

## EFETIVIDADE DA IRRADIAÇÃO POR MICROONDAS NA DESINFECÇÃO DE PRÓTESES TOTAIS CONTAMINADAS POR *Candida dubliniensis*.

Patrícia Gabriela Sabino Viana, Carlos Eduardo Vergani, Mariana Montenegro Silva, Nicole Erbert Ferrari – Odontologia – Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese – Faculdade de Odontologia de Araraquara – Campus de Araraquara.

Tem sido observado que aproximadamente 65% dos usuários de prótese total são acometidos pela estomatite protética, uma infecção fúngica causada principalmente por microrganismos do gênero *Candida*. Como as próteses são constantemente banhadas por saliva rica em proteína, uma película é formada na sua superfície proporcionando condições favoráveis para o desenvolvimento de microrganismos. Além disso, independentemente do tipo de acabamento realizado nas próteses, as suas irregularidades e porosidades podem conter microrganismos patogênicos capazes de penetrar e sobreviver a uma profundidade que varia de 1,0 a 2,0 micrômetros. A associação da imersão das próteses em agentes químicos ao método mecânico de escovação tem sido sugerida para aumentar a efetividade no controle de placa, com o objetivo de prevenir a proliferação de microrganismos, principalmente os do gênero *Candida*.

Além da imersão em solução desinfetante, um outro método que tem sido recomendado para a desinfecção das próteses é a irradiação com microondas. Tem sido verificada a efetividade da irradiação com microondas (650 W/6 minutos) na desinfecção de corpos-de-prova de resinas acrílicas indicadas para reembasamento imediato, contaminados com quatro microrganismos patogênicos (*S. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* e *B. subtilis*). De acordo com os resultados obtidos, após a irradiação, os corpos-de-prova tornaram-se estéreis, uma vez que não houve crescimento de microrganismos após dois períodos de incubação (48 horas e 7 dias). Para comprovar a efetividade desse método, foi considerado importante realizar esse mesmo protocolo experimental (6 min/650 W) com a utilização de próteses totais, pois sua maior área superficial associada às irregularidades permitem maior aderência de microrganismos. Observou-se também que a irradiação por microondas durante 6 min a 650 W resultou na esterilização das próteses contaminadas com os microrganismos *C. albicans* e *S. aureus* e, no entanto, na desinfecção daquelas inoculadas por *B. subtilis* e *P. aeruginosa*. Além disso, Neppelenbroek et al. avaliaram a efetividade da irradiação por microondas (6 min/650 W) associada ou não à terapia antifúngica local no tratamento de pacientes com estomatite protética e observaram que ambos procedimentos reduziram a inflamação local. Com base nos estudos acima mencionados, Mima et al. realizaram um estudo que avaliou a efetividade da irradiação em microondas, utilizando a potência de 650 W e reduzindo o tempo de exposição (1, 2, 3, 4 e 5 min). Foi constatada esterilização dos corpos-de-prova para todos os microrganismos (*C. albicans*, *S. aureus*, *B. subtilis* e *P. aeruginosa*) avaliados quando os tempos de 3, 4 e 5 min foram utilizados. Sendo assim, esses resultados indicam a possibilidade do protocolo de desinfecção por microondas, descrito por Neppelenbroek et al., ser utilizado com tempos menores que 6 minutos. Porém, esta possibilidade deve ser validada por meio de avaliações *in vitro* e clínicas.

Para todos os métodos de esterilização, entre eles a irradiação por meio de microondas, verifica-se que a *Candida albicans* é uma das espécies mais estudadas e revisadas na literatura. Porém, recentemente, uma outra espécie de *Candida* foi identificada e denominada *Candida dubliniensis*. A *C. dubliniensis* é fenotipicamente e genotipicamente semelhante a *C. albicans* e, usualmente, se apresenta combinada a ela. Em pacientes com candidose crônica tem sido verificada uma maior recorrência da infecção por *C. dubliniensis*, assim como um aumento da resistência das cepas dessa espécie aos tratamentos convencionais com fluconazol e outras drogas do tipo azol (itraconazol e cetoconazol). Além disso, estudos epidemiológicos têm demonstrado a associação primária da *C. dubliniensis* às infecções na cavidade bucal e orofaringe de pacientes infectados com o vírus HIV e pacientes aidéticos.

