



MARIANA MONTENEGRO SILVA

Efetividade da irradiação por microondas na desinfecção de próteses totais

Dissertação apresentada à
Faculdade de Odontologia de
Araraquara, da Universidade
Estadual Paulista - UNESP, para
a obtenção do título de Mestre
em Reabilitação Oral (Área de
Concentração: Prótese).

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Vergani
Co – Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Denise M. P. Spolidório

Araraquara

2005

Silva, Mariana Montenegro

Efetividade da irradiação por microondas na desinfecção de próteses totais / Mariana Montenegro Silva. – Araraquara : [s.n.], 2005.

140 f. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Vergani

Co – Orientadora: Prof^a. Dr^a. Denise M. P. Spolidório

1. Prótese total 2. Microbiologia 3.Desinfecção 4. Microondas

I. Título

DADOS CURRICULARES

Mariana Montenegro Silva

NASCIMENTO	20/11/1979 – Maceió - AL
FILIAÇÃO	Alcides Gusmão da Silva Maria Euthália Montenegro Silva
1997/2000	Curso de graduação na Universidade do Sagrado Coração
2001/2003	Curso de Especialização em Prótese Dentária, na Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP
2003/2005	Curso de pós-graduação em Reabilitação Oral, nível de Mestrado, na Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Carlos Eduardo Vergani (Orientador)

Professor Adjunto Doutor do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese da Faculdade de Odontologia do Campus de Araraquara da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

Prof^a. Dr^a. Ana Cláudia Pavarina

Professor Assistente Doutor do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese da Faculdade de Odontologia de Araraquara do Campus de Araraquara da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

Prof^a. Dr^a. Dalva Cruz Laganá

Professor Associado do Departamento de Prótese da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

DEDICATÓRIA

A **Deus**,
Pelo dom da vida!
Agradeço por todas as
oportunidades concedidas.

Aos meus pais, **Alcides** e **Maria**
Euthália, e a minha irmã
Marcela.
Agradeço à minha família pelo
amor e apoio incondicional.

Agradecimento especial

Ao meu orientador **Prof. Dr. Carlos Eduardo Vergani**, pela orientação competente e segura. Agradeço pelo incentivo, oportunidades concedidas e pela paciência durante esta jornada.

À minha co-orientadora **Prof^a Dr^a Denise Madalena Spolidório**, pelos conhecimentos transmitidos e por ter disponibilizado o Laboratório de Microbiologia para realização deste trabalho.

Agradecimento especial

Às professoras da Disciplina
de Prótese Parcial Removível,
Ana Cláudia Pavarina, Ana
Lúcia Machado e
EuniceTeresinha Giampaolo.

Aos professores do Curso de
Pós-Graduação em Reabilitação
Oral.

Meus sinceros agradecimentos
pela valiosa contribuição à
minha formação profissional.

Agradecimento especial

Aos meus avós, Eupídio e Lita,
pelo amor e pelo incentivo em
todos os momentos de minha
vida.

Aos meus amigos Anne, Daniela,
Ewerton, Karin, Nara,
Polyanna, Rosângela, Sabrina e
Vanessa, pelo auxílio prestado
na elaboração deste trabalho e
acima de tudo
pela amizade sincera.

À Sílvia Pupim e toda sua
família, pela acolhida e pelo
carinho.

Agradecimento

Aos meus amigos de curso de
Mestrado, Andréa, Ana
Carolina, Ana Paula, Anelise,
Anne, Daniela, Ewerton, João
Gustavo, José Maurício,
Juliana, Karina, Luciano,
Marcelo, Matheus, Michael e
Roberta.

Aos meus amigos Andréa, Ana
Carolina Beatriz, César,
Juliana, Lívia, Liliana, Lu
Lima, Márcio, Mariana N.,
Mariana Q., Marina, Tatiana,
Renato e Viviane. Obrigada por
acreditarem em mim, por
estarem sempre tão presentes e
pela amizade sincera.

Agradecimento

Aos funcionários do
Departamento de Materiais
Odontológico e Prótese, pela
amizade e solidariedade em
todo o período do curso.

A Dental Vipi Ltda por ter
doados os dentes artificiais
de resina acrílica
utilizados
nesse trabalho.

A ACECIL – Comércio e
Esterilização a Óxido de
Etileno Ltda por ter
esterilizado gratuitamente
todas as próteses totais.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	17
3. PROPOSIÇÃO.....	68
4. MATERIAL E MÉTODO.....	70
5. RESULTADO	96
6. DISCUSSÃO.....	108
7. CONCLUSÃO.....	109
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	121
ANEXO.....	132
RESUMO.....	137
ABSTRACT.....	139

1 Introdução

A preocupação com a contaminação cruzada na clínica odontológica proporcionou estímulo para o desenvolvimento de técnicas adequadas de esterilização e desinfecção em diversos procedimentos odontológicos. Entretanto, poucos cuidados têm sido observados durante a manipulação dos trabalhos protéticos. A presença de microrganismos patogênicos da microbiota bucal e não bucal, associados com doenças sistêmicas e locais, tem sido verificada em vários itens relacionados aos trabalhos protéticos. Segundo Powell et al.⁴⁶, 67% dos trabalhos enviados dos consultórios odontológicos aos laboratórios de prótese estão contaminados com microrganismos patogênicos. Estes microrganismos podem ser transmitidos aos técnicos de laboratório, via contato direto, ou pelos aerossóis produzidos durante os procedimentos de desgaste da prótese. Dessa forma, os microrganismos poderiam ser inalados pelo profissional, auxiliares odontológicos, técnicos de laboratório e pacientes, desencadeando uma contaminação cruzada. Portanto, a realização de procedimentos de desinfecção das próteses é fundamental para diminuir a quantidade de microrganismos presentes em sua superfície e prevenir a propagação de doenças infecto-contagiosas entre o consultório odontológico e o laboratório de prótese. De acordo com as recomendações da American Dental Association², as próteses devem ser limpas e desinfetadas em todas as etapas durante a sua confecção e

antes da sua colocação. Além disso, cabe ao técnico de laboratório realizar a desinfecção dos trabalhos protéticos, após os procedimentos laboratoriais^{1,2}.

Dentre os métodos de desinfecção de próteses, a utilização de soluções químicas como o glutaraldeído a 2%, hipoclorito de sódio, dióxido de cloro, iodóforo, álcool e clorexidina, tem sido recomendada^{10,12,15,28,40,41,51}. Entretanto, há vários inconvenientes na utilização desses agentes químicos para a desinfecção de próteses^{4,5,52}. O glutaraldeído, apesar de possuir ação bactericida, não deveria ser utilizado para desinfecção de próteses, pois a sua permanência dentro das porosidades da resina poderia induzir uma irritação dos tecidos bucais¹. A utilização de hipoclorito de sódio e de iodóforo, efetiva para desinfecção, vem sendo limitada devido aos efeitos deletérios que pode ocasionar como o branqueamento das bases acrílicas⁵². Soluções químicas à base de álcool e a clorexidina podem, ainda, alterar a dureza superficial de algumas resinas acrílicas expostas a períodos prolongados de imersão^{4,5}.

Além da imersão em solução desinfetante, um outro método recomendado é a desinfecção das próteses por irradiação em microondas^{7,27,48,63}. A utilização das microondas na odontologia como método de desinfecção ainda é muito restrita. No entanto, há estudos que sugerem a utilização das microondas como método para desinfecção de alimentos¹⁹, lentes de contato^{29,49}, materiais microbiológicos

laboratoriais^{11,39}, roupas íntimas contaminadas com *C.albicans*²⁵, lixo hospitalar³⁰, corantes utilizados na indústria cosmética³⁴ e instrumentos utilizados em medicina e odontologia^{23,31,50,55}.

Rohrer e Bulard⁴⁸ demonstraram que a exposição de próteses contaminadas com *S. epidermis*, *S. aureus*, *K. pneumonia*, *B. subtilis* e *C. albicans* à energia de microondas por 10 minutos a 720 W foi efetiva para eliminação dos microrganismos. No entanto, a esterilização somente foi observada quando as próteses foram acopladas a um dispositivo rotacional tridimensional, não disponível comercialmente. Webb et al.⁶³ demonstraram que o forno de microondas caseiro convencional pode promover uma redução nos microrganismos nas próteses inoculadas com *C. albicans* e *S. gordonii*, após 6 minutos de exposição, a uma potência de 350 W. Baysan et al.⁹ verificaram que o hipoclorito de sódio e a irradiação com microondas promoveram uma redução na contagem de células de *C. albicans* e *S. aureus*, tendo sido o hipoclorito de sódio levemente mais efetivo para a desinfecção que a irradiação por microondas. Mais recentemente, a energia de microondas foi utilizada como coadjuvante no tratamento de pacientes com candidose⁷. Foi observado que a irradiação por microondas foi efetiva para a desinfecção das próteses totais superiores pertencentes a esses pacientes. Além disso, a reinfecção das superfícies das próteses e a infecção da mucosa subjacente foram significativamente reduzidas nos

pacientes cujas próteses foram irradiadas em relação aos pacientes cujas próteses foram imersas em solução de clorexidina.

Nos estudos mencionados de desinfecção em microondas, a irradiação foi realizada a seco. Entretanto, Dixon et al.²¹ demonstraram que, quando a desinfecção foi realizada com as amostras imersas em água, houve maior efetividade, tendo em vista a ausência de crescimento do microrganismo *Cândida albicans*. Além disso, outros estudos também sugerem o umedecimento dos materiais antes da irradiação em microondas para se obter uma maior efetividade no procedimento de desinfecção^{25,32}. Com base nesses aspectos, foi realizado um estudo com o objetivo de analisar a efetividade da irradiação por microondas na desinfecção de resinas acrílicas indicadas para reembasamento imediato⁴². As amostras, imersas em água, foram submetidas à irradiação por microondas por 6 minutos a 650 W. Para a realização dos testes microbiológicos, foram utilizados quatro microrganismos considerados indicadores na avaliação de métodos de esterilização e desinfecção *S. aureus* (gram positivo), *P. aeruginosa* (gram negativo), *C. albicans* (fungo) e *B. subtilis* (aeróbico esporulado)⁴². Os resultados demonstraram que, após a irradiação por microondas, os corpos-de-prova tornaram-se estéreis, uma vez que não houve crescimento de microrganismos após os períodos de incubação utilizados (48 horas e 7 dias). Embora este método tenha demonstrado ser eficaz na esterilização de corpos-de-prova de materiais reembasadores, é

importante ressaltar que o número de colônias na superfície da prótese provavelmente será maior quando consideramos a área total envolvida. Esta maior área de contato, associada às irregularidades presentes na superfície da prótese, poderia permitir uma maior aderência de microrganismos^{59,61}. Independentemente do tipo de acabamento realizado na prótese, os microrganismos podem penetrar e sobreviver a uma profundidade que varia de 1,0 a 2,0 micrômetros^{15,20}. Com base nessas considerações, o objetivo deste trabalho foi verificar a efetividade da irradiação por microondas na desinfecção de próteses totais superiores, contaminadas com diferentes microrganismos patogênicos.

2 Revisão da literatura

Em 1965, Olsen⁴³ investigou o mecanismo de ação da irradiação por microondas sobre os microrganismos *Aspergillus niger*, *Penicillium sp.* e *Rhizopus nigicans*, principais responsáveis pela proliferação fúngica em pães. Os esporos dessas leveduras foram inoculados em fatias de pães que, posteriormente, foram irradiadas por 2 minutos em um aparelho de microondas não convencional a uma potência de 5000 W. Após a irradiação, os esporos foram retirados do centro das fatias de pães e agitados em água destilada. Em seguida, alíquotas da solução resultante foram semeadas em placas de Petri e o número de colônias foi contado. Foi observado que a contaminação fúngica nos pães reduziu significativamente após a irradiação em microondas. Segundo o autor, pesquisas têm demonstrado que as espécies de *Aspergillus* e *Penicillium* são inativadas em temperaturas entre 336,6°C a 345,6°C, quando mantidas por 20 minutos. No entanto, a maior temperatura registrada no aparelho de microondas utilizado nesse estudo foi de 327,6°C. Considerando o tempo de exposição utilizado (2 minutos) e a incapacidade de uma levedura para reter uma temperatura por até 10 minutos, os excelentes resultados obtidos após a irradiação por microondas, provavelmente, não originou de um efeito puramente térmico. Além disso, foi sugerido que as soluções salinas presentes no citoplasma das leveduras testadas podem representar um alvo preferencial para a

energia de microondas, o que leva a temperatura interna desses microrganismos a exceder o suficiente para promover lise ou inativação.

Carroll & Lopez¹⁴, em 1969, realizaram um estudo para avaliar a possibilidade de um efeito não-térmico das microondas na inativação dos microrganismos *B. subtilis*, *E. coli* e *S. cerevisiae*. Para isso, esses microrganismos foram inoculados em alguns alimentos (leite, suco de tomate e suco de laranja) e irradiados a 500 W por períodos entre 16 e 64 minutos antes das semeaduras nas placas de Petri. Os autores observaram que não houve redução dos microrganismos *S. cerevisiae* e *E. coli* inoculados no leite e no suco de tomate, após o tratamento com as microondas. No entanto, para o suco de laranja, ocorreu uma redução progressiva do número de microrganismos com o aumento do tempo de exposição às microondas. Com base nos resultados obtidos, os autores sugeriram que a composição química da suspensão irradiada e a das células microbianas pode explicar os efeitos não térmicos provenientes das microondas. Além disso, os autores relataram que existe a possibilidade da lise celular de um microrganismo ocorrer devido à rápida oscilação das cargas celulares elétricas negativas em decorrência de interação com o campo eletromagnético das microondas. Essa oscilação, segundo os autores, pode exceder os limites elásticos da estrutura celular, promovendo seu rompimento.

Segundo Larato³⁸, em 1967, existe a possibilidade de transmissão de microrganismos de paciente para paciente por meio da reutilização da pedra-pomes para polimento de próteses. Procurando solucionar esse problema, o autor realizou um estudo que avaliou a efetividade da desinfecção da pedra-pomes por uma solução à base de hipoclorito de sódio por 30 minutos. Inicialmente, a pedra-pomes foi dividida em 20 partes iguais, sendo uma metade misturada à solução desinfetante (A) e a outra à água (B). A roda de pano utilizada no torno também foi imersa na solução por 30 minutos. Todas as próteses contaminadas foram lavadas com água e sabão, ajustadas com ponta montada e lavadas novamente. Em seguida, 10 próteses foram polidas com a mistura A e 10 com a mistura B. Vinte minutos após o polimento, as amostras de pedra-pomes utilizadas foram semeadas em placas de Petri e as colônias viáveis foram quantificadas. Os resultados evidenciaram que, apesar das amostras misturadas com a solução A terem apresentado menor número de microrganismos que as amostras misturadas à solução B, a solução de hipoclorito de sódio não promoveu uma desinfecção efetiva na pedra-pomes. Diante dos resultados, o autor sugeriu que a pedra-pomes deveria ser descartada após cada polimento com a finalidade de prevenir a transmissão de microrganismos entre os pacientes portadores de prótese.

Em 1974, Katerberg Jr³⁷. investigou a existência de contaminação cruzada entre pacientes usuários de próteses removíveis, incluindo próteses imediatas, durante os procedimentos de acabamento e polimento no laboratório de prótese. Para avaliar o grau de contaminação durante os procedimentos laboratoriais, as bases das próteses foram polidas com pedra-pomes em utilização no laboratório. Em seguida, metade das próteses foi imersa em compostos quaternários de cloro e amônia por 15 minutos e a outra metade não foi desinfetada. Alíquotas das suspensões resultantes foram semeadas em placas de Petri e incubadas a 37°C por 24 e 48 horas. Os resultados evidenciaram que houve uma redução do número de microrganismos das próteses imersas em solução desinfetante. Por outro lado, a pedra-pomes sempre apresentou contaminação. O autor concluiu que existe risco potencial de contaminação cruzada entre pacientes e entre técnicos e pacientes via laboratório. Porém, a utilização de medidas simples, como esterilização da roda de pano e da pedra-pomes em autoclave e imersão das próteses em solução desinfetante por 15 minutos, pode reduzir significativamente o risco de infecção.

Culkin e Fung¹⁹, em 1975, avaliaram o padrão de destruição de duas bactérias, *Escherichia coli* e *Salmonella typhimurium*, em sopas cozidas em microondas, com relação ao tempo de irradiação e à temperatura alcançada durante exposição às microondas. As bactérias

selecionadas foram inoculadas em uma concentração de 10^7 ufc/mL nas porções individuais (200 mL) ou triplas (600 mL) das sopas de tomate, sopa de vegetais e no caldo de carne. A irradiação das sopas inoculadas foi realizada em períodos superiores a 150 segundos para porções individuais e a 10 minutos para as porções triplas. Tiras de papel térmicas foram utilizadas nas mensurações das temperaturas. O número de células viáveis foi determinado por meio da semeadura das alíquotas de sopa em placas de Petri. Os resultados evidenciaram uma redução progressiva na viabilidade das bactérias avaliadas com o aumento do tempo de exposição às microondas. Segundo os autores, se a ação letal da energia de microondas fosse atribuída ao efeito do calor produzido pelas ondas, seria esperado que os microrganismos da região de maior temperatura apresentassem os menores valores de viabilidade microbiana. Entretanto, foi evidenciado que os microrganismos nas regiões superficiais, de temperatura inferior, apresentaram menor nível de viabilidade quando comparado às regiões intermediárias, que apresentaram maior temperatura. Considerando esses aspectos, os autores sugeriram que o mecanismo de ação das microondas sobre os microrganismos pode ser explicado não somente por um efeito térmico mas também, por efeitos mecânicos de origem não térmica.

Fitzpatrick et al.²⁴, em 1978, avaliaram a efetividade da irradiação por microondas na esterilização de microrganismos

patogênicos. Para os experimentos foram utilizados tubos de ensaio com suspensão salina de *S.aureus*; esporos a seco de *B.subtilis* ou tiras umedecidas com esporos de *B.subtilis*. Inicialmente, cada condição avaliada foi submetida a cinco irradiações sucessivas por 12 segundos a 1000 W. Esses experimentos demonstraram que o tratamento, apesar de ter sido efetivo para eliminar formas metabólicas (*S.aureus*), foi insuficiente para inativar às formas esporuladas. A partir desses resultados, os autores realizaram experimentos com tiras contaminadas com esporos (*B. stearothermophilus* e *B. subtilis*) e umedecidas em água destilada. Em seguida, essas tiras foram irradiadas por períodos superiores a 15 e 30 minutos. No entanto, ainda foi observada cultura positiva para os esporos testados. Com base nessas observações, culturas desses esporos foram incubadas em outros tubos de ensaio abertos. Entretanto, experimentos demonstraram crescimento em todas as culturas avaliadas. Devido a essas observações, os autores realizaram experimentos com tubos de ensaio vedados com roscas e verificaram que não houve crescimento nas culturas avaliadas pelo período de 7 dias. Foi concluído que a esterilização satisfatória por meio da irradiação em microondas apresentou-se viável quando o conteúdo a ser irradiado foi adequadamente selado. Além disso, com base nos resultados obtidos, os autores sugeriram que a esterilização ocorrida foi devido a um efeito puramente térmico.

Em 1978, Hume e Makinson³¹ avaliaram a efetividade das microondas na esterilização de instrumentos odontológicos e o possível efeito bacteriostático de óleos para lubrificação de peças de mão. Tiras de papel contaminadas com *B. stearothermophilus* foram expostas à irradiação por microondas a seco, durante tempos que variaram de 10 segundos a 64 minutos e incubadas por 24 horas. Alicates ortodônticos, limas endodônticas, cerdas de escovas profiláticas e fresas carbide de tungstênio contaminadas com *S. aureus* foram irradiados por até 12 minutos e incubados a 37°C por 24 horas. Em outro experimento, peças de mão e alicates ortodônticos, contaminados com o vírus *H. simplex*, também foram irradiadas por até 12 minutos e a presença viável de vírus foi avaliada por meio de cultura de célula. Além disso, alguns óleos de lubrificação foram aplicados em tubos de ensaio contendo meio de cultura líquido inoculado com *S. aureus*. Os resultados demonstraram crescimento microbiológico nos instrumentos e tiras irradiadas. Os óleos lubrificantes utilizados, com exceção Kavo All-Air, apresentaram apenas efeito bacteriostático e as peças de mão lubrificadas demonstraram cultivos viral e bacteriano negativos. Os autores concluíram que a irradiação por microondas, na intensidade e nos tempos de exposição utilizados, não foi efetiva como um método de esterilização a seco.

