



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Paula Volpato Sanitá

*Efetividade da irradiação por
microondas na desinfecção de próteses
totais contaminadas por diferentes
espécies de Candida isoladas de
pacientes HIV positiva*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reabilitação Oral – Área de Prótese, da Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, para obtenção do título de Mestre em Reabilitação Oral – Área de Prótese.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Vergani

Araraquara
2007

Sanitá, Paula Volpato

Efetividade da irradiação por microondas na desinfecção de próteses totais contaminadas por diferentes espécies de *Candida* isoladas de pacientes HIV positivo / Paula Volpato Sanitá. – Araraquara : [s.n.], 2007.

181 f. ; 30 cm.

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

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Vergani

1. Estomatite sob prótese 2. Candida 3. Desinfecção
4. Microondas 5. Prótese total 6. Sorodiagnóstico da AIDS
I. Título.

Paula Volpato Sanitá

*Efetividade da irradiação por microondas
na desinfecção de próteses totais
contaminadas por diferentes espécies de
Candida isoladas de pacientes HIV positivo*

COMISSÃO JULGADORA

DISSERTAÇÃO PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE

Presidente e Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Vergani

Profa. Dra. Ana Cláudia Pavarina

Prof. Dr. Raphael Freitas de Souza

Araraquara, 26 de Março de 2007.

Dados Curriculares

Paula Volpato Sanitá

NASCIMENTO:

* 08/06/1982 – São José do Rio Preto, São Paulo

FILIAÇÃO:

* Paulo Roberto Fochi Sanitá

* Rosângela Volpato Sanitá

2001 – 2004:

* Graduação pela Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

2002 – 2004:

* Estágio de Iniciação Científica na Disciplina de Dores Orofaciais e Oclusão da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

2005 – 2007:

* Curso de Pós-Graduação em Reabilitação Oral, nível de Mestrado, pela Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

2005:

* Estágio Docência nas disciplinas de:

- Dores Orofaciais e Oclusão

- Prótese Parcial Removível I e Prótese Parcial Removível II

2006:

* Estágio Docência nas disciplinas de:

- Dores Orofaciais e Oclusão

- Prótese Parcial Removível II

Dedicatória

À minha maravilhosa mãe e amiga *Rosângela* , pelo amor, incentivo, apoio e confiança incondicionais, que me fazem seguir este caminho com coragem e determinação e por estar sempre presente, em todos os momentos de minha vida.

“*Minha primeira lágrima caiu dentro dos teus olhos.
Tive medo de a enxugar: para não saberes que havia caído.*”

Cecília Meireles

Ao meu querido e amado pai *Paulo* , pela intensa dedicação, pelo amor incondicional e pelo forte laço de amizade que ainda tanto contribui para minha formação e me dá forças para seguir em frente.

“*... Como um brilhante que partindo a luz explode em sete cores, revelando,
então, os sete mil amores, que eu guardei somente pra te dar...*”

Tom Jobim

Aos meus queridos irmãos *Rafael* e *Pedro* , que sempre estiveram comigo, apoiando e alegrando minha caminhada.

“*Esse imenso desmedido amor vai além de seja o que for
Vai além de onde eu vou, do que sou...*”

Caetano Veloso e Djavan

Aos meus amados avós *Santo* e *Onofra* , pelo lindo exemplo de vida, apoio, confiança e amor incondicionais.

“*Os sonhos mais lindos, sonhei...de quimeras mil um castelo ergui...*”

Marchetti e Armando Louzada

Dedico este trabalho

Dedicatória Especial

Ao meu namorado, amigo e companheiro de todas as horas, *Marcos...*

“ *O* que será que me dá...
Que brota a flor da pele, será que me dá...
O que me sobe as faces e me faz corar...
E que me aperta o peito e me faz confessar...
O que não tem mais jeito de dissimular...
O que será que será...”

“ *A*penas seguirei...,
... como encantada... ao lado teu...”

Chico Buarque

Dedico este trabalho

Agradecimentos

Ao meu querido orientador *Prof. Vergani*, pelos ensinamentos, confiança em meu trabalho, paciência e companheirismo durante minha caminhada, todo meu agradecimento, respeito e admiração.

Às queridas professoras *Eunice, Ana Lúcia* e *Ana Cláudia*, pelo apoio, sugestões, ótima convivência e companhia.

Ao meu querido professor *Francisco Guedes*, pela amizade incondicional, conselhos, ensinamentos e por estar sempre presente, contribuindo para meu crescimento e amadurecimento pessoal e profissional.

Aos *Docentes* do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese desta Faculdade, pelos ensinamentos, apoio e amizade.

Aos meus *Amigos* companheiros da turma de Mestrado, *Alejandro, Carol, Isabella, Juliê, Laiza, Luciano* e *Lívia*. Conseguimos! Com muita garra e determinação, vencemos essa etapa de nossas vidas.

Aos meus *Colegas* e *Amigos* de Pós-Graduação, em especial à *Mariana, Ewerton, José Maurício* e *João Gustavo*, pelo companheirismo, ajuda e apoio em todos os momentos importantes.

Aos *Funcionários* do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese e do Laboratório de Patologia desta Faculdade, em especial à *Ângela, Zé Carlinhos, Malu, Sílvia* e *Sônia*, pelo convívio agradável e disposição em sempre me ajudar.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

Agradecimentos Especiais

Aos meus pais *Paulo* e *Rosângela*, pelo maravilhoso exemplo de vida e de família e por sempre confiarem em mim, em minha competência e em minhas decisões. Vocês foram os grandes responsáveis pela realização deste trabalho.

“Faça da sua sabedoria seu maior escudo para ser forte...

Não desanime nunca... Muitos dias serão flores... Outros não...

Aí é que você deve ser forte e saber vencer na vida, sempre feliz e alegre.”

Ida Catarina Volpato

Ao meu namorado amado *Marcos*, por estar sempre comigo, pela ajuda e pela paciência. Sua companhia, apoio e força foram indispensáveis para que eu chegasse ao fim desta longa jornada.

“Quero vivê-lo em cada vão momento...

E em seu louvor hei de espalhar meu canto...

e rir meu riso e derramar meu pranto...”

Vinícius de Moraes

Ao meu amigo e professor *Carlos Vergani*, pelos conselhos nos momentos importantes da minha vida, pelo carinho e por estar sempre presente.

“Para ser grande, sê inteiro...

