

## Evidenciadores de biofilme em prótese total: avaliação clínica e antimicrobiana

### *Biofilm disclosing agents in complete denture: clinical and antimicrobial evaluation*

Cláudia Helena Lovato da Silva\*  
Helena de Freitas Oliveira Paranhos\*\*  
Isabel Yoko Ito\*\*\*

**RESUMO:** Este trabalho avaliou a capacidade em corar, a facilidade de remoção e a ação antimicrobiana de evidenciadores de biofilme dental em prótese total. A capacidade em corar foi avaliada por método visual aplicando-se evidenciadores sobre a superfície interna da prótese total superior. Após fotografia, as próteses coradas foram escovadas (escova e dentífrico específicos para prótese total) e novamente fotografadas. Os diapositivos foram projetados em folhas de papel (aumento de 10 X); as áreas total e corada das próteses contornadas com grafite, recortadas e pesadas, para obtenção, em porcentagem, dos resultados da facilidade de remoção. A ação antimicrobiana foi avaliada pelo método de difusão em ágar e os resultados obtidos pela medida dos aros e halos de inibição formados. A melhor capacidade em corar foi apresentada pelo azul de metileno (0,05%), eritrosina (5%), fluoresceína sódica (1%), Replak e vermelho neutro (1%). Eosina (1%), fluoresceína sódica (1%) e eritrosina (5%) apresentaram a maior facilidade de remoção. Não apresentaram ação antimicrobiana eosina (1%), eritrosina (5%), fluoresceína sódica (1%), proflavina (0,3%), Replak e vermelho neutro (1%). As soluções que apresentaram maior capacidade de corar, facilidade de remoção e ausência de ação antimicrobiana, requisitos necessários para auxiliar estudos que avaliam métodos de higiene e de orientação aos pacientes, foram eosina (1%), vermelho neutro (1%) e eritrosina (5%).

**UNITERMOS:** Prótese total; Biofilmes; Pigmentos; Resinas acrílicas.

**ABSTRACT:** This study evaluated the disclosing ability, removal facility and antimicrobial effect of biofilm disclosing agents applied on complete dentures. Disclosing ability was evaluated by means of the visual method. The solutions were applied on the internal surface of dentures. After being photographed, the dentures were brushed with denture-specific brush and dentifrice and photographed again. The obtained slides were projected on paper (10 X amplification) and the total and stained surfaces were outlined with graphite, cut off and weighed, in order to assess removal facility. The evaluation of antimicrobial effects was carried out by means of the method of diffusion in agar, and the results were obtained by measuring the length of the halos and rings. In terms of disclosing ability, the best solutions were 0.05% methylene blue, 5% erythrosin, 1% sodic fluorescein, Replak and 1% neutral red. One percent eosin, 1% sodic fluorescein and 5% erythrosin were the most easily removed solutions. One percent eosin, 5% erythrosin, 1% sodic fluorescein, 0.3% proflavine, Replak and 1% neutral red presented no antimicrobial effect. The solutions which presented the greatest disclosing ability and removal facility as well as absence of antimicrobial effect – which are essential requirements in the assessment of hygiene methods and guidance on oral health – were 1% eosin, 1% neutral red and 5% erythrosin.

**UNITERMS:** Denture, complete; Biofilms; Pigments; Acrylic resins.

## INTRODUÇÃO

Os estudos que avaliam a saúde bucal de usuários de prótese totais concluem que a higiene desses aparelhos é precária. Entre as dificuldades para realização de uma boa limpeza, incluem a falta de orientação do paciente, as características das próteses, a diminuição da habilidade motora da maioria dos pacientes devido à idade e a falta de materiais específicos no mercado<sup>9,11,21</sup>.