Os mecanismos de ação da irradiação com microondas na inativação de microrganismos foram estudados por Vela & Wu⁵⁸, em

1979. Esses autores irradiaram amostras de solo, leveduras, bactérias e vírus, em amostras umedecidas, secas ou liofilizadas. De acordo com os resultados, as amostras liofilizadas dos microrganismos sobreviveram a altas doses de irradiação a seco, enquanto esses mesmos microrganismos foram inativados quando em presença de água. Segundo os autores, a inativação celular ocorreu em função do conteúdo de água das amostras sendo, portanto, resultado de um efeito térmico. Foi sugerido, ainda, que os microrganismos estudados não absorvem energia suficiente, no estado seco, para provocar redução significativa nas populações celulares, embora tenham sido expostos à irradiação por períodos prolongados de tempo.

Wakefield⁶⁰, em 1980, avaliou a contaminação bacteriana de próteses dentais reparadas, após seu retorno dos laboratórios para o consultório odontológico. Para isto, dez próteses totais foram fraturadas na região do palato e esterilizadas em óxido de etileno. Posteriormente, cada prótese total foi colocada em um invólucro plástico contendo solução de glutaraldeído ativa por 12 horas para obter a esterilização. Decorrido este período, as próteses foram enxaguadas com água estéril, embaladas e enviadas para dez diferentes laboratórios (oito nos EUA e dois na Alemanha). Quando as próteses retornaram dos laboratórios, foram imersas em 100 mL de meio de cultura para verificar o crescimento microbiológico por meio do turvamento da solução. As observações do

crescimento microbiológico foram realizadas com 24, 48, 72 horas. Além disso, após 24 horas 0,001 mL de cada meio de cultura foi retirado, semeado em meio Agar Chocolate e incubado. Após 72 horas do início do crescimento, 0,001 mL de cada meio de cultura foi semeado em 3 diferentes meios de cultura: CNA (gram positivos), BEM (inibe o crescimento de gram positivo, favorecendo o crescimento de gram negativo) e Agar Chocolate. A identificação dos microrganismos foi feita com testes específicos. O autor não observou crescimento microbiológico em apenas uma das próteses totais enviadas para reparo. As outras nove próteses apresentaram contaminação na ordem de 10^9 ufc/mL.

Visando reduzir a contaminação cruzada do instrumental protético, Stern e Whitacre⁵³, em 1981, demonstraram uma série de precauções que os dentistas e sua equipe devem ter. Segundo os autores, instrumentos de difícil esterilização, como articulador e arco-facial, devem ser cobertos com uma capa plástica limpa. Para a desinfecção de superfície, a utilização de agentes químicos, como iodine 1% diluída em álcool isopropil 70% foi recomendada. Itens utilizados rotineiramente, como moldeiras e espátulas, devem ser esterilizados em autoclave, estufa, por óxido de etileno ou por meio de um sistema que utiliza elevada temperatura em combinação com formaldeído, álcool e outros compostos orgânicos. As soluções desinfetantes consideradas efetivas foram: glutaraldeído 2%, hipoclorito de sódio e iodóforo, porém

foram ressaltados os riscos de descoloração de resina acrílica e de corrosão de estruturas metálicas. Além disso, foi indicada a utilização de luvas e máscaras por todos profissionais da equipe odontológica em todas as fases de tratamento.

Em 1982, Kahn et al³⁶. observaram que a contaminação microbiológica durante o polimento de próteses removíveis ocorre com a utilização de escova de pano e pedra-pomes contaminadas. Os autores examinaram vários métodos de tratamento dessas próteses com o objetivo de diminuir ou eliminar os microrganismos. Para o experimento 36 próteses totais superiores foram confeccionadas e divididas em 3 grupos de 12 amostras cada. Para o grupo 1, as próteses dos pacientes foram polidas por 1 minuto com uma escova de pano estéril e uma mistura também estéril, de pedra-pomes e água. Em seguida, próteses estéreis foram polidas pelo mesmo período de tempo na escova previamente contaminada. Para o grupo 2, as próteses dos pacientes foram tratadas da mesma forma que no grupo 1, porém essas foram escovadas por 1 minuto com limpador de hexaclorofeno 3%, antes o polimento. Já para o grupo 3, o tratamento realizado foi igual ao grupo 2, porém as próteses estéreis também foram escovadas por 1 minuto em hexaclorofeno 3% antes e após o polimento. Amostras das próteses pertencentes aos 3 grupos foram semeadas e as placas de Petri avaliadas após 24, 48 e 72 horas. Os resultados demonstraram que o

tratamento realizado para o grupo 3 foi o mais recomendável, e que precauções como renovação da pedra-pomes, desinfecções dos recipientes para acondicionamento de pedra-pomes e esterilização da escova de pano, diminuem a contaminação bacteriana durante os procedimentos de polimento.

Em 1983, Williams et al.⁶⁴ relataram que o microrganismo *Acinetobacter* tem sido encontrado em grande quantidade na pedra-pomes utilizada nos laboratórios de prótese. Esse microrganismo tem sido associado à ocorrência de infecções como a pneumonia, septicemia, meningite, endocardites infecções do trato urinário, infecções dos olhos e da região da cabeça e pescoço. Próteses contaminadas confeccionadas para pacientes hospitalizados ou sob cuidados de enfermeiras podem ainda, servir como uma fonte de introdução desses microrganismos na cavidade oral de pacientes susceptíveis a infecções ou com comprometimentos médicos. Sendo assim, a sua presença nos aerossóis dos consultórios odontológicos, nos laboratórios de prótese e nas próteses pode por em risco a saúde dos dentistas, dos seus pacientes e os profissionais associados aos consultórios.

Rohrer e Bulard⁴⁸, em 1985, realizaram um estudo para avaliar a efetividade das microondas na redução da infecção cruzada entre consultório odontológico e laboratório de prótese. Os autores

realizaram as experiências com os microrganismos inoculados em tubos de ensaio contendo meio de Brain-Heart Infusion, próteses com metal ou totalmente em resina acrílica, brocas metálicas e peças de mão. Os corpos-de-prova foram contaminados com 10^5 ufc/mL de cada um dos seguintes microrganismos: três tipos de bactérias não esporuladas (*S. aureus*, *S. epidermidis* e *K. pneumoniae*), uma bactéria aeróbica esporulada (*B. subtilis*), uma bactéria esporulada anaeróbica (*C. histolyticum*), um fungo (*C. albicans*) e dois vírus (polio tipo 1 e herpes simplex tipo 1). Para as irradiações no forno de microondas, os corpos-de-prova foram ou não fixados a um dispositivo rotacional tridimensional desenvolvido pelos autores. Os corpos-de-prova contaminados foram submetidos às microondas a uma potência de 720 W, nos tempos experimentais de 0, 1, 3, 5, 8 e 10 minutos, e incubados a 37°C. A bactéria *B. subtilis* foi também inoculada em tiras de papel irradiadas por 20 minutos. O crescimento dos microrganismos foi avaliado para todos os materiais após 24 e 48 horas pela análise da turvação do meio e crescimento de colônias em placas de Petri. Para a irradiação das próteses, duas condições foram avaliadas para os testes de estabilidade dimensional: as próteses foram mantidas por 15 minutos em água ou foram mantidas a seco, antes de serem irradiadas. Segundo os autores, os resultados obtidos quando o dispositivo rotacional tridimensional foi utilizado evidenciaram maior efetividade no tratamento com microondas. Os tubos de ensaio contaminados com a mistura de quatro bactérias

aeróbicas e *C. albicans* não demonstraram crescimento após 10 minutos de irradiação. A esterilização da bactéria esporulada anaeróbica *C. histolyticum* ocorreu após 3 minutos de irradiação. As tiras de papel com a bactéria esporulada aeróbica *B. subtilis* demonstraram esterilização apenas após 15 minutos de irradiação. As brocas dentárias, quando imersas em suspensão de quatro bactérias aeróbicas e expostas às microondas por 10 minutos, apresentaram esterilização. As peças de mão contaminadas com a mesma suspensão bacteriana foram esterilizadas após 10 minutos de irradiação. As próteses contaminadas com as suspensões individuais de quatro bactérias aeróbicas e do fungo apresentaram esterilização para todos os microrganismos testados após 8 minutos de exposição às microondas. Quando uma mistura de suspensões desses microrganismos foi utilizada, a esterilização das próteses foi observada após 10 minutos de irradiação. Não foram observadas alterações dimensionais tanto para as próteses imersas previamente em água quanto para as mantidas a seco e expostas às microondas por até 16 minutos. Para uma esterilização efetiva de materiais odontológicos, os autores sugeriram a irradiação por microondas associada à utilização do dispositivo tridimensional desenvolvido nesse estudo.

Em 1986, Rohrer et al.⁴⁹, avaliaram a eficácia da irradiação por microondas na esterilização de lentes de contato hidrofílicas.

Inicialmente, as lentes foram autoclavadas e em seguida, inoculadas individualmente (10^6 ufc/mL) com um dos seguintes microrganismos: *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris*, *B. cereus*, *E. coli*, *S. marcescens*, *A. fumigatus* e *C. albicans*. Após a contaminação, as lentes foram anexadas a um dispositivo rotacional tridimensional e irradiadas a 700 W durante 1, 2, 4, 6, 8 e 10 minutos para se determinar o tempo mínimo necessário para inativação de cada microrganismo avaliado. As lentes foram então, colocadas em tubos com meio de cultura líquido e incubadas a 37°C por 48 horas. As lentes contaminadas com *S. pneumoniae* foram expostas também a 0, 20, 30, 45, 60 e 120 segundos. Após a determinação do tempo mínimo de inativação, dez amostras para cada microrganismo foram submetidas ao procedimento de esterilização durante o tempo de exposição pré-determinado para cada microrganismo. As lentes também foram contaminadas por cultivos virais de rinovírus, parainfluenza vírus tipo 3, adenovírus tipo 1 e herpes simples tipo 1 e submetidas aos mesmos procedimentos de esterilização. Os resultados demonstraram que o tempo mínimo de inativação dos microrganismos avaliados variou de 45 segundos, para *S. pneumoniae*, a 8 minutos, para *S. aureus*. Para os fungos avaliados (*C. albicans* e *A. fumigatus*), o tempo mínimo de inativação foi de 4 minutos. Os vírus avaliados foram completamente inativados após 4 minutos de irradiação. A análise em microscópio eletrônico de varredura revelou presença de debris nas lentes irradiadas, porém nenhum dano à matriz da lente foi

constatado. Com base nesses resultados, os autores concluíram que a irradiação por microondas pode ser utilizada como método de esterilização de lentes de contato.

Com o objetivo de minimizar a infecção cruzada entre o consultório odontológico e o laboratório de prótese, Henderson et al.²⁸, em 1987, avaliaram a efetividade de um protocolo experimental (barrier system) para desinfecção de próteses. Para realização do protocolo, inicialmente uma cultura de próteses de pacientes foi obtida por meio de coleta com “swab oral”. Em seguida, as próteses foram escovadas com uma solução de clorexidina a 4% por 1 minuto, secas com jatos de ar, imersas em uma das soluções desinfetantes avaliadas (glutaraldeído a 2%, glutaraldeído diluída ou hipoclorito de sódio a 5,25%) e, individualmente, submetidas ao ultra-som por 10 minutos. Para avaliação da efetividade do protocolo, uma nova cultura foi obtida após a imersão em solução desinfetante. Os resultados evidenciaram culturas positivas para todas as próteses avaliadas. Porém, menores números de culturas foram observados com a utilização das soluções de glutaraldeído concentradas e de hipoclorito de sódio em relação à de glutaraldeído diluída. Os autores recomendaram a utilização do protocolo desenvolvido, que foi considerado efetivo no controle de infecção cruzada.

Jeng et al³⁵., em 1987, realizaram um estudo para investigar a possível presença de efeitos não-térmicos das microondas sobre os microrganismos. Os autores utilizaram suspensões de esporos de *Bacillus subtilis* na concentração de 10^7 ufc/mL em água destilada. Alíquotas de 10 µL dessas suspensões foram inoculadas na região central do fundo de frascos de borosilicato. Após a secagem dessa alíquota, os recipientes foram colocados durante uma semana no interior de uma câmara contendo um béquer com cloreto de cálcio saturado, o que forneceu umidade relativa de 33% a 22°C. Outras amostras dos microrganismos foram, simultaneamente, expostas ao calor seco em forno elétrico de propagação de calor ou em forno de microondas até as temperaturas de 107°C, 117°C, 130°C e 137°C. Uma sonda térmica registrou a temperatura dentro dos fornos e um dispositivo automático ajustou a temperatura do forno de propagação de acordo com a do forno de microondas. As amostras foram resfriadas e ressuspensas em 5 mL de água destilada para posterior plaqueamento e contagem das unidades formadoras de colônia. De acordo com curvas de sobrevivência em função do tempo, os autores puderam verificar que não houve diferença significativa entre a exposição às microondas ou ao calor seco. Além disso, foi verificado que o tempo mínimo de 45 minutos de exposição a ambas as formas de aquecimento foi necessário para a inativação dos esporos. Os autores concluíram que não há efeitos não-térmicos

significativos em processos de esterilização em microondas a seco e que a atividade esporicida da energia de microondas é meramente térmica.

Friedrich e Phillips²⁵, em 1988, investigaram a eficácia das microondas na esterilização de roupas íntimas femininas contaminadas por *C. albicans*. Para os experimentos, as amostras foram imersas em suspensão de *C. albicans*, depositadas em placas de Petri, deixadas para secar por três dias a temperatura ambiente e irradiadas em potência máxima por 5, 10, 15, 20, 25 e 30 minutos. Após a irradiação, as amostras em duplicatas foram colocadas em 5 mL de TSB. As alíquotas obtidas foram semeadas e incubadas a 35°C por 48 horas. Num segundo experimento, os mesmos procedimentos foram realizados, porém com as amostras umedecidas em solução salina estéril. De acordo com os resultados, a esterilização foi efetiva apenas para as amostras umedecidas, quando estas foram expostas às microondas por no mínimo 5 minutos.

Em 1989, o Expert Panel on Food Safety and Nutrition²² publicou uma revisão na literatura sobre fornos de microondas, onde foram descritas as características e propriedades físicas e elétricas deste tipo de onda eletromagnética. Descreveu-se, também, sobre os padrões de aquecimento, a característica e o tipo de inativação microbiana produzida pela energia por microondas, sua ação sobre a espécie

humana, suas aplicações na indústria alimentícia, como no cozimento, acondicionamento e pasteurização de alimentos e nos processos de esterilização. Concluindo-se que os fatores que afetam os padrões de aquecimento por microondas são relacionados à magnitude da absorção de energia e a sua profundidade de penetração da irradiação que, por sua vez, depende da forma, tamanho e conteúdo de sais dos produtos submetidos à irradiação.

O efeito da irradiação por microondas sobre a estabilidade dimensional de resinas acrílicas foi avaliado por Burns et al.¹³, em 1990. Vinte corpos-de-prova (36 mm X 6 mm) foram confeccionados para cada uma das resinas testadas (Lucitone 199, Triad e Perm). Em seguida, todos os corpos-de-prova foram pesados e mensurados. Seis amostras de cada material foram imersas em água à temperatura ambiente por 30 dias antes dos testes e seis amostras de cada resina foram armazenadas a seco pelo mesmo período de tempo. Após a armazenagem, os corpos-de-prova foram pesados e mensurados novamente. As amostras foram colocadas, individualmente, em um forno de microondas contendo um recipiente de vidro com água. Os corpos-de-prova foram irradiados por 15 minutos em potência máxima. Após a irradiação, os corpos-de-prova foram novamente pesados e mensurados. Os resultados demonstraram que todos os materiais testados apresentaram uma pequena alteração dimensional (de 0,02% a 0,03%) após a exposição às microondas.

Entretanto, essas alterações não foram consideradas significantes clinicamente. Além disso, os autores observaram que as amostras mantidas a seco apresentaram aumento de peso e maior alteração dimensional que as amostras imersas em água. Esse aumento de peso foi atribuído à absorção de água pelos corpos-de-prova durante a irradiação, devido ao ambiente úmido criado pela evaporação da água mantida no recipiente no interior do forno. Por outro lado, as amostras armazenadas em água antes da irradiação apresentaram redução de peso após a exposição às microondas.

Considerando o potencial de contaminação entre a clínica odontológica e o laboratório de prótese, Powell et al.⁴⁶, em 1990, realizaram um estudo com o objetivo de identificar microrganismos presentes em trabalhos protéticos. Para os experimentos, foram avaliados moldes, próteses totais, registros em cera e coroas enviados a vários laboratórios de prótese. Assim que eram recebidos nos laboratórios, esses trabalhos eram submetidos a um esfregaço por meio de “swab”. Em seguida, os “swabs” foram imersos em meio de cultura e submetidos a métodos e procedimentos laboratoriais padronizados para cultura, incubação e identificação de microrganismos. Os resultados indicaram que 67% dos trabalhos protéticos avaliados apresentaram presença de bactérias patogênicas como *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca* e *Pseudomona aeruginosa*. Além disso, os autores observaram que existe a

possibilidade de transmissão de microrganismos patogênicos como *Streptococcus* do grupo A, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Chlamydia* e *Mycoplasma*. Os autores também enfatizaram, com base nos resultados, a importância de se realizar procedimentos para controle de infecção cruzada entre pacientes, técnicos de laboratório e equipe odontológica.

Connor¹⁸, em 1991, enfatizou após uma revisão da literatura, a importância de medidas para controle de infecção cruzada, sobretudo em procedimentos protéticos clínicos e laboratoriais. O autor relatou que o controle de infecção cruzada pode ser convenientemente discutido de acordo com as seguintes categorias: avaliação do paciente, proteção do cirurgião-dentista, desinfecção dos equipamentos e instrumentos, técnica clínica utilizada, manipulação de moldagens e assepsia do ambiente de laboratório de prótese. Neste contexto, foi ressaltado o aumento na população de pacientes imunocomprometidos, portadores de prótese, e que são considerados de alto risco para transmitir e adquirir doenças infecciosas. Dessa forma, os profissionais devem considerar todos os pacientes a serem tratados como sendo de alto risco e adotar medidas de controle para interromper a propagação de infecção, como a utilização das barreiras universais de proteção. O autor ressaltou também a importância da desinfecção de moldes, registros e próteses e outros materiais freqüentemente expostos à contaminação na

cavidade bucal do paciente e não passíveis de esterilização. Foi enfatizado que a manutenção da assepsia tanto no consultório odontológico quanto no laboratório de prótese é essencial para prevenir a transmissão de bactérias, vírus e fungos. Considerando a alta prevalência de contaminação cruzada durante os procedimentos protéticos, o autor enfatizou a necessidade do desenvolvimento de um programa de pesquisa e da melhoria dos métodos atuais de controle de infecção com o objetivo de melhorar a proteção da equipe odontológica, do técnico de laboratório e do paciente contra a disseminação de doenças infecciosas.

Rosaspina et al.⁵⁰, em 1994, avaliaram o efeito da irradiação por microondas em instrumentos cirúrgicos contaminados com *C. albicans*. Lâminas de bisturis e lamínulas de microscopia foram contaminados com *C. albicans* a uma concentração de 10^7 ufc/mL. Após serem secas, as amostras foram completamente imersas num recipiente de vidro com esferas de vidro de 0,4 cm e água destilada em temperatura ambiente. Esse recipiente foi, então, exposto à irradiação por microondas a 600 W numa frequência de 2.400 MHz. O tempo de exposição variou de acordo com a temperatura alcançada pelo banho; assim, os seguintes tempos foram utilizados: 1,5 minutos (45°C), 3 minutos (55°C) e 6 minutos (100°C). Preparações similares foram realizadas para o grupo controle, utilizando-se estufa (2 horas, 140°C) ou autoclave (20 minutos, 121°C), enquanto que outras preparações foram submersas em água fervente

pelos mesmos tempos de exposição das microondas. Além disso, algumas amostras foram preparadas para análise em microscopia eletrônica de varredura. Para verificar a esterilização as amostras foram colocadas em contato com placas de Agar Tryptic e incubadas a 37°C por 48 horas. Os resultados demonstraram que todas as amostras (50 lâminas de bisturi e 25 lamínulas de microscopia) foram completamente esterilizadas após exposição por 2 minutos às microondas. As análises em microscopia eletrônica de varredura revelaram que as alterações nas leveduras irradiadas foram proporcionais ao tempo de exposição. As amostras imersas em água fervente por 9 minutos apresentaram mortalidade de 100%, porém nenhuma modificação na morfologia celular foi evidenciada. As alterações morfológicas observadas após a irradiação por microondas foram completamente diferentes das observadas após o tratamento em água fervente. Assim, os autores concluíram que além do incontestável efeito térmico, as microondas podem exercer também um efeito mais complexo no corpo celular dos microrganismos.

