

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

Faculdade de Ciências da Saúde

Programa de Pós-Graduação em Odontologia



Dissertação de Mestrado

**Avaliação da eficácia de uma formulação de própolis associada a romã
(*Punica granatum*) no tratamento da estomatite protética em idosos: Ensaio
clínico randomizado**

Yêda Maria Parro

Brasília, 17 de maio de 2019.

Yêda Maria Parro

Avaliação da eficácia de uma formulação de própolis associada a romã (*Punica granatum*) no tratamento da estomatite protética em idosos: Ensaio clínico randomizado

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Orientadora: Profa. Dra Érica Negrini Lia

Coorientador: Prof. Dr. Vicente de Paulo Martins

Brasília, 2019

Yêda Maria Parro

Avaliação da eficácia de uma formulação de própolis associada a romã (*Punica granatum*) no tratamento da estomatite protética em idosos: Ensaio clínico randomizado

Dissertação aprovada, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Odontologia, Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

Data da defesa: 17 de maio de 2019

Banca examinadora:

Profa Dra. Érica Negrini Lia (Orientadora)

Profa. Dra. Nailê Dame Teixeira (Odt – UnB)

Profa. Dra. Larissa Fernandes Matos (FCE – UnB)

Prof. Dr. Rivadávio Fernandes Batista de Amorim (FM- UnB)

Dedico esse trabalho a todos que, por algum motivo, desistiram de sonhar, por acreditar ser a idade fator impeditivo de alguma coisa.

AGRADECIMENTOS

Um sonho se concretiza com o esforço pessoal além de incentivo e apoio dos que nos rodeiam. E eu fui cercada de boas energias nesse mestrado! Gratidão imensa a todos que de algum modo participaram dessa jornada!

Agradeço imensamente ao meu marido e as minhas filhas! Sem vocês eu não teria literalmente concluído esse estudo! Em todas as etapas eu senti o afeto de vocês e a energia mágica da nossa união! Paulo, companheiro especial, mais uma vez, abraçou o meu projeto como “nosso” e fez as idas à Ceilândia e ao laboratório mais amenas e produtivas e as madrugadas de escrita mais curtas e suportáveis!! Luiza, tanta paciência em cada explicação que me dava sobre formatação do trabalho, confecção de tabelas e também agendamento de pacientes. Esses meses foram mais suaves com você ao meu lado!! Paula, tanta generosidade em cada ida à Ceilândia, em cada foto tirada! As semanas de coleta ficaram mais leves porque você estava lá!! Existe o tempo de cada um e essa cumplicidade familiar me fez concluir que também existe o tempo de cada família! Esse foi o nosso momento, eu fiz o mestrado na época certa, no nosso tempo!!! Sou completa por sempre ter vocês!! Obrigada, família!!

Agradeço aos meus pais, Nelzi e Parro, por sempre estarem comigo, presentes até hoje! Essa é uma conquista nossa!! E aos meus irmãos, Paulo e Cyntia, por sempre me dizerem que eu deveria tentar o mestrado!

De forma mais que especial, agradeço a minha orientadora, Érica, por ter acreditado em mim, me conduzindo como uma verdadeira mestre! Gratidão eterna!! Você fez muita diferença na minha vida! Tenho um grande afeto por você! E ao professor Eduardo por me ajudar com a estatística!

Agradeço ao professor Vicente pelo grande apoio no laboratório e na escrita!

Agradeço imensamente ao Herick! Sem você a parte laboratorial não se concluiria! Obrigada a você e ao Luis, por ajudarem uma dentista a dar os primeiros passos dentro de um laboratório de Microbiologia!

Agradeço as minhas mais novas amigas; Cláudia, pelo apoio e generosidade de ir até a Ceilândia tantas vezes; Danielly, meu braço direito nessa jornada, o seu comprometimento me impulsionou, você é admirável; Adriana, pela ajuda na revisão sistemática; Daniela, pela separação de alguns artigos; Fernanda, pela ajuda nos primeiros passos na escrita científica e a Patrícia, pelo companheirismo e apoio nas aulas! Vocês foram fundamentais para a conclusão desse estudo!

Agradeço a Apis Flora e a Andresa, pelo apoio recebido.

Especialmente, agradeço ao SESC-DF e a Marcia, a Simone, a Adriana e a Weila, por permitirem e apoiarem a realização desse estudo, bem como aos pacientes que lá encontrei!

Agradeço a Kirla, secretária do CEP, por tantas dúvidas tiradas!

E também aos professores e colegas da pós!

“É necessário fazer penetrar profundamente o olhar dentro de si mesmo, a fim de comprovar qual é a própria capacidade criadora para produzir energias e para resistir à ação de todos os elementos que se opõem às nossas aspirações.”

González Pecotche - Logosofia

RESUMO

Introdução: A estomatite protética é uma infecção fúngica comumente encontrada em usuários de próteses removíveis, especialmente idosos, podendo ser atribuída à disbiose. Produtos naturais têm despertado interesse como alternativa aos medicamentos sintéticos no tratamento da estomatite protética devido à segurança e eficácia. O objetivo desse estudo foi avaliar a eficácia de uma formulação de própolis associada à romã no tratamento da estomatite protética. **Métodos:** Um total de 40 pacientes idosos com estomatite protética foram alocados aleatoriamente em dois grupos para receber o tratamento tópico por via oral. O grupo controle (C) recebeu 20mg/g de miconazol gel oral e o grupo de estudo (PR) recebeu spray contendo extrato de própolis a 0,5% e extrato de romã a 0,9%, durante 14 dias. Os participantes foram examinados por um dentista nos dias 1, 7 e 14. O escore de Newton foi utilizado para avaliar o aspecto clínico da estomatite protética. O número de colônias de *Candida* spp foi quantificado e comparado antes e depois do tratamento (dias 1 e 14). **Resultados:** Ambos os tratamentos reduziram o escore de Newton, com taxa de cura clínica no grupo C de 75% e para o grupo PR de 40%. Houve redução significativa do número de UFC/mL somente para o grupo C. **Conclusão:** A eficácia clínica da própolis associada à *Punica granatum* foi não-inferior ao miconazol, considerando a margem de não inferioridade, e pode ser uma alternativa no tratamento da estomatite protética em idosos.

Palavras-chave: *Punicaceae*; estomatite sob prótese; própolis; ensaio clínico, *Candida*, disbiose.

ABSTRACT

Title: Efficacy of a propolis formulation associated with *Punica granatum* in the denture stomatitis treatment in older adults: A randomized clinical trial

Introduction: Denture stomatitis is a fungal infection commonly found in removable denture wearers, specially in older adults, and can be attributed to dysbiosis. Natural products have attracted interest as an alternative to synthetic drugs because of their effectiveness and safety that make them optimal to use in older adults. The objective of this study was to evaluate the efficacy of a propolis formulation associated with *Punica granatum* for the denture stomatitis treatment. **Methods:** A total of 40 older patients with denture stomatitis were randomly allocated into two groups in order to receive oral topical treatment. The control group (C) received 20 mg/g miconazole oral gel and the study group (PR) received spray containing 0.5% propolis extract and 0.9% pomegranate extract, during 14 days. Participants were examined by a dentist on days 1, 7 and 14. The Newton's score was used to assess the clinical aspect of denture stomatitis. The number of colonies of *Candida* spp was quantified and compared before and after the treatment (days 1 and 14). **Results:** Both treatments reduced the Newton's score; the cure rate for group C was 75% and for the PR group was 40%. There was a significant reduction of CFU / mL only in the group C. **Conclusion:** The clinical efficacy of propolis associated with *Punica granatum* was non-inferior to the miconazole considering the non-inferiority margin, and may be an alternative in the treatment of denture stomatitis in older adults.

Key words: *Punicaceae*; stomatitis under prosthesis; propolis; clinical trial, *Candida*, dysbiosis.

ABREVIATURAS E SIGLAS

C. albicans - *Candida albicans*

C. glabrata – *Candida glabrata*

C. kruei – *Candida krusei*

C. tropicalis – *Candida tropicalis*

C. guilliermondii – *Candida guilliermondii*

C. parapsilosis – *Candida parapsilosis*

S. aureus - *Staphylococcus aureus*

S. mutans – *Streptococcus mutans*

S. mitis – *Streptococcus mitis*

S. sanguinis – *Streptococcus sanguinis*

E. coli – *Escherichia coli*

E. faecalis – *Enterococcus faecalis*

P. aeruginosa – *Pseudomonas aeruginosa*

CONSORT – Consolidated Standards of Reporting Trials

EPP-AF® – Extrato padronizado de própolis produzido pela empresa Apis Flora Ltda

SESC-DF – Serviço Social Do Comércio do Distrito Federal

mg/g – Miligrama por grama

g/mL – Grama por mililitro

Células/mL – Células por mililitro

C – Grupo controle tratado com com gel oral de miconazol ® 20mg/g

PR – Grupo caso tratado com spray de própolis associada à romã (EPP-AF®) –

APIROMÂ® - Produto testado

T0 – Tempo zero (primeiro dia do exame)

T7 – Segundo dia de exame, sete dias após início da pesquisa

T14 – Terceiro dia de exame, 14 dias após início da pesquisa

UFC/mL – Unidade Formadora de Colônia por mililitro

pH – Potencial Hidrogeniônico

Lista de verificação do CONSORT

Seção / Tópico	item número	Item da lista de verificação	Relatado na página
Título e resumo			
	1a	Título: Avaliação da eficácia de uma formulação de própolis associada a romã (<i>Punica granatum</i>) no tratamento da estomatite protética em idosos: Ensaio clínico randomizado	capa
	1b	Resumo estruturado do desenho do estudo, métodos, resultados e conclusões	8
Introdução			
Antecedentes e Objetivos	2a	Antecedentes científicos e explicação do raciocínio	16 - 25
	2b	Objetivos específicos ou hipóteses	25
Métodos			
Projeto experimental	3a	Descrição do projeto de teste	26
	3b	Mudanças importantes nos métodos após o início do estudo (como critérios de elegibilidade)	
Participantes	4a	Crítérios de elegibilidade para participantes	26

Seção / Tópico	item número	Item da lista de verificação	Relatado na página
Título e resumo			
	4b	Configurações e locais onde os dados foram coletados	26
Intervenções	5	As intervenções para cada grupo com detalhes suficientes para permitir a replicação, incluindo como e quando foram efetivamente administradas	27 - 31
Resultados	6a	Medidas de resultados primários e secundários pré-especificados completamente definidos, incluindo como e quando foram avaliados	36 - 42
	6b	Quaisquer alterações nos resultados do ensaio após o início do ensaio, com motivos	
Tamanho da amostra	7a	Como o tamanho da amostra foi determinado	35
	7b	Quando aplicável, explicação de quaisquer análises intermediárias e diretrizes de parada	
Randomização:			26
Geração de sequência	8a	Método usado para gerar a sequência de alocação aleatória	26
	8b	Tipo de randomização	26
Mecanismo de ocultação de alocação	9	Mecanismo usado para implementar a sequência de alocação aleatória, descrevendo quaisquer etapas tomadas	26

Seção / Tópico	item número	Item da lista de verificação	Relatado na página
Título e resumo			
		para ocultar a sequência até que as intervenções fossem atribuídas	
Implementação	10	Quem gerou a sequência de alocação aleatória, quem inscreveu participantes e quem atribuiu participantes a intervenções	26
Cegando	11a	Se feito, quem foi cegado após a atribuição de intervenções e como	
	11b	Se relevante, descrição da similaridade de intervenções	
Métodos estatísticos	12a	Métodos estatísticos usados para comparar grupos para desfechos primários e secundários	35
	12b	Métodos para análises adicionais, como análises de subgrupos e análises ajustadas	
Resultados			
Fluxo do participante (um diagrama é altamente recomendado)	13a	Para cada grupo, o número de participantes que foram aleatoriamente designados, receberam o tratamento pretendido e foram analisados quanto ao desfecho primário	36
	13b	Para cada grupo, as perdas e exclusões após a randomização, juntamente com as razões	37

Seção / Tópico	item número	Item da lista de verificação	Relatado na página
Título e resumo			
Recrutamento	14a	Datas que definem os períodos de recrutamento e acompanhamento	26
	14b	Por que o julgamento terminou ou foi interrompido	
Dados de linha de base	15	Uma tabela mostrando características demográficas e clínicas de base para cada grupo	37
Números analisados	16	Para cada grupo, número de participantes (denominador) incluídos em cada análise	36
Resultados e estimativa	17a	Para cada resultado primário e secundário, resultados para cada grupo e o tamanho do efeito estimado e sua precisão (como intervalo de confiança de 95%)	38
	17b	Para resultados binários, recomenda-se a apresentação de tamanhos de efeito absoluto e relativo	38
Análises auxiliares	18	Resultados de quaisquer outras análises realizadas, incluindo análises de subgrupos e análises ajustadas, distinguindo informações pré-especificadas de variáveis exploratórias.	39 – 42
Prejudica	19	Todos os danos importantes ou efeitos não intencionais em cada grupo	28

Seção / Tópico	item número	Item da lista de verificação	Relatado na página
Título e resumo			
Discussão			
Limitações	20	Limitações do estudo, abordando fontes de viés potencial, imprecisão e, se relevante, multiplicidade de análises	54
Generabilidade	21	Generalização (validade externa, aplicabilidade) dos resultados do estudo	54
Interpretação	22	Interpretação consistente com resultados, equilibrando benefícios e danos, e considerando outras evidências relevantes	43 – 54
Outra informação			
Cadastro	23	Número de registro e nome do registro experimental	26
Protocolo	24	Onde o protocolo de avaliação completa pode ser acessado, se disponível	26
Financiamento	25	Fontes de financiamento e outros apoios (como o fornecimento de medicamentos), papel dos financiadores	27

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
1.1. TRATAMENTO PADRÃO DA ESTOMATITE PROTÉTICA	17
1.2. PRÓPOLIS E ROMÃ - PRODUTOS NATURAIS NA SAÚDE HUMANA	18
1.3. ESTUDOS PRÉ-CLÍNICOS E CLÍNICOS COM PRÓPOLIS SOBRE A SAÚDE BUCAL	20
1.4. ESTUDOS PRÉ-CLÍNICOS E CLÍNICOS COM <i>Punica granatum</i> SOBRE A SAÚDE BUCAL	22
1.5. TRATAMENTO DA ESTOMATITE PROTÉTICA POR MEIO DE PRODUTOS NATURAIS (PRÓPOLIS E ROMÃ)	23
1.6. JUSTIFICATIVA	25
1.7. HIPÓTESE	25
1.8. OBJETIVOS	25
1.8.1. GERAL	25
1.8.2. ESPECÍFICOS	25
2. MATERIAL E MÉTODOS	26
2.1. DESENHO DO ESTUDO	26
2.2. RANDOMIZAÇÃO E ALOCAÇÃO	26

2.3. PARTICIPANTES	26
2.4. CRITÉRIOS DE ELIGIBILIDADE	26
2.5. INTERVENÇÕES	27
2.6. CARACTERIZAÇÃO DOS GRUPOS DE ESTUDO	27
2.7. AVALIAÇÃO CLÍNICA DA ESTOMATITE PROTÉTICA	28
2.8. PROTOCOLO DO ESTUDO	29
2.9. AVALIAÇÃO DA CARGA FÚNGICA	30
2.9.1. COLETA DAS AMOSTRAS BIOLÓGICAS	30
2.9.2. CONTAGEM DE UNIDADES FORMADORAS DE COLÔNIA – UFC	31
2.10. AVALIAÇÃO DA ADESÃO AO TRATAMENTO	34
2.11. AVALIAÇÃO DE SEGURANÇA E ANÁLISE SENSORIAL	34
2.12. ANÁLISE ESTATÍSTICA E DETERMINAÇÃO DO TAMANHO AMOSTRAL	35
3. RESULTADOS	36
3.1. CARACTERÍSTICAS DOS GRUPOS	37
3.2. EFICÁCIA CLÍNICA	38
3.3. ANÁLISE MICROBIOLÓGICA	39



3.3.1 CURA MICROBIOLÓGICA	39
3.3.2 ESPÉCIES DE <i>CANDIDA</i> SPP IDENTIFICADAS NAS AMOSTRAS	40
3.4 AVALIAÇÃO SENSORIAL	42
4. DISCUSSÃO	43
5. CONCLUSÕES	55
6. PERSPECTIVAS FUTURAS	56
REFERÊNCIAS	57
APÊNDICES	72
ANEXOS	79
PRESS RELEASE	85

1. INTRODUÇÃO

A estomatite protética ou estomatite por dentadura, é uma forma de candidose bucal, encontrada comumente na mucosa palatina de usuários de próteses dentária [1-3]. Ao exame físico, nota-se eritema de intensidade e extensão variáveis localizado no palato duro, podendo alcançar toda área chapeável da prótese. Geralmente, não há sintomas de dor ou ardência associados [1], o que com frequência leva ao subdiagnóstico [4]. Pode ser atribuída em parte à disbiose, que é um desequilíbrio na microflora oral residente [5]. A *Candida albicans* é normalmente um fungo comensal que coloniza a saliva e a mucosa oral [6] e embora seja integrante da microbiota residente dos tratos gastrointestinal e geniturinário em humanos, pode causar infecção local nas membranas mucosas (orofaríngea, esofageana e genital), invasão focal (causando endoftalmite, meningite, endocardite) e até mesmo disseminação sistêmica (candidemia) [7]. Torna-se importante conhecer as evidências científicas sobre a disbiose intestinal no envelhecimento, visto que o próprio fator idade poderá ser um desencadeador do processo de disbiose [8].

A etiologia da estomatite protética é multifatorial e os fatores de risco são idade do paciente, idade da prótese, trauma da mucosa em função da falta de adaptação da prótese, hipossalivação e higiene bucal deficiente [4]. O fluxo salivar naturalmente restrito na região palatina contribui para a ocorrência da estomatite protética [9]. A cobertura palatina mantém condições relativas de anaerobiose e baixo pH entre a base da prótese e a mucosa, fatores que promovem a proliferação de *Candida sp* [4]. A associação entre higiene deficiente da prótese e estomatite protética também é evidente; visto que a existência de rugosidades, fissuras e porosidades na resina acrílica da qual são confeccionadas as próteses removíveis atuam como reservatórios do fungo [10].

A prevalência de estomatite protética entre idosos usuários de prótese total é alta; variando de 58-88% [4,9,11]. De acordo com o último levantamento epidemiológico de saúde bucal nacional, o SB Brasil 2010, os idosos brasileiros apresentam alta prevalência de edentulismo total [9,12] e portanto, são os maiores usuários de próteses totais. Nesta faixa etária, a porcentagem média nacional de idosos que utiliza prótese total superior foi de 63,1% e prótese parcial removível

superior foi de 7,6%, sendo que ambas apresentam área de cobertura palatina [12]. Além disso, idosos são mais expostos à polifarmácia, sendo frequente o uso de medicamentos que provocam hipossalivação, como anticolinérgicos, diuréticos e antidepressivos [13]. O decréscimo do fluxo salivar leva à diminuição da capacidade de limpeza mecânica da saliva, bem como dos níveis de imunoglobulina A secretora, criando um meio mais propício ao crescimento da *Candida sp* [9].

Considerando que os idosos apresentam todos os fatores relacionados acima, pois são os maiores usuários de próteses removíveis com cobertura palatina, apresentam dificuldade de higiene bucal e de próteses (em função de dificuldades cognitivas e motoras), dificilmente retiram suas próteses durante o sono e estão mais expostos a fatores predisponentes da hipossalivação, conseqüentemente, apresentam maior probabilidade de ocorrência de estomatite protética [14], eles foram priorizados para compor as amostras.

1.1 TRATAMENTO PADRÃO DA ESTOMATITE PROTÉTICA

Diferentes tratamentos da estomatite protética têm sido utilizados, porém preconiza-se como tratamento padrão a utilização de antifúngicos tópicos, como a nistatina ou o miconazol, e cuidados de higiene com a prótese, bem como sua remoção durante o período do sono noturno [4,7]. A nistatina é um antifúngico poliênico que, ao se ligar ao ergosterol da membrana celular fúngica, forma poros, alterando diretamente sua permeabilidade [15]. O miconazol atua inibindo a síntese do ergosterol, o que leva à destruição da membrana celular do fungo [9]. Entretanto, há casos de falha terapêutica e de recorrência rápida após a interrupção do tratamento, principalmente se não há implementação conjunta de medidas de higiene com a prótese [4]. Nos últimos anos, houve aumento de resistência das leveduras do gênero *Candida spp* frente aos antifúngicos disponíveis no mercado [16]. Além disso, antifúngicos apresentam toxicidade e risco de interações medicamentosas [17], o que pode limitar sua utilização em pessoas idosas [16].

Embora usados topicamente para o tratamento da estomatite protética, os antifúngicos podem ser absorvidos, e quando adentram a corrente circulatória, interagem com outros medicamentos que o paciente faz uso continuamente. Considerando que o tempo de tratamento é prolongado, pode ocorrer absorção de quantidades significativas do fármaco [18].