Este estudo teve por objetivo avaliar o efeito do tempo de irradiação sobre a efetividade da desinfecção em microondas de próteses totais superiores contaminadas com *C. dubliniensis* (ATCC – 7978). Inicialmente, 60 modelos superiores foram confeccionados em gesso pedra tipo IV por meio de um

molde em silicone RTV, obtido a partir de um modelo padrão. Após a presa do gesso, os modelos foram retirados do molde de silicone e suas bases regularizadas com lixas de granulações 120 e 180. Para a obtenção da prótese superior em cera, foi utilizada uma matriz em silicone RTV, obtida por meio da moldagem de uma prótese total encerada sobre um modelo padrão. Inicialmente, os dentes artificiais foram adaptados em suas respectivas lojas na matriz de silicone onde, posteriormente, foi vertida uma placa e meia de cera rosa no 7 liquefeitas. Em seguida, o modelo de gesso superior foi imediatamente posicionado e mantido sob leve pressão no interior da matriz. O conjunto modelo, base de prova em cera e dentes artificiais foi removido do molde de RTV após o resfriamento completo da cera por 30 minutos. A seguir, cada prótese encerada, juntamente com o modelo, foi incluída em mufla de maneira convencional. A prensagem da resina acrílica para base de prótese (Lucitone 550-Dentsply Indústria e Comércio Ltda) foi realizada em duas etapas (prensagem de prova e prensagem final) em uma prensa hidráulica, de acordo com as recomendações do fabricante. Após este período, a mufla foi levada a polimerizadora. Após o ciclo de polimerização (ciclo curto-73°C por 90 min e 100°C por 30 min), a prótese foi demuflada e submetida aos procedimentos de acabamento e polimento.

Sessenta próteses totais superiores foram confeccionadas, sendo 50 para condição experimental e 10 para o grupo controle, e submetidas à esterilização com óxido de etileno (ACECIL – Comércio e Esterilização a óxido de etileno Ltda). As próteses foram individualmente colocadas em béqueres contendo 200 mL de meio de cultura Tryptic Soy Broth (TSB) e inoculadas com a alíquota correspondente a  $10^7$  ufc/mL de *Candida dubliniensis* (Figura 1). Após 24 horas de incubação a 37°C, as próteses foram divididas em dois grupos: desinfetadas e não desinfetadas. Dessa forma, 10 dos béqueres (grupo controle) foram agitados por 1 minuto e deixados em repouso por 9 minutos. Posteriormente, os béqueres foram levemente agitados para resusender as células microbianas. A seguir, uma alíquota de 25µL da suspensão resultante das diluições seriadas de  $10^{-1}$  a  $10^{-4}$ , foi semeada em placas de Petri contendo meio de cultura seletivo para *C. dubliniensis* (Sabouraud Agar). As placas foram incubadas a 37°C por 48 horas para verificar o crescimento das colônias viáveis.



FIGURA 1 - Uma alíquota de 15µL correspondente a concentração de  $10^7$  ufc/mL meio de cultura inoculado com *C.dubliniensis* foi pipetada em cada um dos béqueres contendo as próteses totais esterilizadas

Após o procedimento de contaminação, as outras cinquenta próteses foram divididas em 5 grupos experimentais. Cada grupo correspondeu a um dos seguintes tempos de irradiação: G I – 1 minuto, G II – 2 minutos, G III – 3 minutos, G IV – 4 minutos e G V – 5 minutos com 10 amostras em cada grupo. Para isso, as próteses foram removidas dos béqueres contendo meio de cultura TSB contaminado e imersas, individualmente, em um béquer contendo 200 mL de água destilada estéril. Em seguida, cada béquer foi posicionado no prato giratório do forno de microondas e irradiado a 650 W por 5, 4, 3, 2 ou 1 minuto. Após a irradiação, cada prótese foi assepticamente removida do béquer e colocada em um béquer contendo 200 mL de solução salina. Cada béquer foi vigorosamente agitado por 1 minuto, deixado em repouso por 9 minutos e novamente agitado para desprender qualquer célula microbiana do corpo-de-prova para a solução resultante.

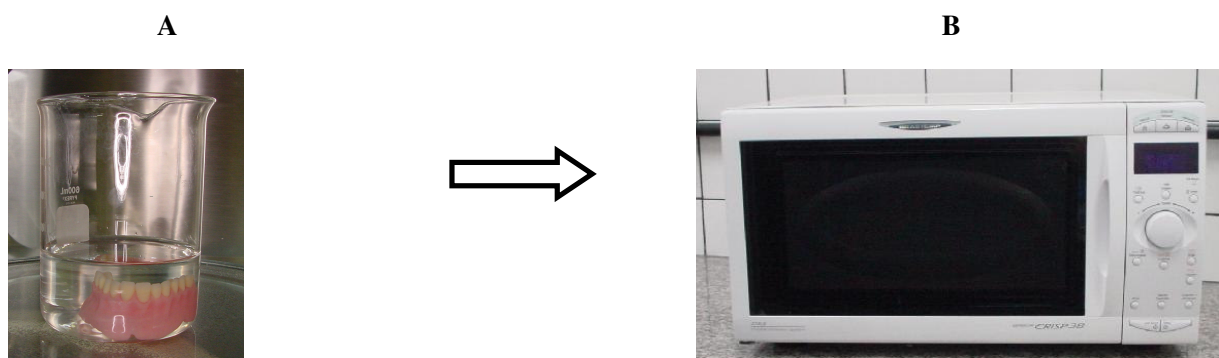


FIGURA 2 - Prótese total no interior do forno de microondas imersa em béquer com 200 mL de água destilada estéril (A) para ser submetida à irradiação em microondas (B)