Põe quanto és, no mínimo que fazes.

Assim em cada lago a lua toda brilha...”

Fernando Pessoa

À minha querida amiga *Livia*, por estar ao meu lado em todas as horas, compartilhado todos os momentos desta longa jornada, alegres ou tristes, fáceis ou difíceis, sempre disposta a me ajudar. Amiga, muito obrigada por tudo...

Agradecimentos Especiais

À *Deus* , pelo dom de viver, pela força e auxílio nos momentos difíceis, pelas oportunidades e pelos sonhos que me permitiu realizar.

*"Ele mora comigo na minha casa a meio do outeiro.
Ele é a Eterna Criança, o Deus que faltava.
Ele é o humano que é natural,
Ele é o divino que sorri e que brinca.
E por isso é que eu sei com toda a certeza
Que Ele é o Menino Jesus verdadeiro."*

Fernando Pessoa

*"Ser feliz é reconhecer que vale a pena viver,
apesar de todos os desafios, compreensões e períodos de crise...
É atravessar desertos fora de si, mas ser capaz de encontrar
um oásis no recôndito da sua alma.
É agradecer a Deus a cada manhã pelo milagre da vida.
Ser feliz é não ter medo dos próprios sentimentos.
É saber falar de si mesmo...
Pedras no caminho?
Guardo todas, um dia vou construir um castelo..."*

Fernando Pessoa

Sumário

Resumo.....	12
Abstract.....	15
1 Introdução.....	18
2 Revisão da Literatura.....	26
3 Proposição.....	78
4 Material e Método.....	80
4.1 Materiais.....	81
4.2 Instrumentos.....	84
4.3 Aparelhos.....	85
4.4 Métodos.....	87
4.5 Planejamento estatístico.....	105
5 Resultado.....	107
6 Discussão.....	131
7 Conclusão.....	142
8 Referências.....	144
9 Apêndices.....	157
9.1 Apêndice 1.....	158
9.2 Apêndice 2.....	160



SANITÁ PV. Efetividade da irradiação por microondas na desinfecção de próteses totais contaminadas por diferentes espécies de *Candida* isoladas de pacientes HIV positivo [Dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2007.

Resumo

A estomatite protética associada à *Candida* é a forma mais comum de candidíase oral e também uma das infecções oportunistas mais encontradas em pacientes infectados por HIV. Atualmente, a desinfecção de próteses totais através da irradiação por microondas tem sido recomendada para tratamento e prevenção da estomatite protética, tanto em indivíduos saudáveis, quanto em pacientes imunocomprometidos. O presente estudo avaliou a efetividade da irradiação por microondas na desinfecção de próteses totais simuladas contaminadas com 5 diferentes espécies do microorganismo *Candida* (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. dubliniensis*, *C. tropicalis* e *C. krusei*) isoladas de culturas padrão e de pacientes HIV positivo. Para isso, próteses totais simuladas foram confeccionadas, esterilizadas por meio de óxido de etileno e individualmente inoculadas com os microorganismos avaliados. Após o período de incubação (48 horas a 37°C), as próteses foram submetidas à irradiação por microondas a 650W durante 3 minutos. Próteses totais não irradiadas foram utilizadas como controle positivo. A seguir, uma alíquota de 25 µL da solução resultante das diluições seriadas de 10⁻¹ a 10⁻⁴ foi semeada em placas de Petri em duplicata e todas as placas foram

incubadas por 48 horas a 37°C. As colônias foram quantificadas em ufc/mL. Para verificar a efetividade da desinfecção por microondas a longo prazo, as próteses totais irradiadas foram incubadas a 37°C por 7 dias. Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente pelos testes de ANOVA e de Tukey ($\alpha=0.05$). As próteses totais contaminadas com todas as espécies de *Candida* avaliadas demonstraram esterilização após irradiação por microondas durante 3 minutos a 650W. Todas as próteses do grupo controle positivo demonstraram crescimento microbiológico após incubação nas placas de Petri. As próteses contaminadas com *C. glabrata* apresentaram valores de ufc/mL significativamente maiores quando comparadas às demais espécies avaliadas, enquanto que as próteses contaminadas com *C. krusei* apresentaram valores de ufc/mL significativamente menores. Ainda, os microorganismos de origem clínica apresentaram valores de ufc/mL significativamente maiores do que os microorganismos padrão. A irradiação por microondas durante 3 minutos a 650W provou ser um método efetivo para a esterilização de próteses totais contaminadas por diferentes espécies de *Candida* isoladas de pacientes HIV positivo.

Palavras-chave: Estomatite sob prótese; *Candida*; desinfecção; microondas; prótese total; sorodiagnóstico da AIDS.



SANITÁ PV. Effectiveness of microwave irradiation on the disinfection of complete dentures colonized with different species of *Candida* isolated from HIV-infected patients [Dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2007.

Abstract

The most common form of oral candidiasis is *Candida*-associated denture stomatitis. Oral candidiasis is also a frequent manifestation of HIV infection. Microwave disinfection of complete dentures has been recommended to treat and prevent denture stomatitis in non-immune compromised patients. The present study evaluated the effectiveness of microwave irradiation on the disinfection of simulated complete dentures inoculated with ATCC and HIV isolates of 5 species of *Candida* (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. dubliniensis*, *C. tropicalis* and *C. krusei*). Simulated complete dentures were made, sterilized and individually inoculated with the tested microorganisms. After incubation for 48 hours at 37°C, dentures were submitted to microwave irradiation (650W for 3 minutes). Non-irradiated dentures were used as positive controls. Replicate aliquots of suspensions were plated at dilutions 10^{-1} – 10^{-4} and incubated for 48 hours at 37°C. Colonies counts (cfu/mL) of each plate were quantified. To verify the long-term effectiveness of microwave disinfection, dentures were incubated at 37°C for 7 days. Data were analyzed with two-way ANOVA and Tukey HSD tests ($\alpha=0.05$). The results indicated that complete dentures contaminated with all *Candida* yeasts showed

sterilization after microwave irradiation for 3 minutes at 650W. All control dentures showed microbial growth on the plates. The cfu/mL for *C. glabrata* was significantly higher than those of *C. albicans*, *C. dubliniensis* and *C. tropicalis* whereas the cfu/mL for *C. krusei* was significantly lower. The cfu/mL for clinical isolates was significantly higher than those of ATCC yeasts. Microwave irradiation for 3 minutes at 650W resulted in sterilization of complete dentures contaminated with the 5 species of *Candida* isolated from HIV-infected patients.