Chau et al.¹⁵, em 1995, realizaram um estudo para avaliar a possibilidade de penetração de bactérias na resina acrílica após curto período de exposição. Os corpos-de-prova de três resinas acrílicas foram polidos em uma de suas superfícies para simular as superfícies externas e internas da prótese. Em seguida, os corpos-de-prova foram imersos por 24 horas em meio de cultura contendo bactérias gram-negativas e gram-

positivas. Os corpos-de-prova contaminados foram, então, imersos em uma das soluções desinfetantes (iodóforos, dióxido de cloro e hipoclorito de sódio a 5,25%) ou em uma solução salina estéril por 10 minutos. Após a desinfecção, os dois lados dos corpos de prova foram submetidos à coleta de material para sementeiras em placa de Petri. Essas placas foram encubadas a 37°C por 48 horas e número de colônias quantificado. Os autores observaram, pela análise das culturas, que os corpos-de-prova tratados com iodóforos ou dióxido de cloro apresentaram um número de colônias significativamente inferior ao número apresentado pelo os corpos-de-prova do grupo controle. Por outro lado, os corpos-de-prova imersos em hipoclorito de sódio não apresentaram colônias viáveis nas placas de Petri. Os autores concluíram que a resina acrílica pode ser contaminada com bactérias tanto na parte externa quanto interna e que o tratamento com hipoclorito de sódio foi eficiente para inativar esses microrganismos.

Polysois et al.⁴⁵, em 1995, avaliaram o efeito dos métodos de desinfecção por meio de glutaraldeído e microondas na estabilidade dimensional, na dureza e nas propriedades flexurais (deflexão, módulo e resistência) de uma resina para base de prótese. Sessenta corpos-de-prova (65 mm X 10 mm X 2,5 mm) foram confeccionados em resina termopolimerizável (Paladon 65), polimerizados em microondas a 500 W por 3 minutos e, então, armazenados em água por 24 horas a

37°C antes da desinfecção. Para a desinfecção química, os corpos-de-prova foram imersos em solução de glutaraldeído alcalino a 2% (Cidex-7) por 1 hora ou 12 horas. Para a desinfecção em microondas, os corpos-de-prova foram irradiados a 500 W por 3 ou 15 minutos. Durante a irradiação, um bquer com 150 mL de água foi colocado no interior do forno. Os corpos-de-prova utilizados como controle foram imersos em água por 1 hora ou 12 horas. Dez amostras foram confeccionadas para cada grupo. Após os procedimentos experimentais, cada corpo-de-prova foi analisado quanto à estabilidade dimensional, aos ensaios de flexão e à dureza respectivamente. Os resultados revelaram que não houve alterações significativas nas propriedades mecânicas avaliadas para os corpos-de-prova do grupo controle. Foi observado que os procedimentos de desinfecção testados (microondas ou imersão em glutaraldeído) promoveram alterações dimensionais lineares em todos os corpos-de-prova. Entretanto, essas alterações dimensionais não foram consideradas clinicamente significantes. As propriedades flexurais (resistência, módulo e deflexão) não foram alteradas pelos procedimentos de desinfecção. Além disso, as amostras irradiadas apresentaram um aumento nos valores de dureza comparadas às amostras do grupo controle. Por outro lado, uma hora de imersão em glutaraldeído resultou em redução nos valores médios de dureza quando em comparação ao grupo controle. No entanto, as alterações de dureza para os três grupos avaliados não foram consideradas clinicamente significantes. Os autores concluíram que

irradiação por microondas e a imersão em glutaraldeído podem ser indicadas como métodos de desinfecção de resinas acrílicas e sugeriram a utilização do forno de microondas como uma alternativa viável, efetiva e rápida para a desinfecção de próteses.

Em 1995, Thomas e Webb⁵⁶ avaliaram o efeito da irradiação por microondas na estabilidade dimensional de próteses totais. Vinte próteses totais superiores foram confeccionadas e armazenadas a seco por aproximadamente 1 ano. Um calibrador eletrônico foi utilizado para calcular medidas horizontais (intermolar, intercanina e anteroposterior) e verticais (pré-molar esquerdo, centro e pré-molar direito). As medidas foram obtidas em todas as 20 próteses antes e após imersão em água a 37°C por 7 dias. Dez próteses foram irradiadas diariamente a 650 W por 10 minutos, durante 15 dias, tendo sido armazenadas em água entre os experimentos. Após cada irradiação, todas as próteses foram pesadas e, novamente, mensuradas com paquímetro. Dez próteses não foram irradiadas (controle) e, após 54 dias de armazenagem em água a 37°C, foram mensuradas e irradiadas a 350 W por 6 minutos durante 15 vezes consecutivamente. Os resultados demonstraram que o peso das próteses aumentou com a hidratação. Após irradiação, as medidas horizontais indicaram contração das próteses, e as verticais, expansão, tendo o efeito da irradiação por 6 minutos resultado em menor alteração. Os autores concluíram que a

irradiação de próteses por 10 minutos em potência elevada causa alterações dimensionais, provavelmente, significantes clinicamente. Entretanto, a irradiação em potência média por 6 minutos não resultaria em alterações dimensionais com implicação clínica.

Atmaca et al.⁶, em 1996, avaliaram o efeito da irradiação por microondas e da aplicação de calor convencional sobre a reprodução de bactérias. Cepas de *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* e *P. acidovorans* foram cultivadas em suspensão, e o número de unidades formadoras de colônias por mililitro (ufc/mL) de cada espécie foi determinado e utilizado como controle. Uma alíquota de 1 mL de cada suspensão bacteriana foi irradiada por microondas a 550 W durante 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 25 e 30 segundos. Em seguida, cada suspensão foi diluída e cultivada em placas a 37°C por 24 horas. O valor de ufc/mL foi, então, determinado. Antes e após a irradiação, a temperatura da suspensão bacteriana foi determinada por meio de um termômetro digital. O experimento foi realizado cinco vezes para cada espécie bacteriana e para cada tempo de exposição. Também foram realizados ensaios com aplicação de calor convencional durante 16, 20, 25 e 30 segundos, tempos em que a contagem de bactéria foi reduzida significativamente. Suspensões de 5 mL de cada espécie bacteriana também foram irradiadas durante 14, 16, 18, 20, 25 e 30 segundos. Os resultados demonstraram que a redução na contagem de bactérias após

a irradiação por microondas foi estatisticamente significativa em relação ao controle. A diminuição na contagem de bactérias expostas ao calor convencional foi significativa em relação às amostras irradiadas por microondas. Porém, inversamente ao observado com as amostras irradiadas, a aplicação de calor convencional por 30 segundos resultou em sobrevivência bacteriana. O aumento do volume das suspensões potencializou o efeito destrutivo das microondas, uma vez que, após a irradiação, a contagem das suspensões de 5 mL foi significativamente menor que a das suspensões de 1 mL. Os autores concluíram que o efeito da irradiação por microondas na inativação de bactérias é diferente do efeito térmico, e que o conteúdo de líquido no meio desempenha uma função importante na absorção da energia decorrente da irradiação por microondas.

Tarantino et al.⁵⁵, em 1997, avaliaram a efetividade das microondas na esterilização de espelhos odontológicos contaminados com microrganismos patogênicos (*S.aureus*, *B. subtilis* e *B. sterarothermophilus*), inoculados em concentrações iniciais de 10^4 e 10^9 ufc/mL. Para simular condições clínicas, os instrumentos foram testados quando úmidos (irradiados imediatamente após a inoculação) e quando mantidos a seco (irradiados após 8 horas da inoculação). As irradiações foram realizadas a 650 W por 4 minutos em um aparelho de microondas em que o fabricante recomenda a imersão do material a ser

irradiado em um líquido à base de aldeído. Para os experimentos, três diferentes grupos foram avaliados: 1- os instrumentos foram imersos no líquido e submetidos às microondas; 2- os instrumentos foram imersos em solução salina a 0,9% e submetidos à irradiação; e 3- os instrumentos foram apenas imersos no líquido e colocados em forno comum por 4 minutos, não tendo sido irradiados. Os autores observaram que a esterilização ocorreu somente quando o líquido sugerido pelo fabricante foi utilizado (Grupo 3) ou quando a imersão no líquido foi associada às microondas (Grupo 1). A utilização de irradiação sem imersão no líquido não demonstrou uma completa eliminação dos microrganismos avaliados. De acordo com os resultados obtidos, os autores sugeriram que, para se obter uma esterilização efetiva, os instrumentos deverão ser imersos no líquido proposto pelo fabricante e irradiados em microondas.

Em 1997, Verran e Maryan⁵⁹ avaliaram a retenção de *C. albicans* em superfícies lisas e rugosas de resina acrílica (Perspex) e silicone de adição. Antes dos experimentos de adesão, os materiais foram lavados em ultra-som com álcool 90% por 1 hora, lavados em água corrente e imersos em água estéril por 24 horas a 24°C. Uma alíquota de 50 mL de suspensão de *C. albicans* a uma concentração de 10^7 ufc/mL foi adicionada a placas de Petri que continham os materiais testados. As placas foram incubadas a 24°C por 1 hora e, em seguida, os materiais com as células aderentes foram removidos e lavados em solução salina

fosfatada tamponada para remover as células pouco aderentes. Em seguida, as amostras foram secas em temperatura ambiente, fixadas com metanol, coradas e examinadas em microscopia fluorescente (x1000). O número de células aderentes foi contado em cada amostra. Os resultados evidenciaram uma quantidade significativamente maior de células de *C. albicans* em superfícies rugosas em relação às lisas, sendo que a superfície rugosa de silicone apresentou mais células do que a superfície rugosa de resina acrílica. Os autores concluíram que um aumento na rugosidade superficial facilita a retenção de leveduras nas superfícies de silicone e de resina acrílica.

A efetividade da irradiação por microondas na desinfecção de um material reembasador resiliente contaminado com microrganismos patogênicos foi avaliada por Baysan et al.⁹, em 1998. Os corpos-de-prova (2 cm X 2 cm) foram confeccionados em uma resina reembasadora resiliente (Molloplast –B) e polimerizados em microondas por 3 minutos a 650 W. Todos os corpos-de-prova foram esterilizados em autoclave, inoculados com os microrganismos testados (*C. albicans* ou *S. aureus*) e incubados aerobicamente a 37°C. Após três dias de incubação, o meio de cultura foi descartado e os corpos-de-prova enxaguados cuidadosamente em 10 mL de solução de salina fosfatada tamponada (PBS) para remoção de células não aderentes. As amostras confeccionadas foram divididas em quatro grupos (três experimentais e

um controle) com dez amostras cada. Três grupos experimentais foram avaliados quanto aos procedimentos de desinfecção, sendo as amostras do grupo A submetidas à desinfecção em microondas por 5 minutos a 650 W; as amostras do grupo B mantidas a seco em temperatura ambiente por 5 horas e as amostras do grupo C imersas em solução de hipoclorito de sódio a 2% durante a noite. Para o grupo controle, as amostras foram enxaguadas e deixadas em solução de PSB por 5 h em temperatura ambiente. A seguir, os corpos-de-prova foram individualmente colocados em tubos com 10 mL de PSB e agitados por 15 minutos. As diluições seriadas (10^{-1} a 10^{-3}) foram realizadas em placas com Agar Sangue, que foram incubadas durante a noite a 37°C. Após a incubação, as colônias foram contadas e o número de ufc/mm² foi calculado. Os resultados demonstraram que em relação ao tratamento por microondas, a imersão em hipoclorito de sódio promoveu uma redução relativamente maior do número de microrganismos. Entretanto, apenas o grupo do procedimento a seco apresentou uma redução do número de células viáveis significativamente inferior em relação aos demais grupos. Os autores recomendaram a utilização das microondas como um método de desinfecção, uma vez que o hipoclorito de sódio apresenta algumas desvantagens para utilização na clínica odontológica, sobretudo em longos períodos de imersão, como efeitos deletérios sobre as resinas acrílicas das próteses e corrosão de componentes metálicos.

Furukawa et al.²⁶, em 1998, avaliaram a efetividade do dióxido de cloro (Alcide LD) na desinfecção por spray e por imersão de dois materiais reembasadores resilientes (Coe-Soft e Coe-Comfort). Para isso, as amostras foram inoculadas individualmente, ou com 10 mL de três culturas contendo *E. coli*, *S. aureus* e *C. albicans* e incubados a 37°C por 72 horas. Após o período de incubação, as amostras foram desinfetadas por spray ou por imersão em dióxido de cloro por um período de 3 minutos. Em seguida, cada amostra foi colocada em tubos contendo 15 mL de TSB e alíquotas da suspensão resultante das diluições seriadas foram semeadas em meios de cultura seletivo para os microrganismos avaliados. As colônias foram quantificadas após as placas terem sido incubadas por 24 horas a 37°C. Foi avaliado, ainda, o efeito do tempo de exposição sobre sua efetividade. Para isso, amostras adicionais foram divididas em 4 grupos e 3 amostras de cada material resiliente foram desinfetadas por spray durante 1, 3 e 10 minutos de contato. Os resultados obtidos com as amostras contaminadas com microrganismos isolados mostraram que a técnica de spray por 3 minutos não foi efetiva para os materiais reembasadores avaliados. A técnica de imersão foi mais efetiva na redução do número de colônias viáveis de *E. coli* e *S. aureus*, porém não foi efetiva para *C. albicans*, em ambos reembasadores. A análise em microscopia eletrônica de varredura indicou presença de microrganismos aderidos no interior dos poros de ambos materiais. O aumento do tempo de desinfecção em até 10 minutos não resultou em

uma efetiva desinfecção para todas as amostras. Com base nesses resultados, os autores concluíram que o dióxido de cloro não foi efetivo para desinfecção dos reembasadores testados, apenas para amostras de aço inoxidável.

Webb et al.⁶³, em 1998, avaliaram, por meio de estudo in vitro, a eficácia de dois métodos de esterilização: (1) irradiação por microondas e (2) imersão em hipoclorito de sódio. Para o experimento, vinte próteses foram confeccionadas e inoculadas com cepas de *C. albicans* isoladas de saliva de pacientes saudáveis (n=10) e de *S. gordonii* isoladas de placa dentária (n=10). Dez próteses foram colocadas em 5 béqueres (2 próteses em cada béquer) contendo 110 mL de caldo Sabourand, que foram contaminados com 11 mL de inóculo de *C. albicans* cultivado. Os béqueres foram, então, incubados em banho de agitação (80 agitações/min) a 37°C por 48 horas. As próteses selecionadas para desinfecção por microondas (n=5) foram individualmente irradiadas com diferentes tempos de exposição (1, 2, 4, 6, 8 e 10 minutos) em potência alta (604 W) e média (350 W). Após a irradiação, foi realizada a diluição seriada em solução salina e a semeadura das alíquotas em placas de Petri. As placas foram incubadas por 48 horas a 37°C e em seguida, calculou-se os valores de ufc/mL. As próteses do grupo controle não foram irradiadas, tendo sido somente imersas em solução salina. Para desinfecção por imersão, as próteses

contaminadas foram imersas em solução de hipoclorito de sódio a 1%, 0,02% ou 0,0125% por 8 horas, enquanto que as próteses do grupo controle foram imersas em água destilada pelo mesmo período. Em seguida, o mesmo protocolo experimental para análise microbiológica descrita para as próteses irradiadas foi utilizado. Algumas amostras em resina acrílica de cada condição foram preparadas para microscopia eletrônica de varredura. Os resultados evidenciaram que a irradiação em microondas por 6 minutos a 350 W foi efetiva para eliminar o crescimento de *C. albicans* e *S. gordonii*, apesar desse procedimento não ter removido os microrganismos não-viáveis das superfícies das próteses. Além disso, a imersão das próteses por 8 horas em hipoclorito de sódio nas concentrações de 0,02 e 0,0125% eliminou o crescimento de *C. albicans* e reduziu o crescimento de *S. gordonii*. A remoção desses microrganismos da superfície das amostras foi observada nas análises em microscopia eletrônica de varredura. Dessa forma, os autores indicaram que a irradiação em microondas por 6 minutos a 350 W poderia ser mais efetiva para a esterilização de próteses que a imersão em hipoclorito de sódio, apesar de nenhum procedimento efetivamente eliminar todos os microrganismos das superfícies das próteses.

Em 1999, Dixon et al²¹. avaliaram a efetividade da irradiação por microondas na desinfecção de resinas acrílicas contaminadas com *C. albicans* e seu efeito sobre a dureza desses

materiais. Na fase 1 do experimento, foram confeccionados 45 corpos-de-prova (10 mm x 10 mm x 3 mm) de cada material, sendo três rembasadores resilientes (Molloplast-B, Permaflex e/ou Permasoft) e uma resina termopolimerizável (Lucitone 199). Os corpos-de-prova foram submetidos aos ensaios de dureza (durômetro Shore A) e então inoculados com *C. albicans*. Após 48 horas, 30 corpos-de-prova foram irradiados a seco por 5 minutos em potência máxima, e o crescimento microbiológico foi avaliado por semeadura em placas de Petri. A esterilização em longo prazo (duas semanas) foi observada pela análise de crescimento visível no meio de tioglicolato contendo os corpos-de-prova desinfetados imersos nesse meio. Após 2 semanas, as leituras de dureza foram realizadas novamente para todos os corpos-de-prova. Para a fase 2, 15 corpos-de-prova de cada material foram irradiados a seco pelos tempos de exposição de 10 ou 15 minutos e submetidos aos ensaios de dureza. Na fase 3, 15 corpos-de-prova de cada material foram imersos em água e irradiados por 5 minutos em potência máxima. Para avaliar o efeito desse procedimento sobre a dureza, os corpos-de-prova foram irradiados por 5 vezes. De acordo com os resultados, a irradiação a seco por 5 minutos não esterilizou nenhum dos materiais avaliados. Além disso, os corpos-de-prova não imersos e irradiados por 10 e 15 minutos não foram eficientemente esterilizados para todos os materiais avaliados. Entretanto, uma esterilização efetiva foi observada somente após a irradiação em microondas por 5 minutos quando os corpos-de-prova

foram imersos em água. Os corpos-de-prova de todos os materiais não imersos e irradiados por 15 minutos e os corpos-de-prova imersos em água e irradiados por 5 minutos não resultaram em alteração de dureza clinicamente significativa. As 5 irradiações consecutivas de um mesmo corpo-de-prova resultou em uma alteração significativa na dureza do material PermaSoft. Com base nos resultados, os autores concluíram que 5 minutos de irradiação, foram suficientes para eliminar *C. albicans* desde que os materiais testados estivessem imersos em água durante o procedimento de irradiação.