Estudos *in vitro* demonstraram que o miconazol é um potente inibidor das enzimas do citocromo P450, particularmente a CYP2C9 [19]. Portanto, em teoria, há alta possibilidade de interações entre o miconazol e uma grande variedade de medicamentos cuja metabolização seja hepática. Foi relatado um caso de síndrome serotoninérgica em paciente idoso, em uso de baixas doses de escitalopram (antidepressivo), frente a utilização de miconazol tópico para o tratamento de candidose bucal [20]. Um estudo clínico detectou potencialização do efeito anticoagulante da varfarina em pacientes que faziam seu uso continuado, frente à utilização de miconazol tópico, mas não à nistatina, para o tratamento de candidose bucal, mensurado pelo aumento do INR (International Normalized Ratio) [21]. Não há interações medicamentosas conhecidas para a nistatina [22], porém, esse medicamento é disponibilizado na forma de suspensão oral aquosa e deve ser bochechado e mantido o maior tempo possível na boca, pois não apresenta mucoadesão [15]. A utilização tópica de agentes antifúngicos depende diretamente da colaboração do paciente, pois seu uso intermitente expõe a cavidade bucal e a prótese a níveis inconstantes da droga, comprometendo o seu efeito clínico. Associado a esses fatores, a ação de diluição da saliva e ação mecânica da musculatura bucal reduzem a disponibilidade local do fármaco, levando a concentrações abaixo do nível terapêutico preconizado. O tratamento é mais eficaz quando há maior tempo de contato entre o antifúngico e a mucosa bucal, o que nem sempre ocorre quando da utilização da nistatina [18].

1.2 PRÓPOLIS E ROMÃ - PRODUTOS NATURAIS NA SAÚDE HUMANA

Considerando os dados elencados anteriormente, produtos naturais têm despertado o interesse como uma alternativa aos medicamentos sintéticos [17]. Dentre eles, a própolis vem ganhando destaque mundialmente [23]. É uma substância resinosa derivada de exsudados da biodiversidade brasileira, misturado com seiva floral, secreções salivares de abelha, cera e pólen. As abelhas a utilizam para recobrir a parede da colmeia, reforçar os favos, preencher as fissuras, restringir a entrada e embalsamar animais [23]. Apresenta atividade anti-inflamatória [23], anti-ulcerosa [24], antimicrobiana e cicatrizante [25], antioxidante [26] e antifúngica [27] em modelos experimentais. A própolis já teve sua segurança demonstrada por Reis et al.(2000) [23], uma vez que não se trata de produto citotóxico e não apresenta potencial mutagênico, quando administrada por via oral [28] ou tópica [29], além de ser

biocompatível com os tecidos humanos e causar pouca reação alérgica, podendo ser amplamente utilizada nos cuidados em saúde [30,31].

Estudos *in vitro* demonstraram atividade antimicrobiana do extrato etanólico de própolis sobre cepas de bactérias gram-positivas isoladas de pacientes, inclusive sobre *Staphylococcus aureus* e potencialização do efeito antimicrobiano de antibióticos como a ampicilina, gentamicina e estreptomicina sobre essas cepas [32].

Estudos clínicos demonstraram a eficácia da própolis no tratamento da giardíase, além de apresentar atividade anti- *Helicobacter pylori* e anti-*Candida*. Também parece apresentar capacidade de minimizar a proliferação de células neoplásicas, citada em uma revisão de 2017 [33] e proteger os tecidos e órgãos vitais contra as toxinas produzidas durante a quimioterapia [31]. Portanto, a própolis, em função das suas diversas propriedades, apresenta aplicações no tratamento de várias doenças, como nos distúrbios gastrointestinais, alergias, problemas ginecológicos, orais e dermatológicos [33].

Além da própolis, a romã também é conhecida popularmente por suas propriedades medicinais e tem despertado o interesse de diversos pesquisadores. Tradicionalmente é indicada como anti-inflamatório e antisséptico bucal [34,35]. Rica em polifenóis, possui atividades antimicrobiana, antiinflamatória [35] e antioxidante [17,35] e pode exercer papel importante contra células neoplásicas [36]. É o fruto da *Punica granatum*, árvore originária da Ásia e do Oriente Médio também encontrada na América do Sul [37,38].

A atividade antimicrobiana da *Punica granatum* foi investigada por meio de estudos relacionados à inibição da aderência celular, que sugerem seu uso no controle de diferentes espécies microbianas [39]. Extratos elaborados a partir da casca da *Punica granatum* em diferentes concentrações foram eficazes contra diversas espécies bacterianas, como *S. aureus*, *Escherichia coli* [39], *Salmonella enterica*, *Shigella sonnei*, *Enterococcus faecalis* e *Bacillus subtilis* [40], além de inibir a sobrevivência das cepas.

A punicalagina, um tanino elágico presente na romã, é um de seus principais constituintes antimicrobiano [35,40-42], e também apresenta atividade antifúngica contra *Candida albicans* e *Candida parapsilosis* [43]. As amostras de *Punica granatum*

que obtiveram melhores resultados contra as espécies de *Candida spp* foram as que apresentaram alta concentração de punicalagina como diferencial, além de outros taninos. Estes compostos bioativos podem ser responsáveis por mudanças na morfologia celular, por meio de alterações na parede e membrana celular, ocasionando inibição do crescimento e lise de células microbianas [42]. Os mecanismos para explicar a atividade antimicrobiana dos taninos incluem inibição de enzimas microbianas extracelulares, privação de substratos e íons metálicos necessários para o crescimento microbiano e ação direta no metabolismo microbiano através da inibição da fosforilação oxidativa [42].

A eficácia dos antimicrobianos usados rotineiramente na clínica médica foi comparada a do extrato etanólico de romã a 10% em um estudo no qual foram avaliadas 17 cepas de *S. aureus* de origem humana, coletadas ambulatorialmente. O extrato de romã foi capaz de inibir 100% das cepas analisadas, enquanto 64,7% apresentaram resistência à penicilina e à ampicilina [44].

A romã é usada no tratamento de vários problemas de saúde, incluindo os gastrointestinais [38]. Foi eficaz nos tratamentos de úlceras bucais [38,45], parasitoses, dispepsia, diabetes mellitus e nas injúrias da pele [38].

Ainda, a romã é fonte de compostos antioxidantes [46], sendo a maior parte desses concentrada na sua casca [46]. A capacidade antioxidante da romã e dos seus produtos derivados deve-se também à presença das punicalaginas [47]. Outras substâncias protetoras incluem os fitoestrogênios, polifenóis, elangitaninos e anticianinas [48].

1.3 ESTUDOS PRÉ-CLÍNICOS E CLÍNICOS COM PRÓPOLIS SOBRE A SAÚDE BUCAL

Foram realizados estudos de atividade anti-*Candida* com extratos padronizados de própolis nas apresentações alcoólica, aquosa, micropartículas e extrato seco solúvel em água em modelos *in vitro*. Os resultados encontrados demonstraram que o extrato alcoólico foi o mais potente, sendo a *C. glabrata* e *C. parapsilosis* as mais resistentes, requerendo a concentração de 14 mg/mL de própolis para a ação fungicida [49], desse modo, em modelos *in vitro*, a concentração de 1,4% seria suficiente para a eliminação de 10^5 células/mL.

A própolis apresenta eficácia no tratamento da doença periodontal, testada *in vitro* e em animais [31], além de humanos [50], comprovada pela redução do sangramento à sondagem e redução da profundidade de bolsas periodontais.

O extrato de própolis parece exercer papel antibacteriano contra a formação do biofilme dental [31,51] controlando a microbiota cariogênica [52-54] e aquela associada à gengivite [55], em diversas formas de apresentação como o verniz [30,56] ou pasta dental [57,58]. É mais eficaz contra aeróbios Gram (+) do que aeróbios Gram (-) [54].

O extrato etanólico de própolis a 1,5% associado a pasta dental demonstrou atividade antifúngica, quando comparado ao fluconazol, em usuários de próteses parciais removíveis que apresentaram estomatite protética. Nesse estudo, foi observada atividade contra *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* e *Trichosporon spp* [54].

Silva et al (2000) observaram que a solução alcóolica de própolis a 10% estimulou a reparação tecidual da mucosa bucal de ratos, após indução mecânica de lesões, sugerindo a possibilidade do uso em humanos [59]. Os bochechos contendo própolis demonstraram eficácia na cicatrização de feridas cirúrgicas [54] e seu uso como enxaguante bucal parece promissor [52] no tratamento da mucosite induzida por quimioterapia em humanos [31]. Um ensaio clínico randomizado e controlado por placebo demonstrou eficácia do enxaguatório bucal contendo própolis para o tratamento da mucosite induzida por quimioterapia com a cura de 65% dos pacientes após 7 dias de tratamento [57].

Outros efeitos benéficos da própolis também foram descritos no tratamento das ulcerações ortodônticas traumáticas, halitose, xerostomia, liquen plano, queilite angular, pericoronarite [52], sensibilidade dentinária [31,52], doenças periodontais [54] e estomatite protética [1,52,61,62,63].

Considerando que a composição da própolis depende da biodiversidade e do solo, varia portanto conforme a região da qual a mesma é extraída; a falta de padronização da composição da mesma pode ser um fator dificultador da comparação entre os estudos que utilizam diferentes tipos de própolis.

1.4 ESTUDOS PRÉ-CLÍNICOS E CLÍNICOS COM *Punica granatum* SOBRE A SAÚDE BUCAL

A atividade antimicrobiana e antifúngica da *P. granatum* foi demonstrada em diversos estudos *in vitro*, por meio da utilização do extrato alcoólico das cascas (ENDO,2010) [43], micropartículas encapsuladas com quitosana e alginato (ENDO,2012) [34] e solução a 100mg/mL [64].

A *P. granatum* parece ter um efeito inibitório sobre a síntese do glucano, produzido pelo *S. mutans*, interferindo no mecanismo de aderência do microrganismo sobre a superfície dentária, superior à clorexidina, em estudo *in vitro* [65]. O chá de *P. granatum* reduziu significativamente o número de UFC/mL de microrganismos orais aderidos à superfície das ligaduras elastoméricas ortodônticas, sugerindo o seu uso como meio alternativo para o controle químico do biofilme dental em usuários de aparelhos ortodônticos [66].

A romã tem efeito antimicrobiano específico sobre as bactérias presentes na placa supragengival, além de *C. albicans*; *E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. aureus* em estudos *in vitro* [65,67]. Em outro estudo *in vitro*, conduzido por Vasconcelos (2006), investigou-se a atividade do gel de *P. granatum* contra bactérias e leveduras isoladas ou em grupos, tendo demonstrada sua maior eficácia sobre a inibição da adesão microbiana quando comparada ao gel de miconazol. A *P. granatum* em gel, mas não o miconazol, foi eficaz na inibição da adesão de algumas associações como *S. mutans* + *S. mitis* + *S. sanguis*; *S. mutans* + *S. mitis* + *S. sanguis* + *C. albicans* e *S. mutans* + *S. mitis* + *S. sanguis* [68]. Os resultados indicaram que a ação antimicrobiana conferiu ao gel de *P. granatum* um controle do biofilme dental já formado. Os achados deste estudo sugerem a possibilidade do uso do gel *P. granatum* no controle de bactérias e leveduras responsáveis por infecções bucais como cárie, doença periodontal e estomatite protética [68]. A redução do sangramento gengival presente na doença periodontal foi observada frente ao uso de enxaguatório contendo extrato etanólico de *P. granatum*, semelhante aos resultados obtidos com o uso de solução de clorexidina a 0,12%, em ensaio clínico realizado com humanos [69].

Em 2016, Schreiner avaliou a ação antibacteriana de medicação intracanal à base do extrato de *P. granatum* em gel a 0,5% g/mL contra *Enterococcus faecalis* em

estudo *in vitro* e *ex vivo* e observou redução de 96% sobre a contagem de UFC/mL após instrumentação endodôntica [70].

O estudo conduzido por Ghalayani et al. (2013) avaliou a eficácia do gel oral à base do extrato etanólico das flores de *P. granatum* a 10% no manejo clínico da afta recorrente em ensaio clínico com humanos. Foi observada a melhora clínica, incluindo a redução da dor e a diminuição do tempo de cicatrização das lesões, sendo a adesão do paciente, a facilidade de uso e os efeitos colaterais mínimos citados como vantagens do uso da romã [71].

O gel de *P. granatum* Linn a 6,25% foi capaz de prevenir a ocorrência de candidose bucal em pacientes submetidos à radioterapia associada ou não à quimioterapia para tratamento de carcinoma de células escamosas na região de cabeça e pescoço [72].

1.5 TRATAMENTO DA ESTOMATITE PROTÉTICA POR MEIO DE PRODUTOS NATURAIS (PRÓPOLIS E ROMÃ)

As atividades antifúngica e anti-inflamatória da própolis justificaram a hipótese de ser utilizada como tratamento local da estomatite protética. Em 2001, um estudo *in vitro* testou a sensibilidade da *Candida spp* à própolis, demonstrando maior sensibilidade de *C. albicans* quando comparada com a *C. guilliermondii*, *C. tropicalis* e *C. krusei*. Na fase clínica do mesmo estudo a solução hidroalcoólica de própolis a 6%, demonstrou redução significativa do número de leveduras de *Candida spp* presentes na saliva dos participantes [73].

Ensaio clínico demonstraram a eficácia da própolis sobre o tratamento da estomatite protética, tanto na formulação de extrato etanólico a 20% [74], como na formulação de gel a 10% sem álcool [62] ou gel a 20% [75]. O desfecho considerado para esses estudos foi a cura clínica, ou seja, o desaparecimento das lesões. Entretanto, outro ensaio clínico, avaliou o aspecto clínico das lesões por estomatite protética de acordo com a classificação de Newton (detalhada no item 2.7), usada para a avaliação da estomatite protética, e o grau de eritema proposto por Budtz-Jorgensen, e também foi realizada citologia esfoliativa da mucosa palatina pelas técnicas de *Papanicolaou* e PAS (Periodic Acid Schiff) [76]. Os resultados desse estudo demonstraram ausência de atividade antifúngica do extrato aquoso de própolis

a 5%, que apresentou rápido início de ação quanto ao desaparecimento das lesões, porém sem manutenção do efeito até o final do tratamento [76].

O estudo clínico conduzido por Capistrano et al (2013) demonstrou a eficácia clínica e microbiológica de dois produtos à base de própolis verde, sendo um gel a 2,5% e o outro, bochecho de solução aquosa a 24% em comparação ao gel de miconazol a 2% [1]. Pina et al (2017), em um ensaio clínico de não inferioridade, usado para provar que um produto é não inferior a outro, ou seja, que o benefício é um pouco menor, porém justificado por algumas vantagens (preço, efeito adverso), testaram a eficácia clínica e a segurança de uma formulação muco-adesiva à base de gel contendo extrato padronizado de própolis a 2% (EPP-AF®) comparada ao gel de miconazol a 2%. Os resultados demonstraram taxa de cura clínica e segurança igual entre os grupos, porém a cura microbiológica foi superior no grupo miconazol [63].

Poucos estudos sobre o uso da romã no tratamento da estomatite protética são encontrados; em um deles, Vasconcelos et al (2003) demonstraram que o gel de *Punica granatum* Linné pode ser uma opção como antifúngico tópico no tratamento da estomatite protética quando comparado ao gel oral de miconazol, sendo a eficácia atestada por meio de avaliação clínica e micológica [61].

Em outro estudo, a própolis e a romã foram testadas separadamente, sendo a eficácia clínica e microbiológica demonstradas para ambas. O gel de *P. granatum* proporcionou a maior redução da carga fúngica da mucosa palatina de pacientes portadores de estomatite protética, sendo a avaliação realizada a longo prazo, 30 dias após o término do tratamento com o produto [77].

A despeito das diversas publicações acerca do romã sobre a adesão do biofilme bucal e várias situações que envolvem a Odontologia, nota-se que há escassos trabalhos publicados acerca da eficácia da romã no tratamento da estomatite protética. Não há artigos publicados sobre a sua associação com própolis no tratamento de doenças bucais. Diante do exposto, o objetivo do nosso estudo foi avaliar a eficácia da própolis associada ao romã no tratamento da estomatite protética, em pessoas idosas.

1.6 JUSTIFICATIVA

A justificativa foi estudar a associação de dois produtos naturais como tratamento inovador da estomatite protética, com custo mais acessível e evitar os efeitos adversos dos antifúngicos.

1.7 HIPÓTESE

A hipótese alternativa deste estudo é de que a eficácia da associação da própolis e romã (Apiromã®) é não inferior à eficácia do miconazol (Daktarin gel oral®) no tratamento da estomatite protética.

1.8 OBJETIVOS

1.8.1 GERAL

Comparar a eficácia de uma formulação em spray à base de mel com Extrato Padronizado de Própolis (EPP-AF®) contendo Extrato de romã (*Punica granatum*) (Apiromã®), no tratamento da candidose bucal atrófica crônica (estomatite protética) ao tratamento com gel de miconazol (Daktarin gel oral®).

1.8.2 ESPECÍFICOS

- a. Quantificar e comparar o número de unidades formadoras de colônias (UFC) de *Candida sp* antes e depois de ambos os tratamentos, com spray à base de própolis associado a *Punica granatum* (Apiromã®) e gel oral de miconazol (Daktarin gel oral®);
- b. Avaliar a melhora clínica das lesões por meio da classificação de Newton;
- c. Avaliar a segurança por meio da taxa de eventos adversos por grupo e por teste de aceitabilidade dos produtos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 DESENHO DO ESTUDO

Trata-se de ensaio clínico de eficácia de não inferioridade, randomizado, aberto, de 2 braços paralelos, com controle ativo e de fase IV.

O Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília aprovou este estudo (parecer 3.033.121; CAAE 81889717.7.0000.0030), que foi registrado na ReBEC (Registro Brasileiro de Ensaio Clínicos) (RBR-6YF4CV).

2.2 RANDOMIZAÇÃO E ALEATORIZAÇÃO

Os participantes foram distribuídos aleatoriamente nos grupos de estudo obtido por tabela de aleatorização gerada eletronicamente no site <http://www.graphpad.com/quickcalcs>, GraphPad Software, Inc.

A examinadora já recebeu de sua assistente o produto pesado destinado ao paciente de acordo com a lista gerada pelo programa, não tendo assim conhecimento sobre o próximo medicamento que era entregue.

2.3 PARTICIPANTES

Os pacientes usuários de prótese removível com cobertura palatina foram recrutados na unidade de Ceilândia do Serviço Social do Comércio do Distrito Federal (SESC – DF) entre os meses de junho a agosto de 2018. Todos os voluntários concordantes em participar da pesquisa assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice II).

2.4 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE

Os critérios de inclusão foram apresentar idade igual ou superior a 60 anos, ser usuário de prótese total ou parcial removível com cobertura palatina e apresentar estomatite protética.

Os critérios de exclusão foram a utilização de qualquer tipo de antifúngico, antibiótico e anti-inflamatório por 2 meses previamente à seleção para o estudo e apresentar demência ou declínio cognitivo.

2.5 INTERVENÇÕES

Os participantes foram distribuídos aleatoriamente em 2 grupos, sendo o Grupo controle (C) tratado com gel oral de miconazol a 2% de uso tópico como tratamento comparador (Daktarin gel oral ®) e Grupo própolis + romã (PR) foi tratado com uma formulação spray contendo extrato de própolis a 0,5% e extrato de *Punica granatum* a 0,9% (Apiromã ®), também de uso tópico. A composição do produto em teste é extrato de própolis, extrato de *P. granatum*, mel, goma xantana (estabilizante) e água. Os dois produtos foram cedidos pela Apis Flora (Figura 1).



Figura 1 – Produtos utilizados: Apiromã ® e Daktarin gel oral ®

2.6 CARACTERIZAÇÃO DOS GRUPOS DE ESTUDO

No primeiro dia (T0), dados pessoais (nome, idade, gênero, endereço e telefone de contato) e de história clínica foram coletados por meio da anamnese. Os participantes também foram inquiridos sobre o hábito de dormir com a prótese, o tempo de utilização da prótese em questão e hábitos de higiene com a mesma (frequência de higienização e produtos utilizados), além de queixas de xerostomia e disgeusia.