Outro fator importante relacionado à higienização de próteses totais é o conhecimento dos materiais e métodos de quantificação do biofilme formado, procedimento importante para testar a eficácia dos produtos de higiene e para indicar ao profissional e paciente como e onde se deposita o biofilme sobre a prótese total<sup>13-6,15-19</sup>. A quantificação do biofilme em dentes naturais é estudada e apresentada na literatura<sup>2,7,11,13,20,23</sup>, mas em prótese total, é um

\*Professora Assistente; \*\*Professora Doutora – Departamento de Materiais Dentários e Prótese da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

\*\*\*Professora Titular da Disciplina de Microbiologia do Departamento de Ciências da Saúde da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

procedimento difícil devido à escassez de estudos e por não ser algo realizado rotineiramente na clínica odontológica. Em muitas investigações, soluções evidenciadoras têm sido utilizadas para quantificar o biofilme da prótese total.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de evidenciadores de biofilme dental sobre o biofilme da prótese total quanto a capacidade em corar, facilidade de remoção do evidenciador da resina acrílica e dos dentes artificiais e ação antimicrobiana (*in vitro*) contra microrganismos específicos.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Capacidade em corar o biofilme

As soluções utilizadas e suas concentrações estão apresentadas no Quadro 1.

### Seleção dos pacientes

Foram selecionados da clínica de Prótese Total da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto (Universidade de São Paulo) 28 pacientes, 5 homens e 23 mulheres, com idade entre 35 e 60 anos, estado de saúde geral bom (verificado pelo prontuário clínico de cada paciente), portadores de prótese total dupla confeccionadas em resina acrílica termoativada na cor rosa e com dentes de acrílico sem fraturas ou emendas e com período de uso entre 1 e 10 anos. O Índice Aditivo<sup>1</sup> foi utilizado para selecionar próteses totais com uma quantidade mínima de biofilme.

### Aplicação da solução evidenciadora

As próteses totais foram enxaguadas em água corrente por 5 segundos e secas por jato de ar por 10 segundos. Com um "swab", cada evidenciador foi aplicado sobre a superfície interna de 4 próteses totais superiores. Em seguida, foram novamente enxaguadas por 5 segundos para remoção

do excesso do evidenciador e secas por 10 segundos. A capacidade em corar foi avaliada visualmente e classificada da seguinte forma: 1) excelente - evidenciadores que coraram o biofilme de forma intensa, possibilitando a correta determinação do contorno das áreas contendo biofilme; 2) bom - evidenciadores que coraram o biofilme de forma mais fraca, mas possibilitaram a determinação do contorno das áreas com biofilme; 3) ruim - evidenciadores que não coraram o biofilme, impossibilitando a distinção entre a cor da base da prótese e a cor característica do evidenciador.

### Facilidade de remoção do evidenciador da resina acrílica e dos dentes artificiais

A metodologia empregada foi similar àquela utilizada por Paranhos *et al.*<sup>20</sup> (2000). A superfície analisada foi fotografada com filme Ektacrome Asa 100, com tempo de exposição e técnica fotográfica padronizada em ângulo de 90°. Foram realizados 3 registros fotográficos da superfície interna de cada prótese: 1º registro - fotografia da superfície corada; 2º registro - fotografia da superfície após as dentaduras terem sido higienizadas com uma escova macia (Johnson & Johnson Ltda., São Paulo, Brasil) e uma pasta para dentadura (Dentu Creme, Dentco, Inc. Jersey City, EUA) por 1 minuto; 3º registro - fotografia da superfície após os evidenciadores terem sido reaplicados na superfície interna da prótese total superior. Este serviu como um controle, possibilitando a comparação da área corada antes da escovação com a área corada após a escovação, permitindo verificar a capacidade do evidenciador em corar somente o biofilme e/ou áreas da prótese sem biofilme. Os diapositivos obtidos foram projetados em aumento de 10 X sobre folha de papel (297 x 432 mm e 75 g/m<sup>2</sup>) e o contorno da área total e corada da prótese foi realizado com grafite. Estas áreas foram recortadas do papel e pesadas em balança analítica (Metler Toledo, Suíça). A porcentagem de biofilme foi calculada como a relação entre o peso da área corada multiplicado por 100 e o peso da área total da prótese.

### Ação antimicrobiana dos evidenciadores

O método utilizado foi o de difusão em ágar. Empregaram-se dois meios de cultura (Brain Heart Infusion - BHI e ágar Mueller-Hinton Medium - MH). Os microrganismos e suas origens estão apresentados no Quadro 2.