Keywords: Stomatitis, denture; *Candida*; disinfection; microwaves; denture, complete; AIDS serodiagnosis.



1 Introdução

Tanto a sociedade, como as instituições de saúde pública e privada, têm enfrentado dificuldades no controle da epidemia do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV)⁶⁶. Dentre as infecções oportunistas que se manifestam em pacientes portadores da infecção por HIV, a candidíase oral é uma das apresentações clínicas mais comumente observadas^{73,74} e, quando não corretamente tratada e prevenida, pode contribuir consideravelmente para a mortalidade dos pacientes HIV positivo^{48,85}. A comum ocorrência de candidíase oral em pacientes com Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) sugere a existência de uma correlação entre infecção por HIV e diminuição dos mecanismos de defesa oral⁶⁶. Em uma população saudável, os fungos vivem como comensais⁷², porém, quando existe um comprometimento no sistema imunológico, como nos pacientes com AIDS ou HIV positivo, esses comensais se transformam em patógenos parasitas^{72,73}.

A candidíase oral, quando acomete pacientes portadores de próteses dentárias, é descrita como estomatite protética^{31,45,90}. A estomatite protética pode ser definida como uma freqüente forma de manifestação da candidíase oral⁴⁵, caracterizada clinicamente pela presença de múltiplos pontos hiperêmicos na mucosa palatina, por áreas eritematosas generalizadas e por hiperplasia papilar no palato em casos mais avançados de inflamação^{6,31,90}. Além da região palatina, que corresponde à área de suporte das próteses totais

superiores, outras regiões podem ser acometidas pela estomatite protética, como as áreas de suporte de próteses parciais removíveis superiores e inferiores^{61,64}.

A elevada prevalência de estomatite protética tem sido demonstrada em vários estudos. Budtz-Jorgensen et al.¹⁶ observaram a presença da estomatite protética em 72% dos pacientes portadores de próteses removíveis totais ou parciais. Em estudo feito na Dinamarca em 1990, mais de 60% dos pacientes idosos portadores de próteses apresentaram estomatite protética⁴³. Os resultados do estudo de Webb et al.⁹⁰ demonstraram que essa infecção está presente em 24 a 60% dos indivíduos portadores de próteses.

A literatura apresenta vários fatores etiológicos para a estomatite protética. Os fatores mais comumente relatados são: contaminação por espécies de *Candida*^{3,80}, traumas causados pelas próteses dentárias³, má higienização oral³, dieta consumida pelo paciente^{3,28}, tabagismo³⁰, fluxo salivar reduzido (xerostomia)⁵³ e presença de alterações sistêmicas, como a imunossupressão⁸⁷. Apesar da etiologia multifatorial, a contaminação por espécies de *Candida* e sua aderência à superfície das próteses parece ser o primeiro passo para o início e a propagação da estomatite protética⁷².

Os patógenos fúngicos mais importantes na etiologia da estomatite protética são espécies distintas provenientes do gênero *Candida*⁸⁰. Essas diferentes espécies de *Candida* são comumente encontradas na cavidade oral, variando de 25 a 50% nos indivíduos saudáveis, incluindo adultos e crianças^{67,73}, e de 60 a 100% quando consideramos apenas os indivíduos que usam próteses dentárias⁶⁷. Apesar de a *C. albicans* ser a mais comumente

encontrada^{6,31,49,67,73,74,80,90}, sendo responsável por aproximadamente 70% dos casos de infecção⁶⁷, uma variedade de espécies não-*albicans*, como *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *C. dubliniensis*, tem sido relacionada a um grande número de infecções^{21,23,80,90}. Essas espécies são encontradas principalmente em indivíduos imunocomprometidos, como os pacientes com AIDS⁹² ou HIV positivo^{19,33,80}. McCarthy⁵³ e Tylenda et al.⁸⁷ afirmaram que mais de 90% dos pacientes com AIDS possuem a infecção por *Candida*. Além disso, alguns autores⁸⁰ afirmam que a incidência de infecções causadas por espécies não-*albicans* tem aumentado, principalmente nos pacientes com comprometimento do sistema imunológico^{10,23}. A literatura ainda desconhece a razão desta alteração epidemiológica, porém tem sido sugerido que a diminuição da susceptibilidade destas espécies aos antifúngicos mais utilizados, como o fluconazol, pode ter causado essa seleção^{52,93}.

Variados medicamentos têm sido indicadas para o tratamento da estomatite protética^{6,11,34,45,46,63,68,90,91}. Antifúngicos sistêmicos, como fluconazol e itraconazol, são comumente indicados^{11,34,45,46,68}. Porém, estudos recentes relataram o aparecimento de microorganismos resistentes durante tratamentos a longo prazo ou profiláticos^{30,39,52,68}. De acordo com Goldman et al.³⁰, o aparecimento de cepas resistentes ocorre por meio de mutações genéticas. Estes autores demonstraram o desenvolvimento de 14 novas mutações em cepas isoladas de pacientes HIV positivo resistentes ao fluconazol. Além disso, autores^{39,52} sugerem que outro mecanismo de resistência seria a substituição de cepas mais sensíveis por outras menos suscetíveis aos medicamentos. Em estudo

prévio, a substituição de cepas de *C. albicans* por *C. dubliniensis* foi observada em um considerável número de pacientes HIV positivo (27%) tratados com fluconazol e esta substituição ocorreu apenas em pacientes onde o medicamento foi eficaz contra a *C. albicans*⁵². Além disso, Hunter et al.³⁹ demonstraram a substituição de cepas mais suscetíveis aos medicamentos, como a *C. albicans*, por outras espécies menos sensíveis, como *C. glabrata* e *C. krusei*, evidenciando que as espécies não-*albicans* são capazes de desenvolver maior resistência às terapias medicamentosas quando comparadas à *C. albicans*.