A seguir, foram realizados os mesmos procedimentos descritos para obtenção das diluições seriadas e para a realização de semeadura utilizada para as amostras do grupo controle. As placas referentes aos grupos experimentais foram igualmente submetidas à incubação a 37°C por 48 horas. Para a verificação da efetividade do método de desinfecção em microondas em longo prazo, as próteses submetidas à desinfecção foram colocadas individualmente em um béquer contendo 200 mL de meio de cultura TSB. Esses béqueres foram incubados em estufa a 37°C por 7 dias. Decorrido esse período, observou-se a presença ou ausência de turvação dos meios de cultura. A presença de uma leve turvação no meio de cultura indicaria o crescimento do microrganismo. Após a incubação de 48 horas, tanto as placas das amostras desinfetadas quanto das não desinfetadas, foram submetidas à contagem de colônias em contador de colônias digital (Phoenix, Modelo CP 600 Plus, Phoenix Ind. e Com. De Equip. Científicos Ltda). Depois da contagem de colônias, os números de unidades formadoras de colônias por mililitro (ufc/mL), foram calculados e comparados para verificação da efetividade do método de desinfecção testado. Foram considerados somente os valores entre 30 e 300 colônias, sendo escolhido o número de colônias referente a uma única diluição que representasse um valor entre a variação considerada. Os valores de ufc/mL obtidos foram deixados em notação científica e obtida então a média aritmética dos valores das duplicatas de cada amostra. Estes, além de elevados, apresentam uma distribuição assimétrica. Para facilitar a interpretação dos resultados obtidos, os valores em ufc/mL foram transformados para logaritmo na base dez, o que diminuiu a assimetria, mas não conseguiu a homogeneização da variabilidade. Sendo assim, optou-se pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis com nível de significância de 5%.

Após 48 horas de incubação a 37°C, as semeaduras das placas de Petri referentes às próteses dos grupos G II (2 minutos), G III (3 minutos), G IV (4 minutos) e G V (5 minutos) não apresentaram colônias viáveis para o microrganismo avaliado (Figura 3), já o grupo experimental G I (1 minuto) apresentou crescimento microbiano, embora com redução dos valores de ufc/mL maior que 88% em relação ao grupo controle (não desinfetadas). Os resultados obtidos do grupo e dos grupos experimentais estão apresentados na Tabela 1.

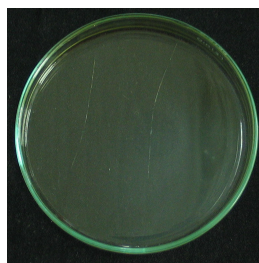


FIGURA 5 – Semeaduras das placas de Petri referentes às próteses dos grupos experimentais G II, G III, G IV e G V, após 48 horas de incubação a 37°C

Tabela 1 – Média das contagens (ufc/mL) do microrganismo *C. dubliniensis* para as próteses dos grupos controle e experimentais.

GRUPO	ufc/mL
Controle	5,15E x 06
G I	5,85E x 05
G II	0*
G III	0
G IV	0
G V	0

\*Após 7 dias de incubação houve crescimento microbiológico em 5 das 10 culturas de TSB

Após 7 dias de incubação a 37°C, não houve presença de crescimento microbiológico em culturas de TSB para as próteses irradiadas durante 3, 4 e 5 minutos. No entanto, houve crescimento microbiológico em todas as culturas de TSB referentes às próteses irradiadas por 1 minuto, enquanto que nas próteses irradiadas por 2 minutos o crescimento ocorreu em apenas 50% das culturas de TSB.

Com base nos resultados obtidos foi possível concluir que todas as próteses totais superiores contaminadas com o microrganismo *C. dubliniensis* foram efetivamente esterilizadas pela irradiação em microondas após 3, 4 e 5 minutos de exposição a 650 W, enquanto que a irradiação em microondas por 1 e 2 minutos de exposição a 650 W promoveu apenas a desinfecção de próteses totais superiores contaminadas com o microrganismo *C. dubliniensis*.

#### Referências:

- 1-MIMA, E.G.O et al. Effect of different exposure times of microwave irradiation on the disinfection of a hard chairside relined resin. **J. of Prosthodontics**. Copenhagen. (ID JOPR-06-054)
- 2-NEPPELENBROEK, K.H. et al. Effectiveness of microwave disinfection on the treatment of denture stomatitis. ABSTRACT: 2005 IADR/AADR/CADR 83rd General Session & Exhibition.
- 3-NEPPELENBROEK, K.H., et al. Effectiveness of microwave disinfection on three hard chairside relined resins. **Int. J. Prosthodont.**, Lombard, v. 16, n. 6, p. 616-620, Nov./Dec. 2003.

**Bolsa:** CNPq/PIBIC

**Auxílio:** FAPESP (Processo 04/07557-1)