Tendo em vista que o uso sucessivo de uma mesma esponja pode transferir bactérias de uma superfície a outra durante um procedimento de assepsia, Ikawa e Rossen³², em 1999, avaliaram vários métodos para desinfecção de rotina em esponjas. Para simular utilização doméstica, algumas esponjas, previamente ao tratamento, foram lavadas manualmente em solução de composto quaternário de amônio e cloreto de magnésio, secas ao ar ambiente e embaladas. Outras esponjas foram inoculadas com microrganismos patogênicos com o objetivo de simular condições de uso em laboratório. Essas esponjas foram individualmente umedecidas com 54 mL de água destilada estéril e contaminadas com 4 mL de uma suspensão bacteriana de *E. coli*, *S. choleraesuis*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *S. putrefaciens*. As esponjas foram incubadas a 25°C por 48 horas. Os tratamentos químicos selecionados, para cada

condição simulada, constituíram-se de imersão por 5 minutos, em uma das seguintes soluções: hipoclorito de sódio, peróxido de hidrogênio, álcool isopropil, quaternário de amônio, vinagre e amônia. Os tratamentos físico-químicos avaliados foram: escovação com detergente à base de composto quaternário de amônia ou alvejante e secagem associada ou não a um ciclo de alta temperatura a seco. Além disso, foi utilizada a imersão em água fervente por 5 minutos ou irradiação em microondas por um minuto em alta potência. Os autores enfatizaram que as esponjas foram umedecidas antes da irradiação para maior efetividade do método e também para prevenir que as esponjas, em estado seco, entrassem em combustão. Após cada tratamento, 1 mL da solução remanescente das esponjas foi inoculado em tubos de ensaio contendo Tryptic Soy Broth, que foram incubados a 35°C por 48 horas. Após esse período, os tubos de ensaio que apresentaram crescimento foram semeados em placas de Petri. Os tratamentos químicos avaliados foram efetivos na redução dos microrganismos presentes nas esponjas onde a utilização doméstica foi simulada, mas esses produtos não reduziram de forma significativa as bactérias presentes nas esponjas onde a utilização laboratorial foi simulada. Além disso, foi verificado que, para as duas condições de uso simuladas, a limpeza com detergente alvejante ou à base de composto quaternário de amônio, a imersão em água em ebulição por 5 minutos ou irradiação em alta potência por um minuto reduziram a viabilidade dos microrganismos em 99,9 %.

Lin et al.⁴⁰, em 1999, avaliaram a efetividade da solução de dióxido de cloro na desinfecção de próteses dentárias. Foram confeccionados 92 corpos-de-prova (6 mm x 6 mm x 75 mm) de resina acrílica termopolimerizável (Ch Lucitone), sendo 88 expostos às suspensões microbianas e esterilizados em óxido de etileno e 4 utilizados como controle negativo, não expostos às suspensões microbianas, e esterilizados por autoclave. Os 88 corpos-de-prova foram colocados em Erlenmeyer contendo 400 mililitros de meio de cultura Tryptic Soy Broth (TSB) com os seguintes microrganismos em concentração inicial de 10^7 ufc/mL: *E. coli*, *S. aureus* e *C.albicans*. O Erlenmeyer contendo os corpos-de-prova inoculados foi submetido a termociclagem por 21 dias e, a seguir, metade das amostras (n=44) foi desinfetada e a outra metade (n=44) permaneceu não desinfetada (controle positivo). A desinfecção das amostras foi realizada por meio de spray de solução de dióxido de cloro (Alcide LD disinfectant). As amostras desinfetadas foram deixadas em descanso por 3 minutos e então enxaguadas em salina. A seguir, 46 amostras, sendo 22 não desinfetadas, 22 desinfetadas e 2 do grupo controle negativo, foram fraturadas em 4 partes. As outras 46 amostras foram mantidas intactas. Algumas amostras de cada grupo foram preparadas para microscopia eletrônica de varredura, e a análise foi realizada tanto na superfície interna quanto na externa. As amostras não submetidas a microscopia eletrônica de varredura foram colocadas em tubos de ensaio contendo 15 mL de TSB, agitadas por um minuto e

deixadas em descanso por 9 minutos. Após esse período, as soluções dos tubos foram levemente agitadas e então submetidas às diluições seriadas em solução salina. Uma alíquota de 0,1 mL das diluições de 10^{-3} a 10^{-5} foi semeada em placas contendo um dos meios de cultura específicos para cada microrganismo testado: MacConkey Agar (*E. coli*), Mannitol Salt Agar (*S. aureus*) e Tryptic Soy Agar com 5g/ml de gentamicina (*C. albicans*). Todas as placas foram incubadas a 37°C por 7 dias. Os meios de cultura dos tubos de ensaio contendo as amostras foram avaliados quanto à presença de crescimento nos períodos de 24 horas, 48 horas e 7 dias, e as placas foram analisadas quanto à presença de colônias viáveis. Todas as amostras do grupo controle negativo não apresentaram crescimento aparente nos tubos de ensaio. As amostras não desinfetadas (controle positivo), fraturadas ou não, produziram crescimento microbiano. O soma das colônias para *E. coli* foi maior que a soma para *S. aureus* e *C. albicans*. A MEV dos corpos-de-prova do controle positivo revelou maior quantidade de microrganismos nas superfícies externas comparadas às internas. Imediatamente após a desinfecção, para as amostras intactas ou fraturadas, foi observada a presença de um número significativamente menor de colônias viáveis, em comparação ao grupo controle positivo. Entretanto, após 7 dias, as amostras desinfetadas exibiram crescimento aparente nos tubos de ensaio. A MEV das amostras desinfetadas exibiu microrganismos nas superfícies interna e externa, à exceção da presença de *C. albicans*, que

não foi verificada no interior das amostras. Os autores concluíram que os microrganismos *E. coli* e *S. aureus* penetraram no interior da resina acrílica e que a desinfecção por três minutos com Alcide LD foi eficaz para reduzir os microrganismos, mas não para eliminar completamente os mesmos.

Em 1999, Waltimo et al⁶¹. compararam a aderência de *C. albicans* à superfície de polimetilmetacrilato e à superfície de materiais compósitos de fibras de vidro utilizados em próteses totais. Utilizou-se uma resina autopolimerizável (Palapress) que foi reforçada com fibras de vidro unidirecionais. As amostras (3 X 4 X 2mm) foram confeccionadas, e uma superfície foi desgastada de modo a expor regiões ricas ou não em fibras. Após o período de 48 horas de imersão em água, as amostras foram inoculadas com *C. albicans*. Os resultados demonstraram que a densidade média de leveduras na superfície da matriz polimérica foi significativamente maior que sobre a superfície das fibras.

O mecanismo de transferência de calor de uma suspensão de *S. aureus* após a irradiação em microondas foi avaliado por Yeo et al., em 1999. Culturas bacterianas de *S. aureus* foram inoculadas em meio nutriente, incubadas a 37°C por 8 horas e centrifugadas por 10 minutos. Para a exposição às microondas, foram utilizadas suspensões bacterianas em meio de cultura e em água destilada estéril. Adesivos

indicadores de temperatura foram aplicados em discos estéreis de aço inoxidável (15 x 5 mm). As suspensões bacterianas em meio de cultura ou em água destilada foram pipetadas sobre as superfícies dos discos. Em seguida, os discos foram irradiados a 800 W em vários tempos de exposição. As potências absorvidas pelos discos de aço inoxidável e pelas suspensões bacterianas foram calculadas por uma equação de condução térmica. A análise de transferência de calor entre o microrganismos e a água destilada foi avaliada por um método específico capaz de calcular o nível tempo – dependente de absorção de energia do microrganismo e do líquido circundante ao mesmo. Os resultados evidenciaram que a viabilidade celular foi reduzida com o aumento do tempo de exposição, havendo uma inativação completa da suspensão bacteriana após 110 segundos, quando a temperatura atingiu o valor de 61,4°C. O baixo índice de aumento de temperatura da suspensão bacteriana quando comparada com água destilada estéril ou meio de cultura testados sem inóculo foi atribuído pelos autores a uma significativa influência da eficácia de esterilização pelas microondas nas propriedades térmicas dos microrganismos. Os autores concluíram que, quando o inóculo bacteriano sobre o disco de aço inoxidável foi submetido às microondas, a condução de calor do disco de aço para o inóculo foi à causa do efeito bacteriostático, com absorção de 23,8 W de potência pelo aço e de 0,16 W pela suspensão bacteriana. Dessa forma, os autores sugeriram que a ação de eliminação de *S. aureus* em discos de aço

inoxidável foi principalmente atribuída à transferência de calor do substrato de aço, com pouca energia absorvida diretamente da irradiação por microondas.

Watanabe et al.⁶², em 2000, avaliaram o efeito de compostos iônicos na inativação de microrganismos por meio da irradiação por microondas. Suspensões de *E. coli* B, *S. aureus* e *C. albicans* foram cultivados a 2×10^7 ufc/mL. Para alguns experimentos, concentrações crescentes de NaCl, KCl e sacarose foram adicionados à suspensão. Um tubo contendo 3 mL da suspensão de cada microrganismo foi colocado em um recipiente erlenmeyer com 90 mL de água. Esse conjunto foi posicionado no centro do prato giratório do forno de microondas e foi irradiado a 500 W durante vários tempos de exposição. Amostras (0,1 mL) foram removidas para contagem, e a temperatura da suspensão celular foi determinada. Os resultados demonstraram que as células foram inativadas na mesma proporção em que houve um aumento na temperatura da suspensão celular. Assim, foi considerado que o efeito das microondas nos microrganismos foi principalmente devido ao calor gerado na suspensão celular. A adição de NaCl e KCl à suspensão modulou os efeitos da irradiação por microondas na inativação de *E. coli*. A adição de sacarose apresentou pouco efeito no aumento de temperatura e na inativação celular. Dessa forma, os autores observaram que soluções iônicas de alta eletrocondutividade refletem as

microondas da superfície da solução. Para esclarecer as contradições relacionadas à utilização de soluções iônicas, o efeito das condições circundantes no erlenmeyer foi estudado. Quando este foi esvaziado, a temperatura do líquido dos tubos aumentou mais rapidamente do que quando o recipiente foi preenchido com líquido. O aumento da temperatura da solução dos tubos foi suprimido com o aumento do volume do líquido. Os autores concluíram que, quando o volume da solução irradiada é menor ou quando a área superficial exposta às microondas é ampla, há maior possibilidade da irradiação por microondas aquecer todo o líquido contendo substâncias com alta perda dielétrica.

Banting & Hill⁷, em 2001, realizaram um estudo para comparar a efetividade da energia de microondas como tratamento coadjuvante de candidose bucal. Trinta e quatro pacientes portadores de próteses totais superiores com teste positivo para pseudohifas de *C. albicans* foram selecionados para um dos seguintes tratamentos: irradiação da prótese em microondas ou imersão da prótese em solução clorexidina a 0,2% (controle). Todos os pacientes receberam medicação antifúngica tópica (Nistatina 300000 IU 3 vezes ao dia) por 14 dias. As próteses selecionadas para o tratamento com as microondas foram escovadas com sabão anti-séptico e água e então irradiadas por um minuto a 850 W em três dias diferentes (1, 5 e 10^o dia). Para o grupo controle, as próteses foram imersas na solução de clorexidina durante a

noite por 14 dias, com renovação da solução a cada dois dias. Essas próteses também foram escovadas em 3 dias diferentes (1, 5 e 10^o dias) estabelecendo parâmetro para comparação entre os grupos. Os resultados demonstraram que, após 14 dias, 53% das próteses submetidas ao tratamento com microondas apresentaram pseudohifas de *C. albicans* e que essa porcentagem aumentou para 84% para as próteses submetidas à imersão em clorexidina. Por outro lado, após esse mesmo período, as camadas citológicas referentes à mucosa palatina dos pacientes cujas próteses foram irradiadas apresentaram um quarto do risco de infecção dos tecidos palatinos em relação aos pacientes que tiveram suas prótese imersas em clorexidina. Três meses após o tratamento, o grupo controle foi considerado cinco vezes mais susceptível a apresentar pseudohifas de *C. albicans* quando em comparação com o grupo que recebeu tratamento com as microondas. Os autores observaram que a exposição das próteses às microondas foi efetiva para uma adequada desinfecção nas próteses sem ocasionar efeitos deletérios aparentes no material das mesmas.

Hiti et al²⁹., em 2001, avaliaram a efetividade da irradiação por microondas na esterilização de estojos de lentes de contato contaminados com trofozoítos e cistos de *Acanthamoeba*. Três cepas de *Acanthamoeba* sp (*A. comandoni*, *A. castellani* e *A. hatchetti*) foram cultivadas, e dois tipos de estojos de armazenamento, Essilor e Titmus

Washer, foram utilizados. Uma alíquota de 100 μ L da suspensão trofozoito (10^6 ufc/mL) de cada cepa foi inoculada nos estojos Essilor. Cistos de cada cepa foram inoculados nos estojos Titmus Washer, os quais foram preenchidos com 8 mL de cloreto de sódio. Experimentos controles foram realizados com cistos desidratados, uma vez que a eficácia das microondas é dependente do conteúdo de água das células. Em seguida, cada estojo foi colocado em diferentes partes do prato rotatório do forno de microondas e individualmente irradiado a 600 W durante 3, 5 e 8 minutos. Após a irradiação, os estojos foram semeados em placas de *E. coli* por meio de “swabs” estéreis, e as placas foram incubadas a 30°C por 14 dias. O crescimento de amebas foi observado diariamente em microscópio de contraste de fase. Os resultados demonstraram que tanto os trofozoitos como os cistos foram efetivamente inativados pelo tratamento em microondas, independente do tempo de irradiação e do tipo de estojo utilizado. Análise microscópica revelou ruptura celular. Os experimentos controles realizados com cistos desidratados resultaram em crescimento das espécies *A. castellani* e *A. hatchetti*, independente do período de irradiação. Os autores concluíram que a irradiação por microondas é um método efetivo, simples e de baixo custo para inativação de *Acanthamoeba* em estojos de lentes de contato. Porém, foi enfatizado que a higiene das lentes é o método mais eficiente de se evitar infecções oculares em usuários de lentes de contato.

Tendo em vista a importância e necessidade de esterilização dos instrumentos rotatórios utilizados em odontologia, Farias²³ em 2003 avaliou a efetividade da irradiação por microondas na esterilização de pontas diamantadas. Para o experimento, as pontas foram contaminadas em uma suspensão bacteriana formada por bactérias pertencentes ao meio bucal (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. mutans*, *L. acidophilus*, *A. viscosus*, *E. faecalis* e *B. subtilis*), divididas em três diferentes grupos e submetidas à irradiação por microondas em potência máxima (800 W). Os grupos foram diferenciados entre si conforme o método de acondicionamento dos corpos-de-prova (2) e o procedimento para esterilização (3). No procedimento de esterilização P1, os corpos de prova foram limpos com esponja, acondicionados em placas de Petri contendo 40 mL de água e submetidos a irradiação por microondas durante 0, 1, 2 e 3 minutos. No procedimento de esterilização P2, os corpos-de-prova foram envolvidos em folha de poliéster, acondicionadas em envelopes para esterilização e expostas a energia por microondas nos períodos de 0, 2, 4, 5 e 6 minutos. No procedimento de esterilização P3 os corpos de prova foram limpos com esponja, acondicionados e submetidos à irradiação conforme o método anterior. A esterilização foi obtida tanto no procedimento P1, após 1 minuto, quanto no procedimento P3, após 6 minutos. A autora concluiu que a irradiação em

microondas é um método eficiente para esterilização de pontas diamantadas.

Goodson et al.²⁷, em 2003, testaram a efetividade de um agente para a limpeza de próteses totais associado à irradiação de microondas, na desinfecção de próteses totais. Os autores utilizaram fragmentos de vinte próteses que haviam sido utilizadas por 12 a 48 anos. Esses fragmentos foram avaliados quanto à sua contaminação inicial por meio do contato da região correspondente às superfícies externa e interna das próteses, e também da região ao longo da secção realizada, em 3 diferentes meios de cultura específicos para leveduras, para microrganismos facultativos/anaeróbios e para microrganismos que exigem nutrientes especiais. Em seguida, os seguintes procedimentos de limpeza foram utilizados: imersão em um agente de limpeza experimental (Polident com Polishield) e irradiação em microondas por 2 minutos; imersão em solução de Polident (solução a base de ácido cítrico e carbonato de sódio) e irradiação durante 2 minutos imersão no agente de limpeza Polident e imersão em água por 5 minutos. A contagem das unidades formadoras de colônia foi obtida antes e após cada um desses procedimentos de limpeza. Os resultados demonstraram que a irradiação em microondas melhorou significativamente a eficácia do Polident na redução do número de microrganismos viáveis das próteses, tendo sido concluído que a utilização diária desse procedimento poderia prevenir o

ciclo de reinfecção dos pacientes pelas próteses contaminadas com os microrganismos causadores de candidose oral, entre os quais a *C. albicans*.

Neppelenbroek et al.⁴², em 2003, avaliaram a efetividade da irradiação por microondas na esterilização de resinas rígidas para reembasamento imediato. Corpos-de-prova (10 x 10 x 1 mm) de três resinas reembasadoras rígidas (Kooliner, Tokuso Rebase e Ufi Gel Hard) foram confeccionados e esterilizados por meio de óxido de etileno. Os corpos-de-prova foram, então, individualmente inoculados (10^7 cfu/mL) com meio de cultura de Tryptic Soy Broth, contendo um dos seguintes microrganismos: *C. albicans*, *S. aureus*, *B. subtilis* e *P. aeruginosa*. Após 48 horas de incubação a 37°C, os corpos-de-prova foram agitados por 1 minuto e deixados em repouso por 9 minutos, seguido de nova agitação para suspender qualquer microrganismo aderente. Após a inoculação, 40 corpos-de-prova de cada material foram imersos em 200 mL de água e irradiados a 650W por 6 minutos. Quarenta corpos-de-prova não irradiados foram utilizados como controle positivo. A seguir, 25 uL da suspensão resultante das diluições seriadas de 10^{-3} a 10^{-6} , foram semeados em placas de Petri contendo os meios de cultura seletivo para cada microrganismo. Todas as placas foram incubadas a 37°C por 48 horas. Após a incubação, as colônias foram quantificadas em ufc/mL. Os corpos-de-prova irradiados foram imersos em meio de cultura e incubados

a 37°C por 7 dias. Vinte corpos-de-prova foram preparados para microscopia eletrônica de varredura. Todos os corpos-de-prova demonstraram efetiva esterilização após a irradiação em microondas. A análise em microscópio eletrônico de varredura indicou alteração na morfologia celular dos microrganismos após irradiação em microondas. Os corpos-de-prova irradiados e incubados por 7 dias não demonstram crescimento microbiológico visível no meio de cultura. Segundo os autores, a esterilização por microondas por 6 minutos a 650 W provou ser um método efetivo para a esterilização de resinas reembasadoras rígidas.

Ribeiro⁴⁷, em 2004, avaliou o efeito da desinfecção por microondas sobre as propriedades mecânicas de resistência à flexão e dureza de quatro resinas indicadas para reembasamento imediato (Kooliner, Tokuso Rebase Fast, Ufi Gel Hard C e New Truliner) e de uma resina termopolimerizável indicada para base de prótese (Lucitone 550). Para cada material foram confeccionados 48 corpos-de-prova que foram divididos igualmente em seis grupos. Para o procedimento de desinfecção, cada corpo-de-prova foi individualmente imerso em 200 mL de água destilada e submetido a dois ciclos de irradiação por microondas a 650 W com diferentes tempos de exposição: 1 minuto (T_1), 2 minutos (T_2), 3 minutos (T_3), 4 minutos (T_4) ou 5 minutos (T_5). O grupo controle (T_0) foi submetido aos testes mecânicos sem ser irradiado pelas microondas. Os resultados demonstraram que para a resina Kooliner a

elevação no tempo de exposição às microondas promoveu aumento na resistência à flexão em todos os tempos avaliados, porém esse aumento foi significativo apenas em T_5 , em comparação ao T_0 . Este estudo demonstrou também que em relação ao grupo controle (não irradiado) os valores de dureza Vickers aumentaram para resina Kooliner em T_3 , T_4 e T_5 ; para Ufi Gel Hard em T_4 e T_5 e para New Truliner apenas, em T_5 . Os valores de resistência à flexão e dureza da resina para base de prótese Lucitone 550 não foram significativamente alterados pelos tempos de desinfecção avaliados, quando comparado aos valores grupo controle. Com base nesses resultados, a autora concluiu que a desinfecção em microondas não ocasionou efeitos deletérios na resistência à flexão e dureza dos materiais avaliados, independentes do tempo de irradiação utilizado.