O tratamento da estomatite protética com a utilização de antifúngicos tópicos, como nistatina e clorexidina, também tem sido indicado^{6,11,34,45,63}. Apesar desses medicamentos serem eficazes para aliviar os sinais e sintomas clínicos da estomatite protética, muitas vezes não eliminam completamente o microorganismo^{6,15,46,63}, levando ao insucesso no tratamento. Além disso, outro fator responsável pela ocorrência de insucesso durante o tratamento tópico é a redução do poder de ação do antifúngico, relacionada aos efeitos diluentes da saliva e movimentos da língua, o que mantém a medicação em uma concentração sub-terapêutica⁶. Com a redução da ação do agente antifúngico tópico, a re-colonização do microorganismo é freqüente após o tratamento, resultando em infecção recorrente⁵⁸. Independentemente de sua eficácia, é importante enfatizar que essas medicações apenas tratam a cavidade oral, não reduzindo a colonização das próteses dentárias pelos fungos²⁵. Assim, o tratamento da estomatite protética deve, necessariamente, envolver cuidados de higienização e desinfecção das próteses dentárias⁵¹.

Vários são os métodos de desinfecção de próteses disponíveis e testados. Dentre eles, podemos citar a utilização de soluções químicas, como glutaraldeído a 2%, hipoclorito de sódio, dióxido de cloro, iodóforo, álcool e clorexidina^{9,14,20,36,47,55,71,79}. Entretanto, há vários inconvenientes na utilização desses agentes químicos para a desinfecção de próteses^{4,5,77}. 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 essas soluções podem ocasionar, como alterações de cor das bases acrílicas⁷⁹. 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 dos métodos de desinfecção citados, alguns estudos recomendam para tal finalidade a utilização de irradiação por microondas^{6,25,56,59,60,69,78,90,91}. Apesar de seu uso na odontologia ser ainda restrito, estudos sugerem a utilização das microondas para desinfecção de alimentos²⁴, lentes de contato³⁷, materiais microbiológicos laboratoriais¹², roupas íntimas contaminadas com *C. albicans*²⁹, além de lixo hospitalar³⁸, corantes utilizados na indústria cosmética⁴² e instrumentos utilizados na medicina e odontologia^{70,82}. Na odontologia, estudos prévios demonstraram a ação das microondas na erradicação do microorganismo *Candida*^{25,56,60,69,78,91}. Inicialmente, Rohrer e Bulard⁶⁹ demonstraram que a exposição de próteses contaminadas com *C. albicans* à

energia de microondas por 8 minutos a 720W foi efetiva para eliminação do microorganismo. No entanto, a esterilização somente foi observada quando as próteses foram acopladas a um dispositivo rotacional tridimensional, não disponível comercialmente. Em seguida, Webb et al.⁹¹ demonstraram que o forno de microondas caseiro convencional pode promover uma redução nos microorganismos das próteses totais inoculadas com *C. albicans* após 6 minutos de exposição a uma potência de 350W. Neppelenbroek et al.⁶⁰ observaram que corpos-de-prova contaminados com *C. albicans* tornaram-se estéreis após terem sido irradiados por microondas durante 6 minutos a 650W, não tendo havido crescimento microbiológico após os períodos de incubação utilizados no experimento (48 horas e 7 dias). Dixon et al.²⁵ também avaliaram a efetividade da irradiação por microondas na desinfecção de resinas acrílicas para bases de prótese e demonstraram esterilização de corpos-de-prova contaminados por *C. albicans* após a irradiação por 5 minutos. Silva et al.⁷⁸, em 2006, ao avaliarem a efetividade da irradiação por microondas como método de desinfecção de próteses totais superiores, constataram que as próteses contaminadas com *C. albicans* foram efetivamente esterilizadas após a irradiação por 6 minutos a 650W. Além dos estudos in vitro, evidências de estudos clínicos sugerem a desinfecção por microondas como método coadjuvante no tratamento da estomatite protética^{6,59,90}. Banting e Hill⁶ e Neppelenbroek KH⁵⁹ demonstraram ainda que os riscos de re-infestação da superfície da prótese e dos tecidos adjacentes foram significativamente reduzidos nos pacientes que tiveram suas próteses irradiadas.

Em todos os estudos citados a efetividade da irradiação por microondas foi avaliada utilizando-se diversos microorganismos isolados de culturas padrão ou de pacientes sem comprometimento do sistema imunológico. Porém, apesar das espécies fúngicas isoladas de pacientes HIV positivo apresentarem maior resistência às terapias medicamentosas^{30,39,52}, a efetividade da irradiação em microondas na erradicação desses microorganismos ainda não foi avaliada. Nesse contexto, a desinfecção por microondas apresenta importante vantagem no tratamento da estomatite protética em relação à terapia antifúngica (local ou sistêmica), particularmente pelo fato de ser um método físico de desinfecção que não promove resistência dos microorganismos, como ocorre com esses medicamentos.

Com base nessas considerações, o presente estudo avaliou a efetividade da irradiação por microondas durante 3 minutos a 650W na desinfecção de próteses totais superiores contaminadas por 5 diferentes espécies de *Candida* isoladas de pacientes HIV positivo.

Revisão da Literatura

2 Revisão da Literatura

Em 1965, Olsen⁶² investigou a utilização da energia de microondas sobre os microorganismos *Aspergillus niger*, *Penicillium* spp. e *Rhizopus nigicans*, principais responsáveis pela proliferação fúngica em pães. Os esporos destes microorganismos foram cultivados em tubos contendo Agar Batata Dextrose e incubados por 7 dias. Os esporos obtidos por meio dessa cultura foram re-suspensos em 10 mL de água destilada contendo 0,01% de lauril sulfato de sódio sob agitação. Alíquotas dessas suspensões foram inoculadas em fatias de pães produzidos com ou sem a incorporação de conservante. As fatias de pães foram irradiadas por 2 minutos em um aparelho de microondas não convencional a uma potência de 5.000W. Após a irradiação, a região dos pães inoculada com os microorganismos foi retirada, macerada e inserida em um recipiente contendo 50 mL de água destilada. Em seguida, o recipiente foi agitado por 10 minutos, alíquotas da solução resultante foram semeadas em placas de Petri e o número de colônias foi contado. O número de colônias e de esporos viáveis foi comparado com amostras de pães não irradiados, mas que foram submetidos à mesma temperatura atingida pela irradiação. Foi observado que os números de esporos viáveis e de colônias dos três fungos avaliados foram significativamente reduzidos após a irradiação em microondas. Segundo o autor, a literatura tem demonstrado que as espécies de *Aspergillus* e *Penicillium* são inativadas em temperaturas entre 54,11°C a 56,88°C quando mantidas por 20 minutos. No entanto, a maior temperatura registrada no aparelho de microondas utilizado nesse estudo foi de

51,33°C. Considerando o tempo de exposição utilizado (2 minutos) e a incapacidade de as amostras de pães utilizadas manterem a temperatura atingida por tempo maior do que 5 a 10 minutos, o autor sugeriu que a redução no número de esporos após a irradiação por microondas não foi, provavelmente, originada de um efeito térmico convencional. Além disso, as soluções salinas presentes no citoplasma dos esporos poderiam representar um alvo preferencial para a energia de microondas, o que elevaria a temperatura interna desses microorganismos, promovendo sua lise ou inativação.