2.7 AVALIAÇÃO CLÍNICA DA ESTOMATITE PROTÉTICA

O exame físico da mucosa foi realizado, no primeiro dia de avaliação (T0), por uma única examinadora, treinada e calibrada previamente, sendo adotado o critério de classificação clínico proposto por NEWTON(1962) para avaliação da estomatite protética, conforme a descrição abaixo (Figura 2) [78]:

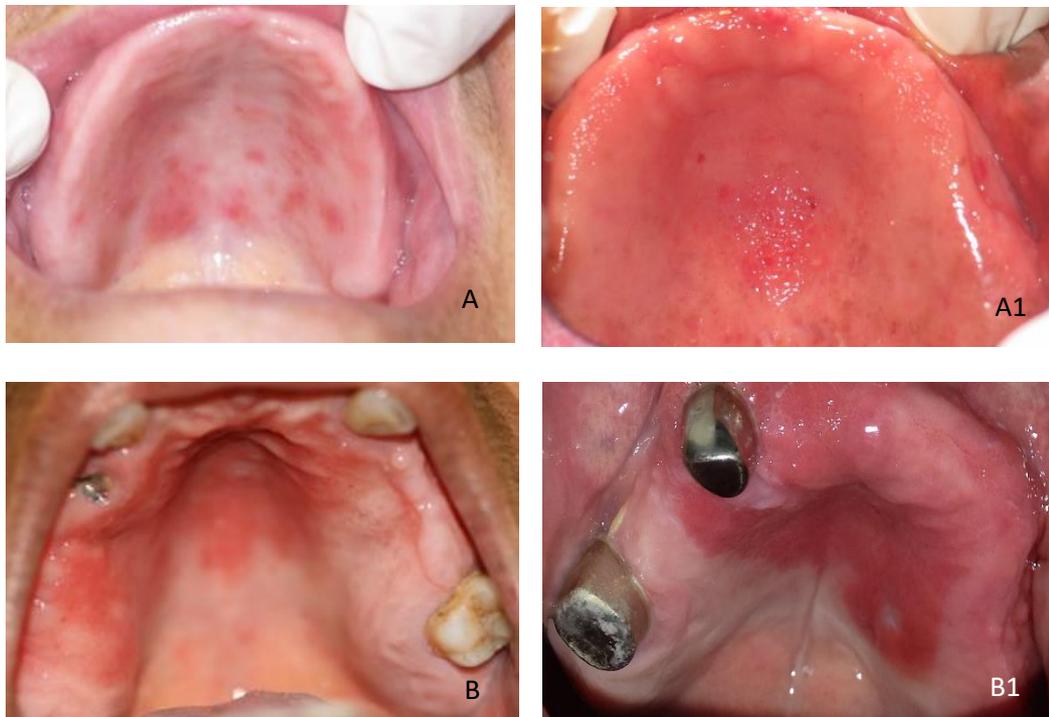
tipo I - inflamação localizada ou pontos de petéquias hemorrágicas;

tipo II - eritema mais difuso envolvendo uma parte ou totalidade da área recoberta pela prótese;

tipo III - eritema associado a hiperplasia papilar na área recoberta pela prótese.

Os critérios de desligamento de estudo basearam-se nas faltas às consultas. Todos os participantes incluídos no estudo compareceram a todos os atendimentos (T0, T7 e T14).

Todos os efeitos adversos foram anotados.



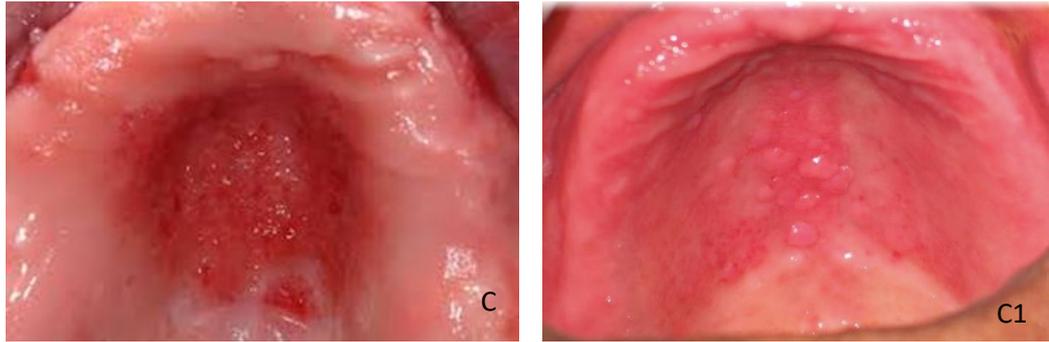


Figura 2 – Aspectos clínicos da mucosa palatina de acordo com a classificação de Newton Tipo I: inflamação localizada ou hiperemia puntiforme (A, A1), Tipo II: eritema difuso (B, B1) e Tipo III: hiperplasia papilar (C, C1).

Fonte: arquivo pessoal da autora

2.8 PROTOCOLO DO ESTUDO

Os participantes passaram por exame físico inicial (T0) e foram reexaminados após 7 (T7) e 14 (T14) dias de tratamento, sendo classificadas as lesões ou anotação do desaparecimento das mesmas em todas os momentos de avaliações. As lesões foram fotografadas e discutidas com um segundo profissional quando houve dúvida na classificação. Foram coletados bochechos com soro fisiológico nos tempos T0 e T14 para análise microbiológica, conforme descrito no item 2.9.1.

Os participantes receberam o tratamento de acordo com a sua alocação no grupo de estudo e foram orientados a aplicar fina camada do gel de miconazol ou borrifar (2-3 nebulizações) da formulação da própolis e romã sobre mucosa palatina e a superfície interna da prótese, três vezes ao dia, após a realização da higiene bucal, durante quinze dias. Todos foram orientados a realizar a higiene bucal e da prótese, borrifar a base da prótese com solução de digluconato de clorexidina a 0,12%, remover o excesso com papel toalha e aplicar o produto recebido. Também foram orientados a retirar a prótese durante o período do sono e acomodar em recipiente com água. Os participantes receberam todas as orientações por escrito bem como os produtos previamente pesados e um frasco de clorexidina 0,12% spray. A Figura 3 mostra o resumo do protocolo de pesquisa.

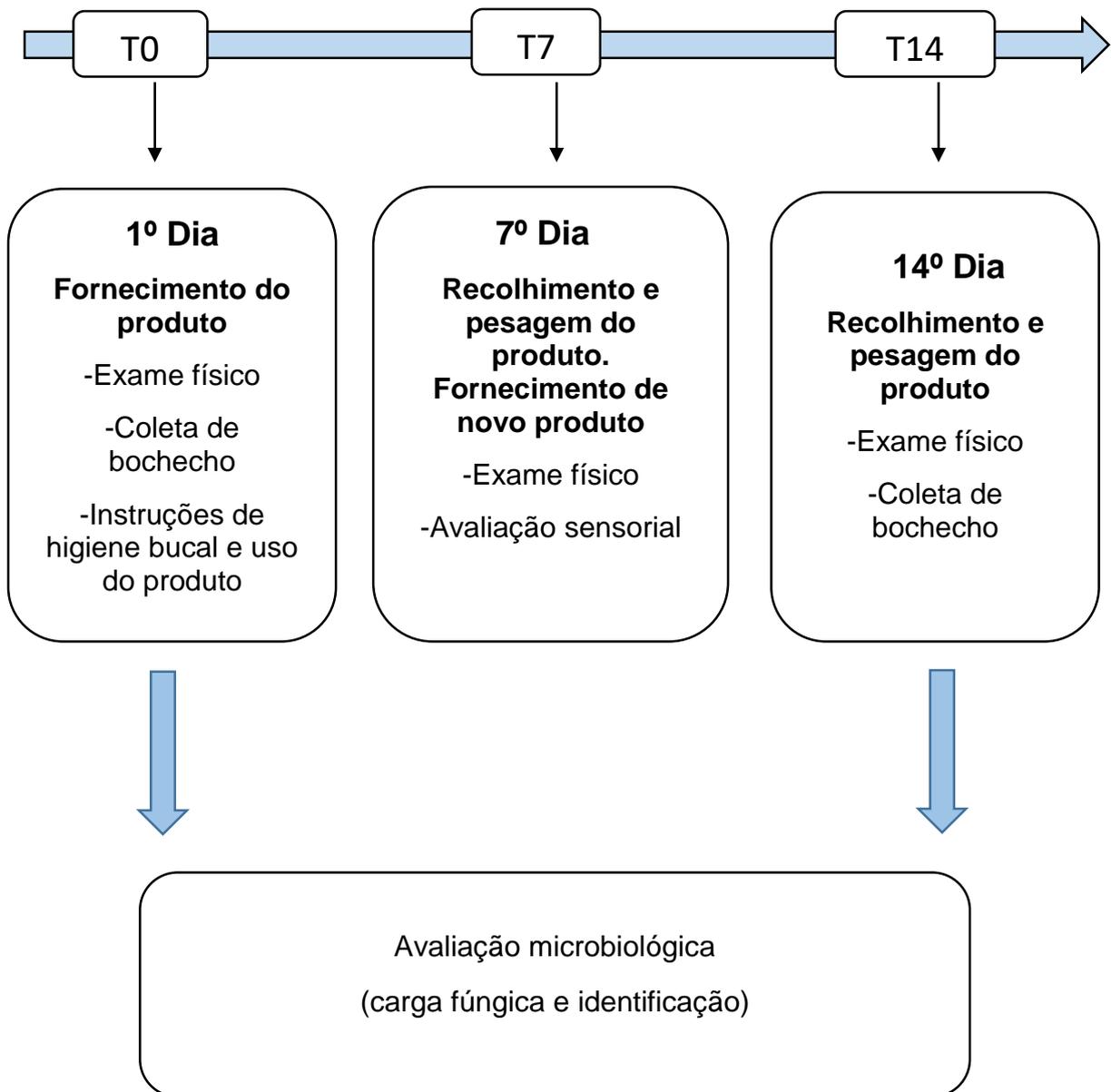


Figura 3: Protocolo de pesquisa

2.9 AVALIAÇÃO DA CARGA FÚNGICA

2.9.1 COLETA DAS AMOSTRAS BIOLÓGICAS

Aos participantes da pesquisa solicitou-se que realizassem bochecho com 20 mL de solução estéril de cloreto de sódio a 0,9%, durante 30 segundos. O líquido do bochecho foi desprezado diretamente em um tubo estéril de fundo cônico de 50 mL,

sendo as amostras coletadas como descrito em trabalhos prévios [63,79-82]. Os tubos foram armazenados refrigerados imediatamente após a coleta até o transporte ao laboratório. As coletas ocorreram com um período mínimo de uma hora após a última refeição e higiene bucal, nos tempos T0 e T14. Em estudo piloto, Pina et al (2017) verificaram que a quantidade de UFC obtida em 20 mL de solução salina em 30 segundos, foi superior ao bochecho realizado pelos mesmos pacientes com 10 mL de solução salina por 20 segundos. O bochecho de 20 mL de solução salina foi escolhido por melhor quantificar e isolar as espécies [63]. A opção por realizar os bochechos foi porque os idosos sofrem de hipossalivação, o que poderia dificultar a coleta na quantidade desejada.

2.9.2 CONTAGEM DE UNIDADES FORMADORAS DE COLÔNIA – UFC

Antes da semeadura as amostras foram balanceadas e centrifugadas por 10 minutos a 4°C e 4.000 x g, o sobrenadante foi descartado e o precipitado ressuspenso em 1 mL de solução de cloreto de sódio 0,9%, seguido por 4 diluições seriadas na proporção 1:10. A amostra não diluída direto do tubo (10^0) foi semeada usando 30 microlitros; a segunda diluição usando 0,1 mL da amostra inicial em 0,9 mL de solução de cloreto de sódio 0,9%, sendo esta a diluição de 10^{-1} (1:10). Em seguida, foi realizada a segunda diluição coletando 0,1 mL da diluição anterior (10^{-1}) em 0,9 mL de solução de cloreto de sódio 0,9%, sendo esta 10^{-2} (1:100). Foram realizadas as diluições até 10^{-4} . Quinze microlitros de cada diluição foram semeados por gotejamento em placas estéreis contendo o meio de cultura Sabouraud dextrose agar (SDA) (Difco, Detroit, MI, USA) preparado conforme instruções dos fabricantes e acrescido de 5 ml de cloranfenicol 0,1 g/mL para 1.000 mL do meio. Uma outra placa foi semeada por esgotamento em meio CHROMagar Candida® (CHROMagar Company, Paris, France) com a diluição 10^{-1} , para identificação das espécies, suplementado com cloranfenicol. As placas foram incubadas em estufa a 37°C por 48–72 h e as que não apresentaram colônias foram incubadas até 120h. As colônias identificadas no meio CHROMagar Candida® foram contadas e a carga fúngica foi expressa em Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por mililitro de lavado oral (UFC/mL). Algumas placas de CHROMagar em que o crescimento foi quase nulo, a contagem foi realizada pela soma de todas as colônias cultivadas nas placas com meio Agar Sabouraud.

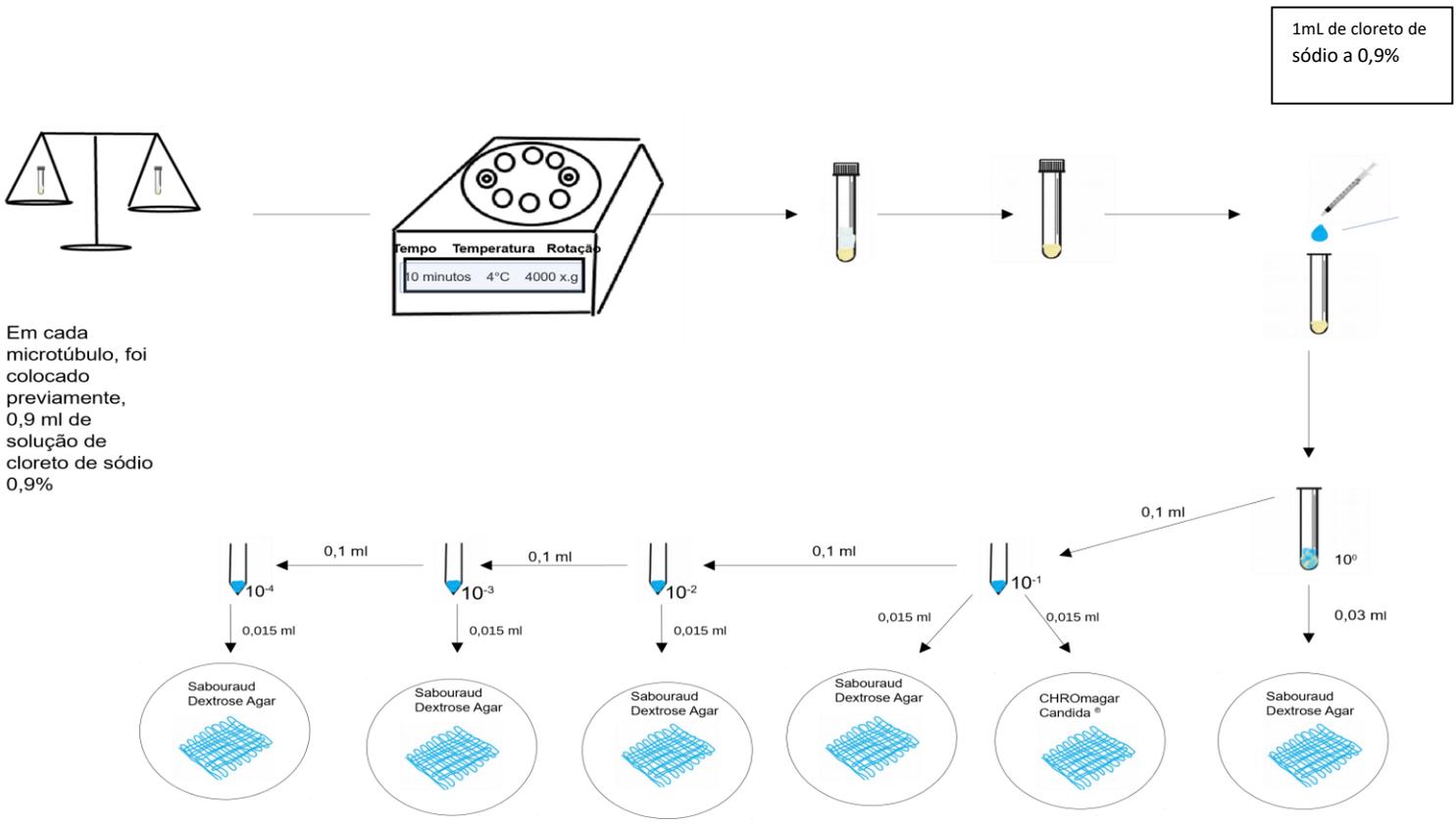


Figura 4 – Esquema dos procedimentos executados no laboratório

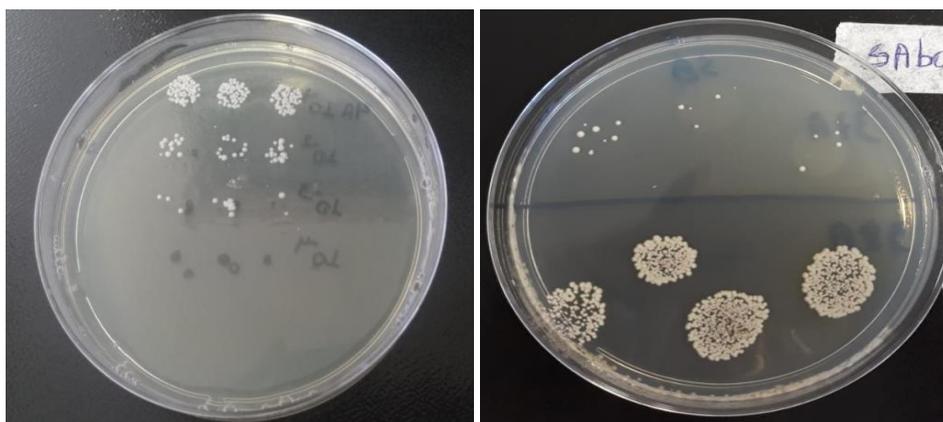


Figura 5 – Crescimento microbiano em placas Sabouraud

Fonte: Fotos do arquivo pessoal da autora

O CHROMagar *Candida* é um meio de cultura seletivo utilizado para a identificação de espécies de *Candida* através de diferentes colorações formadas pelas colônias devido ao substrato cromogênico presente no meio (Figuras 6 e 7) [81].

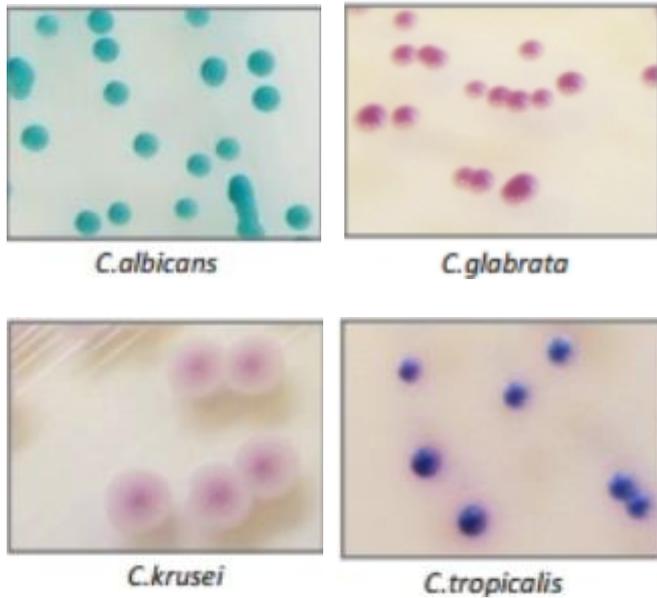


Figura 6 – Cores de identificação das *Candidas* no meio Chromagar *Candida*

Fonte: Fotos do site CHROMagar Company

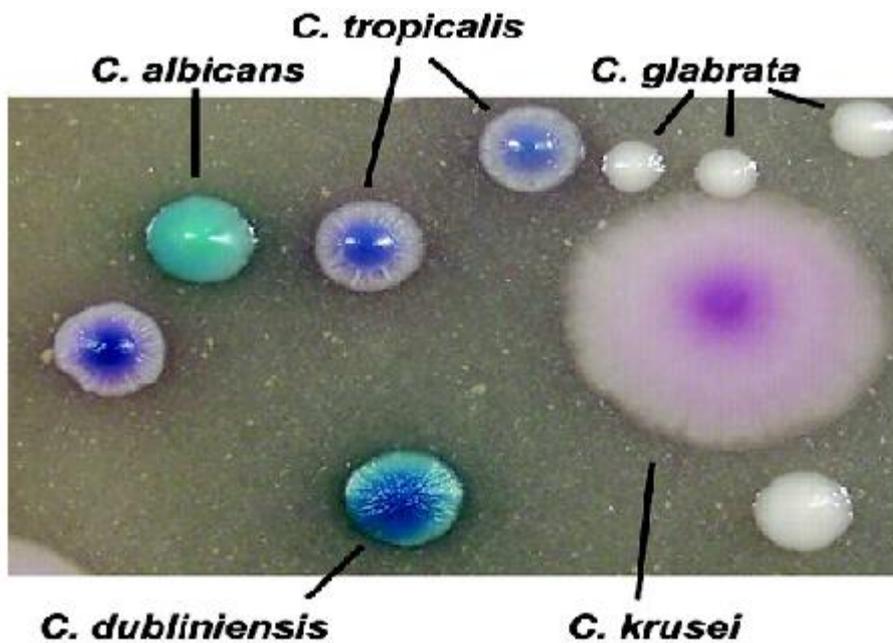


Figura 7 – *Candidas* identificadas por cores no meio Chromagar *Candida*

Fonte: Fotos do site CHROMagar Company

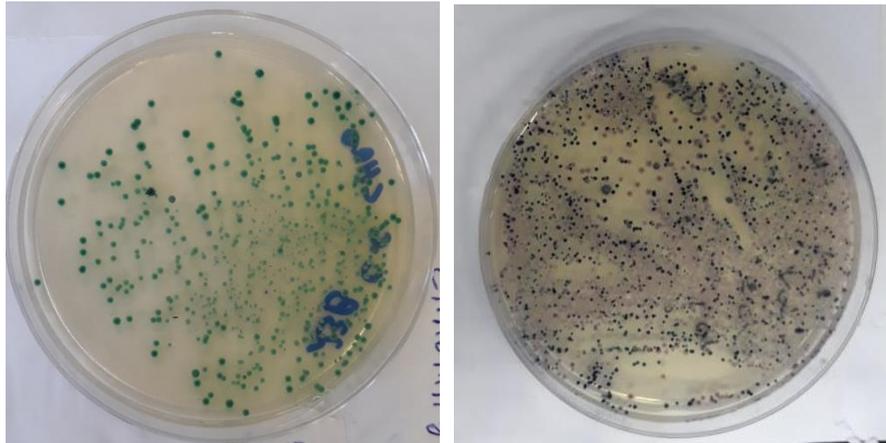


Figura 8 – Crescimento microbiano em placas Chromagar (diferentes espécies de *Candida*)

Fonte: Fotos do arquivo pessoal da autora

2.10 AVALIAÇÃO DA ADESÃO AO TRATAMENTO

Os frascos dos produtos teste (APIROMÃ®) e as bisnagas de miconazol (Daktarin gel oral ®) foram pesadas antes e ao término do protocolo nos tempos T0, T7 e T14. Foram considerados aderentes os pacientes que apresentaram o consumo do produto dentro do intervalo da média de consumo, acrescido de 2 desvios-padrão.

