000	0	665000	1
7	275	0	260000	0	15333	0
8	14000	0	30	0	29333	0
9	1400000	0	105000	0	1400000	2
10	52000	0	600000	0	225000	0
11	92667	0	190000	1	1300000	0
12	5100	0	7630	0	335000	0
13	1633	0	170000	0	2100000	0
14	625	0	4033	0	116667	2
15	18000	0	210000	0	3200000	0
16	790000	0	6300000	0	15000000	0
17	2447	2	545000	2	710000	0
18	130	0	27000	0	185000	0
19	1440	0	5750	0	1500000	0

Os mesmos procedimentos utilizados com os dados da Fase 1 serão utilizados para a fase 2. Primeiramente, verificando a possibilidade de utilização de testes paramétricos para a discussão dos resultados, procedeu-se à análise visual do gráfico e os testes de normalidade e heterogeneidade de variâncias.

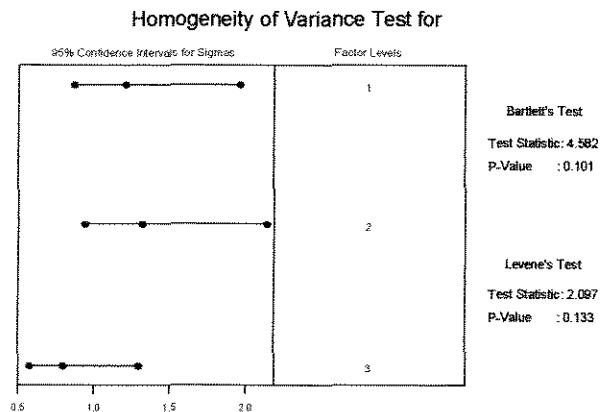


O teste de Bartlett indica grande heterogeneidade entre as variâncias dos grupos, o que pode ser notado no gráfico, especialmente entre os tempos 1 e 3.

Os resíduos não apresentam normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov (p-valor > 0,15) e ainda o box-plot indica a presença de outliers nos tempos 1 e 3.



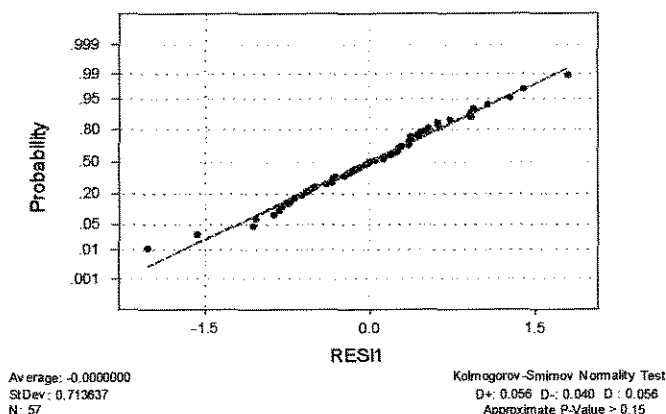
Com a transformação através da função logarítmica, obtém-se a homogeneidade das variâncias dos grupos (tempos). O gráfico e os teste de Levene e de Bartlett comprovam tal fato (p-valores maiores de 5%).



Bartlett's Test (normal distribution)
 Test Statistic: 4,582
 P-Value : 0,101

Levene's Test
 Test Statistic: 2,097
 P-Value : 0,133

Gráfico para verificar a normalidade dos resíduos



O gráfico dos resíduos dos dados transformados aparenta normalidade. Isto é comprovado pelo teste de Kolmogorov-Smirnov, cujo p-valor é maior que 0,15. Assim, a hipótese nula de normalidade dos dados não é rejeitada. Além disso, o box-plot não apresenta pontos discrepantes. Assim, a transformação logarítmica foi eficiente para tornar os dados possíveis de serem analisados através de métodos paramétricos. Como no caso anterior, serão realizados os testes paramétricos sobre a variável.

TABELA 16. Medidas de Posição e de dispersão dos dados transformados

Tempos	Média	Mediana	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
1	3,9769	3,8388	1,2060	2,11	6,15
2	5,1245	5,3222	1,3118	1,48	6,88
3	5,8942	6,0792	,7914	4,19	7,26
Total	4,9985	5,2788	1,3615	1,48	7,26

Para a comparação entre os tempos foi utilizado o Teste T para amostras pareadas. Os resultados são apresentados no TABELA 17.