O objetivo do estudo de Carroll, Lopez¹⁸, em 1969, foi avaliar a possibilidade de um efeito não-térmico das microondas na inativação dos microorganismos *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* e *Saccharomyce cerevisiae*. Para isso, foi utilizado um aparelho de microondas não convencional com potência de 500W. Inicialmente, foi avaliado o efeito do pH sobre os microorganismos, por meio de sua imersão em diferentes soluções com pH específicos (leite, suco de tomate e suco de laranja). Para o cultivo nas placas de Petri, os microorganismos foram previamente inoculados nos alimentos citados e irradiados a 500W, por períodos entre 16 e 64 minutos. Os autores observaram que não houve redução significativa no número dos microorganismos testados nas soluções com diferentes valores de pH. Após a irradiação por microondas, não foi observada redução de *S. cerevisiae* e *E. coli*, previamente inoculados no leite e no suco de tomate. No entanto, para o suco de laranja, ocorreu uma redução progressiva do número de microorganismos 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 podem explicar os efeitos não térmicos provenientes das microondas. Além disso, os autores relataram que existe a possibilidade de ocorrer a lise celular de um microorganismo 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. Foi também enfatizado que, como a energia das microondas é absorvida seletivamente por certas moléculas constituintes de uma célula microbiana, tais como o DNA ou alguma proteína essencial, poderia ocorrer uma desnaturação irreversível dessas estruturas e os microorganismos serem inativados mesmo em níveis baixos de calor.

Culkin, Fung²⁴, em 1975, avaliaram a efetividade da irradiação por microondas e seu mecanismo de ação na eliminação de microorganismos (*Escherichia coli* e *Salmonella typhimurium*) presentes em alimentos. As bactérias selecionadas foram inoculadas em uma concentração de 10^7 org/mL em porções individuais (200 mL) ou triplas (600 mL) de sopa de tomate, sopa de vegetais e 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 térmicas de papel 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 e incubação a 37°C por 24 horas. 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 microorganismos da região de maior temperatura apresentassem os menores valores de viabilidade microbiana. Entretanto, foi evidenciado que os microorganismos nas regiões superficiais, de temperatura inferior, apresentaram menor nível de viabilidade quando comparados às regiões intermediárias, que apresentaram maior temperatura. Considerando esses aspectos, os autores sugeriram que o mecanismo de ação das microondas na inativação dos microorganismos pode ser explicado não somente por um efeito térmico, mas também por efeitos mecânicos de origem não térmica.

A efetividade da irradiação por microondas na esterilização de microorganismos patogênicos foi avaliada por Fitzpatrick et al.²⁷, em 1978. Para os experimentos, foram utilizados tubos de ensaio contendo suspensão salina de *Staphylococcus aureus*, esporos a seco de *Bacillus subtilis* ou tiras umedecidas com esporos de *Bacillus subtilis*. Inicialmente, cada condição avaliada foi submetida a cinco irradiações sucessivas por 12 segundos a 1.000W. Esses experimentos demonstraram que o tratamento, apesar de ter sido efetivo para eliminar formas metabólicas (*S.aureus*), foi insuficiente para inativar as 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, os 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.

McCartney⁵⁴, em 1984, avaliou distorções de próteses totais maxilares causadas pelos efeitos do processo de sua fabricação. Os autores avaliaram os efeitos sobre a adaptação das vertentes laterais, da base no palato e a maloclusão. Foram confeccionadas próteses totais maxilares para 40 pacientes, seguindo os critérios estéticos, fonéticos e funcionais, para se determinar a espessura e o contorno da prótese, bem como a posição dos dentes artificiais. Os modelos funcionais foram duplicados, medidos e os valores foram inseridos em uma fórmula para se gerar um índice de profundidade do palato. Metade das próteses foi polimerizada por 15 horas a 73°C e a outra metade por 1 ½ hora a 73°C, seguido de 30 minutos a 100°C. Após a demuflagem, foram criados pontos de referência na superfície lingual dos molares mais distais de cada arco e a distância entre os molares foi medida através de um compasso. As próteses foram removidas do modelo e a distância entre os molares foi novamente medida. Após o acabamento e polimento, todas as próteses foram armazenadas em água em

temperatura ambiente. Novas medidas foram realizadas após os intervalos de 3 horas, 1 dia, 3 dias e 1 semana. Metade das próteses também foi medida semanalmente por mais 3 semanas. Uma semana após a remoção do modelo, as próteses foram assentadas no modelo duplicado e o espaço formado foi preenchido com gesso. Após 1 hora, as próteses foram removidas e as ondas de distorção foram medidas. Os resultados deste estudo demonstraram que a distorção da base da prótese e os efeitos sobre a oclusão se estabilizaram 24 horas após a remoção da prótese do modelo. Entretanto, podem apresentar uma magnitude clinicamente significativa ao paciente. Os autores sugeriram que o ajuste oclusal seja realizado somente após o ajuste das áreas de compressão. Foi observado também que a utilização do ciclo curto de polimerização com a utilização de água em ebulição resultou em aumento de 25% no espaço de distorção do palato e de 50% na indução de maloclusão quando comparado ao ciclo longo de polimerização. Porém, distorções adicionais da base da prótese e efeitos adversos sobre a oclusão se estabilizaram após a remoção da prótese total do modelo para ambos os processos de polimerização. Os autores concluíram que as distorções da base da prótese e os efeitos oclusais, que ocorrem como resultado do processo de confecção, podem resultar em alterações dimensionais com implicação clínica.