2.11 AVALIAÇÃO DE SEGURANÇA E ANÁLISE SENSORIAL

Foram anotados os eventos adversos reportados pelos participantes. Por ser produto de uso tópico, a análise sensorial por escala Hedônica de 7 pontos foi utilizada para a comparação da aceitação dos produtos. A escala adaptada de Dutcosky (1987) descrita abaixo foi a utilizada[83]:

Escala Hedônica

7 - gostei muitíssimo

6 - gostei muito

5 - gostei moderadamente

4 - nem gostei/nem desgostei

3 - desgostei moderadamente

2 - desgostei muito

1 - desgostei muitíssimo

2.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA E DETERMINAÇÃO DO TAMANHO AMOSTRAL

O desfecho principal foi a taxa de resolução da candidose, definida como ausência de lesão clínica e redução maior que 90% das UFC. O nível de significância considerado foi para $p < 0,05$ e a hipótese em teste foi que o tratamento com própolis+romã é não-inferior ao tratamento padrão com miconazol 2%. A determinação do tamanho amostral utilizou a estratégia descrita por Chow et al (2003) [84] para estudos de delineamento paralelo de 2 braços com desfecho dicotômico. A expressão para o tamanho amostral foi dada por: $n = \frac{[(z_{\alpha} + z_{\beta})]^2 p(1-p)}{(p-p_0-\delta)}$ em que δ é a margem de não inferioridade, p é a taxa de resposta esperada no grupo tratamento, p_0 é a resposta esperada no grupo controle, α é o nível de significância e $1-\beta$ é o poder do teste de hipóteses. Baseado em dados anteriores (Pina et al, 2017) [63], foi adotada uma margem de não inferioridade de 0,15 (15% de variação entre os tratamentos consideradas não clinicamente significativos), uma taxa de resposta com miconazol de 70%, uma taxa de resposta com a própolis associado ao romã de 70%, um nível de significância de 5% e um poder de 80%. De acordo com essas premissas, foi calculado um tamanho amostral de 18 indivíduos por braço. Observou-se que ao se adotar uma margem de não inferioridade de 0,2, o tamanho amostral por braço foi calculado como $n = 14$. Assim, para uma avaliação mais conservadora e considerando uma taxa de abandono de 10%, 20 participantes por braço ($n=40$) foram recrutados. Para os desfechos secundários, foram utilizados o teste de qui-quadrado (comparação entre as taxas de evento adverso) e teste de Mann-Whitney para a avaliação da aceitabilidade, ambos com valor de $p < 0,05$.

3. RESULTADOS

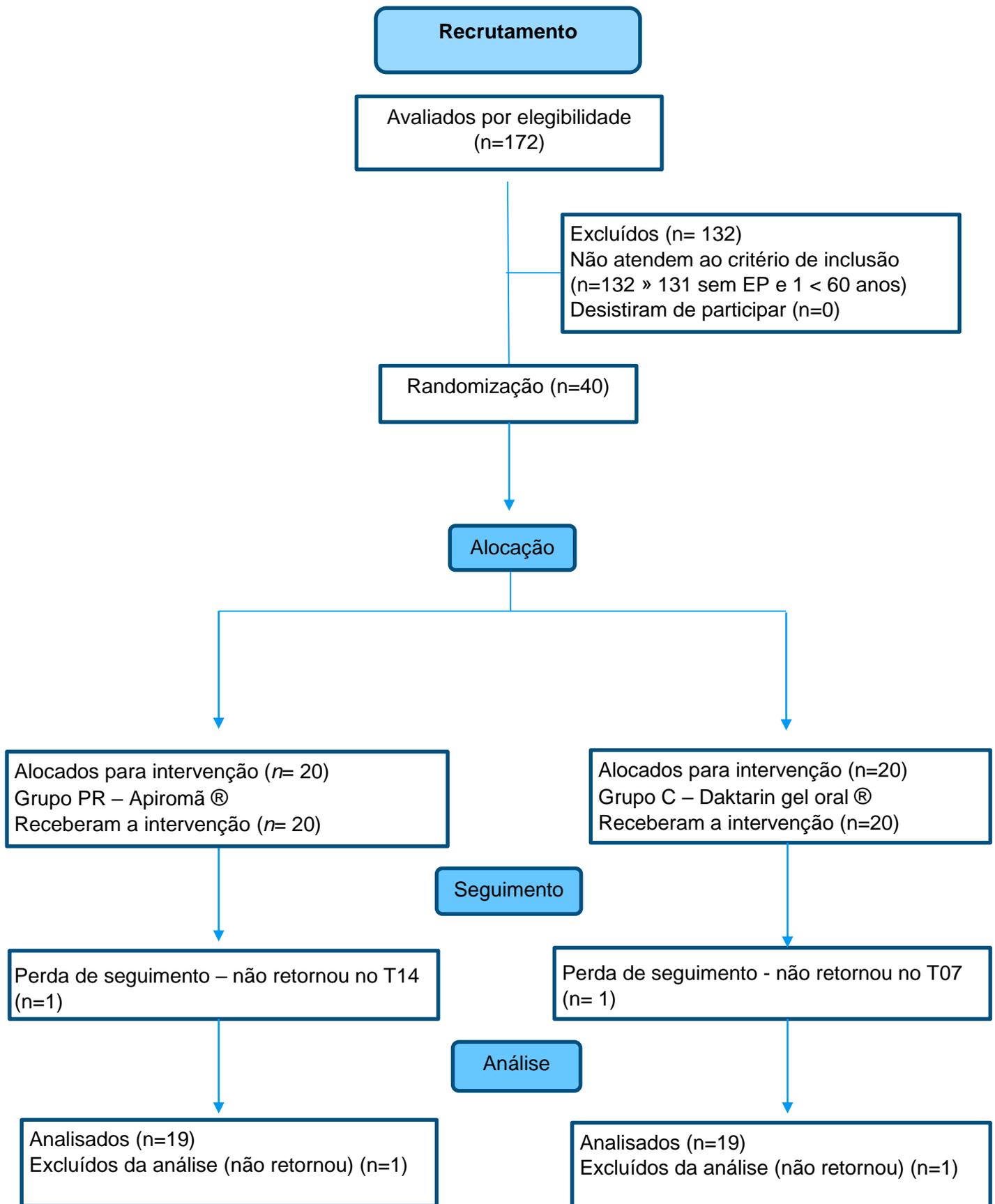


Figura 9: Fluxograma CONSORT do estudo

Foram avaliados 172 participantes, no período compreendido entre os meses de junho a agosto de 2018. Dos 172 participantes, 132 foram excluídos (131 não apresentavam estomatite protética e 1 apresentou idade inferior a 60 anos) e 40 foram alocados no protocolo de pesquisa. A Figura 9 acima mostra o fluxograma do protocolo de pesquisa de acordo com o CONSORT (Consolidated Standards of Reporting Trials).

3.1 CARACTERÍSTICAS DOS GRUPOS

O Quadro 1 resume as características dos grupos de participantes, demonstrando sua semelhança, exceto em relação à idade. Houve predomínio do sexo feminino e da cor branca. Os dados relativos à xerostomia e disgeusia foram informados como número médio de participantes que apresentaram as queixas.

Quadro 1: Características dos grupos estudados. Dados expressos como média e desvio padrão, proporção e distribuição percentual

	Grupo PR	Grupo C	P - Valor
Idade (anos)	72 (± 6)	69 (± 5)	0,02
Gênero (M/F)	1/19	2/18	0,99
Cor da pele (% brancos)	65	50	0,52
Tempo de uso de prótese (anos)	30 (± 6)	28 (± 13)	0,62
Idade da prótese atual (anos)	9,05 (±7,62)	7,72 (±5,64)	0,12
Frequência diária de higiene da prótese (*)	3 (2 - 3)	3 (1 - 3)	0,23
Escore de Newton inicial (T0)	1,8 (± 0,8)	1,9 (± 0,8)	0,70
Xerostomia	0,65 (±0,48)	0,70 (± 0,47)	0,12
Disgeusia	0,45 (±0,51)	0,40 (± 0,50)	0,12

* número de vezes por dia, e número mínimo e máximo entre parênteses

O número médio de medicamentos utilizados por idoso nesse estudo foi de $2,97 \pm 2,03$, sendo as classes medicamentosas mais utilizadas os anti-hipertensivos (60,5%), os diuréticos (39,4%) e os hipoglicemiantes (26,3%).

3.2 EFICÁCIA CLÍNICA

Observou-se redução do escore de Newton (grau da inflamação obtida pela classificação de Newton - Figura 2) semana-dependente. Na primeira semana, houve melhora clínica somente no grupo comparador (miconazol). Na segunda semana de tratamento, observou-se melhora clínica em ambos os grupos (Figuras 10A e 10B).

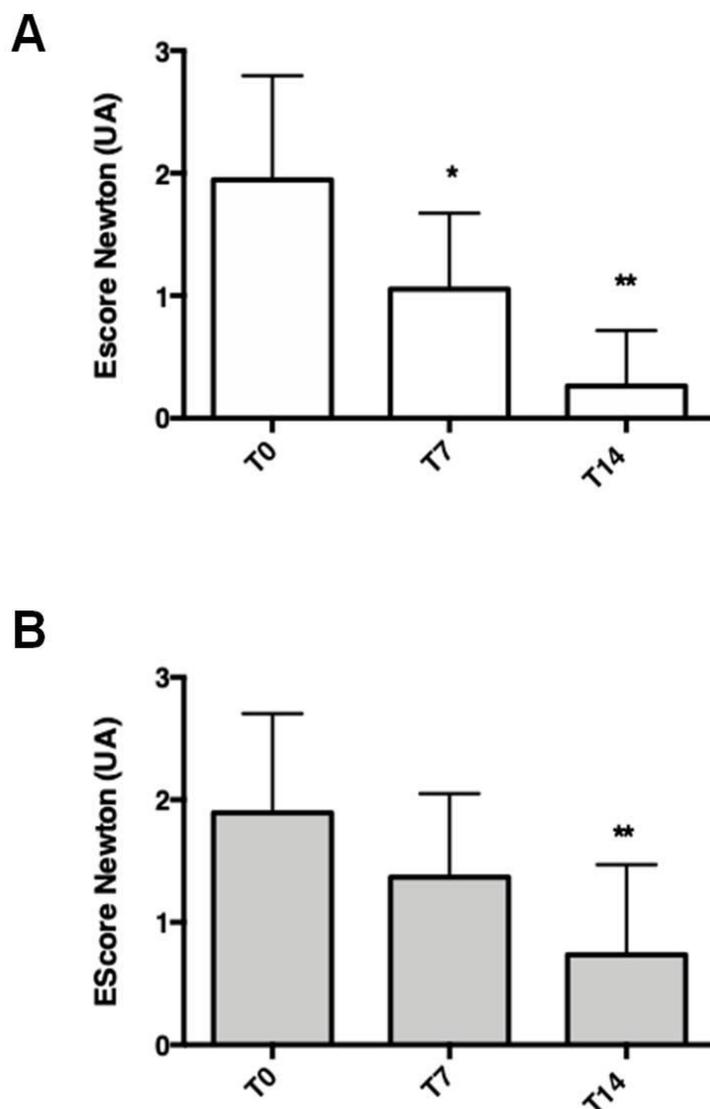


Figura 10: Escore de Newton de acordo com os tempos T0, T7 e T14 para o grupo C (Painel A, barras brancas) e grupo PR (Painel B, barras cinzas) * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$; T7 ou T14 vs T0

A magnitude do efeito (dada pela subtração dos escores de Newton T0 – Newton T14) foi de 1,6 pontos para o grupo C e de 1,2 pontos para o grupo PR. Ao final do estudo, o escore médio do grupo C foi de 0,3. Já o grupo PR apresentou média do escore de Newton ao T14 do estudo de 0,7. O teste de Mann-Whitney demonstrou que a magnitude do efeito entre os dois grupos foi diferente, sendo maior para o grupo C ($P=0,02$).

A taxa de cura clínica no grupo C foi de 0,75 ao final do estudo e para o grupo PR foi de 0,40, corroborando a análise acima, que mostra uma diferença em favor do produto à base de miconazol com $P=0,02$, demonstrado pelo teste Qui-quadrado. Entretanto, a hipótese em teste é que o produto à base de própolis com romã - Apiromã® é não-inferior ao Daktarin gel oral®. Assim o cálculo das margens de não-inferioridade (NI), considerando o *Guideline FDA* (2010) [85] para produtos antibióticos foi demonstrado no Quadro 2.

Quadro 2: Taxa de cura (porcentagem) e margem de não inferioridade (NI) para o Daktarin gel oral e Apiromã®

Produto	Taxa cura	Margem NI (15%)
Daktarin gel oral®	0,75	0,52 – 0,98
Apiromã®	0,40	0,16 – 0,64

3.3 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

3.3.1 CURA MICROBIOLÓGICA

A evolução da cura microbiológica foi mensurada pela contagem de unidades formadoras de colônia (UFC). Verifica-se que houve redução estatisticamente significativa do número de UFC/mL no grupo C ($P<0,0001$), mas não do produto em teste (Apiromã®, $P=0,70$). O Quadro 3 sumariza o resultado da mediana com valores de interquartil 25-75% e a Figura 11 representa o box-plot para estes dados, demonstrando redução significativa do número de UFC/mL ($*P<0,0001$) somente para o grupo C, comparando-se o T0 ao T14.

Quadro 3: Distribuição das medianas e valores interquartis (25 – 75%) para o número de UFC/mL entre os grupos C (Daktarin gel oral ®) e o PR (Apiromã ®) * P<0,0001 T0 vs. T14

Grupo	T0	T14
C	3935 (275 – 11280)	0,0 (0,0 – 220)*
PR	1174 (250 – 8254)	1554 (0,0 -12494)

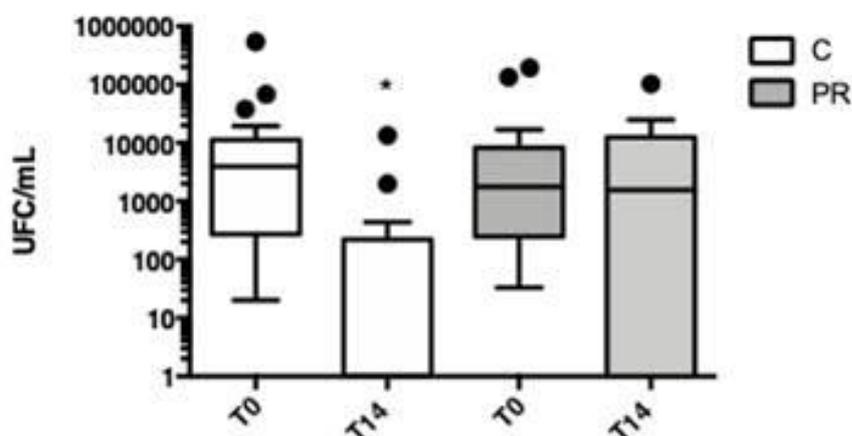


Figura 11: Box plot de Tukey para os grupos C (barras brancas) e PR (Barras Cinzas). Houve redução significativa do número de UFC/mL apenas no grupo C (*P<0,0001, T0 vs T14)

3.3.2 ESPÉCIES DE *Candida* spp IDENTIFICADAS NAS AMOSTRAS

O Quadro 4 mostra a distribuição das espécies de *Candida* spp encontradas de acordo com o número de participantes do grupo C e o Quadro 5 para os participantes do grupo PR.

Quadro 4 - Distribuição absoluta e percentual do número de participantes de acordo com as espécies de *Candida spp* encontradas no grupo C

Espécies	T0	T14
<i>C. albicans</i>	10 (50%)	5 (25%)
<i>C. tropicalis</i>	12 (60%)	2 (10%)
<i>C. krusei</i>	5 (25%)	1 (5%)
<i>C. kefyr</i>	1 (5%)	0
<i>C. glabrata</i>	1 (5%)	0
Outras espécies	1 (5%)	1 (5%)

Quadro 5 - Distribuição absoluta e percentual do número de participantes de acordo com as espécies de *Candida spp* encontradas no grupo PR

Espécies	T0	T14
<i>C. albicans</i>	15 (75%)	16 (80%)
<i>C. tropicalis</i>	11 (55%)	6 (30%)
<i>C. krusei</i>	7 (35%)	3 (15%)
<i>C. kefyr</i>	0	1 (5%)
<i>C. glabrata</i>	2 (10%)	3 (15%)
Outras espécies	0	1 (5%)

3.4 AVALIAÇÃO SENSORIAL

Os grupos descreveram os produtos de forma semelhante ($p=0,72$). A mediana para o grupo C foi de 5 (4,2 – 6,0) e para o grupo PR de 5,5 (4,2 -6,0) (Figura 12).

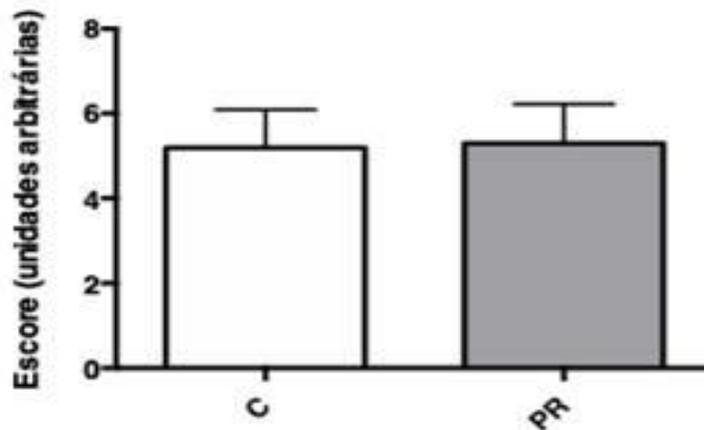


Figura 12: Escala hedônica (unidades arbitrárias) para os grupos C (barras brancas) e PR (barras cinzas).

4. DISCUSSÃO

O envelhecimento vem modificando o perfil das doenças da população [86], inclusive as relacionadas às condições bucais [87], tornando seu controle uma necessidade [86]. Nesse contexto, nosso estudo deu destaque à estomatite protética, por ser uma infecção fúngica que acomete frequentemente idosos usuários de próteses totais ou parciais removíveis, usualmente subdiagnosticada na prática clínica e pouco conhecida pela população [88,89].