Os microrganismos *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* e *Enterococcus faecalis* foram semeados em BHI e *Micrococcus luteus*,

**QUADRO 1** - Soluções evidenciadoras de biofilme e concentrações utilizadas.

Nº	Soluções evidenciadoras	Concentração das soluções
1	Azul de metileno	Alcoólica a 0,05%
2	Eosina	Aquosa a 1,0%
3	Eritrosina	Aquosa a 5,0%
4	Fluoresceína sódica	Glicerínada a 1,0%
5	Proflavina monossulfato	Aquosa a 0,3%
6	Replak	Comercial
7	Vermelho neutro	Aquosa a 1,0%

**QUADRO 2** - Origem dos microrganismos utilizados como indicadores da ação antimicrobiana dos evidenciadores de biofilme.

Nº	Microrganismo	Origem
K1	<i>Streptococcus mutans</i>	Dente natural
K3	<i>Streptococcus sobrinus</i>	Dente natural
H1	<i>Streptococcus mutans</i>	Dente natural
S1	<i>Streptococcus mutans</i>	Espanha
Ef	<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 10541
Ml	<i>Micrococcus luteus</i>	ATCC 9341
St	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
8+	<i>Staphylococcus aureus</i>	Prótese total
Epi	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Saliva de paciente
Ec	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
Pa	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
Ca	<i>Candida albicans</i>	ATCC 1023
Da	<i>Candida glabrata</i>	Prótese total

**TABELA 1** - Capacidade das soluções evidenciadoras em corar o biofilme.

Solução evidenciadora	Capacidade em corar		
	Excelente	Boa	Ruim
Azul de metileno a 0,05%	X	-	-
Eosina a 1%	-	X	-
Eritrosina a 5%	X	-	-
Fluoresceína sódica a 1%	X	-	-
Proflavina monossulfato a 0,3%	-	X	-
Replak	X	-	-
Vermelho neutro a 1%	X	-	-

*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, em MH. As placas para o teste foram obtidas por adição dos microrganismos no meio de cultura a uma temperatura de 50°C com o auxílio de pipeta em uma concentração final de 10<sup>6</sup> UFC/ml (cálculo realizado por meio de diluição e estimativa, baseado no MDI - "maximum dilution index"), com volume de 12 ml nas placas de 20 x 100 mm, em câmara de fluxo vertical (Veco, Campinas, SP). Com uma pinça esterilizada, os discos de papel foram embebidos em 5 ml das soluções evidenciadoras e distribuídos uniformemente sobre o meio de cultura. As

**TABELA 2** - Resultados (%) dos 3 registros realizados para cada prótese.

Soluções	Registros		
	1º	2º	3º
Azul de metileno a 0,05%	32,29	5,96	31,16
	49,74	9,13	26,02
	5,55	2,99	4,49
	26,29	3,82	17,31
Eosina a 1%	6,92	0	2,08
	4,43	0	1,44
	1,42	0	0,47
	8,96	0	1,08
Eritrosina a 5%	4,50	0,29	4,19
	7,05	0	6,22
	11,05	5,05	2,03
	12,22	3,11	8,33
Fluoresceína sódica a 1%	13,09	0	0,68
	13,08	3,20	9,32
	16,57	0	11,11
	25,13	1,05	11,45
Proflavina monossulfato a 0,3%	7,88	0	5,47
	18,36	5,67	16,5
	32,06	4,18	31,69
	13,65	1,09	5,83
Replak	23,47	8,07	18,22
	3,13	0,44	0,91
	32,90	1,32	14,93
	22,58	0,82	4,11
Vermelho neutro a 1%	25,26	5,26	11,74
	16,80	2,52	9,83
	13,27	0,88	6,25
	8,55	4,41	8,48

placas foram incubadas em estufas a 37°C e, em seguida, os diâmetros dos halos e aros de inibição foram medidos em mm.

## RESULTADOS

Os resultados, obtidos por método visual, da classificação das soluções quanto à capacidade em corar o biofilme estão apresentados na Tabela 1.

Os resultados (%) da área corada sobre a área total dos três registros, para posterior avaliação da facilidade de remoção, estão apresentados na Tabela 2.