O objetivo do estudo in vitro de Klotz et al.⁴⁴, em 1985, foi avaliar a aderência de várias espécies de *Candida* às superfícies plásticas, em função das características da superfície celular da cepa e da superfície polimérica dos plásticos. Para avaliar a aderência dos microorganismos, sua hidrofobicidade

foi avaliada através da análise de diferentes fatores: aderência a hidrocarbonos e medição dos ângulos de contato superficiais. Os autores consideraram que, quanto maior os valores desses fatores, maior a hidrofobicidade das cepas e maior a sua capacidade de aderência. As cepas de *Candida* utilizadas foram isolados clínicos com capacidade de aderência a tecidos endoteliais, tendo permanecido em Sabouraud Dextrose Agar até sua utilização. Para a realização do experimento, uma alçada de cepas foi transferida do meio sólido para um tubo de ensaio contendo 50 mL de Sabouraud Dextrose Broth, incubado a 26°C por 21 horas a 100 rpm. As cepas centrifugadas e suspensas foram lavadas em água destilada, 0,85% de NaCl ou solução salina balanceada de Hanks. Para a determinação do ângulo de contato superficial, 1 µL da suspensão das cepas foi dispensado sobre corpos-de-prova plásticos e o ângulo entre a superfície do corpo-de-prova e a suspensão foi mensurado. Para avaliar a aderência a hidrocarbonos líquidos, 1,5 mL da suspensão dos microorganismos foi misturada a 1 mL do hidrocarbono em tubos de ensaio. A aderência dos microorganismos ao hidrocarbono foi determinada através da avaliação da densidade óptica da solução. Após análise dos resultados, os autores observaram que a comparação entre os dois métodos testados demonstrou que apenas a *C. krusei* apresentou divergência entre os valores dos ângulos de contato superficiais e a aderência aos hidrocarbonos, talvez devido a existência de outros mecanismos de adesão intra-espécie. Todas as outras espécies (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. pseudotropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* e *C. lipolytica*) apresentaram resultados concordantes em função dos dois fatores avaliados. Os autores concluíram que a aderência dos

microorganismos está diretamente relacionada à maior hidrofobicidade, ao maior ângulo de contato superficial e à maior aderência aos hidrocarbonos. Além disso, foi observado que os dois métodos avaliados foram confiáveis para avaliação da aderência destes microorganismos.

A efetividade da irradiação por microondas na redução da infecção cruzada entre consultório odontológico e laboratório de prótese foi avaliada por Rohrer, Bulard⁶⁹, em 1985. Os autores realizaram o experimento com vários microorganismos inoculados em tubos de ensaio contendo caldo nutritivo, próteses acrílicas com e sem metal, fresas metálicas e peças de mão. Os materiais foram contaminados com 10^5 org/mL de cada um dos seguintes microorganismos: três tipos de bactérias não esporuladas (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Klebsiella pneumoniae*), uma bactéria aeróbica esporulada (*Bacillus subtilis*), uma bactéria esporulada anaeróbica (*Clostridium histolyticum*), um fungo (*Candida albicans*) e dois vírus (polio tipo 1 e herpes simplex tipo 1). Para as irradiações no forno de microondas, os materiais foram ou não fixados a um dispositivo rotacional tridimensional desenvolvido pelos autores. Os materiais contaminados foram submetidos às microondas a uma potência de 720W durante os tempos experimentais de 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 microorganismos 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 fresas metálicas e as peças de mão, quando imersas em suspensão de quatro bactérias aeróbicas e expostas às microondas por 10 minutos, apresentaram esterilização. As próteses contaminadas com as suspensões individuais de quatro bactérias aeróbicas e do fungo apresentaram esterilização após 8 minutos de exposição às microondas. Quando uma mistura de suspensões desses microorganismos 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.

O estudo de Minagi et al.⁵⁷, em 1986, teve como objetivo investigar a aderência de 6 diferentes espécies de *Candida* (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* e *C. stellatoidea*) a 3 hidrocarbonos. A aderência foi avaliada através da mensuração da hidrofobicidade

superficial dos microorganismos por dois diferentes métodos: aderência a hidrocarbonos e Equação de Young para medição dos ângulos de contato superficiais, em que, quanto maior a hidrofobicidade, maior a capacidade de aderência do microorganismo. Os resultados obtidos por cada método avaliado foram comparados. As cepas utilizadas foram incubadas por 24 horas a 37°C em Sabouraud Glucose Broth. Uma alíquota de 10 mL desta solução foi transferida para 40 mL de Sabouraud Glucose Broth e incubada a 37°C sob agitação. As cepas foram recolhidas após centrifugação por 5 minutos a 20°C, lavadas 3 vezes com solução salina fosfatada tamponada e re-suspensas nesta mesma solução. Os ângulos de contato entre a superfície das cepas e a água destilada foram medidos através de uma técnica de projeção horizontal com o auxílio de um medidor de ângulo de contato. A aderência aos hidrocarbonos foi determinada através da medição da densidade óptica das soluções das cepas avaliadas antes e após sua mistura a diferentes volumes (50 e 500 µL) dos hidrocarbonos. Os resultados do estudo demonstraram que *C. tropicalis*, *C. glabrata* e *C. krusei* apresentaram a maior aderência a hidrocarbonos e maiores ângulos de contato superficiais em comparação às demais espécies avaliadas. Os dois métodos comparados para mensuração da hidrofobicidade superficial dos microorganismos apresentaram resultados similares, indicando que *C. tropicalis*, *C. glabrata* e *C. krusei* apresentaram maior hidrofobicidade quando comparadas à *C. albicans*, *C. parapsilosis* e *C. stellatoidea*.

Friedrich, Phillips²⁹, em 1988, investigaram a eficácia das microondas na esterilização de roupas íntimas femininas contaminadas por

Candida albicans. Para o experimento, as amostras foram imersas em suspensão de *C. albicans*, depositadas em placas de Petri, deixadas para secar a temperatura ambiente e irradiadas em potência máxima por 5, 10, 15, 20, 25 e 30 minutos. Após a irradiação, as amostras foram colocadas em 5 mL de Tryptic Soy Broth, em duplicatas. As alíquotas obtidas foram semeadas e incubadas a 35°C por 48 horas. Num segundo experimento, os mesmos procedimentos foram realizados, porém as amostras foram irradiadas umedecidas em solução salina estéril. De acordo com os resultados, as amostras irradiadas a seco continham colônias de microorganismos. A esterilização foi efetiva apenas para as amostras umedecidas, quando estas foram expostas às microondas por, no mínimo, 5 minutos.