Segundo Marcenes et al (2017) as doenças bucais são altamente prevalentes no mundo e a suposição atual acerca da diminuição da incidência da cárie dentária precisa ser revista, já que os indivíduos são suscetíveis à cárie ao longo da vida [87]. A cárie dentária também acomete pessoas idosas no mundo todo [90]. Em 2015, a presença de lesões de cárie não tratadas em dentes permanentes afetou 2,5 bilhões de pessoas e a perda total de dentes afetou 276 milhões de pessoas em todo o mundo [87]. É provável que esses números continuem aumentando, em função do crescimento e envelhecimento populacional [87]. Assim, as consequências da Odontologia curativa, e também mutiladora, estão presentes no grande percentual da população idosa brasileira, que é usuária de próteses dentárias. Os idosos desdentados de hoje não receberam orientações sobre prevenção em saúde bucal e as exodontias foram o tratamento odontológico rotineiro por muito tempo [86]. Realidade comum no Brasil, o edentulismo é mais severo na população idosa, que sofre diretamente o impacto na redução da autoestima e da qualidade de vida [91], não diferindo da realidade encontrada na Unidade de Ceilândia do SESC - DF, local de realização do nosso estudo. Diante do edentulismo, a reabilitação protética por meio de próteses totais ou parciais é extremamente comum [91], objetivando resgatar os aspectos funcionais e estéticos, reequilibrando o sistema estomatognático [92].

Dos 40 participantes selecionados para o estudo, a grande maioria era pertencente ao sexo feminino. A explicação para tal fato pode ser o maior cuidado feminino com a saúde [93,94] e como as estatísticas demonstram, as mulheres são mais longevas do que os homens, pois estes, em sua maioria, têm estilo de vida prejudicial à saúde, distante do autocuidado [94]. Entretanto, parece haver uma associação entre o fator hormonal e a predominância feminina na estomatite protética.

Mulheres que se encontram na fase da menopausa sob terapia de reposição hormonal e utilizam próteses removíveis são mais propensas ao desenvolvimento da estomatite protética [95].

O tempo de uso de prótese total removível, que é uma estimativa do tempo de edentulismo dos participantes, foi bastante extenso em ambos os grupos [92].

Vinte por cento dos participantes do grupo PR e 25% dos participantes do grupo C relataram utilizar a mesma prótese por um tempo bastante extenso. Considerando que, em média, a troca de próteses removíveis deve ocorrer a cada cinco anos [96], verificou-se nesse estudo que o tempo de uso da prótese atual foi superior ao aconselhado. Sabe-se que, quanto maior o tempo de utilização da prótese, maior a quantidade de poros presentes na resina [97,98], o que facilita o desenvolvimento da infecção fúngica [72,98-99]. Importante ressaltar que a maioria dos microrganismos que colonizam e infectam a boca, se exibem organizados em comunidades de múltiplas espécies, originando o biofilme, ecossistema estruturado, dinâmico e que atua de modo coordenado [100]. A principal característica patogênica da *Candida* spp é a sua capacidade de formar biofilme [100]. Logo, o biofilme formado aderido à resina [98] apresenta uma trama de células fúngicas e hifas profundamente inseridas nas ranhuras e imperfeições presentes nos biomateriais protéticos, protegendo os microrganismos da ação da limpeza [101]. Portanto, a rugosidade dos materiais pode afetar a formação da placa ou inibir sua remoção [102]. Assim, além da adesão à mucosa, a *Candida* spp coloniza as superfícies das próteses, que passam a atuar como reservatórios para esses microrganismos [103]. A quantidade de fungos é dependente da higiene [4] e da qualidade da prótese [54,104,105]. A *C. albicans* foi encontrada infiltrada na resina acrílica da prótese na profundidade de até 3 milímetros [100].

A deficiência salivar leva a infecções fúngicas orais [106]. A redução nas secreções salivares pode causar disbiose, o que favorece o crescimento excessivo de *C. Albicans* [106]. Alterações no fluxo salivar além de reduzir a quantidade de proteínas salivares, altera a microbiota oral comensal, promovendo a ruptura nos epitélios orais como resultado da perda de lubrificação. A gravidade da infecção por *C. Albicans* parece ser resultado desses efeitos cumulativos [6]. Assim, o tratamento ideal deve abranger também o fortalecimento dos aspectos imunológicos, dessa maneira o uso de probióticos (microrganismos vivos) pode ser interessante [6], já que

têm um efeito preventivo sobre a candidíase oral em idosos [5]. É importante conhecer as evidências científicas sobre a disbiose intestinal no envelhecimento, visto que o próprio fator idade poderá ser um desencadeador desse processo [8]. A disbiose do microbioma foi identificada como um dos principais contribuintes para várias infecções fúngicas [107]. As possíveis causas da disbiose são a má alimentação, a idade avançada, o estresse, a disponibilidade de material fermentável, a má digestão, o tempo de trânsito intestinal, o pH intestinal e o estado imunológico do hospedeiro. Além do uso indiscriminado de antibióticos, de anti-inflamatórios hormonais e não hormonais; o abuso de laxantes; o consumo excessivo de alimentos industrializados; a excessiva exposição às toxinas ambientais; as doenças, como câncer e síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS); as disfunções hepatopancreáticas; o estresse; a diverticulose e a hipocloridria, comum em pessoas idosas, associada a não destruição das bactérias patogênicas pela acidez estomacal [108]. As consequências da disbiose estão associadas a diversas patologias, entre elas, o câncer. Segundo Fagundes (2010), bactérias intestinais patogênicas produzem carcinógenos poderosos, como agente alquilantes e compostos nitrosos [109]. Neste sentido, destaca-se a relação entre o intestino e a saúde humana. Alterações na absorção e permeabilidade da mucosa intestinal podem ocasionar a disbiose intestinal [110].

Existe relação significativa entre o tempo de uso da prótese atual e a ocorrência de desajustes da prótese, perda da dimensão vertical, danos aos tecidos de suporte e estomatite protética [72,98]. Quase sempre instável, a prótese inferior provoca movimentos na prótese superior durante a oclusão e mastigação, causando microtraumas crônicos na mucosa de suporte, facilitando a ocorrência da inflamação e da colonização por *Candida* spp [98]. Assim, Peric et al (2018) especularam como fator etiológico dessa infecção não apenas o microbiológico, ou o fato de ser usuário de prótese dentária, mas também a falta de estabilidade entre as próteses [98]. A prótese pode ser tanto indutor traumático como reservatório para desencadear uma resposta inflamatória mediada por infecção microbiana local [98]. Alguns participantes relataram permanecer com a mesma prótese por muito tempo e sem nenhuma supervisão profissional. Sabe-se que danos às estruturas do sistema estomatognático podem ser gerados pela confecção incorreta das próteses ou a ausência de um controle periódico destas após a instalação [92]. Um grande obstáculo enfrentado pelo cirurgião-dentista frente à necessidade de troca das próteses é o fato da prótese

removível parcial ou total antiga e/ou de pior qualidade ser bem tolerada, enquanto outra de excelente acabamento não ser bem aceita, principalmente em pessoas idosas [111].

A manutenção da mucosa saudável está relacionada ao grau de limpeza das próteses em contato com os tecidos bucais [97]. Os participantes relataram higienizar as próteses em média três vezes ao dia; entretanto, embora não tenha sido objeto de estudo, observou-se que as próteses não estavam corretamente higienizadas. Sabendo-se que o tratamento reabilitador não termina no momento da instalação da prótese e que idosos portadores de próteses removíveis apresentaram 4,4 vezes mais chance de isolamento de *Candida* spp do que idosos não usuários [97], o cirurgião-dentista deve orientar o usuário sobre a higienização desses dentes artificiais e a consequência da falta desse cuidado. Ressalta-se que a responsabilidade de higienização é do paciente, mas a motivação e orientação são do profissional [72]. O nível de escolaridade também não apresentou influência sobre o risco de ocorrência da estomatite protética [98], o que leva mais uma vez à reflexão sobre o papel do profissional da saúde acerca das orientações necessárias [112]; talvez, essa infecção ainda ocorra por falta de conhecimento da população em geral. Ressalta-se que a maioria dos participantes relatou não saber como limpar adequadamente as suas próteses, muito provavelmente, porque nunca recebeu orientação. Muitos participantes relataram utilizar próteses confeccionadas por práticos, que desconhecem os cuidados exigidos, para garantir a saúde e a função das estruturas de suporte. O uso intermitente de enxaguatório bucal, vinagre, bicarbonato de sódio e sabão de coco para limpeza da prótese foi relatado por alguns participantes. Todos relataram utilizar escova e creme dental para a higiene das próteses, porém a pasta de dente, quando abrasiva, pode danificar a resina acrílica usada na confecção da prótese, facilitando a instalação de microrganismos [96,102]. A diferença de abrasividade das pastas parece ser atribuída às suas partículas constituintes, que têm carbonato de cálcio em concentrações e tamanhos diferentes. É a concentração aliada à força de escovação e velocidade com que a escovação ocorre que é importante [98], podendo criar rugosidades na superfície da resina, o que contribui para o acúmulo de biofilme [98,113].

A maioria dos participantes afirmou não retirar a prótese para dormir, fato que favorece a ocorrência da estomatite protética [4][98], por diminuir o contato da saliva

com a mucosa palatina e provocar traumas constantes na mucosa bucal [104]. O fluxo salivar diminui consideravelmente durante o período do sono [114]. Assim, com a baixa tensão de oxigênio aliada à deficiência do contato da saliva com a mucosa, propicia-se um microambiente anaeróbio favorável ao crescimento da levedura na área localizada sob a prótese, ou seja, na área chapeável [98]. No entanto, um estudo de 2011 relatou não ser o hábito de dormir com a prótese o fator mais influenciador sobre as alterações da mucosa de suporte, mas sim o uso de próteses antigas associado a higiene precária [111]. Apenas a substituição da prótese [100] ou o tratamento com antifúngicos tópicos não é suficiente para tratar a estomatite protética, pois é preciso concomitantemente o tratamento químico da prótese [63], eliminando a fonte de infecção recorrente [115,116]. Existe correlação inversa entre a higiene das próteses e a presença de estomatite protética [105]. Em nosso estudo, na tentativa de diminuir a recontaminação, foi indicado o uso da clorexidina a 0,12% para a desinfecção, por ser um antimicrobiano sintético que apresenta alto índice de eficácia [117]. No entanto sua atividade depende de um tempo de ação maior que 30 minutos [118]. Mesmo com a utilização da clorexidina por tempo reduzido de exposição, pode ocorrer interferência na interpretação quanto à avaliação clínica das lesões, uma vez que a clorexidina melhora o aspecto da mucosa com estomatite protética [63].

A xerostomia, percepção de boca seca, e a disgeusia, alteração de paladar [119], são ambas queixas comuns em idosos, em especial dentre aqueles que se encontram sob polifarmácia, definida como o uso desde três até cinco ou mais medicamentos, além daqueles inapropriados para as condições clínicas dos pacientes [120]. Em ambos os grupos, a prevalência de xerostomia foi alta, chegando a 70%; enquanto a prevalência de disgeusia atingiu proporções de até 45%. A prevalência de estomatite protética na amostra estudada foi de 23,25%, valor igual ao encontrado por Pina (2017)[63] e não muito distante do estudo conduzido por Arnaud (2012)[93], em torno de 35%, embora a literatura aponte variações de 17% a 88%, dependendo da população estudada [4,9,11]. Provavelmente, a diferença encontrada possa ser explicada pelo fato de que a amostra selecionada no SESC, em um grupo de convivência, foi composta por idosos independentes que, ao seu modo, ainda higienizam suas próteses. Realidade bastante diferente dos idosos dependentes que, muitas vezes, não têm esse cuidado atendido por seus cuidadores [121].

Quanto à distribuição de acordo com o tipo na classificação de Newton, alguns estudos apontam a estomatite tipo II como a mais comumente encontrada [100,122,123]; embora outros autores tenham descrito a tipo I como a mais frequente [104,124] e outros se referirem a tipo III [88,125]. Em nosso estudo, houve distribuição percentual semelhante entre os tipos I (37,5%) e II (37,5%), e a do tipo III foi responsável por 25% dos casos. Possivelmente, essas diferentes conclusões podem ocorrer em virtude da forma como cada autor interpreta e usa a classificação de Newton. Algumas lesões podem ter características de mais de um tipo, o que pode gerar dúvidas no momento de classificar [123].

O desenho do nosso estudo foi de ensaio clínico randomizado controlado por este ser o melhor delineamento experimental para determinação da eficácia de tratamentos [126,127]. Ensaio clínico de não inferioridade são alternativas válidas para a comparação de novos tratamentos com controles ativos, especialmente em circunstâncias em que o uso do placebo é inviável [128]. Procuram determinar se o tratamento em estudo é não inferior ao tratamento de referência em mais do que um valor aceitável, denominado margem de não inferioridade [129], que representa o quanto será tolerado de inferioridade para preferir o novo tratamento [130]. O objetivo é garantir que o efeito do tratamento em estudo, seja não inferior ao controle, e necessariamente superior ao placebo [131]. O ensaio de não inferioridade é uma contribuição metodológica que reduz a exposição do participante da pesquisa ao placebo [126], sendo aplicada quando o novo tratamento não tem uma vantagem teórica que suporte uma hipótese de maior eficácia. Contudo, mesmo não sendo mais eficaz, o novo tratamento pode ser preferido por trazer uma vantagem prática (preço, redução de efeitos adversos, praticidade na administração, ser menos agressivo) que vale a pena abdicar de uma pequena parte do benefício obtido com o medicamento tradicional. Ou seja, tolera-se uma margem de inferioridade que pode ser compensada com outras vantagens. No estudo não inferioridade há perda parcial e aceitável do benefício; porém, não há dano, apenas um benefício um pouco menor. Portanto, não inferioridade significa que não é suficientemente inferior para anular a vantagem prática no novo tratamento [130], e torna-se ético se o novo tratamento for mais barato [132]. O cálculo do tamanho amostral para esse caso é diferente do estudo de superioridade; quanto maior a margem de não inferioridade adotada, menor o tamanho amostral necessário. Assim, o tamanho amostral de um estudo de não

inferioridade pode ser menor do que o estudo de superioridade [130]. O número de pacientes necessário em estudos de não inferioridade é inversamente proporcional ao quadrado do valor da margem. Portanto, reduzindo-se a margem pela metade, quadruplica-se o número necessário de pacientes [128]. O método de escolha para a interpretação dos resultados deve ser por intervalos de confiança. O tratamento em estudo é declarado não inferior se o limite inferior do IC-95 da diferença entre tratamento e controle não incluir o valor da margem de não inferioridade especificada [128]. A interpretação do valor de P é contrária aos estudos de superioridade. Ou seja, $P < 0.05$ indica não inferioridade, mostrando que a significância estatística neste caso mostra uma ausência de diferença grande e nos estudos de superioridade $P < 0.05$ indica diferença [130]. Assim, basta compreender que o estudo de não inferioridade testa a hipótese nula de que o tratamento novo é inferior. Caso $P < 0.05$, rejeita-se a hipótese nula e ficamos com a hipótese alternativa de que o tratamento novo é não inferior. Estatisticamente, hipóteses nula e alternativa estão trocadas em relação aos estudos de superioridade. Em resumo, se o intervalo de confiança não ultrapassar o limite de pouco pior, consideramos não inferior. Ou, se o valor de P estiver abaixo de 0.05, consideramos não inferior [130]. Foi definida previamente para esse estudo, com base em estudos anteriores [63], a margem de não inferioridade de 15% para o efeito do tratamento no desfecho primário, definido como cura clínica. Como a margem de não inferioridade do Apiromã® permaneceu no intervalo de 0,16 – 0,64 e o valor maior está contido na margem do miconazol (0,52 – 0,98), pode-se afirmar que o produto testado é não inferior ao produto referência. As vantagens do tratamento em estudo é seu menor custo, menor possibilidade de interações medicamentosas e de efeitos adversos e também menor potencial de desenvolvimento de resistência fúngica [133].

O objetivo principal foi avaliar a eficácia clínica, considerando a resposta máxima alcançada [127] com um produto à base de própolis com romã. O estudo não pôde ser cego, em função da aparência e odor característicos da própolis.

A eficácia microbiológica foi mensurada por meio da contagem de unidades formadoras de colônia (UFC) de *Candida* spp. O produto em teste, spray contendo própolis a 0,5% e romã a 0,9% utilizado nesse estudo, não promoveu redução da carga fúngica de forma significativa. Presume-se com esse resultado que o efeito da própolis não seja fungicida, a ação antiinflamatória e cicatrizante desse produto se

sobrepôs a ação antifúngica, corroborando com os achados do estudo de Pina e colaboradores (2017) [63]. Esperava-se que a romã apresentasse efeito anti-*Candida* devido às suas propriedades antimicrobianas. Provavelmente, a concentração usada não foi suficiente e a forma de apresentação, sem muco-adesão, são fatores que podem explicar a falta da eficácia microbiológica. A formulação líquida em spray apresenta baixa retenção na boca diferindo do gel de miconazol, que é muco-adesivo. A muco-adesividade favorece a manutenção do produto em contato com a mucosa bucal por um tempo maior, fator altamente relevante para a eficácia do produto. Possivelmente, se a frequência de utilização diária fosse aumentada, resultados melhores poderiam ter sido encontrados.

A intenção de testar um produto patenteado com essa associação surgiu da escassez de estudos sobre o assunto. A literatura traz muitos ensaios clínicos sobre a ação da própolis no tratamento da estomatite protética e poucos estudos sobre a ação da romã nessa infecção [61,77]. Todavia, não há nenhum ensaio clínico que tenha testado os dois produtos em uma mesma formulação.

Candida albicans, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei* e *Candida dubliniensis* são as espécies mais comuns de *Candida* associadas a doenças humanas [134]. A maioria dessas espécies de *Candida* crescem como formas de levedura unicelulares, enquanto *C. Albicans* também é capaz de formar hifas ou pseudo-hifas que permitem formar biofilmes complexos e contribuir para sua patogenicidade em humanos [134].

A estomatite protética é uma doença de origem fúngica e bacteriana [88] e tem a *C. albicans* como levedura predominante [88,97,98], resultado também encontrado nesse ensaio; embora pareça que outras espécies desempenhem papel integral nessa patogênese [88,98]. Por viver de forma comensal na maior parte da população, pondera-se que a eliminação da *C. albicans* cause um desequilíbrio da microbiota oral [88], que pode levar a disbiose. Estudo recente sugere que essa infecção acomete principalmente pessoas idosas, portadoras de próteses totais antigas, aparecendo três vezes mais em pacientes com sintomas leves e moderados (tipo I) [98], o que vem contrariar Coco & Bagg (2008), que sugeriram que essa espécie está relacionada ao maior grau de inflamação (tipos II e III) [88]. Para Peric, as *Candidas não albicans* (*C. tropicallis*, *C. glabrata*, *C. krusei*) acometem mais os jovens e aparecem cinco

vezes mais em pacientes tipo III, com graves inflamações [98]. Parece haver uma relação sinérgica envolvida no potencial patogênico aumentado quando aparece a associação de *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* e *C. krusei* [98]. Nesse estudo nenhum participante apresentou essas espécies reunidas. As *Candidas não albicans* têm maior aderência e são mais resistentes aos agentes antifúngicos [88,98], o que pode ser um problema frente a queda de imunidade.

Embora a *C. albicans* continue sendo dominante no quadro de estomatite protética, os níveis de inflamação, principalmente do palato, não podem ser explicados apenas pela presença dessa levedura oportunista [88]; outros fatores podem explicar a severidade da doença como a diversidade das espécies, a quantidade de leveduras e características de crescimento, além da higiene oral [88]. Além disso, níveis aumentados de cistatinas e imunoglobulinas na saliva total estimulada dos pacientes em um estudo de 2016 foram sugestivos de uma resposta de defesa do hospedeiro à inflamação e à presença de *Candida* em pacientes com estomatite protética, enquanto o aumento de lactotransferrina, que tem propriedades antifúngicas e antibacterianas, destaca o componente microbiano da etiologia dessa doença [6].

A *C. tropicalis* em termos de distribuição de frequência foi a segunda espécie mais prevalente identificada em alguns estudos, embora haja autores que citem a *C. glabrata* [135]. Nesse estudo o perfil de prevalência das espécies nos bochechos foi *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei*, nessa ordem, para ambos os grupos.

A *C. glabrata* é quase sempre encontrada em combinação com a *C. albicans* [88,98]. Em 2008, um estudo demonstrou que biofilmes mistos de *C. albicans* e *C. glabrata* são capazes de desempenhar papel importante na inflamação severa de usuários de próteses totais [88]. Porém, se ela é capaz de contribuir para a doença, não está claro. Parece haver um potencial patogênico aumentado para essa combinação [88], pois *C. albicans* e *C. glabrata* formam biofilmes em substratos inanimados [88], o que favorece sua instalação na base da prótese. Dependendo da condição ambiental, como privação de nitrogênio, a *C. glabrata* é capaz de formar pseudo-hifas. A formação de hifas é um requisito para a formação de biofilme, o que pode ajudar a manter a integridade do biofilme associado à prótese [88]. Os estágios para formação do biofilme incluem a adesão dos microrganismos à superfície, seguida por colonização e proliferação, até atingir a fase de dispersão com biofilme maduro [100]. Assim, a *C. glabrata* pode ser associada à estomatite protética, principalmente

em combinação com a *C. albicans*. A colonização prévia com *C. albicans* é essencial para a infecção por *C. Glabrata*, uma vez que esta levedura não forma hifas e utiliza *C. albicans* para colonização tecidual [6]. Apenas no grupo PR houve um aumento dos participantes com *C. albicans* em T0 (75%) e T14 (80%) assim como o que ocorreu para a *C. glabrata*, de 10% para 15%.