Pavarina et al.⁴⁴, em 2005, investigaram o efeito da desinfecção por microondas (650 W/ 6 minutos) sobre a resistência flexural de cinco resinas para reembasamento (Kooliner, Tokuso Rebase Fast, Ufi Gel Hard, New Truliner e Duraliner II) e uma resina para base de prótese (Lucitone 550). Para o experimento foram confeccionados trinta e dois corpos-de-prova (3,3 x 10 x 64 mm) para cada resina acrílica, divididos em oito grupos contendo oito corpo-de-prova. O ensaio de flexão foi realizado após a polimerização (G1); após dois ciclos de desinfecção por microondas (G2); após sete dias de armazenagem em água (G3) e

após sete ciclos de desinfecção (G4). Os corpos-de-prova do G4 foram irradiados diariamente e imersos em água entre as exposições. Os resultados demonstraram que dois ciclos de desinfecção em microondas promoveram um aumento significativo na resistência a flexão das resinas acrílicas Kooliner e Lucitone 550. Após sete ciclos, as resinas Kooliner e New Truliner apresentaram um aumento significativo nos valores de flexão. A resistência à flexão do material Tokuso Rebase não foi significativamente influenciada pela irradiação. Sete ciclos de desinfecção em microondas resultaram em uma diminuição significativa do material Duraliner II. Resultados semelhantes foram observados para o material Ufi Gel Hard, porém após 2 e 7 ciclos de desinfecção em microondas. Com base nos resultados obtidos os autores concluíram que a desinfecção em microondas não alterou a resistência flexural dos materiais avaliados, com exceção do material Ufi Gel Hard.

3 Proposição

Com base nas informações obtidas na literatura, o objetivo desse estudo laboratorial foi avaliar a efetividade da irradiação por microondas na desinfecção de próteses totais contaminadas com os microrganismos *S. aureus* (gram positivo), *P. aeruginosa* (gram negativo), *C. albicans* (fungo) e *B. subtilis* (aeróbico esporulado).

4 Material e método

4.1 Materiais

1. Água destilada;
2. Branco de espanha K-dent, fabricado por Quimidrol, Joinville, SC, Brasil;
3. Cera rosa Wilson número 7, fabricada por Polidental Ind. e Com. Ltda, São Paulo, SP, Brasil;
4. Cultura de *Bacillus subtilis* proveniente da empresa American Type Culture Collection (ATCC number - 6633), Manassas, EUA;
5. Cultura de *Candida albicans* proveniente da empresa American Type Culture Collection (ATCC number - 60193), Manassas, EUA;
6. Cultura de *Pseudomonas aeruginosa* proveniente da empresa American Type Culture Collection (ATCC number - 27853), Manassas, EUA;
7. Cultura de *Staphylococcus aureus* proveniente da empresa American Type Culture Collection (ATCC number - 25923), Manassas, EUA;
8. Dentes artificiais Vipi Dent Plus, fabricados por Dental Vipi Ltda, Pirassununga, SP, Brasil;
9. Detergente líquido ODD; fabricado por Bombril-Cirio, São Paulo, SP, Brasil;

10. Embalagens para esterilização em óxido de etileno, produzidas por ACECIL – Comércio e Esterilização a Óxido de Etileno Ltda, Campinas, SP, Brasil;
11. Gás de óxido de etileno (mistura de 30% de óxido de etileno e 70% de gás carbônico), produzido pela White Martins Ltda, Rio de Janeiro, RJ, Brasil;
12. Gesso pedra tipo III Herodent; fabricado por Vigodent SA Ind. Com., Rio de Janeiro, RJ, Brasil;
13. Gesso pedra tipo IV Herodent; fabricado por Vigodent SA Ind. Com., Rio de Janeiro, RJ, Brasil;
14. Isolante indicado para resina acrílica, marca Cel-Lac, fabricado por SSWhite, Rio de Janeiro, RJ, Brasil;
15. Lixa d'água marca Norton, granulação 0, 120 e 180;
16. Meio de cultura Mannitol Salt Agar, produzido por Acumedia Manufactures Inc., Baltimore, Maryland, EUA. Cod 7143A. Lote nº0007-101;
17. Meio de cultura Muller Hinton produzido por Acumedia Manufactures Inc., Baltimore, Maryland, EUA. Cod 7101A. Lote nº0010-126;
18. Meio de cultura Sabourand Agar, produzido por Acumedia Manufactures Inc., Baltimore, Maryland, EUA. Cod 7150A. Lote nº0011-105;

19. Meio de cultura Tryptic soy Agar, produzido por Acumedia Manufactures Inc., Baltimore, Maryland, EUA. Cod 7100A. Lote nº0012-108;
20. Meio de cultura Trytic Soy Broth (TSB), produzido por Acumedia Manufactures Inc., Baltimore, Maryland, EUA. Cod 7164A. Lote nº0008-120;
21. Papel celofane;
22. Pedra Pomes, fabricada por Orlando Antônio Bussioli, Rio Claro, SP, Brasil;
23. Pontas descartáveis para micropipeta;
24. Resina acrílica para base de prótese termopolimerizável Lucitone 550, fabricada por Dentsply Ind. e Com. Ltda, Petrópolis, RJ, Brasil. Lote nº 43780;
25. Resina acrílica autopolimerizável Jet; fabricada por Artigos Odontológicos Clássico, São Paulo, SP, Brasil;
26. Silicone para molde RTV 3120, fabricado por Daltomare Ind. e Com. Ltda, Santo Amaro, SP, Brasil;
27. Sódio cloreto (P. A. A. C. S.), produzido por CAQ - Casa da química Ind. e Com. Ltda;
28. Vaselina sólida, fabricada por Chemco Ind. e Com. Ltda, Campinas, SP, Brasil;
29. Tesoura ouro reta, fabricada por Golgran Instrumentos Cirúrgicos e Odontológicos, São Paulo, SP, Brasil.

4.2 Instrumentos

1. Alça de Drigalsky, fabricada por Vidrolabor;
2. Alça metálica para inoculação de microrganismos;
3. Béquer graduado, fabricado por Vidrolabor;
4. Bico de Bunsen;
5. Buril de Lecron, marca Duflex, fabricado por SSWhite, Rio de Janeiro, RJ, Brasil;
6. Erlenmeyer graduado, fabricado por Vidrolabor;
7. Escova de cerdas pretas e de pano macio;
8. Espátulas para cera Duflex, fabricadas por SSWhite, Rio de Janeiro, RJ, Brasil;
9. Frasco de vidro com tampa para resina acrílica, fabricado por Jon, São Paulo, SP, Brasil;
10. Gral e espátula para gesso;
11. Lamparina a álcool;
12. Micropipeta de 05-50 μ L, fabricada por Boeco, Alemanha;
13. Micropipeta de 100-1000 μ L, fabricada por Boeco, Alemanha;
14. Micropipeta de 20-200 μ L, fabricada por Boeco, Alemanha;
15. Mufla metálica nº 6, fabricada por Jon Comércio de Produtos Odontológicos Ltda, São Paulo, SP, Brasil;
16. Pincel nº 6, fabricado pela Jon Comércio de Produtos Odontológicos Ltda, São Paulo, SP, Brasil;
17. Pipeta de vidro de 2 mL, fabricada pela Vidrolabor;

18. Pipetador de borracha;
19. Placas de Petri pyrex 100 X 15 mm, fabricada por Petriq;
20. Ponta Maxi-cut, fabricada por Labordental, São Paulo, SP, Brasil;
21. Ponta perfome, fabricada por KG Sorensen Ind. e Com. Ltda, Barueri, SP, Brasil;
22. Prensa de bancada, fabricada pela VH Equipamentos Médicos e Odontológicos, Araraquara, SP, Brasil;
23. Tubos de ensaio pyrex nº 9820.

4.3 Aparelhos

1. Agitador de tubos orbital, fabricado por Marconi Equipamentos Laboratoriais Ltda, Piracicaba, SP, Brasil;
2. Agitador de tubos, fabricado por Marconi Equipamentos Laboratoriais Ltda, Piracicaba, SP, Brasil. Modelo: A 162. Série: 8187148;
3. Autoclave vertical, fabricada por Phoenix – Ind. e Com. de Equipamentos Científicos Ltda, Araraquara, SP, Brasil. Modelo: AV 60. nº 6614;
4. Balança de precisão, fabricada por Gehaka – Ind. e Com. Eletro Eletrônica Gehaka Ltda, São Paulo, SP, Brasil. Modelo: BG 400. nº 016450;
5. Câmara de autoclave para esterilização com óxido de etileno, fabricado por LUTIS-Ferrando, Brasil.

Modelo: 1800L. Especificação - LUTIS Ferrando 1800;

6. Câmara de fluxo laminar vertical, fabricada por Pachane Ind. e Com. Ltda, Piracicaba, SP, Brasil.

Modelo: PA 115. nº 12898;

7. Contador de colônias CP 600 Plus, fabricado por Phoenix – Ind. e Com. de Equipamentos Científicos Ltda, Araraquara, SP, Brasil.

Modelo: CP-600. nº 919;

8. Estufa bacteriológica, produzida por Marconi Equipamentos Laboratoriais Ltda, Piracicaba, SP, Brasil.

Modelo: MA 0324. Série: 9819011;

9. Estufa para secagem e esterilização, fabricada por Marconi Equipamentos Laboratoriais Ltda, Piracicaba, SP, Brasil.

Modelo: MA 033. Série: 9819;

10. Micromotor, fabricado por Kavo do Brasil Ind. e Com. Ltda, Joinville, SC;

11. Microondas de dupla emissão de ondas, produzido por Brastemp, Manaus, AM, Brasil.

Modelo: Sensor Crisp 38 – DES (Double Emission System);

12. Prensa hidráulica PM 2000, fabricada por Vipi Delta, Pirassununga, São Paulo, SP, Brasil;

13. Termopolimerizadora Termotron, P-100, fabricada por Termotron Equipamentos, Piracicaba, SP, Brasil;

14. Torno para polimento.

4.4 Método

4.4.1 Obtenção de modelos de gesso superiores

Para obtenção de modelos de gesso, uma caixa com dimensões de 8,5 x 8,5 cm de largura e 2,5 cm de profundidade foi confeccionada em cera rosa nº 7, tendo sido posicionado, na região central, um modelo de latão que simulava um arco superior totalmente desdentado. Sobre este modelo, foi vertido o material de moldagem silicone RTV, em uma proporção catalisador/silicone de 4 mL/100 g, sob vibração leve. Após a polimerização do material (24 horas), obteve-se uma matriz de silicone RTV que foi utilizada para confecção de modelos de gesso superiores com forma e dimensões padronizadas (Figura 1).



FIGURA 1 - Matriz de silicone RTV utilizada para confecção de modelos de gesso

Oitenta modelos superiores foram, então, confeccionados em gesso pedra tipo IV, espatulado manualmente, utilizando a proporção

água/pó indicada pelo fabricante (22 mL/ 100 g). O gesso foi vazado sob vibração leve e constante e, após a sua reação de presa (45 minutos), os modelos foram retirados do molde de silicone RTV e suas bases foram regularizadas com lixas d'água de granulações 120 e 180 (Figura 2).



FIGURA 2 - Modelo de gesso tipo pedra melhorado

4.4.2 Obtenção das próteses superiores em cera

Primeiramente, foi realizado o isolamento de um modelo de gesso pedra melhorado, com o isolante para resina acrílica Cel-Lac. Sobre este modelo, foi confeccionada uma base de prova com resina acrílica quimicamente ativada e lâminas de cera rosa nº 7. Para isso, a resina acrílica foi manipulada, de acordo com as orientações do fabricante, e ao atingir a fase plástica, foi acomodada sobre o modelo, tendo sido os excessos recortados com um buril de Le Cron. Após o seu acabamento com ponta Maxi-cut, um rolete foi confeccionado com uma

lâmina e meia de cera rosa nº 7 dobrada no sentido longitudinal, em forma de sanfona, com faixas de 1 cm de largura. O acabamento do rolete de cera rosa nº 7 foi realizado com uma espátula nº 36 aquecida. Posteriormente, os dentes artificiais, modelo 2D/30M, cor 66, foram montados e a escultura realizada na seguinte seqüência: enceramento, recorte do colo gengival, delineamento dos sulcos horizontais, esboço das bossas radiculares e acabamento da escultura (Figura 3)^{54,57}.



FIGURA 3 - Prótese total encerada com cera rosa nº 7 e dentes artificiais Vipi Dent Plus, modelo 2D/30M, cor 66

A prótese total encerada, devidamente posicionada sobre o modelo de gesso, foi moldada com silicone RTV para obtenção de uma matriz, seguindo as mesmas etapas descritas anteriormente para confecção da matriz de modelos de gesso (Figura 4). Dessa forma, as demais próteses superiores em cera foram obtidas utilizando a matriz em silicone RTV. Para isso, os dentes artificiais foram adaptados em suas

respectivas lojas na matriz de silicone e posteriormente, uma placa e meia de cera rosa nº 7 liquefeita foi vertida. Em seguida, o modelo de gesso superior foi imediatamente posicionado e mantido sob leve pressão no interior da matriz.



FIGURA 4 - Matriz de silicone RTV utilizada para obtenção do enceramento das próteses totais superiores

O conjunto formado pelo 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, foi realizado o acabamento da escultura com o objetivo de remover porções de cera que recobriam os dentes artificiais, mantendo-os limpos e livres de qualquer excesso de cera. Além disso, as regiões das bossas e das papilas interdentais foram arredondadas com o auxílio da lâmpada de chama horizontal que também contribuiu para obtenção de uma superfície de cera lisa e brilhante (Figura 5).



FIGURA 5 - Prótese total superior encerada

4.4.3 Inclusão e Prensagem

Cada prótese total superior encerada foi incluída em mufla metálica nº 6 em três etapas. Inicialmente, a parte inferior da mufla foi isolada com uma fina camada de vaselina sólida e preenchida até a borda superior com gesso pedra, espatulado manualmente na proporção de 30 mL de água / 100 g de pó, de acordo com as instruções do fabricante. Em seguida, a base do modelo de gesso foi isolada com vaselina sólida e o conjunto modelo/prótese encerada foi centralizado na mufla e aprofundado até o nivelamento da base do modelo com a superfície do gesso pedra, de forma que as superfícies oclusais dos dentes fossem mantidas paralelas a base da mufla, evitando deslocamentos dentais durante a prensagem⁸. Após a reação de presa, o gesso foi isolado com uma fina camada de cera rosa nº 7, como preconizado por Compagnoni et al.¹⁷. O gesso da segunda fase da inclusão cobriu toda a prótese,

mantendo expostas somente às superfícies oclusais e incisais dos dentes artificiais⁸. A terceira camada de gesso foi, então, vazada, realizando-se, anteriormente, o isolamento com uma fina camada de vaselina sólida. A seguir, a mufla foi fechada com o auxílio de prensa manual⁸.

A cera da base de prova foi plastificada, mantendo-se a mufla imersa em água em ebulição por aproximadamente de 15 minutos, sendo esta posteriormente aberta e a cera eliminada com água em ebulição e detergente. Após o resfriamento completo da mufla, isolante para resina acrílica a base de alginato foi utilizado no isolamento do gesso da mufla e contra-mufla e a resina acrílica termopolimerizável Lucitone 550, manipulada e proporcionada de acordo com as recomendações do fabricante (10 mL / 21 g), foi acomodada no interior do molde de gesso.

A prensagem da resina acrílica foi realizada em duas etapas (prensagem de prova e prensagem final) em uma prensa hidráulica. Inicialmente, a prensagem de prova foi realizada utilizando uma folha de celofane umedecida, interposta entre a mufla e a contra-mufla⁸. A pressão foi aplicada de forma lenta e gradual até atingir 0,5 tonelada, o que permitiu a acomodação inicial da resina acrílica e o escoamento dos excessos. A mufla foi, então, aberta e, em seguida, a tira de celofane removida, sendo os excessos de resina acrílica retirados com o auxílio de um buril de Le Cron. Após este procedimento, a mufla foi novamente fechada e prensada por 30 minutos, mantida a uma carga de 1,25 toneladas. Decorrido esse período, a mufla foi retirada da prensa

hidráulica e posicionada em uma prensa manual, sendo submetida ao ciclo curto de polimerização, proposto pelo fabricante. Para isso, cada prótese total superior foi polimerizada individualmente na polimerizadora automática por 90 minutos a 73°C, seguida da imersão em água em ebulição (100°C) por 30 minutos. Concluída a polimerização, a mufla foi resfriada sobre a bancada por 30 minutos e imersa em água corrente por 15 minutos. Após este período, a mufla foi aberta e a prótese demuflada.

4.4.4 Limpeza e polimento das próteses

O modelo de gesso pedra melhorado foi removido da prótese com auxílio de tesoura ouro reta. Os excessos da resina acrílica nas bordas das próteses foram removidos com ponta Maxi-cut. Além disso, impregnações de gesso e pérolas de resina na região das bossas radiculares, papilas interdentais e colos cervicais dos dentes foram retiradas com um buril de Le Cron e uma pedra piriforme pequena.

Antes do polimento, a superfície externa das próteses foi lixada com uma tira de lixa nº 0 montada num mandril fendado para peça de mão. O polimento foi, então, realizado no torno mecânico para polimento em duas etapas. Primeiramente, com o torno em baixa rotação, uma escova de cerdas pretas com uma mistura de pedra-pomes e água foi utilizada até as próteses ficarem completamente lisas. Posteriormente, com o torno em alta rotação, uma escova de pano macio, banhada com

uma mistura pastosa de água com branco de Espanha conferiu brilho adequado à prótese (Figura 6).



FIGURA 6 - Prótese total polida

Após o polimento, todas as próteses totais foram armazenadas em água destilada por 48 horas a 37°C, seguindo-se as especificações para resinas acrílicas^{3,33}. Um total de 80 próteses totais superiores foram confeccionadas e divididas aleatoriamente em 4 grupos (n = 10).

4.4.5 Preparo dos materiais microbiológicos

O meio de cultura Tryptic Soy Broth (TSB) foi preparado para a inoculação dos microrganismos e para a contaminação e a incubação das próteses totais. Esse meio de cultura constitui-se de um caldo nutriente que propicia o crescimento de vários tipos de

microrganismos, incluindo os que foram testados neste estudo. O meio de cultura (TSB) foi proporcionado, manipulado e esterilizado segundo as recomendações do fabricante. Após o preparo do meio de cultura, uma alíquota de 10 mL foi pipetada e dispensada em cada um dos tubos de ensaio. Os tubos de ensaio foram devidamente identificados, datados e levados em autoclave vertical para esterilização a 121°C por 15 minutos. Após esse procedimento, os tubos de ensaio, tampados, foram resfriados, lentamente, até atingirem a temperatura ambiente. Finalmente, os tubos foram armazenados em refrigerador a 5°C até a sua utilização nos procedimentos experimentais.

A solução salina utilizada nas diluições seriadas foi preparada pela diluição completa de 8,5 g de cloreto de sódio em 1 L de água destilada. Após a dissolução, 4,5 mL da solução salina resultante, na concentração de 0,15 mol, foi distribuída em tubos de ensaio. A seguir, esses tubos foram tampados com algodão e levados em autoclave vertical para esterilização a 121°C por 15 minutos. Após a esterilização, os tubos de ensaio foram resfriados lentamente até atingirem a temperatura ambiente. Finalmente, os tubos de ensaio contendo solução salina foram armazenados em refrigerador a 5°C até a utilização nos procedimentos experimentais.

Os meios de cultura utilizados nas semeaduras das placas de Petri são sólidos após o preparo, sendo específicos para certas espécies de microrganismos. Os meios de cultura selecionados para este

estudo foram os seguintes: Muller Hinton para *P. aeruginosa*, Mannitol Salt Agar para *S. aureus*, Sabouraud Agar contendo 5 µg/mL de gentamicina para *C. albicans* e Tryptic Soy Agar para *B. subtilis*. Esses meios de cultura foram proporcionados, manipulados e esterilizados segundo as recomendações dos fabricantes. Após o preparo dos meios de cultura, uma alíquota de 20 mL da solução resultante foi pipetada e dispensada em tubos de ensaio devidamente identificados, datados, tampados com algodão. Em seguida, os tubos foram levados à autoclave vertical para esterilização a 121°C por 15 minutos. Após a esterilização, cada meio de cultura, ainda na fase líquida, foi vertido em placas de Petri, esterilizadas em estufa a 175°C por 2 horas. As placas de Petri foram, individualmente, fechadas e mantidas na câmara de fluxo laminar até que fosse observada a solidificação do meio de cultura, quando, então, as placas de Petri foram devidamente identificadas, datadas e incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas. Estes procedimentos foram realizados com o objetivo de verificar a esterilização das placas de Petri e dos meios de cultura. Após a incubação, foram descartadas deste estudo todas as placas que apresentaram quaisquer indícios de crescimento microbiano. A seguir, a parte inferior de cada placa de Petri foi externamente dividida em quadrantes com o auxílio de caneta retroprojeter, facilitando posteriormente, os procedimentos de semeadura dos microrganismos (diluição seriada por quadrante). Finalmente, as

placas de Petri foram armazenadas em refrigerador a 5°C para serem utilizadas nos procedimentos de semeadura dos microrganismos.