Sobre os resultados da Tabela 2, aplicou-se análise de variância, que mostrou haver diferença significativa entre as soluções ao nível de 1%. Por haver mais de duas médias envolvidas, efetuou-se o teste de Tukey (Tabela 3) e os resultados estão apresentados na Tabela 3.

As letras apresentadas à frente de cada média têm a função de indicar se elas são estatisticamente iguais. Como houve sobreposição de médias (exemplo: 0,38 = 0,37 e 0,27 = 0,23 e 0,23 = 0,06) aplicou-se o teste de Scheffé, que indicou haver diferença significativa entre a solução de eosina a 1%

e as demais soluções, entre as quais não houve diferença significativa.

Na Tabela 4, estão apresentadas as médias (%) da interação registros *versus* soluções (obtidas por meio da análise de variância). Estas médias permitem verificar, numericamente, qual solução apresentou a maior capacidade em corar o biofilme (1º registro), maior facilidade de remoção (2º registro) e maior capacidade em corar a prótese sem biofilme (3º registro).

O azul de metileno foi a solução que corou melhor o biofilme (0,84%), a mais difícil de ser removida (0,50%) e a que mais corou a superfície da prótese sem o biofilme presente (0,74%).

Nas Tabelas 5 e 6, estão apresentadas as medidas dos halos e aros de inibição do crescimento de

**TABELA 3** - Verificação da facilidade de remoção das soluções (teste de Tukey).

Soluções	Médias	Valor do teste p (H0) = 1%
Azul de metileno a 0,05%	0,49a	0,20
Proflavina monossulfato a 0,3%	0,38ab	
Vermelho neutro a 1%	0,38ab	
Replak	0,37ab	
Fuoresceína sódica a 1%	0,27bc	
Eritrosina a 5%	0,23bcd	
Eosina a 1%	0,06cd	

Letras diferentes indicam diferença estatística significativa.

**TABELA 4** - Médias (%) da interação soluções *versus* registros.

Soluções	Registros		
	1º	2º	3º
Azul de metileno a 0,05%	0,84	0,50	0,74
Eosina a 1%	0,49	0	0,30
Eritrosina a 5%	0,58	0,22	0,48
Fluoresceína sódica a 1%	0,70	0,21	0,51
Proflavina monossulfato a 0,3%	0,75	0,31	0,69
Replak	0,77	0,34	0,62
Vermelho neutro a 1%	0,73	0,42	0,61

**TABELA 5** - Medida (mm) dos halos e aros de inibição do crescimento dos microrganismos causada pelas soluções evidenciadoras em meio BHI.

Microrganismos e origem	Soluções													
	Azul de metileno (0,05%)		Eosina (1%)		Eritrosina (5%)		Fluoresceína sódica (1%)		Proflavina (0,3%)		Replak		Vermelho neutro (1%)	
	Halo	Aro	Halo	Aro	Halo	Aro	Halo	Aro	Halo	Aro	Halo	Aro	Halo	Aro
<i>Streptococcus mutans</i> (dente natural)	22	6	0	0	15	4	0	0	19	7	15	4	0	0
<i>Streptococcus sobrinus</i> (dente natural)	18	5	0	0	16	4	0	0	18	5	14	3	0	0
<i>Streptococcus mutans</i> (dente natural)	10	1	10	1	16	4	0	0	15	4	14	3	0	0
<i>Streptococcus mutans</i> (Espanha)	10	1	11	2	16	4	0	0	14	3	14	4	0	0
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 10541)	16	4	11	2	14	3	9	1	8	1	31	4	0	0

**TABELA 6** - Medida (mm) dos halos e aros de inibição do crescimento dos microrganismos causada pelas soluções evidenciadoras em meio MH.