Em 1989, Samaranayake, Holmstrup⁷⁴ realizaram ampla revisão de literatura sobre a relação entre candidíase oral e a infecção por HIV, descrevendo aspectos relacionados à epidemiologia, características clínicas, patogênese, diagnósticos laboratoriais e tratamento da infecção. De acordo com os autores, a imunossupressão causada pela infecção por HIV promove o aparecimento de inúmeras infecções oportunistas e a candidíase oral é descrita como a mais comumente encontrada. Os autores relataram que de metade a um terço dos pacientes HIV positivo possuem candidíase oral. O tratamento e a prevenção desta infecção oportunista são importantes para impedir a proliferação da candidíase oral, considerando que seus sinais clínicos pioram de acordo com o avanço da imunossupressão. A patogênese da candidíase oral está, principalmente, relacionada à contaminação por espécies diferentes do microorganismo *Candida*. A *C. albicans* é a espécie mais comumente encontrada, porém, outras espécies,

como *C. glabrata* e *C. tropicalis*, têm sido frequentemente isoladas das lesões orais. O tratamento recomendado para essa infecção fúngica é variado. Medicamentos tópicos, como nistatina, podem ser indicados. Entretanto, a recorrência da infecção nos pacientes HIV positivo tratados com medicamentos tópicos é comum, por isso, medicações sistêmicas, como fluconazol, cetoconazol e itraconazol, são mais indicadas para estes pacientes. Os autores relatam também que o uso descontrolado dos medicamentos sistêmicos pode levar ao aparecimento de microorganismos resistentes, dificultando o tratamento dos pacientes imunocomprometidos.

Tendo em vista que as infecções fúngicas orais são as infecções oportunistas que mais comumente se manifestam como resultado da infecção por HIV, Samaranayake⁷³, em 1992, realizou uma revisão de literatura sobre candidíase oral, criptococose oral, histoplasmoze oral e geotricose oral, em pacientes HIV positivo. Enquanto os últimos tipos de infecção fúngica citados são raramente descritos na literatura, a candidíase oral é responsável, certamente, pela grande maioria dos casos de infecção e, dessa forma, foi amplamente abordada. De acordo com o autor, é difícil compreender a patogênese desta infecção, pois seus agentes etiológicos principais (espécies do microorganismo *Candida*) vivem como comensais na cavidade oral de 25 a 50% dos indivíduos saudáveis. Assim, a maioria dos episódios de infecção tem origem endógena e é muito difícil erradicar completamente os microorganismos do corpo humano através de terapia antifúngica. O autor relatou também que a candidíase oral é um importante sinal da presença e da progressão da infecção por HIV, e a frequência de isolados de

Candida e sinais e sintomas da doença aumentam de acordo com a evolução da imunossupressão do paciente. Uma variação clínica importante que ocorre comumente em pacientes HIV positivo é a presença de sítios de infecção por *Candida* em múltiplos locais na cavidade oral, podendo evoluir para candidíase esofágica. Por isso, o tratamento precoce da candidíase oral é fundamental para prevenir a propagação desta infecção. O autor ainda indicou que o tratamento desta infecção em pacientes HIV positivo seja realizado com antifúngicos sistêmicos, como fluconazol e itraconazol, pois a recorrência da doença ocorre facilmente após tratamento tópico.

Rosaspina et al.⁷⁰, em 1994, avaliaram o efeito da irradiação por microondas em instrumentos cirúrgicos contaminados com *Candida albicans*. Lâminas de bisturis e lamínulas de microscopia foram contaminadas com *C. albicans* a uma concentração de 10^7 ufc/mL. Após terem sido secas, as amostras foram completamente imersas em recipiente de vidro com esferas de vidro de 0,4 cm e água destilada. Esse recipiente foi, então, exposto à irradiação por microondas a 600W a uma 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 em ebulição pelos mesmos tempos de exposição das microondas. Algumas amostras foram preparadas para análise em microscopia eletrônica de varredura. Para verificar a esterilização, as amostras

foram colocadas em contato com placas de Tryptic Soy Agar 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 em ebulição 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 em ebulição. Assim, os autores concluíram que, além do incontestável efeito térmico, as microondas podem exercer também um efeito mais complexo no corpo celular dos microorganismos.

O objetivo do estudo de Samaranayake et al.⁷⁶, em 1994, foi comparar a capacidade de adesão de duas distintas espécies do microorganismo *Candida*: *C. krusei* e *C. albicans*. A *C. krusei* foi selecionada pela sua elevada prevalência, principalmente em pacientes imunocomprometidos, causando infecções sistêmicas. A *C. albicans* foi considerada como microorganismo de referência, por ser a espécie mais virulenta e comumente encontrada. Para a realização do experimento, 20 isolados clínicos de *C. Krusei* e 5 de *C. albicans* foram utilizados. Após sua identificação, os isolados ficaram estocados em água destilada a - 70°C e, durante os procedimentos laboratoriais, foram mantidos em Sabouraud Dextrose Agar a 4°C. Para o preparo das amostras, uma alçada dos microorganismos foi incubada em Sabouraud Dextrose Agar por 18 a 20 horas a

37°C para haver crescimento e desenvolvimento das cepas. A seguir, outra alçada foi retirada desta cultura de cepas e transferida para o meio de cultura Base de Nitrogênio para Leveduras - YNB. Após o período de incubação (18 a 20 horas a 37°C), as cepas foram centrifugadas por 10 minutos, lavadas em solução salina fosfatada tamponada e uma suspensão de 10^7 org/mL foi obtida. Para avaliar a aderência das cepas, foram utilizadas células de HeLa (ATCC) e células buco-epiteliais obtidas de indivíduos saudáveis, células buco-epiteliais de pacientes transplantados e corpos-de-prova de acrílico (5 mm x 5 mm). As células buco-epiteliais foram obtidas por meio do esfregaço de um swab estéril à mucosa oral dos pacientes. Estas células foram mantidas em solução salina fosfatada tamponada, centrifugadas, lavadas e uma concentração de 10^5 células/mL foi obtida. Para avaliar a aderência, foi feita uma mistura de cepas e células, na mesma quantidade das suspensões. Essa mistura foi incubada (37°C por 1 hora), lavada com solução salina fosfatada tamponada para remover células pouco aderentes, secas e coradas para posterior contagem de células aderentes com auxílio de microscópio. Para verificar a aderência ao acrílico, 0,4 mL da suspensão dos microorganismos foi colocada sobre o corpo-de-prova. Após o período de incubação (37°C por 1 hora), os corpos-de-prova foram lavados, secos, corados, montados em lâminas de vidro e a contagem das células aderentes foi realizada em microscópio. Testes em ratos também foram realizados para avaliar a aderência in vivo. Os resultados do estudo demonstraram que as cepas de *C. krusei* aderiram em maior número ao acrílico, às células buco-epiteliais e às células HeLa quando comparadas à *C. albicans*. Quando as espécies foram