4.4.6 Esterilização das próteses

Após o período de armazenamento, todas as próteses foram colocadas em embalagens estéreis e esterilizadas por meio de óxido de etileno, tendo este método se mostrado seguro para a esterilização de resinas acrílicas, com a vantagem de preservar suas propriedades⁴⁰. O gás de óxido de etileno utilizado para a esterilização dos corpos-de-prova consiste de uma mistura de 30% de EtO (óxido de etileno) e 70% de CO₂ (gás carbônico). Para o ciclo de esterilização dos corpos-de-prova, foram utilizados 450 mmHg de vácuo, 1,0 Kg/cm² de pressão, aeração de 3 lavagens com nitrogênio líquido e umidade relativa de 50% a 55%. A temperatura utilizada no ciclo de esterilização foi de 40°C. Após 8 horas nessas condições, as embalagens lacradas contendo os corpos-de-prova foram retiradas da câmara de esterilização (Figura 7).



FIGURA 7 - Prótese total esterilizada

É importante ressaltar que essas próteses foram manipuladas somente 15 dias após a esterilização, uma vez que um período inferior poderia invalidar os resultados por não haver crescimento microbiológico nesta fase. Para verificar a eficácia deste método de esterilização, duas das próteses confeccionadas foram colocadas, individualmente, em béqueres contendo 200 mL de meio de cultura Tryptic Soy Broth. Os béqueres foram incubados em estufa a 37°C durante 48 horas e, após este período, foi observado que não houve crescimento visível nos meios de cultura dos béqueres para as duas próteses avaliadas (Figura 8).



FIGURA 8 - Prótese total esterilizada com óxido de etileno, após 7 dias de incubação a 37°C

4.4.7 Contaminação e desinfecção das próteses

Os microrganismos selecionados para a contaminação das próteses foram os seguintes: *S. aureus* ATCC 25923 (gram-positivo), *P. aeruginosa* ATCC 27853 (gram-negativo), *C. albicans* ATCC 60193 (fungo) e *B. subtilis* ATCC 6633 (aeróbico esporulado). Os três primeiros microrganismos foram selecionados de acordo com as recomendações publicadas no *Handbook of Disinfectants and Antiseptics*¹⁶, com base em médias científicas para indicação de microrganismos patogênicos. Além disso, nessa pesquisa também foi incluída a bactéria *B. subtilis* que é um microrganismo esporulado, resistente à desinfecção e, também, considerado um indicador de esterilização¹⁶.

Previamente à contaminação das próteses, os microrganismos foram individualmente inoculados em 10 mL de meio de cultura TSB e incubados a 37°C por 24 horas. Após este período, os tubos de ensaio foram vigorosamente agitados por 30 segundos em um agitador de tubos e o seu grau de turvação avaliado por meio da correlação com os padrões da escala de McFarland. Dessa forma, foi possível obter uma alíquota do meio de cultura inoculado correspondente a uma concentração de, aproximadamente, 10^7 ufc/mL para cada microrganismo avaliado. Posteriormente, as próteses foram, individualmente, colocadas em béqueres contendo 200 mL de meio de cultura TSB estéril. A seguir, uma alíquota correspondente a 10^7 ufc/mL de cada microrganismo foi pipetada dos tubos de ensaio, previamente

inoculados, e transferida, individualmente, para cada um dos béqueres contendo as próteses totais. Estes béqueres foram agitados e incubados a 37°C por 24 horas (Figura 9). Após esse período, as próteses foram divididas em dois grupos: irradiadas e não irradiadas.



FIGURA 9 - Prótese total contaminada após 24 horas de incubação a 37°C

Metade dos béqueres foi agitada em agitador orbital por 1 minuto (Figura 10) e mantida em repouso por 9 minutos. Posteriormente, os béqueres foram levemente agitados para resuspender as células microbianas e, a partir dessa solução, uma alíquota de 500 μL foi pipetada e transferida para os tubos de ensaio contendo 4,5 mL de solução salina estéril. Os tubos foram agitados vigorosamente em agitador de tubos e uma nova alíquota de 500 μL foi removida e colocada em outro tubo de ensaio contendo 4,5 mL de solução salina. Esse procedimento foi realizado seis vezes para cada prótese total e, desta forma, as diluições seriadas de 10^{-1} a 10^{-6} foram obtidas^{26,40}.



FIGURA 10 – Agitador orbital

As quatro últimas diluições seriadas (10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} e 10^{-6}) foram separadas e uma alíquota de 25 μ L de cada uma dessas diluições foi transferida para um dos quadrantes de uma placa de Petri contendo os meios de cultura específicos para cada microorganismo selecionado. Uma alça de Drigalsky estéril foi utilizada para espalhar a solução sobre o meio de cultura em cada quadrante da placa. É importante enfatizar que os procedimentos de semeadura foram realizados em duplicatas.

A outra metade das próteses, após o procedimento de contaminação, foi submetida ao procedimento de desinfecção (grupo experimental). 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 6 minutos (Figura 11).

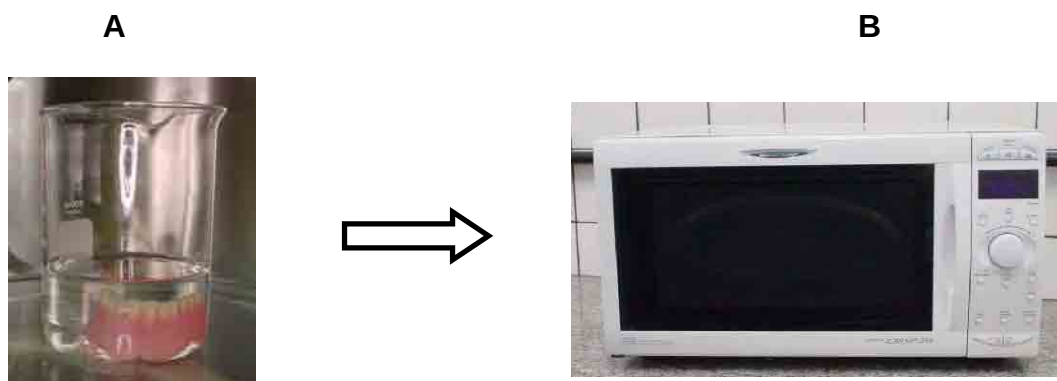


FIGURA 11 - Prótese total no interior do forno de microondas imersa em béquer com 200 mL de água estéril (A) para ser submetida à irradiação em microondas (B)

Após a irradiação, cada prótese foi assepticamente removida do béquer e colocada em outro béquer contendo 200 mL de solução salina estéril. Cada béquer foi vigorosamente agitado em agitador orbital por 1 minuto, deixado em repouso por 9 minutos e novamente agitado para desprender qualquer célula microbiana da prótese para a solução resultante. A seguir, as diluições seriadas de 10^{-1} a 10^{-4} foram obtidas e uma alíquota de 25 μ L de cada uma dessas diluições foi semeada em placa de Petri. As placas referentes ao grupo controle e experimental 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 bacteriológica a 37°C por 7 dias. Decorrido esse período, foi

observada a presença ou ausência de turvação dos meios de cultura. A presença de turvação no meio de cultura indicava o crescimento dos microrganismos.

4.4.8 Contagem de microrganismos

Após a incubação por 48 horas a 37°C, tanto as placas das amostras irradiadas quanto das não desinfetadas, foram submetidas à contagem de colônias em contador de colônias digital²⁶. As placas de Petri foram posicionadas sobre o contador de colônia digital e um dos quadrantes da placa que apresentava valores entre 30 e 300 foi selecionado. A seguir, a ponta do contador foi posicionada individualmente sobre cada uma das colônias formadas para realização da contagem. Os números de unidades formadoras de colônias por mL foram, então, calculados e comparados para verificação da efetividade do método de desinfecção testado.

4.5 Planejamento estatístico

Nesse estudo foram verificadas as variáveis com e sem desinfecção (grupo experimental e controle, respectivamente). Para cada variável foi estabelecido um único fator de variação: Microrganismo, em 4 níveis. Definiu-se, então, que seriam necessárias 10 repetições para cada prótese total contaminada com um dos microrganismos e submetida ou não à desinfecção. O total amostral obtido foi, portanto, de 40 próteses

para o grupo sem desinfecção (controle) e 40 próteses para o grupo com desinfecção (experimental).

Para determinar a efetividade das microondas na desinfecção das próteses avaliadas, foi necessário calcular o número de microrganismos viáveis, em valores de ufc/mL, obtido com e sem o procedimento de desinfecção pela irradiação em microondas. É importante ressaltar que, para cada duplicata, a contagem do número de colônias foi realizada para cada uma das diluições semeadas.

Foram considerados somente os valores entre 30 e 300 colônias, sendo escolhido, para cada microrganismo, o número de colônias referente a uma única diluição que representasse um valor entre a variação considerada. Após a obtenção desse valor em cada duplicata, o número de unidades formadoras de colônias por mililitro (ufc/mL) foi calculado. Para esse cálculo, utilizou-se a fórmula a seguir:

$$\text{ufc/mL} = \frac{\text{Número de colônias} \times 10^n}{q}$$

Nessa fórmula, n equivale ao valor absoluto da diluição (1 a 6) e q equivale à quantidade, em mL, pipetada para cada diluição semeada nas placas. No presente estudo, $q = 0,025$ já que foram pipetados 25 μL para cada diluição. Os valores de ufc/mL obtidos foram deixados em notação científica e foi obtida então a média aritmética dos valores das duplicatas de cada amostra.

Os valores de ufc/mL foram extremamente elevados e, por isso, considerados de difícil avaliação. Para facilitar algumas interpretações dos resultados obtidos, os valores em ufc/mL foram transformados para logaritmo na base dez. A transformação logarítmica facilitou a interpretação dos resultados, mas não garantiu a validade da aplicação de procedimentos estatísticos paramétricos na avaliação da aderência dos diferentes microorganismos nas próteses irradiadas ou não por microondas. Então, para este fim, utilizaram-se métodos não-paramétricos de análise de dados.

O método estatístico empregado foi o de Kruskal-Wallis pelo qual são avaliados os postos médios das contagens de microorganismos em cada um dos grupos controle e experimental, que são os mesmos para os dados originais e para os dados transformados para logaritmo. Seguiu-se ao teste de Kruskal-Wallis comparações múltiplas não-paramétricas dos postos médios dois a dois pelo teste de Dunn. Adotou-se o nível de 5% de significância como regra de decisão para aceitar como significativa uma diferença entre postos médios.

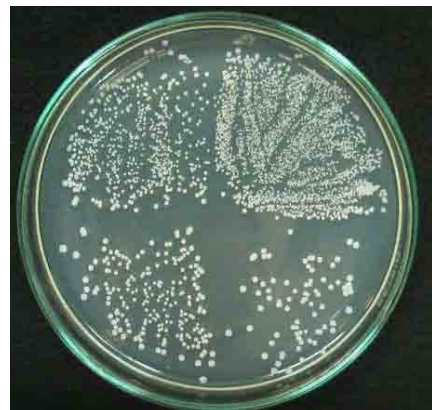
5 Resultado

O número de colônias de cada duplicata para as próteses do grupo controle e do grupo experimental para os quatro microrganismos avaliados: *P. aeruginosa* (Pa), *S. aureus* (Sa), *C. albicans* (Ca) e *B.subtilis* (Bs) está apresentado no anexo (Tabelas de 1 a 8).

As placas de Petri semeadas correspondentes às próteses do grupo controle (não desinfetados) apresentaram crescimento microbiano após 48 horas de incubação (Figura 12).



P.aeruginosa



S.aureus

*C. albicans**B. subtilis*

FIGURA 12 - Placas de Petri com as sementeiras dos microrganismos referentes ao grupo controle

Os valores originais das médias das duplicatas em ufc/mL para as próteses do grupo controle estão descritos nas tabelas 1, 2, 3 e 4. Nestas tabelas constam também as estatísticas descritivas das contagens: mínimo, máximo, mediana e média. Essas medidas estão representadas graficamente na Figura 13.

Tabela 1 - Contagens (ufc/mL) do microrganismo *P. aeruginosa* (Pa) para as próteses dos grupos controle e experimental. Estatística descritiva das contagens

Prótese	Grupos	
	Controle	Experimental
1	3,80E+09	0
2	6,64E+08	100*
3	4,00E+09	0
4	2,82E+09	50*
5	2,07E+09	0
6	4,36E+09	0
7	1,18E+09	0
8	2,62E+09	0
9	1,28E+09	0
10	2,12E+08	0
Mínimo	2,12E+08	0
Máximo	4,36E+09	100
Mediana	2,35E+09	0
Média	2,30E+09	15

*turvou após 7 dias

Tabela 2 - Contagens (ufc/mL) do microrganismo *S. aureus* (Sa), para as próteses dos grupos controle e experimental. Estatística descritiva das contagens

Prótese	Grupos	
	Controle	Experimental
1	2,96E+09	0
2	3,60E+09	0
3	5,38E+09	0
4	5,40E+09	0
5	2,38E+09	0
6	8,24E+09	0
7	3,38E+09	0
8	4,34E+09	0
9	5,56E+09	0
10	9,44E+09	0
Mínimo	2,38E+09	0
Máximo	9,44E+09	0
Mediana	4,86E+09	0
Média	5,07E+09	0

Tabela 3 - Contagens (ufc/mL) do microrganismo *B. subtilis* (Bs) para as próteses dos grupos controle e experimental. Estatística descritiva das contagens

Prótese	Grupos	
	Controle	Experimental
1	1,20E+10	0
2	1,20E+10	0
3	1,06E+09	0
4	1,20E+10	0
5	1,20E+10	0
6	5,24E+09	0
7	6,40E+08	0
8	1,40E+09	0
9	4,40E+08	0*
10	2,14E+09	0
Mínimo	4,40E+08	0
Máximo	1,20E+10	0
Mediana	3,69E+09	0
Média	5,89E+09	0

*turvou após 7 dias

Tabela 4 - Contagens (ufc/mL) do microrganismo *C. albicans* (Ca) para as próteses dos grupos controle e experimental. Estatística descritiva das contagens

Prótese	Grupos	
	Controle	Experimental
1	1,24E+08	0
2	1,74E+07	0
3	4,54E+06	0
4	3,34E+06	0
5	2,62E+07	0
6	3,80E+05	0
7	3,08E+07	0
8	2,80E+06	0
9	1,60E+07	0
10	3,04E+07	0
Mínimo	3,80E+05	0
Máximo	1,24E+08	0
Mediana	1,67E+07	0
Média	2,56E+07	0

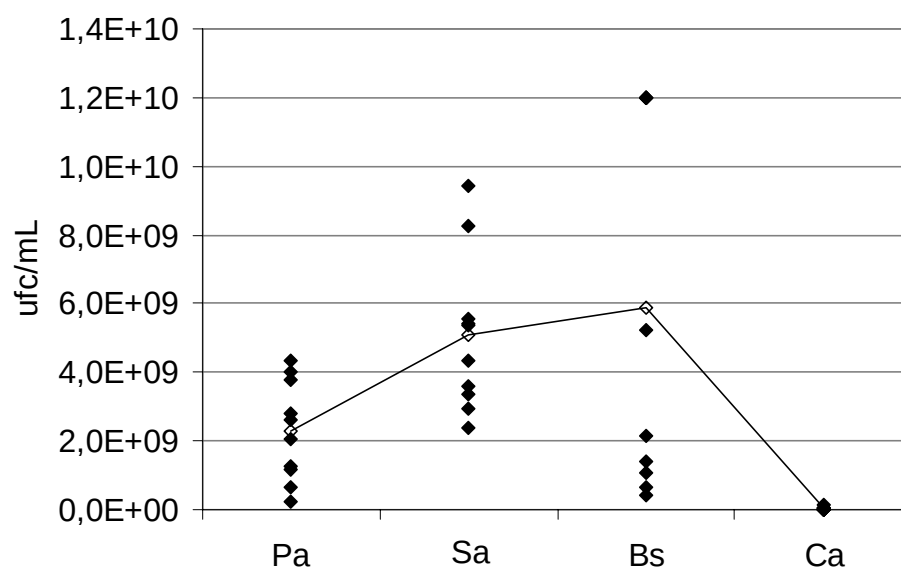


FIGURA 13 - Representação gráfica das contagens dos microrganismos (ufc/mL) *P. aeruginosa* (Pa), *S. aureus* (Sa), *B. subtilis* (Bs) e *C. albicans* (Ca). A linha poligonal une os valores de média

Na Tabela 5 são apresentados os valores originais transformados para logaritmos na base dez para as próteses totais não submetidas à irradiação por microondas. São dadas também as estatísticas descritivas dessas medidas: mínimo, máximo e mediana.

Tabela 5 - Logaritmos decimais de contagens dos microrganismos do grupo controle, em ufc/mL: *P. aeruginosa* (Pa), *S. aureus* (Sa), *B. subtilis* (Bs) e *C. albicans* (Ca). Estatísticas descritivas das contagens.

Prótese	Pa	Sa	Bs	Ca
1	9,580	9,471	10,079	8,093
2	8,822	9,556	10,079	7,241
3	9,602	9,731	9,025	6,657
4	9,450	9,732	10,079	6,524
5	9,317	9,377	10,079	7,418
6	9,639	9,916	9,719	5,580
7	9,072	9,529	8,806	7,489
8	9,418	9,637	9,146	6,447
9	9,107	9,745	8,643	7,204
10	8,326	9,975	9,330	7,483
Mínimo	8,326	9,377	8,643	5,580
Máximo	9,639	9,975	10,079	8,093
Mediana	9,368	9,684	9,525	7,222
Média	9,233	9,667	9,499	7,014

Na Figura 14 estão representadas graficamente, em Log (ufc/mL), a mediana, o primeiro quartil, o terceiro quartil, abaixo dos quais estão respectivamente 50%, 25% e 75% dos dados, o mínimo e o máximo. Espera-se que essas estatísticas descrevam a população de contagens de todos os microrganismos.