Microrganismos e origem	Soluções													
	Azul de metileno (0,05%)		Eosina (1%)		Eritrosina (5%)		Fluoresceína sódica (1%)		Proflavina (0,3%)		Replak		Vermelho neutro (1%)	
	Halo	Aro	Halo	Aro	Halo	Aro	Halo	Aro	Halo	Aro	Halo	Aro	Halo	Aro
<i>Micrococcus luteus</i> (ATCC 9341)	12	2	9	1	12	2	17	5	0	0	15	4	10	1
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	13	2	10	1	14	4	13	3	9	1	12	3	10	1
<i>Staphylococcus aureus</i> (prótese total)	11	2	14	3	14	10	13	3	9	1	13	3	11	1
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (saliva de paciente)	13	3	13	3	14	4	14	3	8	1	18	5	11	2
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	10	1	0	0	0	0	0	0	0	0	9	1	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Candida albicans</i> (ATCC 1023)	12	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Candida glabrata</i> (prótese total)	13	4	0	0	0	0	0	0	0	0	31	14	28	11

microrganismos causadas pelas soluções evidenciadoras.

## DISCUSSÃO

Este trabalho teve como objetivo identificar soluções evidenciadoras capazes de corar o biofilme da prótese total, que fossem fáceis de serem removidas da base de resina e dos dentes artificiais e que não apresentassem ação antimicrobiana. As próteses superiores dos pacientes foram selecionadas de acordo com o Índice Aditivo<sup>1</sup> para padronização da quantidade de biofilme presente na superfície interna das próteses totais, permitindo assim, afirmar que as soluções com pouca capacidade em corar ou que não coraram o biofilme não tiveram este comportamento pela ausência de biofilme na superfície das próteses.

A metodologia utilizada para realização do trabalho fundamentou-se na literatura existente<sup>1,5,21</sup>, a qual mede a quantidade de biofilme através de diapositivos coloridos projetados em folha de papel, onde se atribuem escores para quantificar o biofilme. Neste trabalho, utilizou-se o método de pesagem de papel para obtenção de dados numéricos por serem mais objetivos que a atribuição de

escores. As soluções foram testadas clinicamente e avaliadas visualmente (Tabela 1), sendo que 5 foram excelentes e 2 boas, quanto à capacidade em corar o biofilme da prótese total, permitindo a identificação das áreas contendo biofilme. Esse fator é importante quando da orientação ao paciente a respeito da localização do biofilme por facilitar sua remoção por escovação e manutenção das próteses totais.

Após a aplicação de análise estatística (Tabela 3), as soluções que apresentaram melhores resultados para facilidade de remoção foram eosina a 1%, eritrosina a 5%, fluoresceína sódica a 1%, Replak, vermelho neutro a 1%, proflavina a 0,3% e azul de metileno a 0,05%, respectivamente (Tabela 4).

Os trabalhos encontrados na literatura que mencionaram o uso de evidenciadores para avaliação e quantificação do biofilme não se referiram à ação antimicrobiana das soluções utilizadas<sup>1,2,3,8,10</sup>, exceto Begue *et al.*<sup>2</sup> (1966) que estudou a eritrosina. Estas informações são importantes nos estudos que avaliam a atividade antimicrobiana de higienizadores de próteses totais. O uso aleatório de um evidenciador pode interferir nos resultados se



ele apresentar capacidade bactericida e/ou bacteriana.

Na avaliação da ação antimicrobiana, as soluções que não apresentaram ação contra leveduras (*Candida albicans*) e *Streptococcus* do grupo *mutans* foram eosina a 1%, fluoresceína sódica a 1% e vermelho neutro a 1%. As soluções que não apresentaram ação somente contra leveduras foram eritrosina a 5%, proflavina a 0,3% e Replak. A atenção para esse grupo de soluções foi destacada porque o biofilme é formado principalmente por *Streptococcus* do grupo *mutans* e *Candida albicans*<sup>6,8,20,22,23</sup> (Tabelas 5 e 6).