TABELA 17.

	T2 - T1	T3 - T1	T3 - T2
Estatística para o Teste T	-3,162	-7,683	-3,248
p-valor	0,005	< 0,001	0,004

Neste caso são detectadas diferenças entre os tempos T_2 e T_1 , entre os tempos T_3 e T_1 e entre os tempos T_2 e T_3 , com o crescimento do valor médio a partir do tempo T_1 , como pode ser verificado pelos valores das medianas e das médias dos dados transformados. Foi ainda verificada a ocorrência de correlação significativa entre os tempos 1 e 3 e entre os tempos 2 e 3 para os dados transformados. Quando utiliza-se o coeficiente de correlação de Spearman para os dados não transformados, há correlação significativa apenas entre os tempos 2 e 3. Para os tempos 1 e 3 o p-valor é 0,063 (maior que o nível de significância de 5%).

COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE MICRORGANISMOS TOTAIS ENTRE O TEMPO INICIAL (T_0 DA FASE 1) E O TEMPO FINAL (T_3 DA FASE 2)

O teste T para dados pareados fornece um p-valor igual a 0,078 para um valor de T igual a 1,866. É interessante notar que existe uma correlação significativa entre os valores dos tempos considerados (coeficiente de correlação de Pearson $r = 0,709$, p-valor = 0,001 e coeficiente de correlação de Spearman $r_s = 0,605$, p-valor = 0,001). Isto pode evidenciar que a presença (quantidade) destes microorganismos ao longo do tempo está ligada ao paciente (tipo de higienização, cuidados alimentares, etc.) e não ao produto utilizado. Deve-se lembrar que, apesar dos p-valores estarem próximos do nível de significância de 5% (entre 7 e 8%), no tempo T₀ da fase 1 havia todo um histórico do paciente em termos de higienização, etc, etc...

Não há diferença significativa no logaritmo do número de microorganismos (p-valor para o teste T igual a 0,078).

ESCORES DE ENTEROBACTÉRIAS

Para comparar os escores de Enterobactérias, verificando se existem diferenças, em cada tempo da Fase 1 a análise de variância. Obviamente, caso tenha apenas dois escores este procedimento equivale ao teste T para duas amostras independentes. Os resultados obtidos para a fase 1 encontram-se na TABELA 18.

TABELA 18. Diferença de presença de microorganismos totais em relação ao Escore de Enterobactérias na Fase 1

MCESCORE	T0	T1	T2	T3
Análise de Variância (Teste F)	0,538	1,230	0,172	0,429
	0,473	0,319	0,683	0,521

Pode-se observar pela Análise de Variância dos dados transformados, sobressaindo a não significância dos escores de Enterobactérias na diferenciação da quantidade de microorganismos totais.

A mesma análise será efetuada para a halitose através do Teste de Kruskal-Wallis será executado:

TABELA 19. Diferença de Halitose de acordo com o Escore de Enterobactérias na Fase 1.

MCESCORE	F1 T0	F1 T1	F1 T2	F1 T3
Estatística de Kruskal-Wallis	0,010	1,357	0,442	0,282
p-valor	0,920	0,507	0,506	0,595

Outra observação a ser feita é que não foi detectada correlação entre a halitose e o número de microorganismos. O valor do coeficiente de correlação de Pearson foi 0,170 com um p-valor igual a 0,141 (não significativo, portanto). Resultado semelhante foi obtido pelo coeficiente de correlação de Spearman, cujo valor foi 0,124 (p-valor = 0,285).

TABELA 20. Diferença de presença de microorganismos totais em relação ao Escore de Enterobactérias da Fase 2.

	T1	T2	T3
Estatística para o Teste F	0,780	0,424	0,134
p-valor	0,390	0,661	0,875

Novamente a conclusão obtida com o teste paramétrico para os dados transformados é que não foram encontradas diferenças entre os valores da contagem de micro-organismos totais e o escore de enterobactérias em nenhum dos tempos da Fase 2.