No grupo C, nos participantes classificados clinicamente como tipo III, em T0, foram encontradas as espécies *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. kefyr*, e *C. glabrata*. No grupo PR para essa mesma classificação as espécies encontradas foram *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei*. Em ambos os grupos para classificação tipo I foram identificadas as espécies *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei*. Já para o tipo II também foram encontradas as espécies *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei* no grupo C e no grupo PR, além dessas apareceu a *C. glabrata*. Não apareceu a *C. glabrata* em nenhum dos dois grupos na classificação tipo I.

Nesse estudo não foi observado um padrão entre redução de UFCs e melhora clínica da estomatite protética, corroborando com Pina (2017) [60]. Observou-se participantes com pequena regressão inflamatória apesar da redução na quantidade de UFCs, bem como indivíduos que mostraram alto número de colônias e regressão clínica da lesão. Uma explicação seria a capacidade da própolis de atuar no dimorfismo da *C. albicans* entre as formas de pseudo-hifas e hifas em leveduras, sendo as hifas mais correlacionadas à patogenicidade [136]. Uma mudança no fenótipo do fungo de hifas ou pseudo-hifas para a forma leveduriforme pode ser induzida pela própolis sem necessariamente ter redução quantitativa de UFCs [63]. A própolis atua no equilíbrio da resposta imunológica [49] e a *Candida* atua, dentre outros fatores, por um desequilíbrio dessa resposta, o que favorece a transição dimórfica para as formas mais patogênicas [9]. É possível que, se a própolis age no sistema imunológico, a *Candida*, como consequência, transite para a forma não patogênica. Mas, não é possível discutir, com os dados disponíveis, se a própolis age na resposta imunológica do participante ou sobre o agente causal. Esses dados corroboram com o estudo de Pina (2017) [63]. Por sua vez, a *Punica granatum*, que interfere sobre a estrutura da *C. albicans*, com alterações na parede celular e influencia no crescimento do biofilme previamente formado [137], também contribui para a redução das UFC/mL [66,77]. Contudo, o mecanismo específico de ação de seus taninos contra *Candida* não está claro [43]. Sabe-se que reduz a contaminação

fúngica da mucosa palatina dos pacientes com estomatite protética [77], além de ser capaz de remover 90% do biofilme formado nas resinas acrílicas [77] das próteses. De qualquer maneira, a remissão dos sinais clínicos sem o desequilíbrio da microbiota é um fato positivo, sendo a modulação o ponto chave da questão. Ocorreu a cura clínica, mas não houve cura microbiológica, sugerindo uma ação prebiótica sobre essa microbiota. A microbiota comensal parece modular a candidíase oral [6]. Para estudos futuros poderá ser analisada a mudança do fenótipo da *Candida* e a melhora clínica da lesão da estomatite protética pelo tratamento com própolis associada com romã.

O diagnóstico da estomatite protética é realizado na prática odontológica por meio dos sinais clínicos, porém a identificação definitiva dos microrganismos é realizada através de cultura microbiológica. Considerando que esse diagnóstico microbiológico não é realizado rotineiramente e tendo em vista o surgimento de muitas cepas resistentes aos antifúngicos, presume-se que pode estar ocorrendo diagnóstico errado e conseqüentemente, tratamento ineficaz [138]. Vale ressaltar que é importante identificar a espécie tanto pelo seu valor epidemiológico, como também pela diferença em relação à sensibilidade aos antimicrobianos; assim como salienta-se a importância da interação entre o laboratório de Microbiologia e a clínica odontológica, respaldando melhor o diagnóstico clínico e propiciando um tratamento adequado.

Em relação ao teste de aceitabilidade, ambos os grupos descreveram os produtos de forma semelhante. Dois participantes do grupo PR queixaram-se de ardência, e um deles apontou sabor adocicado do produto muito acentuado, entretanto não interromperam o tratamento com o Apiromã®. A maioria dos participantes gostou do produto testado e também do gel de miconazol.

Sendo produto natural e comestível, a própolis é compatível com o metabolismo dos mamíferos em geral, o que reduz o risco de reações adversas aos tecidos bucais quando comparada aos produtos industrializados [133]. Quanto à segurança, nosso objetivo secundário, foi relatado como efeito adverso apenas uma leve ardência.

É importante ressaltar que a própolis não é um produto único, e sua composição pode variar de acordo com o lugar, solo, espécie de abelha, estação do ano, extração, padronização do produto, dentre outros fatores [133,139], que podem interferir com o perfil químico e propriedades biológicas do extrato [139]. Possui mais de 300 componentes em sua composição química, sendo considerada uma das misturas

naturais mais heterogêneas [133]. Seus componentes incluem resinas vegetais, ceras de abelhas e óleos essenciais, pólen e saliva de abelha, além de aminoácidos, minerais, vitaminas e compostos fenólicos (ácidos fenólicos e flavonóides) [133]. Os flavonóides são substâncias farmacologicamente ativas responsáveis por grande parte da atividade biológica da própolis, com efeitos sobre bactérias, fungos e vírus [140]. Em função dessas diferenças, as suas propriedades clínicas podem variar, o que explicaria os diferentes resultados encontrados por diferentes pesquisadores [139]. Possivelmente, o produto pesquisado não seja o mesmo. A vantagem do nosso estudo foi a utilização de um produto à base de extrato de própolis padronizado – EPP- AF ®, extrato aquoso de própolis *Apis mellifera* (CASn. 9009-62-5), que tem maior atividade oxidante e é mais eficaz contra a maioria dos microrganismos do que o extrato etanólico [139].

A impossibilidade de controlar o uso correto dos produtos pelos participantes é uma limitação de estudos em humanos. No entanto, o resultado reflete a utilização de forma realista, da forma como se dá habitualmente. Um participante relatou não ter utilizado o produto na prótese na primeira semana, mesmo tendo recebido as instruções verbalmente e por escrito; além disso a prótese continuava mal higienizada. Outro participante relatou continuar dormindo com a prótese. Como limitação para o sucesso do tratamento cita-se o efeito de diluição pela saliva do spray de própolis com romã utilizado, que não possui propriedade mucoadesiva. Antifúngicos não possuem capacidade inerente de ligação à mucosa oral [62], por isso é preferível sua administração tópica em formulação muco-adesiva a fim de aumentar o tempo de contato com a mucosa afetada.

Outro aspecto a ser considerado em nosso estudo é a inclusão apenas de participantes que foram atendidos quando compareciam para suas atividades no grupo de convivência do SESC-DF. Assim, não foram incluídos os dependentes, os residentes em instituições geriátricas e nem aqueles atendidos em clínica privada. Entretanto, os participantes pareciam ser pertencentes a níveis socioeconômicos diferentes, o que nos deu uma visão realista da população em geral.

5. CONCLUSÕES

Nossa hipótese foi confirmada, o produto à base de própolis com romã – Apiromã® é não-inferior ao miconazol – Daktarin gel oral®, considerando a margem de não inferioridade, e pode ser um coadjuvante no tratamento da estomatite protética em idosos. Será necessário testar um produto com maiores concentrações de própolis e romã em uma formulação mucoadesiva para conseguirmos uma alternativa natural para o tratamento dessa infecção. Possivelmente o Apiromã® tenha uma ação prébiótica e não antifúngica.

Por se tratar de um produto da biodiversidade brasileira e ter como público alvo a pessoa idosa, destacamos a importância desse estudo para a saúde pública.

Salienta-se a importância do papel do cirurgião-dentista frente à essa infecção fúngica presente rotineiramente na prática clínica e ainda desconhecida da população em geral e por alguns profissionais da saúde. O envelhecimento populacional já é um fenômeno mundial e o atendimento especializado ao público idoso, uma necessidade. O uso de produtos naturais e de probióticos, modulando a disbiose, será o novo olhar da Odontologia para a estomatite protética em idosos.

6. PERSPECTIVAS FUTURAS

Para um projeto futuro pode-se analisar a mudança de fenótipo da *Candida* e a melhoria das lesões com o tratamento a base de uma formulação de própolis associada a romã mais concentrada e em uma formulação muco-adesiva e também testar a ação prebiótica da própolis.

REFERÊNCIAS

- [1] Capistrano HM, de Assis EM, Leal RM, Alvarez-Leite ME, Brener S, Bastos EMAF. Brazilian Green Propolis Compared to Miconazole Gel in the Treatment of Candida - Associated Denture Stomatitis. Evidence-Based Complement Altern Med 2013;1–6.
- [2] Zhang LW, Fu JY, Hua H, Yan ZM. Efficacy and safety of miconazole for oral candidiasis: a systematic review and meta-analysis. Oral Dis 2016; 22:185–95.
- [3] Yarborough A, Cooper L, Duqum I, Mendonça G, McGraw K, Stoner L. Evidence Regarding the Treatment of Denture Stomatitis. J Prosthodont 2016;25:288–301.
- [4] Gendreau L, Loewy ZG. Epidemiology and Etiology of Denture Stomatitis. J Prosthodont 2011;20:251–60.
- [5] Ruixue A, Jioa W, Danhua M, Lu J, Hongxia D, Yu Z et al. Uma meta-análise de estudos randomizados avaliando os efeitos de preparações probióticas em candidíase oral em idosos. J archoralbio 2017.
- [6] Salvatori O, Puri S, Tati S, Edgerton M. Imunidade inata e saliva em doenças orais medidas por *Candida albicans*. J Dent Res 2016; 95 (4): 365-371.
- [7] Cardoso TS. Papel do ATP na infecção de Macrófagos por *Candida albicans*. Departamento de Ciências da vida da Faculdade de Ciências e Tecnologia Da Universidade de Coimbra 2013.
- [8] Conrado B, Souza S, Mallet A, Souza E, Neves A. Disbiose intestinal em idosos e aplicabilidade dos probióticos e prebióticos. Cadernos UniFOA 2018; 13 (36): 71-78.
- [9] Giannini PJ, Shetty K V. Diagnosis and management of oral candidiasis. Otolaryngol Clin North Am 2011;44:231–40.
- [10] Ramage G, Tomsett K, Wickes BL, López-Ribot JL, Redding SW. Denture stomatitis: A role for *Candida* biofilms. Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology 2004;98:53–9.

- [11] Freitas JB, Gomez RS, De Abreu MHNG, Ferreira E. Relationship between the use of full dentures and mucosal alterations among elderly Brazilians. *J Oral Rehabil* 2008;35:370–4.
- [12] Brasil M da S. SB Brasil 2010: Pesquisa Nacional de Saúde Bucal: resultados principais. Brasília Ministério Da Saúde Do Bras 2012.
- [13] Pires AB, Cláudia A, Madeira ACA, D'Araujo KM, Souza LD, De Souza Grossi, LD et al. Reações adversas na cavidade oral em decorrência do uso de medicamentos. *Rev Salusvita* 2017; 36(1): 157-185.
- [14] Taminato L, Negrini E, Matos C. Comparação do perfil de saúde bucal em idosos demenciados e não demenciados atendidos no hospital universitário de Brasília. Brasília. Dissertação [Mestrado em Ciências da Saúde] - Universidade de Brasília; 2012.
- [15] Rezende C, Segura R, Riva SBM, Castro V da CO. Mecanismos de ação dos antifúngicos. *Rev Unifev Ciência Tecnol* 2017; 2: 222–36.
- [16] Nucci M, Colombo AL. Surgimento de Candida resistente em pacientes neutropênicos. *Braz J Infect Dis* 2002; 6 (3).
- [17] Casaroto AR, Lara VS. Phytomedicines for Candida-associated denture stomatitis. *Fitoterapia* 2010; 81:323–8.
- [18] De Aguiar MMGB. Obtenção do gel mucoadesivo de nistatina para o tratamento de candidíase oral. Desenvolvimento e caracterização de dispersões sólidas de nistatina. São Paulo. Tese [doutorado em Ciências farmacêuticas] - Universidade de São Paulo; 2016.
- [19] Toshiro N, Yurie IHY. Drug Interactions between Nine Antifungal Agents and Drugs Metabolized by Human Cytochromes P450. *Curr Drug Metab* 2014;15.
- [20] Baptista G, Eiden C, Monguillot P, Philibert C, Jeandel C. Serotonin syndrome during treatment with low dose of escitalopram associated with miconazole mucoadhesive tablet: a suspected drug interaction. *Int Psychogeriatrics* 2012; 24: 845–7.

- [21] Hellfritzsch M, Pottegård A, Pedersen AJT, Burghle A, Mouaanaki F, Hallas J, et al. Topical Antimycotics for Oral Candidiasis in Warfarin Users. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2017; 120: 368–72.
- [22] Drugs [homepage na internet]. Miconazole topical and warfarin Drug Interactions [acesso em 5 mar 2019]. Disponível em: <https://www.drugs.com/drug-interactions/miconazole-topical-with-warfarin>.
- [23] Reis CMF, Carvalho JCT, Caputo LRG, Patricio KCM, Barbosa MVJ, Chieff AL, et al. Atividade antiinflamatória, antiúlcera gástrica e toxicidade subcrônica do extrato etanólico de própolis. *Rev Bras Farmacogn* 2000; 9 (10):43–52.
- [24] de Barros MP, Sousa JPB, Bastos JK, de Andrade SF. Effect of Brazilian green propolis on experimental gastric ulcers in rats. *J Ethnopharmacol* 2007; 110: 567–71.
- [25] Berretta AA, Nascimento AP, Bueno PCP, Vaz MM de OLL, Marchetti JM. Propolis standardized extract (EPP-AF®), an innovative chemically and biologically reproducible pharmaceutical compound for treating wounds. *Int J Biol Sci* 2012; 8: 512–21.
- [26] Simões LM, Gregório L, Da Silva Filho A, de Souza M, Azzolini AEC, Bastos J, et al. Effect of Brazilian green propolis on the production of reactive oxygen species by stimulated neutrophils. *J Ethnopharmacol* 2004; 94: 59–65.
- [27] Castro PA de, Savoldi M, Bonatto D, Barros MH, Goldman MHS, Berretta AA, et al. Molecular Characterization of Propolis-Induced Cell Death in *Saccharomyces cerevisiae*. *Eukaryot Cell* 2011; 10: 398–411.
- [28] Tavares D, Lira W, Santini C, Takahashi C, Bastos J. Effects of Propolis Crude Hydroalcoholic Extract on Chromosomal Aberrations Induced by Doxorubicin in Rats. *Planta Med* 2007; 73: 1531–6.
- [29] Senedese JM, Rodrigues AR, Furtado MA, Faustino VD, Berretta AA, Marchetti JM, et al. Assessment of the Mutagenic Activity of Extracts of Brazilian Propolis in Topical Pharmaceutical Formulations on Mammalian Cells In Vitro and In Vivo. *Evidence-Based Complement Altern Med* 2011; 1–7.
- [30] De Luca MP, Franca JR, Macedo FAFF, Grenho L, Cortes ME, Faraco AAG, et al. Propolis varnish: antimicrobial properties against cariogenic bacteria,

cytotoxicity and sustained-release profile. *Biomed Res Int* 2014; 348647.

- [31] Khurshid Z, Naseem M, Zafar MS, Najeeb S, Zohaib S. Propolis: A natural biomaterial for dental and oral healthcare. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects* 2017; 11: 265–74.
- [32] Scazzocchio F, D'Auria FD, Alessandrini D, Pantanella F. Multifactorial aspects of antimicrobial activity of propolis. *Microbiol Res* 2006; 161: 327–33.
- [33] Pasupuleti VR, Sammugam L, Ramesh N, Gan SH. Honey, Propolis, and Royal Jelly: A Comprehensive Review of Their Biological Actions and Health Benefits. *Oxid Med Cell Longev* 2017; 1–21.
- [34] Anvisa. Formulário de Fitoterápicos Farmacopeia Brasileira 1ª edição. 2018.
- [35] Sousa NCF, Gonzaga LF, Rodrigues JFS, Fernandes ES. Propriedades farmacológicas de *Punica granatum L* (romã): uma revisão de literatura. *Rev Ceuma Perspect* 2018; 31:57.
- [36] Lansky EP, Newman RA. *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *J Ethnopharmacol* 2007; 109: 177–206.
- [37] Endo EH, Ueda-Nakamura T, Nakamura CV, Filho BPD, Endo EH, Ueda-Nakamura T, et al. Activity of Spray-dried Microparticles Containing Pomegranate Peel Extract against *Candida albicans*. *Molecules* 2012; 17: 10094–107.
- [38] Werkman C, Granato DC, Kerbauy WD, Sampaio FC, Brandão AAH, Rode SM. Aplicações terapêuticas da *Punica granatum L*. (romã). *Rev. Bras. Pl. Med* 2008; 10 (3): 104-111.
- [39] Pagliarulo C, De Vito V, Picariello G, Colicchio R, Pastore G, Salvatore P, et al. Inhibitory effect of pomegranate (*Punica granatum L.*) polyphenol extracts on the bacterial growth and survival of clinical isolates of pathogenic *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Food Chem* 2016; 190: 824–31.
- [40] Rosas-Burgos EC, Burgos-Hernández A, Noguera-Artiaga L, Kačániová M, Hernández-García F, Cárdenas-López JL, et al. Antimicrobial activity of

- pomegranate peel extracts as affected by cultivar. J Sci Food Agric 2017; 97: 802–10.
- [41] Moorthy K, Punitha T, Vinodhini R, Thippan BSPV. Journal of medicinal plant research. 2013; 7: 474–9.
- [42] Anibal PC, Peixoto ITA, Foglio MA, Höfling JF. Antifungal activity of the ethanolic extracts of *Punica granatum* L. and evaluation of the morphological and structural modifications of its compounds upon the cells of *Candida* spp. Braz J Microbiol 2013; 44: 839–48.
- [43] Endo EH, Garcia Cortez DA, Ueda-Nakamura T, Nakamura CV, Dias Filho BP. Potent antifungal activity of extracts and pure compound isolated from pomegranate peels and synergism with fluconazole against *Candida albicans*. Res Microbiol 2010; 161: 534–40.
- [44] Catão RMR, Antunes RMP, Arruda TA, Pereira MSV, Higino JSA. Atividade antimicrobiana. Rev Bras Anal Clin 2006; 38: 111–4.
- [45] Nascimento Júnior BJ, Almeida TS, Sousa RMG, Santos AMT, Souza AT, Santos EO, et al. Uso de Plantas Medicinais no Tratamento da Estomatite Aftosa Recorrente na Cidade de Petrolina – Pernambuco. Rev Cereus 2015; 7: 18–37.
- [46] Morzelle MC. Resíduos de romã (*Punica granatum*) na prevenção da doença de Alzheimer. São Paulo. Dissertação [mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos] - Universidade de São Paulo; 2013.
- [47] Tzulker R, Glazer I, Bar-Ilan I, Holland D, Aviram M, Amir R. Antioxidant Activity, Polyphenol Content, and Related Compounds in Different Fruit Juices and Homogenates Prepared from 29 Different Pomegranate Accessions. J Agric Food Chem 2007; 55: 9559–70.
- [48] Sellman DS. What Women Must Know. 2a. edition. 2010.
- [49] Machado JL, Assunção AKM, da Silva MCP, Dos Reis AS, Costa GC, Arruda D de S, et al. Brazilian green propolis: anti-inflammatory property by an immunomodulatory activity. Evid Based Complement Alternat Med 2012; 157652.

- [50] Coutinho A. Honeybee propolis extract in periodontal treatment: A clinical and microbiological study of propolis in periodontal treatment. *Indian J Dent Res* 2012; 23: 294.
- [51] Khalil ML. Biological activity of bee propolis in health and disease. *Asian Pac J Cancer Prev* 2006; 7: 22–31.
- [52] Jain S, Rai R, Sharma V, Batra M. Propolis in oral health: a natural remedy. *World J Pharm Sci* 2014; 2: 90–4.
- [53] Libério SA, Pereira ALA, Araújo MJAM, Dutra RP, Nascimento FRF, Monteiro Neto V, et al. The potential use of propolis as a cariostatic agent and its actions on mutans group streptococci. *J Ethnopharmacol* 2009; 125: 1–9.
- [54] Wiatrak K, Morawiec T, Rój R, Mertas A, Machorowska-Pieniążek A, Kownacki P, et al. Oral Health of Patients Treated with Acrylic Partial Dentures Using a Toothpaste Containing Bee Product. *Evidence-Based Complement Altern Med* 2017; 1–12.
- [55] Cardoso JG, Iorio NLP, Rodrigues LF, Couri MLB, Farah A, Maia LC, et al. Influence of a Brazilian wild green propolis on the enamel mineral loss and *Streptococcus mutans*' count in dental biofilm. *Arch Oral Biol* 2016; 65: 77–81.
- [56] Franca JR, De Luca MP, Ribeiro TG, Castilho RO, Moreira AN, Santos VR, et al. Propolis-based chitosan varnish: drug delivery controlled release and antimicrobial activity against oral pathogen bacteria. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2014; 14: 478.
- [57] Skaba D, Morawiec T, Tanasiewicz M, Mertas A, Bobela E, Szliszka E, et al. Influence of the toothpaste with brazilian ethanol extract propolis on the oral cavity health. *Evid Based Complement Alternat Med* 2013; 215391.
- [58] Bhat N, Bapat S, Asawa K, Tak M, Chaturvedi P, Gupta V V, et al. The antiplaque efficacy of propolis-based herbal toothpaste: A crossover clinical study. *J Nat Sci Biol Med* 2015; 6: 364–8.
- [59] Silva, EB;SL Franco, LTO Ramalho PC. Efeito da ação da própolis na lâmina própria da mucosa bucal de ratos. *Estudo histológico. Robrac* 2000; 9: 4–8.