## REFERÊNCIAS

1. AmbjØrnsen E, Rise J, Haugejorden O. A study of examiner errors associated with measurement of denture plaque. *Acta Odontol Scand* 1984;42(3):183-91.
2. Begue WJ, Bard RC, Koegne GW. Microbial inhibition by erythrosin. *J Res* 1966;45:1464-7.
3. Block PL, Lobene RR, Derdivanis J. P. A two-tone dye test for dental plaque. *J Periodontol* 1972;43(7):423-6.
4. Budtz-JØrgensen E. A 3-month study of enzymes as denture cleansers. *J Oral Rehabil* 1978;5(1):35-9.
5. Budtz-JØrgensen E, Knudsen AM. Chlorhexidine gel and Steradent<sup>®</sup> employed in cleaning dentures. *Acta Odontol Scand* 1978;36(2):83-7.
6. Budtz-JØrgensen E, Theilade E, Theilade J. Quantitative relationship between yeast and bacteria in denture induced stomatitis. *Scand J Dent Res* 1983;91(2):134-42.
7. Caride ER, Rossi GH, Rezzano SM. Substâncias revelantes. *Odontol Panam* 1974;2:43-50.
8. Connor JN, Schoenfeld CM, Taylor RL. Study of *in vivo* plaque formation. *J Dent Res* 1976;55(3):481-8.
9. Cumming CG, Wight C, Blackwell CL, Wray D. Denture stomatitis in the elderly. *Oral Microbiol Immunol* 1990;5(8):82-5.
10. Hefferren JJ. Use of ultraviolet illumination in oral diagnoses. *J Am Dent Assoc* 1971;82(6):1252-60.
11. Hoad-Reddick G, Grant AA, Griffiths CS. Investigation into the cleanness of dentures in an elderly population. *J Prosthet Dent* 1990;64(1):48-52.
12. Hutchins PW, Parker WA. A clinical evaluation of the ability of denture cleaning solutions to remove dental plaque from prosthetic devices. *N Y State Dent J* 1973;39:363-7.
13. Jeganathan S, Thean HPY, Thong KT, Chan YC, Singh M. A clinically viable index for quantifying denture plaque. *Quintessence Int* 1996;27(8):569-73.
14. Keng SB, Lim M. Denture plaque distribution and effectiveness of a perborate-containing denture cleanser. *Quintessence Int* 1996;27(5):341-5.
15. Kulak Y, Arikian A, Albak S, Okar Y, Kazazoglu E. Scanning electron microscopic examination of different cleansers: surface contaminant removal from dentures. *J Oral Rehabil* 1997;24(6):209-215.
16. Lang NP, Ostergaard E, Løe H. A fluorescent plaque disclosing agent. *J Periodontol Res* 1972;7:59-67.
17. Lecknes KN, Lie T. Erythrosin staining in clinical disclosure of plaque. *Quintessence Int* 1988;19(3):199-204.
18. Miese JB, Wade AB. Use of food colorants of plaque disclosing agents. *J Clin Periodontol* 1973;3:200-7.
19. Palenik CJ, Miller C. H. *In vitro* testing of three denture cleaning systems. *J Prosthet Dent* 1984;51(6):751-4.
20. Paranhos HFO, Panzeri H, Lara EHG, Candido RC, Ito IY. Capacity of denture plaque/biofilm removal and antimicrobial action of a new denture paste. *Braz Dent J* 2000;11(2):97-104.
21. Pietrokovski J, Azuelos J, Tau S, Mostavoy R. Oral findings in elderly nursing home residents in selected countries: oral hygiene conditions and plaque accumulation on denture surfaces. *J Prosthet Dent* 1995;73(2):136-41.
22. Theilade E, Budtz-JØrgensen E. Predominant cultivable microflora of plaque on removable dentures in patients with denture induced stomatitis. *Oral Microbiol Immunol* 1988;3(1):8-13.
23. Walter B, Frank RM, Steuer P. Ultrastructural development of dated plaque in case of denture stomatitis. *J Biol Buccale* 1986;14(2):115-24.

## CONCLUSÕES

As soluções que apresentaram capacidade em corar o biofilme, facilidade de remoção da superfície da prótese e não apresentaram ação antimicrobiana foram eosina a 1%, vermelho neutro a 1% e fluoresceína sódica a 1%. Essas soluções podem ser empregadas em estudos que avaliam produtos específicos de higiene e o biofilme da prótese total qualitativa e quantitativamente e podem também serem instituídas como auxiliares nos métodos de remoção do biofilme pelos usuários de próteses totais.

Recebido para publicação em 08/08/01  
Enviado para reformulação em 14/05/02  
Aceito para publicação em 19/06/02