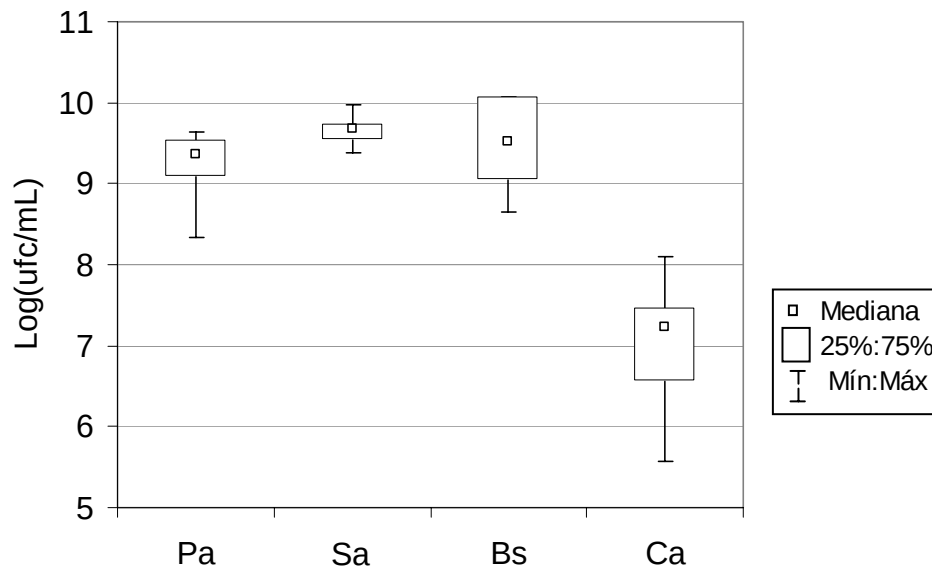
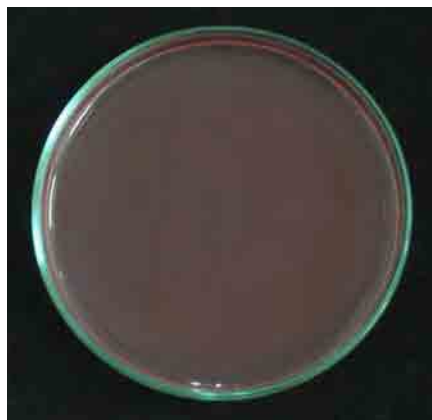


FIGURA 14 - Representação gráfica da mediana, primeiro e terceiro quartis, mínimo e máximo dos logaritmos de contagens de microrganismos

De acordo com as Tabelas 1, 2, 3 e 4, é possível observar que os valores originais de ufc/mL apresentam uma distribuição assimétrica e variabilidade muito acentuada entre os microrganismos avaliados. A transformação logarítmica diminuiu a assimetria, mas não conseguiu a homogeneização da variabilidade. Como não houve homogeneização da variabilidade, optou-se pela análise não-paramétrica dos dados. O método estatístico empregado foi o de Kruskal-Wallis, que avaliou os postos médios de valores de ufc/mL, após a transformação para logaritmo na base de 10. O teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis apresentou o valor $H = 24,9$, que corresponde a um valor de probabilidade $p < 0,0001$. Esse valor, muito menor que o nível de significância adotado,

indica com segurança que, pelo menos, um posto médio é diferente dos demais. Em seguida, foram então realizadas comparações múltiplas dos postos médios dois a dois pelo teste não-paramétrico de Dunn, comprovando-se, ao nível de 5% de significância, que não houve diferença estatisticamente significativa para *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *B. subtilis*, sendo apenas os postos médios para *C. albicans* consideradas estatisticamente inferiores ($Ca < Sa=Pa=Bs$).

Após 48 horas de incubação a 37°C, as sementeiras das placas de Petri referentes às próteses desinfetadas (grupo experimental) não apresentaram colônias viáveis para os microrganismos *S. aureus*, *B. subtilis* e *C. albicans* (Figura 15).



S.aureus

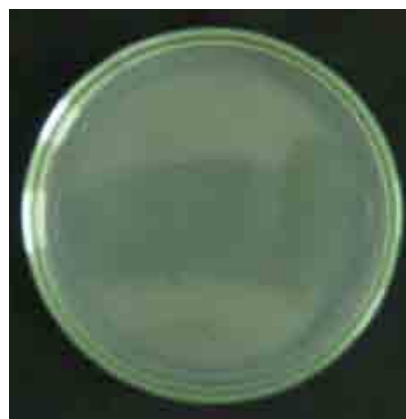
*C. albicans**B. subtilis*

FIGURA 15 - Placas de Petri com as sementeiras dos microrganismos referentes ao grupo experimental

Para o microrganismo *P. aeruginosa*, um pequeno número de colônias foi detectado em duas placas de Petri (Tabela 1). No entanto, os valores de ufc/mL foram extremamente inferiores aos valores de ufc/mL do grupo controle. Assim, não foi aplicada nenhuma análise estatística para os resultados obtidos no grupo experimental.

Além disso, após 7 dias de incubação a 37°C, os resultados demonstraram presença de crescimento microbiológico em apenas três culturas de TSB para as próteses desinfetadas, sendo duas para a *P. aeruginosa* e uma para o *B. subtilis*.

6 Discussão

Numerosas pesquisas têm sido realizadas indicando o real risco de contaminação cruzada entre o consultório odontológico e o laboratório dental, demonstrando que a adoção de um adequado procedimento de desinfecção limita o potencial de transmissão de doenças, via próteses contaminadas^{18,26,53}, entre cirurgiões - dentistas, auxiliares odontológicos, técnicos de laboratórios e pacientes^{36,37,46,53,60,64}. Portanto, os procedimentos de desinfecção das próteses são fundamentais para diminuir a quantidade de microrganismos patogênicos presentes em sua superfície e no interior dos poros^{15,21,40}, permitindo, assim, efetivo controle da infecção cruzada. As próteses devem ser desinfetadas pelos cirurgiões-dentistas ao serem enviadas ao laboratório^{28,46}. Da mesma forma, após os procedimentos laboratoriais, os técnicos de laboratório devem realizar uma nova desinfecção das próteses, uma vez que estas podem ter sido contaminadas durante os procedimentos de acabamento e polimento^{37,38,64}.

O presente estudo avaliou a efetividade da irradiação por microondas na desinfecção de próteses totais e constatou que, após 48 horas de incubação a 37°C, houve esterilização para as próteses contaminadas com *S. aureus*, *B. subtilis* e *C.albicans* (Tabelas 2, 3 e 4, respectivamente) e desinfecção para as próteses pertencentes ao grupo do

microrganismo *P. aeruginosa* (Tabela 1). Porém, após 7 dias de incubação a 37°C, crescimento microbiológico foi observado em 3 culturas de TSB, sendo 2 para *P. aeruginosa* e 1 para *B. subtilis*. Assim, não ocorreu esterilização em longo prazo para todas as próteses desses dois grupos. Esses resultados estão de acordo com alguns estudos que verificaram que a irradiação por microondas foi efetiva na desinfecção e esterilização de próteses dentárias^{7,9,21,27,48,63}, resinas rígidas⁴² e resilientes²¹ para reembasamento imediato e instrumentos odontológicos^{23,31,55}. Além disso, a esterilização das próteses contaminadas com *C. albicans* parece contribuir na prevenção da estomatite protética. Banting e Hill⁷ avaliaram clinicamente a efetividade das microondas como tratamento auxiliar da candidose bucal e verificaram que o risco de reinfecção por *C. albicans* nas próteses submetidas à irradiação em microondas foi significativamente menor do que o das próteses imersas em clorexidina. Os nossos resultados confirmam essas observações, tendo em vista a esterilização das próteses com *C. albicans* após os períodos de observação de 48 horas e 7 dias.

Os mecanismos pelos quais as microondas promovem a lise celular ou a inativação dos microrganismos não são bem estabelecidos^{15,48,50}. Alguns autores^{6,9,14,19,29,43,48,49,50,62} consideram a existência de efeitos não térmicos sobre a atividade metabólica de diferentes microrganismos, enquanto outros^{24,35,58,65}, não aceitam a existência de tais fatores. Os efeitos térmicos são aqueles induzidos por um movimento

cinético associado ao aumento de temperatura, não sendo diretamente causados pelo campo eletromagnético das microondas. Os efeitos não-térmicos resultariam da interação do campo eletromagnético com as moléculas das células, produzindo mecanismos moleculares^{19,29,43}, mecânicos^{14,29} ou de aquecimento seletivo^{43,62}, ainda não elucidados, os quais, portanto, não poderiam ser explicados somente por uma ação térmica. Hiti et al.²⁹ relataram que as células biológicas com alto conteúdo de água possuem maior interação com o campo eletromagnético, o que explicaria a ocorrência da lise celular em uma temperatura menor que a encontrada em um processo puramente térmico e, ainda, a sensibilidade dos microrganismos à irradiação de microondas^{19,29,43}. Segundo Carrol e Lopez¹⁴, a energia gerada pelas microondas poderia causar uma oscilação muito rápida na célula microbiana. Conseqüentemente, o limite elástico da estrutura celular poderia ser excedido, causando a sua ruptura. Dependendo do meio circundante dos microrganismos e da concentração de compostos iônicos presentes no citoplasma celular, algumas células poderiam ser aquecidas seletivamente pelas microondas, gerando no seu interior uma temperatura maior que no meio circundante^{43,62}. Isto resultaria no efeito bactericida da irradiação por microondas^{14,43,35,65}. No entanto, o Expert Panel on Food Safety and Nutrition²² não valida esta hipótese, denominada aquecimento seletivo, pois a temperatura interna da célula microbiana ainda não pôde ser mensurada com precisão.

Independente do mecanismo das microondas sobre microrganismos patogênicos ser puramente térmico ou não, sabe-se que o efeito de inativação ou lise celular ocorre, principalmente, na presença de água^{6,21,23,58,62}. Organismos liofilizados ou secos são dificilmente comprometidos, inclusive quando submetidos a exposições prolongadas^{6,21,23,58,62}, indicando que o líquido no qual as amostras são imersas é importante na absorção da energia⁶. Baysan et al.⁹ avaliaram diferentes métodos de desinfecção para resinas reembasadoras resilientes contaminadas com *C. albicans* ou *S. aureus* e constataram que a imersão, por 5 horas, em solução de hipoclorito de sódio, foi mais efetiva que a irradiação das amostras a seco durante 5 minutos a 650 W. Assim, a irradiação a seco não foi o procedimento mais adequado para eliminar os microrganismos. No trabalho realizado por Rohrer e Bulard⁴⁸, próteses contaminadas com suspensões individuais e com uma mistura de suspensões de quatro bactérias (*S. aureus*, *K. pneumonie*, *S. epidermidis* e *B. subtilis*) e um fungo (*C. albicans*) foram fixadas a um dispositivo rotacional tridimensional e, em seguida, irradiadas a seco a 720 W em diferentes períodos de exposição (1, 2, 3, 4, 6, 8 ou 10 minutos). Os microrganismos presentes nas próteses foram eliminados somente após 8 ou 10 minutos de irradiação, possivelmente, devido à desinfecção das próteses ter sido realizada a seco. Dixon et al.²¹ realizaram a imersão das amostras em água, durante a exposição às microondas por 5 minutos em potência máxima, e

observaram que este procedimento produziu efetiva esterilização nas resinas para base de próteses e resinas reembasadoras resilientes, contaminadas com *C. albicans*²¹. Outros autores também realizaram o umedecimento dos materiais, previamente à irradiação em microondas, com o objetivo de obter um procedimento de desinfecção mais efetivo. Farias²³, em 2003, avaliou a efetividade das microondas na esterilização de pontas diamantadas contaminadas por uma suspensão bacteriana formada por bactérias pertencentes ao meio bucal. A autora constatou que a esterilização dos instrumentos acondicionados em placas de Petri contendo 40 mL de água ocorreu no período de 1 minuto de irradiação na potência de 800 W, enquanto que com aqueles irradiados a seco, a esterilização foi obtida somente após 6 minutos de exposição. Friedrich Jr. e Phillips²⁵ avaliaram a efetividade das microondas na esterilização de roupas íntimas femininas contaminadas com *C. albicans*. Após 5 minutos de exposição das amostras a seco, as microondas não foram eficazes na eliminação do microrganismo avaliado. Entretanto, quando as amostras foram umedecidas, não foi observado o crescimento de *C. albicans*²⁵. Ikawa e Rossen³² obtiveram em seus estudos uma redução de 99,9% no número dos microrganismos (*E. coli*, *S. choleraesuis*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. putrefaciens*) viáveis presentes em esponjas domésticas umedecidas após 1 minuto de irradiação por microondas. Dessa forma, no presente estudo, podemos sugerir que a imersão das próteses totais, em um béquer contendo 200 mL de água, está

diretamente relacionada à obtenção da esterilização de todas as próteses totais pertencentes aos grupos dos microrganismos *S. aureus* e *C. albicans*, de 8 próteses pertencentes ao grupo do microrganismo *P. aeruginosa* e de 9 próteses pertencentes ao grupo do microrganismo *B. subtilis*.

Neppelenbroek et al.⁴² demonstraram que, após a irradiação em microondas a 650 W durante 6 minutos, corpos-de-prova (10 x 10 x 1 mm) de resinas para reembasamento tornaram-se estéreis, uma vez que não houve crescimento dos microrganismos *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *B. subtilis* e *C. albicans*, após os períodos de incubação utilizados (48 horas e 7 dias). No entanto, apesar da metodologia utilizada neste trabalho ter sido muito semelhante àquela empregada por Neppelenbroek et al.⁴², observamos a presença de células viáveis de microrganismos em algumas das amostras irradiadas (Tabela 1 e 3), após 48 horas e 7 dias de incubação a 37°C, que provavelmente está relacionada à maior área superficial das próteses totais, pois o número de colônias de microrganismos na superfície da resina acrílica é proporcional à área total envolvida. Dessa forma, a maior área de contato da prótese total, associada às irregularidades presentes na sua superfície, pode ter permitido uma maior aderência de microrganismos. Assim, após 48 horas de incubação a 37°C, a esterilização não foi alcançada para 2 próteses totais que pertenciam ao grupo do microrganismo *P. aeruginosa* e, após 7 dias de incubação a 37°C, não houve esterilização para todas as amostras contaminadas com o microrganismo *P. aeruginosa* e

B. subtilis. Além disso, os corpos-de-prova utilizados por Neppelenbroek et al.⁴² foram prensados sobre lâminas de acetato, resultando em superfícies lisas, enquanto que no presente estudo, a prensagem da resina acrílica utilizada na confecção das próteses totais foi realizada em contato com a superfície do modelo de gesso, sendo, portanto, mais rugosas. Segundo Verran e Maryan⁵⁹, um aumento na rugosidade superficial de resinas acrílicas facilita a retenção do microrganismo *C. albicans*. Conclusão semelhante foi feita por Walimo et al.⁶¹. ao comparar a aderência de *C. albicans* à superfície de polimetilmetacrilato e à superfície de compósito de fibra de vidro utilizada em próteses totais, pois os resultados demonstraram que a densidade média de leveduras na superfície de matriz polimérica foi significativamente maior que sobre a superfície da fibra.

Os métodos de desinfecção de próteses têm a finalidade de eliminar os microrganismos patogênicos sem, porém, causar efeitos adversos sobre as propriedades físicas e mecânicas da resina acrílica^{13,21,45,48,62}. Tem sido observado que a esterilização por microondas apresenta influência clínica insignificante na estabilidade dimensional de resinas para base de prótese^{13,48,56}. Burns et al.¹³ irradiaram corpos-de-prova de três resinas utilizadas para base de prótese e verificaram que todas as amostras mantiveram excelente estabilidade dimensional após a exposição às microondas. Thomas e Webb⁵⁶ constataram que 10 minutos de irradiação em potência máxima causaram alterações dimensionais nas próteses totais

avaliadas. Porém, estas alterações foram mínimas em potência média por 6 minutos. Roher e Bulard⁴⁸ também avaliaram a influência da energia de microondas na estabilidade dimensional de próteses totais e não constataram nenhuma alteração dimensional significativa, inclusive para uma prótese inferior exposta a 100 ciclos de desinfecção. Dixon et al.²¹ relataram que a exposição às microondas durante 5 minutos não causaram alterações significantes na dureza de um material reembasador resiliente e de uma resina de base de prótese autopolimerizável. No trabalho realizado por Polysois et al.⁴⁵, a resistência à flexão de uma resina para base de prótese não foi alterada durante a desinfecção a seco em microondas. Recentemente, Pavarina et al.⁴⁴ investigaram o efeito da desinfecção por microondas (650W/6 minutos) na resistência a flexão de 5 resinas rígidas para reembasamento e uma resina para base de prótese. Os autores observaram que somente um único material reembasador teve sua resistência à flexão reduzida, após desinfecção em microondas. Da mesma forma, Ribeiro⁴⁷, ao avaliar o efeito da desinfecção por microondas a 650 W durante 6 minutos verificou que as propriedades mecânicas de resistência à flexão e dureza de 4 resinas para reembasamento e uma resina termopolimerizável não foram alteradas. Dessa forma, o método de desinfecção utilizado no presente estudo, além de efetivo, provavelmente, não deve resultar em efeitos deletérios nas próteses totais.

Analisando a Figura 13, é possível observar que as próteses do grupo controle contaminadas por *C.albicans* apresentaram valores de ufc/mL significativamente menores quando comparado às próteses do grupo controle contaminadas com os microrganismos *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *B. subtilis*. A diferença entre os valores de ufc/mL pode ser atribuída à variabilidade morfológica e às características específicas de adesão inerentes a cada microrganismo. Células maiores, como leveduras, são facilmente deslocadas da superfície da resina acrílica, quando em comparação com células menores como as bacterianas⁵⁹. Isso possivelmente poderia explicar os maiores valores médios de ufc/mL para os microrganismos *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *B. subtilis*.

Os resultados deste estudo demonstraram que a irradiação por microondas a 650 W por 6 minutos foi efetiva para desinfecção de próteses totais superiores contaminadas com *P. aeruginosa* e *B. subtilis*, além de promover a esterilização daquelas inoculadas com *C. albicans* e *S.aureus*. A inativação de diferentes formas vegetativas de bactérias e leveduras, utilizando o forno microondas doméstico, está diretamente relacionada ao tipo de microrganismo e do material a ser esterilizado, assim como ao tempo de exposição e à intensidade (potência), dificultando a padronização do procedimento proposto. Dessa maneira, diferentes potências e períodos de irradiação devem ser, futuramente, avaliados para identificar a relação tempo-potência ideal para desinfecção de próteses

totais. Para que o método preconizado possa ser aplicado com maior segurança, é necessário, ainda, o desenvolvimento de pesquisas que avaliem a efetividade da desinfecção em microondas na inativação de vírus patogênicos, entre eles, o vírus HIV e da hepatite B. Além disso, avaliações clínicas do efeito da desinfecção em microondas sobre o suporte, retenção e estabilidade de base de prótese são necessárias. Embora haja necessidade de futuras investigações, os resultados do presente estudo e da literatura especializada indicam que a desinfecção de próteses por microondas parece ser um método promissor na prevenção de contaminação cruzada.

7 Conclusão

1. Todas as próteses totais superiores contaminadas com os microrganismos *C. albicans* e *S.aureus* foram efetivamente esterilizadas pela irradiação em microondas após 6 minutos de exposição a 650 W.

2. A irradiação em microondas por 6 minutos de exposição a 650 W provou ser um método efetivo para desinfecção de próteses totais superiores contaminadas com os microrganismos *P. aeruginosa* e *B. subtilis*.

3. As próteses totais superiores do grupo controle contaminadas com o microrganismo *C. albicans* apresentaram valores de ufc/mL significativamente menores quando comparado às próteses do grupo controle contaminado com os microrganismos *S.aureus*, *P. aeruginosa* e *B. subtilis*.

4. A desinfecção de próteses totais em microondas por 6 minutos a 650 W pode ser considerada um procedimento rápido e efetivo sendo assim, capaz de prevenir a contaminação cruzada.

8 Referências*

1. AMERICAN DENTAL ASSOCIATION. COUNCIL ON DENTAL MATERIALS, INSTRUMENTS AND EQUIPMENT. Denture cleansers. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v. 106, n.1, p. 77-79, Jan. 1983.
2. AMERICAN DENTAL ASSOCIATION COUNCIL ON SCIENTIFIC AFFAIRS AND AMERICAN DENTAL ASSOCIATION COUNCIL ON DENTAL PRACTICE. Infection control recommendations for the dental office and the dental laboratory. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v.127, n.5, p.672-680, May 1996.
3. AMERICAN NATIONAL STANDART. **American Dental Association. Specification nº 12 for denture base polymer.** Chicago, 1999.
4. ASAD, T.; WATKINSON, A.C.; HUGGETT, R. The effect of disinfection procedures on flexural properties of denture base acrylic resins. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis,v.68. n.1, p.191-195, July 1992.
5. ASAD, T.; WATKINSON, A.C.; HUGGETT, R. The effects of various disinfectant solutions on the surface hardness of an acrylic resin denture base material. **Int. J. Prosthodont.**, Lombard, v.6, n.1, p.9-12, Jan./Feb. 1993.

* Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 6023.** Informação e documentação – referências – elaboração. Rio de Janeiro: ABNT, 2002. 24p.