- [60] Mohammad HAK, Mohammad FY, Hakimeh A, Maryam JS. Randomized Double-Blind Placebo-Controlled Trial of Propolis for Oral Mucositis in Patients Receiving Chemotherapy for Head and Neck Cancer. *Asian Pacific J Cancer Prev* 2016; 17: 3611–4.
- [61] Cesar LSV, Sampaio MCC, Sampaio FC, Higino JS. Use of *Punica granatum* as an antifungal agent against candidosis associated with denture stomatitis. *Verwendung von Punica granatum als Antimykotikum gegen Candidose in Verbindung mit Zahnprothesen-Stomatitis. Mycoses* 2003; 46: 192–6.
- [62] Santos VR, Gomes RT, Mesquita RA de, Moura MDG de, França EC, Aguiar EG de, et al. Efficacy of Brazilian propolis gel for the management of denture stomatitis: a pilot study. *Phyther Res* 2008; 22: 1544–7.
- [63] Pina G de MS, Lia EN, Berretta AA, Nascimento AP, Torres EC, Buszinski AFM, et al. Efficacy of Propolis on the Denture Stomatitis Treatment in Older Adults: A Multicentric Randomized Trial. *Evidence-Based Complement Altern Med* 2017; 1–9.
- [64] Mansourian A, Boojarpour N, Ashnagar S, Momen Beitollahi J, Shamshiri AR. The comparative study of antifungal activity of *Syzygium aromaticum*, *Punica granatum* and nystatin on *Candida albicans*: An in vitro study. *J Mycol Med* 2014; 24: 163–8.
- [65] Pereira J V., Pereira MSV, Sampaio FC, Sampaio MCC, Alves PM, Araújo CRF de, et al. Efeito antibacteriano e antiaderente in vitro do extrato da *Punica granatum Linn.* sobre microrganismos do biofilme dental. *Rev Bras Farmacogn* 2006; 16: 83–93.
- [66] Schreiner F, Retzlaff G, Siqueira MFR, Rezende EC, Simão LC, Kozlowski-Junior VA, Santos EB. Uso do chá de *Punica Granatum* (romã) no controle da aderência de bactérias orais em ligaduras ortodônticas. *Rev Odontológica Do Bras Cent* 2009; 18.
- [67] Anesini C, Perez C. Screening of plants used in Argentine folk medicine for antimicrobial activity. *J Ethnopharmacol* 1993; 39: 119–28.
- [68] Vasconcelos LC de S, Sampaio FC, Sampaio MCC, Pereira M do SV, Higino

- JS, Peixoto MHP. Minimum inhibitory concentration of adherence of *Punica granatum Linn* (pomegranate) gel against *S. mutans*, *S. mitis* and *C. albicans*. *Braz Dent J* 2006; 17: 223–7.
- [69] Batista ALA, Lins RDAIU, de Souza RC, do Nascimento DB, Moura NB, Alves FJC. Clinical efficacy analysis of the mouth rinsing with pomegranate and chamomile plant extracts in the gingival bleeding reduction. *Complement Ther Clin Pract* 2014; 20: 93–8.
- [70] Schreiner F. Análise da utilização endodôntica do gel produzido à base do extrato hidroglicólico do pericarpo de *Punica granatum L.* (romã) contra *Enterococcus faecalis*: efeito antimicrobiano e toxicidade. Paraná. Tese [doutorado em Odontologia] - Universidade Estadual de Ponta Grossa; 2016.
- [71] Ghalayani P, Zolfaghary B, Farhad AR, Tavangar A, Soleymani B. The efficacy of *Punica granatum* extract in the management of recurrent aphthous stomatitis. *J Res Pharm Pract* 2013; 2: 88–92.
- [72] Santos MGC dos, Nóbrega DR de M, Arnaud RR, Santos RC dos, Gomes DQ de C, Pereira JV, et al. *Punica granatum Linn*: prevention of oral candidiasis in patients undergoing anticancer treatment. *Rev Odontol da UNESP* 2017; 46: 33–8.
- [73] Ota C, Unterkircher C, Fantinato V, Shimizu MT. Antifungal activity of propolis on different species of *Candida*. *Mycoses* 2001; 44: 375–8.
- [74] Santos VR, Pimenta FJGS, Aguiar MCF, do Carmo MA V, Naves MD, Mesquita RA. Oral candidiasis treatment with Brazilian ethanol propolis extract. *Phyther Res* 2005; 19: 652–4.
- [75] Suarez M de la CP, Cruz EG, Carballo MMR, Banqueris RF, Nunez IB, Hechavarria LA. Gel de propóleos en el tratamiento de la estomatitis subprotesis con candidiasis asociada. *Multimed* 2006; 10(2).
- [76] Leitão N da S. Análise clínica e citológica do efeito do gel de própolis no tratamento da estomatite protética em pessoas idosas: Ensaio clínico randomizado controlado simples cego. Dissertação [mestrado em Ciências Odontológicas] - Universidade de São Paulo, 2012.
- [77] Silva PMB da. Avaliação clínica e laboratorial do tratamento da estomatite

protética através de produtos naturais. Tese [Doutorado em Odontologia] - Universidade de São Paulo, 2013.

- [78] Newton A. Denture sore mouth: a possible aetiology. *Br Dent J* 1962; 112: 357–60.
- [79] Samaranayake LP, MacFarlane TW, Lamey PJ, Ferguson MM. A comparison of oral rinse and imprint sampling techniques for the detection of yeast, coliform and *Staphylococcus aureus* carriage in the oral cavity. *J Oral Pathol Med* 1986; 15: 386–8.
- [80] Raju SB, Rajappa S. Isolation and Identification of *Candida* from the Oral Cavity. *ISRN Dent Hindawi*; 2011: 2011.
- [81] Odds FC, Bernaerts. CHROMagar *Candida*, a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important *Candida* species. *Journal of clinical microbiology* 1994; 32 (8): 1923-1929
- [82] Godoy JSR, de Souza PBM, Nakamura SS, Yamada SS, Shinobu CM et al. Colonization of the oral cavity by yeasts in patients with chronic renal failure undergoing hemodialysis. *J Oral Pathol Med* 2013; 42: 229–34.
- [83] Dutcosky S. Análise sensorial de alimentos. 2nd ed. Curitiba: 2007.
- [84] Chow, SC; Shao,J; Wang H. Sample size calculations in clinical research. 1st ed. New York: 2003.
- [85] Food and Drug Administration. Guidance for Industry Antibacterial Drug Products: Use of Noninferiority Trials to Support Approval. 2010.
- [86] Nasri F. O envelhecimento populacional no Brasil. *Einstein* 2008; 6: 4–6.
- [87] Kassebaum NJ, Smith AGC, Bernabé E, Fleming TD, Reynolds AE, Vos T, et al. Global, Regional and National Prevalence, Incidence and Disability-Adjusted Life Years for Oral Conditions for 195 Countries, 1990-2015: A Systematic Analysis for the Global Burden of Diseases, Injuries and Risk Factors. *J Dent Res*, 2017.

- [88] Coco BJ, Bagg J, Cross LJ, Jose A, Cross J, Ramage G. Mixed *Candida albicans* and *Candida glabrata* populations associated with the pathogenesis of denture stomatitis. *Oral Microbiol Immunol* 2008; 23: 377–83.
- [89] Silva EA da, Brandão MCV, Freitas NBB de S, Costa MCB, Lima KGD de, Fernandes DC. Principais lesões bucais em idosos que utilizam prótese dentária: revisão integrativa. *Cad Grad Ciências Biológicas e Da Saúde - UNIT - Alagoas* 2018; 4: 33–40.
- [90] Brunetti-Montenegro FL, Marchini L. *Odontogeriatrics : uma visão gerontológica*. Elsevier Editora; 2013.
- [91] Oliveira FT da S de, De FT da S. O impacto do edentulismo na qualidade de vida de idosos. Monografia [Trabalho de conclusão de curso] - Universidade Federal de Minas Gerais, 2017.
- [92] Aguiar MGL, Fiallos ACM, Marques LARV, Negreiros WA. Síndrome da Combinação: Aspectos Clínicos de Importância para o Odontólogo – Uma Revisão da Literatura. *Rev Faculdade Odontol Lins* 2015; 25: 56–66.
- [93] Arnaud RR, Soares MSM, Santos MGC dos, Santos RC dos. Estomatite Protética: Prevalência e Correlação Com Idade e Gênero. *Rev Bras Ciências Da Saúde* 2012; 16: 59–62.
- [94] Nogueira IRR, Alcântara A de O. Envelhecimento do homem: de qual velhice estamos falando? *Rev Kairós Gerontol* 2014; 17: 263–82.
- [95] Golecka MB, Mierzwinska EN, Bychawska M. Influence of hormone supplementation therapy on the incidence of denture stomatitis and on chemiluminescent activity of polymorphonuclear granulocytes in blood of menopausal-aged women. *Eur J Med Res* 2010; 152: 15-46.
- [96] De Medeiros D, Lucena AG, Medeiros LADM de, Farias TSS de, Meira KRS, Mahon SMOD. Avaliação da utilização e hábitos de higiene em usuários de prótese dentária removível. *Rev Bras Odontol* 2016; 73: 193.
- [97] Bianchi CMP de C, Bianchi HA, TadanoT, Paula CR de, Hoffman-Santos HD, Leite Jr DP, et al. Factors related to oral candidiasis in elderly users and non users of removable dental protheses. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2016; 58.

- [98] Peric M, Zivkovic R, Milic Lemic A, Radunovic M, Milicic B, Arsic Arsenijevic V. The severity of denture stomatitis as related to risk factors and different *Candida spp.* Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol 2018; 126: 41–7.
- [99] Neppelenbroek KH, Pinto ECT, Pavarina AC, Vergani CE, Jorge JH, Almilhatti HJ. Aderência de microorganismos em materiais para base de próteses. Rev Odontol Da Univ Cid São Paulo 2017; 21: 126–36.
- [100] Senna AM de. Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana no Tratamento da Estomatite Protética. 2012.
- [101] Pontes MR, Capella DL, Bortoluzzi MC. Tratamento da estomatite protética e o impacto sobre a qualidade de vida, halitose, fluxo e ph salivar: estudo piloto. Unoesc Ciência - ACBS, Joaçaba 2013; 4: 101–10.
- [102] Harrison Z, Johnson A, Douglas CWI. An *in vitro* study into the effect of a limited range of denture cleaners on surface roughness and removal of *Candida albicans* from conventional heat-cured acrylic resin denture base material. J Oral Rehabil 2004; 31: 460–7.
- [103] Gonçalves LFF, Neto DRS, Bonan RF, Carlo HL, Batista AUD. Higienização de próteses totais e parciais removíveis. Rev Bras Ciências Da Saúde 2011; 15: 87–94.
- [104] Emami E, de Grandmont P, Rompré PH, Barbeau J, Pan S, Feine JS. Favoring Trauma as an Etiological Factor in Denture Stomatitis. J Dent Res 2008; 87: 440–4.
- [105] Marra J, Perez LEC, Henriques ET, Pinheiro MT, Castro FLA de. Avaliação da correlação entre o grau de instruções e qualidade de higiene de usuários de próteses totais com a presença de estomatite protética. Rev Odontol Bras Cent 2017; 26: 15–20.
- [106] Leung KC, McMillan AS, Cheung BP, Leung WK. Os portadores da síndrome de Sjögren aumentaram os níveis de levedura oral, apesar do tratamento odontológico regular. Oral Dis 2008; 14: 163-73.

- [107] Hall RA, Noverr MC. Interações fúngicas com o hospedeiro humano: explorando o espectro da simbiose. *Opinião atual em microbiologia* 2017; 40: 58-64.
- [108] Almeida LB, Marinho CB, Souza CS, Cheib VBP. Disbiose intestinal. *Revista Brasileira de Nutrição Clínica* 2009; 24 (1): 58-65.
- [109] Fagundes GE. Prevalência de sinais e sintomas de disbiose intestinal em estudantes do curso de nutrição da universidade do extremo sul catarinense. Monografia [Trabalho de conclusão de curso] - Universidade do Extremo Sul Catarinense, UNESC, 2010.
- [110] Póvoa H. O cérebro desconhecido: como o sistema digestivo afeta nossas emoções, regula nossa imunidade e funciona como um órgão inteligente. *Objetiva*. 2002.
- [111] Rovani G, Piccinin F, Flores ME. Avaliação clínica dos tecidos de suporte protético de pacientes usuários de próteses removíveis da Faculdade de Odontologia de Passo Fundo. *Stomatos* 2011; 17: 33–42.
- [112] Teixeira SPC. Prevalência de Estomatite Protética numa população portadora de Prótese Total. Dissertação [Mestrado integrado em Medicina Dentária] - Universidade Fernando Pessoa, 2017.
- [113] Gonçalves LFF, Neto DRS, Bonan RF, Carlo HL, Batista AUD. *Revista Brasileira de Ciências da Saúde RBCS*. 2011; 15 (1): 87-94
- [114] Gomes De Alencar G, Lins Azevedo Do Nascimento P, Sérgio R, Sousa V. Estomatite Protética: Revisão de Literatura. Monografia [Trabalho de conclusão de curso] - Centro Universitário Tabosa de Almeida, 2017.
- [115] Neto MM, Danesi CC, Unfer DT. Candidíase bucal : revisão de literatura. *Saúde (Santa Maria)* 2005; 31: 16–26.
- [116] Altarawneh S, Bencharit S, Mendoza L, Curran A, Barrow D, Barros S, et al. Clinical and Histological Findings of Denture Stomatitis as Related to Intraoral Colonization Patterns of *Candida albicans* , Salivary Flow and Dry Mouth. *J Prosthodont* 2013; 22: 13–22.

- [117] Hortense SR, Carvalho ÉDS, De Carvalho FS, Da Silva RPR, Bastos JRDM, Bastos RDS. Uso da clorexidina como agente preventivo e terapêutico na Odontologia. Rev Odontol Da Univ Cid São Paulo 2017; 22: 178.
- [118] Gouveia CL, Freire ICM, Leite ML de A e S, Figueiredo RDA, Almeida L de FD de, Cavalcanti YW, et al. Antifungal activity of components used for decontamination of dental prostheses on the growth of *Candida albicans*. Rev Odontol Da UNESP 2014; 43: 137–42.
- [119] Toida M, Nanya Y, Takeda TK, Baba S, Lida K, Kato K, et al. Oral complaints and stimulated salivary flow rate in 1188 adults. J Oral Pathol Med 2010; 39: 407–19.
- [120] Masnoon N, Shakib S, Kalisch LE, Caughey GE. What is polypharmacy? A systematic review of definitions. BMC Geriatr 2017; 17: 230.
- [121] Gomes L, Parro YM, Cruz AC, Lia EN, Faustino A. Conhecimento e práticas em saúde bucal por cuidadores de idosos. REAS/EJCH 2019; 11: 1–8.
- [122] Scalercio M, Valente T, Simões I, Ramos ME. Estomatite protética versus candidíase: diagnóstico e tratamento RGO 2007; 55: 395–8.
- [123] Neves IM dos SM. Abordagem do paciente com estomatite protética. Dissertação [Mestrado em Medicina Dentária] - Universidade Fernando Pessoa, 2015.
- [124] Carvalho de OTR, Frigerio M, Yamada M, Birman EG. Evaluation of denture stomatitis in users of complete dentures. Pesqui Odontológica Bras 2000; 14: 219–24.
- [125] Aguirre JM, Verdugo F, Zamacona JM, Quindos G, Ponton J. Cytological changes in oral mucosa in denture stomatitis. Gerodontology 1996; 13: 63–7.
- [126] Pinto VF. Estudos clínicos de não-inferioridade: fundamentos e controvérsias J Vasc Bras 2010; 9: 145–51.
- [127] Vitória E, Vidotti C. Busca de informação sobre medicamentos : como separar

o joio do trigo ? Bol Farmacoter 2008; XIII: 1–6.

- [128] Sasse AD, Wada CY, Andrade JML, Bermudez JV, Lotufo PA, Pinto VF. Requerimentos mínimos para o planejamento e análise de estudos clínicos de não inferioridade. Rev Bras Clin Med 2010; 8 (6): 538-41
- [129] Piaggio G, Elbourne DR, Pocock SJ, Evans SJW, Altman DG, CONSORT Group for the. Reporting of Noninferiority and Equivalence Randomized Trials. JAMA 2012; 308:2594.
- [130] Medicina baseada em evidências [homepage na internet]. O estranho caso de não inferioridade [acesso em 30 maio 2019]. Disponível em <https://:medicinabaseadaemevidencias.blogspot.com>
- [131] Sasse, A; Wada, C; Andrade, JML; Bermudez, JV; Lotufo, PA; Pintp V. Requerimentos mínimos para o planejamento e análise de estudos clínicos de não inferioridade. Sao Paulo, 2010.
- [132] Nishioka S. Ensaio clínico de não inferioridade e de equivalência não são éticos? Rev Assoc Med Bras 2009; 55 (2).
- [133] De Almeida D, De Mendonça S, Alves D, Júnior I. Própolis na Odontologia: uma abordagem de suas diversas aplicabilidades clínicas. Rev Flum Odontol 2016;46.
- [134] Muadcheingka T, Tantivitayakul P. Distribuição de espécies de *Cândida albicans* e não-*albicans* *Candida* em pacientes com candidíase oral: Correlação entre a hidrofobicidade da superfície celular e atividades de formação de biofilme. Arch Oral Biol. 2015; 60 (6): 894-901.
- [135] Sanitá PV, Pavarina AC, Giampaolo ET, Silva MM, Mima EGO, Ribeiro DG. *Candida* spp. prevalence in well controlled type 2 diabetic patients with denture stomatitis. Science Direct 2011; 111(6): 726–33.
- [136] de Castro PA, Bom VLP, Brown NA, Almeida RSC de, Ramalho LNZ, Savoldi M. Identification of the cell targets important for propolis-induced cell death in *Candida albicans*. Fungal Genet Biol 2013; 60: 74–86.
- [137] Almeida NLM. *Equisetum giganteum* e *Punica granatum* Linné associados a

adesivo protético: atividade antimicrobiana contra biofilmes de *Candida albicans*. Dissertação [Mestrado em Patologia Oral] - Universidade de São Paulo, 2016.

- [138] Moreira ACA, Falcão AFP, Andrade AP, De Souza ER . Isolamento de *Candida parapsilosis* em paciente com diagnóstico clínico de candidíase atrófica crônica. R Ci Méd Biol 2002; 1: 124–8.
- [139] Rocha BA, Bueno PCP, Vaz MMOLL, Nascimento AP, Ferreira NU, Moreno GP, Rodrigues MR et al. Evaluation of a Propolis Water Extract Using a Reliable RP-HPLC Methodology and *In Vitro* and *In Vivo* Efficacy and Safety Characterisation. Evidence-Based Complement Altern Med 2013;1: 11.
- [140] Ahuja VA. Apitherapy - A sweet approach to dental diseases - Part I : Honey. J Adv Dent Res 2010; 1.