-
6. ATMACA, S. et al. Effect of microwaves on survival of some bacterial strains. **Acta Microbiol. Immunol. Hung.**, v.43, n.4, p.371-378, 1996.
 7. BANTING, D.W.; HILL, S.A. Microwave disinfection of dentures for the treatment of oral candidiasis. **Spec. Care Dentist.**, Chicago, v.21, n.1, p. 4-8, 2001.
 8. BARBOSA, D.B. **Alteração da dimensão vertical de oclusão em próteses totais. Estudo comparativo entre diferentes ciclos de polimerização em microondas.** 2000.101 f. Dissertação (Mestrado em Reabilitação Oral – Área de Concentração: Prótese). Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2000.
 9. BAYSAN, A.; WHILEY, R.; WRIGHT, P.S. Use of microwave energy to disinfect a long-term soft lining material contaminated with *Candida albicans* or *Staphylococcus aureus*. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v.79, n.4, p.454-458, Apr. 1998.
 10. BELL, J.A. The effectiveness of two disinfectants on denture base acrylic resin with an organic load. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v. 61, n.5, p.580-583, May 1989.
 11. BORDER, B.G.; RICE-SPEARMAN, L. Microwaves in the laboratory: effective decontamination. **Clin. Lab. Sci.**, Bethesda, v.12, n.3, p.156-160, May/Jun. 1999.
 12. BRACE, M.L.; PLUMMER, K.D. Practical denture disinfection. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v. 70, n.6, p. 538-540, Dec. 1993.

-
13. BURNS, D.R. et al. Dimensional stability of acrylic resin materials after microwave sterilization. **Int. J. Prosthodont.**, Lombard, v.3, n.5, p.489-493, Sep./Oct. 1990.
 14. CARROL, D.E.; LOPEZ, A. Lethality of radio-frequency energy upon microorganisms in liquid, buffered, and alcoholic food systems. **J. Food. Sci.**, Champaign, v. 34, p.320-324, 1969.
 15. CHAU, V.B. et al. In-depth disinfection of acrylic resins. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v.74, n.3, p. 309-313. Sep. 1995.
 16. COLE, E.C.; ROBISON, R. Test methodology for evaluation of germicides. In: ASCENZI, J.M. **Handbook of disinfectants and antiseptics**. New York: Marcel Dekker Inc, 1996. p.1-13.
 17. COMPAGNONI, M.A., et al. Influencia da união prévia dos dentes artificiais na confecção das próteses totais. **Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.**, São Paulo, v. 47, n.1, p.1111-1115, Jan./Fev, 1983.
 18. CONNOR, C. Cross-contamination control in prosthodontic practice. **Int. J. Prosthodont.**, Lombard, v.4, n.4, p.337-344, July/Aug. 1991.
 19. CULKIN, K. A.; FUNG, D.Y.C. Destruction of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* in microwave-cooked soups. **J. Milk Food Technol.**, v. 38, n. 1, p.8-15, Jan. 1975.
 20. DAVENPORT, J.C. The denture surface. **Br. Dent. J.**, London, v.133, n.3, p.101-105, Aug.1972.

-
21. DIXON, D.L.; BREEDING, L.C.; FALER, T.A. Microwave disinfection of denture base materials colonized with *Candida albicans*. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v.81, n.2, p.207-214, Feb. 1999.
22. EXPERT PANEL ON FOOD SAFETY & NUTRITION. Microwave food processing. **Food Technol.**, Chicago, v.43, n.1, p.117-126, Jan. 1989.
23. FARIAS, R.J.M. **Esterilização de pontas diamantadas através da energia por microondas**. 2003.116f. Dissertação (Mestrado em Reabilitação Oral) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2003.
24. FITZPATRICK, J.A.; KWAO-PAUL, J.; MASSEY, J. Sterilization of bacteria by means of microwave heating. **J. Clin. Eng.**, Frederick, v.3, n.1, p.44-47, Jan./Mar. 1978.
25. FRIEDRICH Jr., E.G.; PHILLIPS, L.E. Microwave sterilization of *Candida* on underwear fabric. A preliminary report. **J. Reprod. Med.**, St. Louis, v.33, n.5, p.421-422, May 1988.
26. FURUKAWA, K.K. et al. Effectiveness of chlorine dioxide in disinfection on two soft denture liners. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v.80, n.6, p.723-729, Dec. 1998.
27. GOODSON, L.B. et al. A statistical comparison of denture sanitation using a commercially available denture cleaner with and without microwaving. **Gen. Dent.**, v.51, n.2, p.148-151, Mar./Apr. 2003.

-
28. HENDERSON, C.W. et al. Evaluation of the barrier system, an infection control system for the dental laboratory. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v.58, n.4, p.517-521, Oct. 1987.
29. HITI, K. et al. Microwave treatment of contact lens cases contaminated with *Acanthamoeba*. **Cornea**, New York, v.20, n.5, p.467-470, Jul. 2001.
30. HOFFMAN, P.N.; HANLEY, M.J. Assessment of a microwave-based clinical waste decontamination unit. **J. Appl. Bacteriol.**, v.77, n.6, p.607-612, Dec. 1994.
31. HUME, W.R.; MAKINSON, O.F. Sterilizing dental instruments: evaluation of lubricating oils and microwave radiation. **Oper. Dent.**, Seattle, v.3, n.3, p.93-96, 1978.
32. IKAWA, J. Y.; ROSSEN, J. S. Reducing bacteria in household sponges. **J. Environ. Health.**, Denver, v.62, n.1, p.1-5, Jul./Aug. 1999.
33. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Specification 1567: denture base polymers. 2nd ed. Switzerland: ISO, 1998.
34. JASNOW, S.B.; SMITH J.L. Microwave sanitization of color additives used in cosmetics: feasibility study. **Appl. Microbiol.**, Washington, v.30, n.2, p.205-211. Aug. 1975.

-
35. JENG D.K. et al. Mechanism of microwave sterilization in the dry state. **Appl. Environ. Microbiol.**, Washington, v.53, n.9, p.2133-2137. Sep. 1987.
36. KAHN, R.C.; LANCASTER, M.V.; KATE Jr., W. The microbiologic cross-contamination of dental prostheses. **J Prosthet Dent.**, St. Louis, v.47, n.5, p.556-559, May 1982.
37. KATBERG Jr., J.W. Cross-contamination via the prosthodontic laboratory. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v.32, n.4, p.412-419, Oct. 1974.
38. LARATO, D.C. Disinfection of pumice. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v.18, n.6, p.534-535, Dec. 1967.
39. LATIMER, J.M.; MATSEN, J.M. Microwave oven irradiation as a method for bacterial decontamination in a clinical microbiology laboratory. **J. Clin. Microbiol.**, Washington, v.6, n.4, p.340-342, Oct. 1977.
40. LIN, J.J. et al. Disinfection of denture base acrylic resin. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v. 81, n.2, p.202-206, Feb. 1999.
41. MERCHANT, V.A. An update on infection control in the dental laboratory. **Quintessence Dent. Technol.**, Chicago, p. 157-65, 1997.
42. NEPPELENBROEK, K.H. et al. Effectiveness of microwave sterilization on three hard chairside reline resins. **Int. J. Prosthodont.**, Lombard, v.16, n.6, p.616-620, Nov./Dec. 2003.

-
43. OLSEN, C.M. Microwaves inhibit bread mold. **Food. Eng.**, v.37, p. 51-53, 1965.
44. PAVARINA, A.C. et al. Effect of microwave of disinfection on flexural strength of hard chairside relies resins. **J. Dent.** Guilford. No prelo.
45. POLYZOIS, G.L.; ZISSIS, A.J.; YANNIKAKIS, S.A. The effect of glutaraldehyde and microwave disinfection on some properties of acrylic denture resin. **Int. J. Prosthodont.**, Lombard, v.8, n.2, p.150-154, Mar./Apr. 1995.
46. POWELL, G.L. et al. The presence and identification of organisms transmitted to dental laboratories. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v. 64, n.2, p. 235-237, Aug. 1990.
47. RIBEIRO, D.G. **Efeito da desinfecção por microondas sobre a resistência à flexão e dureza de resinas acrílicas para reembasamento imediato.** Araraquara, 2004. 193 f. Dissertação (Mestrado em Reabilitação Oral – Área de Concentração: Prótese). Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2004.
48. ROHRER, M.D.; BULARD, R.A. Microwave sterilization. **J. Am. Dent. Assoc.** Chicago, v.110, n.2, p.194-198, Feb. 1985.
49. ROHRER, M.D. et al. Microwave sterilization of hydrophilic contact lenses. **Am. J. Ophthalmol.** New York, v. 101, n.1, p. 49-57. Jan. 1986.

-
50. ROSASPINA, S. et al. Effect of microwave radiation on *Candida albicans*. **Microbios**, Cambridge, v.78, n.314, p.55-59, 1994.
51. RUDD, R.W. et al. Sterilization of complete dentures with sodium hypochlorite. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis v.51, n.3, p.318-321, Mar. 1984.
52. SHEN, C.; JAVID, N.S.; COLAIZZI, F.A. The effect of glutaraldehyde base disinfectants on denture base resins. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v.61, n.5, p.583-589, May 1989.
53. STERN, M.A.; WHITACRE, R.J. Avoiding cross-contamination in prosthodontics. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v.46, n.2, p.120-122, Aug. 1981.
54. TAMAKI, T. Processamento da base da dentadura. In: TAMAKI, T. **Dentaduras Completas**. 4.ed. São Paulo: Savier, 1983. cap.16, p. 197-207.
55. TARANTINO, L. et al. L'impiiego di un apparecchio a microonde nella sterilizzazione di strumentario odontoiatrico: possibilità e limiiti. **Minerva Stomatol.**, Torino, v.46, n.10, p.561-566, Oct. 1997.
56. THOMAS, C.J.; WEBB, B.C. Microwaving of acrylic resin dentures. **Eur. J. Prosthodont. Restorative Dent.**, Larkfield, v.3, n.4, p.179-182, June 1995.
57. TURANO, J.C.; TURANO, L. M. Limpeza e Polimento – Adaptação das Próteses Totais. In: TURANO, J.C.; TURANO, L. M.

- Fundamentos de Prótese Total.** 6.ed. São Paulo: Santos, 2002. cap.23, p. 449-463.
58. VELA, G.R.; WU, J.F. Mechanism of letal action of 2450 Mhz radiation on microorganisms. **Appl. Environ. Microbiol.** Washington, v.37, n.3, p.550-553, Mar. 1979.
59. VERRAN, J.; MARYAN, C.J. Retention of *Candida albicans* on acrylic resin and silicone of different surface topography. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v.77, n.5, p.535-539, May 1997.
60. WAKEFIELD, C.W. Laboratory contamination of dental prostheses. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v.44, n.2, p.143-146, Aug. 1980.
61. WALTIMO, T. et al. Adherence of *Candida albicans* to the surface of polymethylmethacrylate--E glass fiber composite used in dentures. **Int. J. Prosthodont.**, Lombard, v.12, n.1, p.83-86, Jan./Feb. 1999.
62. WATANABE, K. et al. Effect of ionic strength on the inactivation of micro-organisms by microwave irradiation. **Lett. Appl. Microbiol.**, Oxford, v.31, n.1, p.52-56, July 2000.
63. WEBB, B.C. et al. Effectiveness of two methods of denture sterilization. **J. Oral Rehabil.**, Oxford, v.25, n.6, p.416-423, June 1998.
64. WILLIAMS, H.N. et al. The recovery and significance of nonoral opportunistic pathogenic bacteria in dental laboratory pumice. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v.54, n.5, p.725-730, Nov .1985.

-
65. YEO, C.B. et al. Heat transfer analysis of staphylococcus aureus on stainless steel with microwave radiation. **J. Appl. Microbiol.**, Melbourne, v.87, n.3, p.396-401, Sept. 1999.

Anexo

Tabela 1 – Dados dos valores originais (ufc/mL) referentes ao microrganismo *Pseudomonas aeruginosa* (Pa), 48 horas após as placas de Petri do grupo controle terem sido semeadas

Prótese	Grupo controle	
	Duplicata 1	Duplicata 2
1	3,36E+09	4,24E+09
2	2,72E+08	1,06E+09
3	4,12E+09	3,88E+09
4	2,32E+09	3,32E+09
5	8,28E+08	3,32E+09
6	1,20E+09	7,52E+09
7	8,40E+08	1,52E+09
8	2,00E+09	3,24E+09
9	1,00E+09	1,56E+09
10	2,60E+08	1,64E+08
mínimo	2,60E+08	1,64E+08
máximo	4,12E+09	7,52E+09
mediana	1,10E+09	3,28E+09
média	1,62E+09	2,98E+09

Tabela 2 – Dados dos valores originais (ufc/mL) referentes ao microrganismo *Pseudomonas aeruginosa* (Pa), 48 horas após as placas de Petri do grupo experimental terem sido semeadas

Prótese	Grupo experimental	
	Duplicata 1	Duplicata 2
1	0	0
2	0	200*
3	0	0
4	0	100*
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	0	0
9	0	0
10	0	0

* turvou com 7 dias

Tabela 3 – Dados dos valores originais (ufc/mL) referentes ao microrganismo *Staphylococcus aureus* (Sa), 48 horas após as placas de Petri do grupo controle terem sido semeadas

Prótese	Grupo controle	
	Duplicata 1	Duplicata 2
1	1,92E+09	4,00E+09
2	3,56E+09	3,64E+09
3	5,52E+09	5,24E+09
4	1,28E+09	9,52E+09
5	2,20E+09	2,56E+09
6	4,48E+09	1,20E+10
7	5,56E+09	1,20E+09
8	4,48E+09	4,20E+09
9	5,52E+09	5,60E+09
10	1,01E+10	8,80E+09
mínimo	1,28E+09	1,20E+09
máximo	1,01E+10	1,20E+10
mediana	4,48E+09	4,72E+09
média	4,46E+09	5,68E+09

Tabela 4 – Dados dos valores originais (ufc/mL) referentes ao microrganismo *Staphylococcus aureus* (Sa), 48 horas após as placas de Petri do grupo experimental terem sido semeadas

Prótese	Grupo experimental	
	Duplicata 1	Duplicata 2
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	0	0
9	0	0
10	0	0

Tabela 5 – Dados dos valores originais (ufc/mL) referentes ao microrganismo *Bacillus subtilis* (Bs), 48 horas após as placas de Petri do grupo controle terem sido semeadas

Prótese	Grupo controle	
	Duplicata 1	Duplicata 2
1	1,20E+10	1,20E+10
2	1,20E+10	1,20E+10
3	5,20E+08	1,60E+09
4	1,20E+10	1,20E+10
5	1,20E+10	1,20E+10
6	3,68E+09	6,80E+09
7	5,20E+08	7,60E+08
8	1,20E+09	1,60E+09
9	3,60E+08	5,20E+08
10	1,76E+09	2,52E+09
mínimo	3,60E+08	5,20E+08
máximo	1,20E+10	1,20E+10
mediana	2,72E+09	4,66E+09

Tabela 6 – Dados dos valores originais (ufc/mL) referentes ao microrganismo *Bacillus subtilis* (Bs), 48 horas após as placas de Petri do grupo experimental terem sido semeadas

Prótese	Grupo experimental	
	Duplicata 1	Duplicata 2
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	0	0
9	0	0*
10	0	0

* turvou com 7 dias

Tabela 7 – Dados dos valores originais (ufc/mL) referentes ao microrganismo *Candida albicans* (Ca), 48 horas após as placas de Petri do grupo controle terem sido semeadas

Prótese	Grupo controle	
	Duplicata 1	Duplicata 2
1	1,12E+08	1,36E+08
2	1,28E+07	2,20E+07
3	4,28E+06	4,80E+06
4	2,92E+06	3,76E+06
5	2,44E+07	2,80E+07
6	4,00E+05	3,60E+05
7	3,96E+07	2,20E+07
8	3,28E+06	2,32E+06
9	1,44E+07	1,76E+07
10	2,32E+07	3,76E+07
mínimo	4,00E+05	3,60E+05
máximo	1,12E+08	1,36E+08
mediana	1,36E+07	1,98E+07
média	2,37E+07	2,74E+07

Tabela 8 – Dados dos valores originais (ufc/mL) referentes ao microrganismo *Candida albicans* (Ca), 48 horas após as placas de Petri do grupo experimental terem sido semeadas

Prótese	Grupo experimental	
	Duplicata 1	Duplicata 2
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	0	0
9	0	0
10	0	0

SILVA, M.M. **Efetividade da irradiação por microondas na desinfecção de próteses totais.** 2005. 140 f. Dissertação (Mestrado em Reabilitação Oral) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2005.

Resumo

Este estudo teve por objetivo avaliar a efetividade da irradiação por microondas na esterilização de próteses totais. Para isso, oitenta próteses totais padronizadas foram confeccionadas e submetidas à esterilização com óxido de etileno. As próteses foram então individualmente inoculadas (10^7 ufc/mL) com meio de cultura de Tryptic Soy Broth (TSB) contendo um dos seguintes microrganismos: *C.albicans*, *S. aureus*, *B. subtilis* e *P. aeruginosa*. Após 48 horas de incubação a 37°C, 40 amostras foram imersas em 200 mL de água e irradiadas a 650 W por 6 minutos. Quarenta amostras não irradiadas foram utilizadas como controle. A seguir, 25 μ L da suspensão resultante das diluições seriadas de 10^{-1} a 10^{-6} , foram semeados em placas de Petri contendo os meios de cultura seletivos para cada microrganismo. Todas as placas foram incubadas a 37°C por 48 horas. Após a incubação, as colônias foram quantificadas em ufc/mL. Para verificação da efetividade exposição às microondas em longo prazo as amostras irradiadas foram imersas em meio de cultura e incubadas a 37°C por 7 dias. A esterilização foi obtida, após 48 horas, para as próteses contaminadas com *C.albicans*, *S. aureus* e *B. subtilis*.

Um pequeno número de colônias foi observado em 2 placas de Petri para o microrganismo *P. aeruginosa*. Após 7 dias de incubação a 37°C houve crescimento microbiológico em 3 culturas de TSB, sendo 2 para *P. aeruginosa* e um para *B. subtilis*. Todas as próteses totais do grupo controle apresentaram crescimento microbiano nas placas de Petri, após 48 horas de incubação a 37°C. A irradiação por microondas por 6 minutos a 650 W provou ser um método rápido e efetivo para desinfecção das próteses totais contaminadas com *P. aeruginosa* e *B. subtilis* além, de promover a esterilização das inoculadas com *C. albicans* e *S. aureus*.

Palavras-chave: Próteses totais; microbiologia; desinfecção; microondas.

SILVA, M.M. **Microwave Irradiation Disinfection of Complete Denture: A Microbiological Study.** 2005. 140 f. Dissertation (Master Degree in Oral Rehabilitation) – Dentistry College, São Paulo State University, Araraquara, 2005.

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effectiveness of microwave irradiation on the sterilization of complete dentures contaminated with individual suspension of 3 bacteria (*P. aeruginosa*, *S. aureus* and *B. subtilis*) and one fungus (*C. albicans*). Eighty simulated maxillary complete dentures were fabricated in a standardized procedure and subjected to ethylene oxide sterilization. The dentures were individually inoculated (10^7 cfu/mL) with Tryptic Soy Broth (TSB) media containing one of the tested microorganisms. After incubation at 37°C for 48 hours, forty dentures were immersed in 200 mL of distilled water and submitted to microwave irradiation at 650 W for 6 minutes. Forty non – irradiated dentures were used as positive controls. Using 0.9% sodium chloride solution as diluent, tenfold serial dilutions 10^{-1} – 10^{-6} were plated onto 4 selective media appropriate for each organism: Manitol Salt Agar for *S. aureus*, Miller Hinton for *P. aeruginosa*, Sabourand Agar containing 5 µg/mL gentamicin for *C. albicans*, and Tryptic Soy Agar for *B. subtilis*. All plates were incubated at 37°C for 48 hours and colonies counts of each plate were quantified (cfu/mL). To verify the long - term effectiveness of

microwave sterilization, the TSB beakers with the microwave specimens were incubated at 37°C for 7 days. Data were statistically analyzed by Kruskal – Wallis's test ($\alpha=0.05$). Irradiated dentures showed consistent sterilization of *S. aureus*, *B. subtilis* and *C. albicans* after 48 hours. Compared to *P. aeruginosa* control, a very low number of colonies were detected only in two plates. Turbidity was observed in three broth beakers, two from *P. aeruginosa* and one from *B. subtilis*, after 7 days incubation at 37°C. All control dentures showed microbial growth on the plates. Microwave irradiation for 6 minutes at 650 W resulted in sterilization of complete dentures contaminated with *S. aureus* and *C. albicans* and disinfection of those dentures contaminated with *P. aeruginosa* and *B. subtilis*.

Keywords: Complete dentures; microbiology; disinfection; microwave irradiation.