APÊNDICES

APÊNDICE I - Ficha Clínica (CRF)

CRF

PROJETO PROPOLIS X CANDIDÍASE BUCAL

IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE

Nome: _____ Idade _____

Endereço: _____

Telefone de contato: _____ Raça/cor _____ Gênero F / M

CÓDIGO DE RANDOMIZAÇÃO: _____

COLETOU TCLE? () S () N DATA DA COLETA ___/___/___

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Idade 60 anos () S () N

Prótese removível com cobertura palatina? () S () N

Estomatite protética () S () N

CRITÉRIO DE EXCLUSÃO

Possui demência ou déficit cognitivo? () S () N

Usou antibióticos ou antifúngicos nos últimos 2 meses? () S () N

Obs: excluir o paciente do estudo caso a(s) resposta(s) acima seja(m) afirmativa(s)

DADOS DE SAÚDE



Lista de problemas

Medicamentos em uso _____

Xerostomia () S () N

Disgeusia () S () N

V0- Triagem e Avaliação Inicial Data ____/____/____

Informações sobre a prótese

Há quanto tempo usa prótese dentária? _____

Há quanto tempo a prótese atual foi confeccionada? _____

Dorme com a prótese? () S () N

Frequência de higiene da prótese _____x/dia

Produtos utilizados p/ higiene da prótese

() pasta dental () escova dental ()

outros _____

Classificação de Newton

() I () II () III

O material foi coletado(bochecho NaCl 0,9% estéril)? () S () N

Fornecida a bisnaga de medicamento? () S () N



Quantidade _____ Peso _____

Fornecido orientação de uso (receita)? ()S ()N

Fornecida a clorexidina a 0,12%? ()S ()N

Marcar retorno em 7 dias

Carga fúngica: _____ UFC/mL Data ___/___/___

Identificação do fungo

Espécie _____

Resistência a antifúngicos _____

Responsável pelo preenchimento _____

V1 – Avaliação Data ___/___/___

Retornou medicamento? ()S ()N

Quantidade _____ Peso _____

Classificação de Newton

()I ()II ()III

Eventos adversos

() descamação da mucosa () aftas () reação alérgica(vermelhidão, edema, pápulas) () outros _____

Escala Hedônica

7 - gostei muitíssimo

6 - gostei muito

5 - gostei moderadamente

4 - nem gostei/nem desgostei

3 - desgostei moderadamente



2 - desgostei muito

1 - desgostei muitíssimo

Fornecido a bisnaga de medicamento? ()S ()N

Quantidade_____Peso_____

Fornecido orientação de uso (receita)? ()S ()N

Marcar retorno em 7 dias

Responsável pelo preenchimento_____

V2 – Avaliação Data ___/___/___

Retornou medicamento? ()S ()N

Quantidade_____Peso_____

Classificação de Newton

() I () II () III

O material foi coletado(bochecho NaF 0,9% estéril)? ()S ()N

Carga fúngica:_____UFC/mL

Eventos adversos

() descamação da mucosa () aftas () reação alérgica(vermelhidão, edema, pápulas) () outros_____

Responsável pelo preenchimento_____

Observações_____

APÊNDICE II – Termo de consentimento livre e esclarecido

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE

versão 2 de 14 de março de 2018

(Pesquisa Científica em Seres Humanos, Resolução CNS 466/12)

Convidamos o(a) Senhor(a) a participar voluntariamente do projeto de pesquisa “AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE UMA FORMULAÇÃO DE PRÓPOLIS ASSOCIADO A ROMÃ (*Punica granatum*) NO TRATAMENTO DA ESTOMATITE PROTÉTICA EM IDOSOS” sob a responsabilidade do pesquisador Yêda Maria Parro. O projeto estuda a própolis, um produto natural produzido por abelhas, que tem sido usado para tratar vários problemas de saúde. A romã apresenta propriedades que combatem inflamações e infecções. Alguns pesquisadores usaram a própolis e a romã para tratar a candidíase na boca (sapinho).

O objetivo desta pesquisa é avaliar se o uso da própolis associada à romã pode curar a candidíase bucal (sapinho), que ocorre comumente em pessoas que usam dentadura.

O(a) senhor(a) receberá todos os esclarecimentos necessários antes e no decorrer da pesquisa e lhe asseguramos que seu nome não aparecerá sendo mantido o mais rigoroso sigilo pela omissão total de quaisquer informações que permitam identificá-lo(a).

Para participar do estudo você passará por exame da boca e fará um bochecho com soro fisiológico, o que dura em média 20 minutos e será realizado por um dentista. Este exame e o bochecho não causam dor ou desconforto. Seu prontuário (que contém suas informações de saúde) também será analisado e faremos algumas perguntas relacionadas à hábitos de higiene bucal. Serão necessárias fazer 3 avaliações, sendo uma inicial, e mais duas outras, 1 semana e 14 dias após o primeiro exame. Os exames da boca serão realizados na unidade Ceilândia do Serviço Social do Comércio – SESC em Brasília-DF. No primeiro exame, se for encontrada a candidíase (“sapinho”) em sua boca, você receberá o tratamento para 14 dias, que pode ser a própolis+ romã ou o miconazol, de acordo com um sorteio que faremos. Caso o Sr(Sra) seja sorteado para usar a própolis+ romã, ela será oferecida em um frasco com um borrifador. Neste caso, o senhor(a) deverá borrifar a formulação da

própolis+ romã sobre o céu da boca (3 nebulizações), 3 vezes ao dia, após a higiene bucal, durante 14 dias. Caso o Sr(Sra) seja sorteado para usar o gel de miconazol, você deverá passar com o dedo uma camada fina desse gel no céu da boca, 3 vezes ao dia, após a higiene bucal, durante 14 dias. No primeiro e no último dia do exame, o Sr(Sra) deverá fazer um bochecho com soro fisiológico e cuspir em um frasco de plástico, que será coletado pelo pesquisador para análise em laboratório. Durante todo o tratamento, você deverá seguir as orientações de higiene bucal e com a sua dentadura, passadas pelo pesquisador.

Os riscos decorrentes de sua participação na pesquisa são falha da própolis e romã em tratar a candidíase bucal (sapinho). A própolis associada à romã poderá causar irritação ou alergias no céu da boca, isso é raríssimo. Caso isso ocorra, você passará a ser tratado com o gel oral de miconazol. Em raríssimas situações, o gel de miconazol também poderá causar irritação ou alergias no céu da boca. Neste caso, o tratamento tópico será suspenso e passaremos a tratar você com um comprimido de fluconazol tomado pela boca, em dose única. Esclarecemos que é pouco provável que esses efeitos colaterais ocorram, entretanto é importante que o senhor(a) esteja consciente dos mesmos, caso aconteçam. Se o senhor(a) aceitar participar, estará contribuindo para saber se a própolis e a romã podem ser um tratamento para a candidíase bucal.

O(a) senhor(a) pode se recusar a responder (ou participar de qualquer procedimento) qualquer questão que lhe traga constrangimento, podendo desistir de participar da pesquisa em qualquer momento sem nenhum prejuízo para o(a) senhor(a). Sua participação é voluntária, isto é, não há pagamento por sua colaboração.

Todas as despesas que você tiver relacionadas diretamente ao projeto de pesquisa (tais como, passagem para o local da pesquisa, alimentação no local da pesquisa ou exames para realização da pesquisa) serão cobertas pelo pesquisador responsável.

Caso haja algum dano direto ou indireto decorrente de sua participação na pesquisa, você deverá buscar ser indenizado, obedecendo-se as disposições legais vigentes no Brasil.

Os resultados da pesquisa serão divulgados na Universidade de Brasília e Hospital Universitário de Brasília, podendo ser publicados posteriormente.

Os dados e materiais serão utilizados somente para esta pesquisa e ficarão sob a guarda do pesquisador por um período de cinco anos, após isso serão destruídos.

Se o(a) Senhor(a) tiver qualquer dúvida em relação à pesquisa, por favor telefone para: Dra Yeda Maria Parro (99645-6351) e Dra Erica Negrini Lia (999116-7148) na Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília (3107-1802), disponível inclusive para ligação a cobrar. Ainda, seguem os e-mails de contato yedaparro@gmail.com e ericalia@unb.br

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências da Saúde (CEP/FS) da Universidade de Brasília. O CEP é composto por profissionais de diferentes áreas cuja função é defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos. As dúvidas com relação à assinatura do TCLE ou os direitos do participante da pesquisa podem ser esclarecidos pelo telefone (61) 3107-1947 ou do e-mail cepfs@unb.br ou cepfsunb@gmail.com, horário de atendimento de 10:00hs às 12:00hs e de 13:30hs às 15:30hs, de segunda a sexta-feira. O CEP/FS se localiza na Faculdade de Ciências da Saúde, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Universidade de Brasília, Asa Norte.

Caso concorde em participar, pedimos que assine este documento que foi elaborado em duas vias, uma ficará com o pesquisador responsável e a outra com o Senhor (a).

Nome / assinatura

Pesquisador Responsável

Nome e assinatura

ANEXOS

ANEXO I - Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisas

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DA PROPOLIS ASSOCIADA AO ROMÃ NO TRATAMENTO DA ESTOMATITE PROTÉTICA EM IDOSOS **Pesquisador:** YEDA MARIA PARRO **Área Temática:**

Versão: 2

CAAE: 81889717.7.0000.0030

Instituição Proponente: Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.576.494

Apresentação do Projeto:

Trata-se de resposta às pendências do parecer - 2.526.647.

Segundo os pesquisadores no Resumo do PB Informações Básicas do Projeto:

"A candidose e a infecção fungica mais comum na boca, sendo os microrganismos envolvidos do gênero *Candida* sp. Em idosos, a forma clínica mais prevalente é a candidose atrofica crônica (estomatite protética), de etiologia multifatorial. Para tratá-la, preconiza-se o uso de antifúngicos e a higiene de próteses dentárias removíveis, bem como sua remoção durante o período do sono. Produtos naturais, como a propolis associada ao romã tem despertado o interesse como alternativa aos medicamentos sintéticos no tratamento da estomatite protética. Objetivo: Comparar a eficácia de uma formulação a base de mel com extrato de propolis contendo extrato de romã no tratamento tópico da estomatite protética ao tratamento com gel de miconazol. Metodologia: Quarenta participantes com idade superior a 60 anos, usuários de próteses removíveis com cobertura palatina e portadores de estomatite protética serão divididos aleatoriamente em dois grupos. O grupo de estudo será tratado por meio de spray contendo propolis (0,5%) e romã (0,9%) e o grupo comparador receberá gel de miconazol a 2%. Serão avaliados os desfechos clínico e microbiológico."

Objetivo da Pesquisa:

Segundo os pesquisadores, o projeto de pesquisa se propoe a:

"Objetivo Primario:

Comparar a eficacia de uma formulacao a base de mel com Extrato Padronizado de Propolis (EPP-AF) contendo Extrato de roma (Punica granatum), no tratamento da candidose bucal atrofica cronica (estomatite protetica) com o tratamento por meio do gel de miconazol.

Objetivo Secundario:

Avaliar a aceitabilidade e seguranca de ambos os tratamentos."

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Segundo os pesquisadores:

"Riscos:

O principal risco refere-se a potencial ausencia de eficacia da propolis associado ao roma, ou a desencadeamento de reacoes irritativas ou alergicas no local da aplicacao do produto. Esses riscos sao pequenos e havera uma avaliacao odontologica seriada dos voluntarios includos no estudo. Caso haja eventos adversos ou falhas de resposta relacionados ao uso da propolis+ roma, o uso do produto sera suspenso e o paciente sera excluido do protocolo e tratado com medicamento padrao (miconazol 2%). Caso ainda, o paciente apresente reacoes de irritativas ou alergicas ao gel de miconazol, sera excluido do protocolo de pesquisa e recebera dose unica oral de 150mg de fluconazol. Em caso de resistencia a resposta ao

tratamento topico pelo miconazol, a despeito da boa adesao do paciente ao tratamento e as medidas de higiene, o paciente recebera tratamento com dose unica de fluconazol 150mg por via oral. Todo evento adverso relacionado ou nao ao produto em investigacao sera relatado ao CEP da FS/unB

Beneficios:

Os beneficios sao o conhecimento acerca do estado de saude bucal, tratamento e recebimento de orientacoes de higiene de proteses e de saude bucal"

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um projeto de Mestrado do Programa de Pos-Graduacao em Ciencias da Saude da

Universidade de Brasilia, a ser executado pela estudante Yeda Parro sob a supervisao da Profa. Erica Negrini Lia que sera realizado no Ambulatorio de Geriatria do Centro Multidisciplinar do Idoso do Hospital Universitario de Brasilia (HUB) com 40 participantes idosos portadores de estomatite protetica.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram analisados os seguintes documentos para a elaboracao deste parecer:

1. Informações Básicas do Projeto - "PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1028523.pdf", documento gerado automaticamente pela Plataforma Brasil em 15/03/2018.
2. Modelo de TCLE - "TCLEv214mar2018.docx" postado em 15/03/2018.
3. Carta em resposta às pendências apresentadas pelo CEP no Parecer N. 2.526.647 em versão editável "CEPFSUnBrespostas.docx", postada em 15/03/2018.
4. Projeto Detalhado - "Projetov214mar2018.docx" postado em 15/03/2018.

Recomendações:

Não se aplica.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Análise das respostas às pendências apontadas no Parecer Consubstanciado No. 2.526.647:

1: Um estudo recente com metodologia quase idêntica foi publicado por alguns dos autores do presente projeto: " Efficacy of Propolis on the Denture Stomatitis Treatment in Older Adults: A Multicentric Randomized Trial", publicado em março de 2017, que concluiu que: "The EPP-AF appears to be noninferior to miconazole considering the clinical cure rate and could be recommended as an alternative treatment in older patients.". Tendo em vista que já se comprovou a eficácia do própolis para o tratamento da estomatite protética, em um estudo multicêntrico. Solicita-se rever sob a bibliografia disponível os objetivos propostos.

Página 03 de

RESPOSTA: O estudo anterior citado foi publicado pelo nosso grupo de pesquisa e de fato comprovou a eficácia da própolis como tratamento da estomatite protética. Entretanto, há uma diferença importante a ser considerada, pois o estudo anterior utilizou a própolis na forma de gel mucoadesivo, na concentração de 2 %. O estudo atual se propõe a tratar a estomatite protética utilizando uma concentração inferior de própolis (0,5%) e além disso, associou-se também à formulação o extrato de *Punica granatum* a 0,9%. Portanto, tratam-se de produtos diferentes, pois apresentam formulações distintas e concentrações diferentes de própolis. Apesar da pesquisa em análise apresentar caráter acadêmico, de acordo com a ANVISA, qualquer alteração de um produto original, seja em relação à sua composição ou concentração, já o configura como um produto diferente do anterior e necessita de novos testes de eficácia. A metodologia utilizada é igual em ambos os estudos, pois o método usado tem embasamento na literatura científica em pesquisa clínica, direcionado ao estudo da eficácia e da segurança do produto para o tratamento da estomatite protética, considerando os desfechos clínico e microbiológico. Portanto, a metodologia será a mesma, independentemente do produto a ser utilizado.

ANÁLISE: A explanação apresentada pelos pesquisadores responde razoavelmente ao CEP, e justifica a escolha da metodologia para a pesquisa. PENDÊNCIA ATENDIDA.

2: Solicita-se que as páginas do TCLE estejam numeradas (ex.: 1/3; 2/3; 3/3) para garantir a integridade do documento.

RESPOSTA: Foi anexada a versão 2 do TCLE com a numeração das páginas solicitada em negrito, no canto inferior direito de cada página.

ANÁLISE: A alteração solicitada foi efetuada. PENDÊNCIA ATENDIDA.

3: A equipe de pesquisa apresentada conta com 7 pesquisadores, entretanto a função destes no projeto não está clara. Solicita-se indicar no projeto detalhado a participação de cada um deles.

RESPOSTA: Foi adicionado à página 1 da versão 2 de 14/03/2018 do projeto de pesquisa detalhado a descrição da participação de cada pesquisador, em negrito.

ANÁLISE: A alteração solicitada foi efetuada no Projeto Detalhado, conforme indicado:

"Funções dos pesquisadores:

Yeda Maria Parro: pesquisadora principal. Sua função é o recrutamento dos pacientes e execução do protocolo de pesquisa, além da redação do trabalho final (que inclui revisão bibliográfica, descrição dos métodos, resultados e discussão)

Erica Negrini Lia: elaboração do projeto de pesquisa, treinamento da pesquisadora principal em Boas Práticas de Pesquisa Clínica e orientação da redação do trabalho final.

Eduardo Barbosa Coelho: participou da elaboração da metodologia, incluindo o cálculo amostral e realizará toda a análise estatística, gráficos e tabelas.

Vicente de Paulo Martins: responsável pela padronização, elaboração da metodologia laboratorial e sua execução

Herick Sampaio Muller: auxiliar na execução da fase laboratorial, como preparação de meios de cultura, cultivo e identificação dos fungos

Danielly de Mendonça Silva: auxílio à pesquisadora principal no recrutamento dos pacientes, coleta do material a ser enviado ao laboratório de pesquisa e aplicação de questionário de saúde Andresa Aparecida Berretta e Silva: farmacêutica responsável pela fabricação do produto em teste".

PENDÊNCIA ATENDIDA.

Conclusão: Todas as pendências foram atendidas. Não há óbices éticos para a realização deste projeto.

Protocolo de pesquisa está em conformidade com a Resolução CNS 466/2012 e Complementares.

Considerações Finais a critério do CEP:

De acordo com a Resolução 466/12 CNS, itens X.1.- 3.b. e XI.2.d, os pesquisadores responsáveis deverão apresentar relatórios parcial semestral e final do projeto de pesquisa, contados a partir da data de aprovação do protocolo de pesquisa.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1028523.pdf	15/03/2018 18:02:28		Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	CEPFSUnBrespostas.docx	15/03/2018 18:01:41	YEDA MARIA PARRO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura	Projetov214mar2018.docx	15/03/2018 18:00:44	YEDA MARIA PARRO	Aceito



Investigador				
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEv214mar2018.docx	15/03/2018 17:58:38	YEDA MARIA PARRO	Aceito
Outros	coparticipante.doc	27/12/2017	YEDA MARIA	Aceito

Página 05 de

Outros	coparticipante.doc	22:29:33	YEDA MARIA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Termoconcordancia.doc	27/12/2017 22:08:37	YEDA MARIA PARRO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projetov1271217.docx	27/12/2017 21:54:25	YEDA MARIA PARRO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	27/12/2017 21:34:01	YEDA MARIA PARRO	Aceito
Outros	LattesHerick.pdf	19/12/2017 21:27:21	YEDA MARIA PARRO	Aceito
Outros	LattesDanielly.pdf	19/12/2017 21:14:48	YEDA MARIA PARRO	Aceito
Outros	LattesEduardo.pdf	19/12/2017 21:12:26	YEDA MARIA PARRO	Aceito
Outros	LattesErica.pdf	19/12/2017 21:03:01	YEDA MARIA PARRO	Aceito
Outros	LattesVicente.pdf	19/12/2017 20:59:50	YEDA MARIA PARRO	Aceito
Outros	LattesYeda.pdf	19/12/2017 20:57:30	YEDA MARIA PARRO	Aceito
Outros	cartaencaminhamento.doc	19/12/2017 20:24:04	YEDA MARIA PARRO	Aceito
Declaração de Pesquisadores	TermoRespCompromPesq.doc	19/12/2017 20:22:26	YEDA MARIA PARRO	Aceito
Outros	coparticipante.jpg	19/12/2017 19:42:52	YEDA MARIA PARRO	Aceito
Outros	cartadeencaminhamento.jpg	19/12/2017 19:32:32	YEDA MARIA PARRO	Aceito
Orçamento	planilha.doc	19/12/2017 19:22:29	YEDA MARIA PARRO	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Termodeconcordanciainstitucional.jpg	19/12/2017 19:17:09	YEDA MARIA PARRO	Aceito
Declaração de Pesquisadores	termresp.pdf	19/12/2017 19:07:42	YEDA MARIA PARRO	Aceito

Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	19/12/2017 18:55:23	YEDA MARIA PARRO	Aceito
----------------	------------------	------------------------	---------------------	--------

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BRASILIA, 03 de Abril de 2018

Assinado por:

Keila Elizabeth Fontana
(Coordenador)

PRESS RELEASE

A saúde bucal no Brasil precisa receber mais atenção, especialmente as pessoas maiores de 60 anos. A perda de dentes e as doenças bucais decorrentes do uso de próteses é uma realidade comum nos idosos brasileiros. A estomatite protética é uma infecção fúngica, que acomete comumente os usuários de próteses removíveis e está associada à idade do paciente, idade da prótese, trauma na mucosa do “céu da boca” devido a falta de adaptação da prótese, pouca saliva e higiene bucal deficiente. A prótese torna-se um reservatório de microrganismos, facilitando a infecção. Antifúngicos usados para tratar essa doença bucal podem causar interações com medicamentos de uso rotineiro do paciente. A própolis com romã surge como uma alternativa de tratamento de baixo custo, bem aceita pelo usuário e sem reações adversas. É necessária uma maior conscientização a respeito dos problemas bucais, incluindo esse que foi motivo do nosso estudo, doença pouco conhecida pela população em geral. Contudo, é imprescindível programas voltados a essa faixa etária; programas de prevenção e promoção de saúde bucal para o adulto, visando, a longo prazo, uma mudança no perfil odontológico desses futuros idosos. O tratamento dessa infecção dá qualidade de vida ao usuário de prótese removível. A saúde bucal do idoso precisa de fato entrar na cobertura universal por ser tratar de um elemento crucial para a saúde geral.