avaliadas separadamente, a *C. krusei* demonstrou maior adesão ao acrílico do que às células e uma diferença significativa intra-espécie foi verificada. Com relação à *C. albicans*, não foram encontradas diferenças significativas na adesão entre o acrílico e as células e diferenças intra-espécies também não foram verificadas. Além disso, a *C. albicans* demonstrou aumento significativo na aderência às células de pacientes transplantados quando comparada às células de indivíduos saudáveis. Essa diferença não foi verificada para a *C. krusei*. Com relação ao experimento em ratos, a *C. albicans* demonstrou aderência significativamente superior à *C. krusei*. Os autores confirmaram, após a avaliação dos resultados obtidos, que existem importantes diferenças inter e intra-espécies na capacidade de adesão dos microorganismos, sugerindo que vários fatores devem interferir durante a colonização dos microorganismos à mucosa oral, cateteres ou superfícies protéticas.

O estudo de Chau et al.²⁰, em 1995, avaliou a possibilidade de penetração de bactérias na resina acrílica, após curto período de exposição. Corpos-de-prova de três resinas acrílicas foram polidos em uma de suas superfícies para simular as superfícies externa e interna das próteses. Em seguida, 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 solução salina estéril por 10 minutos. Após a desinfecção, os dois lados dos corpos-de-prova foram submetidos à coleta de material para semeadura em placas de Petri. Além disso, os corpos-de-prova foram assepticamente

fraturados ao meio e suas superfícies internas foram também cultivadas. Todas as placas foram incubadas a 37°C por 48 horas e o 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 pelos 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 microorganismos.

Samaranayake et al.⁷⁵, em 1995, realizaram experimento in vitro utilizando 20 cepas de *Candida krusei* e 5 de *Candida albicans*, com o objetivo de determinar sua hidrofobicidade e, assim, comparar a capacidade de aderência destas espécies de *Candida* ao acrílico e às células epiteliais. Para a coleta das amostras clínicas, pacientes portadores de infecções, como estomatite protética, realizaram bochecho com solução salina fosfatada tamponada, que foi semeado em placas de Petri de Sabouraud Dextrose Agar. As placas foram incubadas por 18 horas a 37°C, as cepas obtidas foram identificadas e transferidas para água destilada, onde foram conservadas a -70°C até sua utilização. Durante o experimento, todos os microorganismos foram mantidos em Sabouraud Dextrose Agar a 4°C. Para análise da hidrofobicidade das cepas, 5 mL da suspensão previamente obtida, para cada cepa avaliada, foi transferida para 2 tubos de ensaio, representando os grupos controle e experimental. Foi adicionado, em cada

tubo experimental, 1 mL de xilol. Os tubos foram, então, deixados em banho de água a 37°C por 10 minutos, agitados por 30 segundos e mantidos em banho por mais 30 minutos. Dessa forma, foram obtidas duas diferentes fases de meio líquido nos tubos: água e xilol. O conteúdo de xilol foi descartado e a mistura resultante de água/cepas foi transferida para outro tubo estéril. A hidrofobicidade foi avaliada através da diminuição da densidade óptica dos tubos experimentais, quando comparados aos tubos controle. Para todas as cepas avaliadas, o experimento foi realizado em duplicata. De acordo com os resultados obtidos, uma correlação positiva foi encontrada entre hidrofobicidade e aderência para os microorganismos da espécie *C. krusei*, que demonstraram hidrofobicidade significativamente superior aos da espécie *C. albicans*. Diferenças significativas intra-espécies também foram encontradas para a *C. krusei*, que demonstraram maior aderência ao acrílico do que às células epiteliais e maior aderência aos dois tipos de superfícies quando comparados aos isolados de *C. albicans*. Os autores concluíram que a importante diferença inter e intra-espécies encontrada entre os microorganismos avaliados pode determinar seu grau de virulência. Além disso, não foi encontrada correlação entre hidrofobicidade e aderência para a *C. albicans* devido ao limitado número de isolados avaliados no experimento.

O objetivo do estudo in vitro de Sweet et al.⁸¹, em 1995, foi avaliar se cepas de *Candida* isoladas de pacientes com AIDS ou HIV positivo possuem propriedades alteradas de aderência às células buco-epiteliais. As cepas de *Candida* utilizadas no experimento foram: 49 isolados de pacientes HIV positivo e 49 isolados de pacientes sem imunossupressão (grupo controle). As

cepas foram isoladas de 100 µL de saliva dos pacientes e incubadas em Sabouraud Dextrose Agar por 2 dias a 37°C. Após o período de incubação, a contagem do número de colônias foi realizada e, após a identificação, colônias representativas de *C. albicans* foram armazenadas a -20°C em glicerol 40%. A suspensão de *Candida* foi ajustada a 10^7 org/mL. As células buco-epiteliais foram coletadas com um swab oral estéril de indivíduos saudáveis, sem sinais de candidose oral ou outro processo patológico, lavadas em solução salina fosfatada tamponada e armazenadas em uma concentração de 10^5 org/mL. Uma mistura de células buco-epiteliais e cepas foi obtida e incubada por 45 minutos a 37°C. A seguir, 5 mL de solução salina fosfatada tamponada foi adicionado à mistura. As células buco-epiteliais com cepas aderidas foram coletadas por filtros e lavadas para remover as células pouco aderentes. Os filtros foram secos e o número de cepas aderido às células buco-epiteliais foi verificado através de microscopia eletrônica. O mesmo procedimento foi realizado com a adição de saliva à mistura de células buco-epiteliais e *C. albicans* com o objetivo de verificar se essa substância pode influenciar na capacidade de aderência das cepas. Os resultados deste experimento mostraram que o número de cepas de *C. albicans* aderentes às células buco-epiteliais foi significativamente superior nos pacientes com AIDS ou HIV positivo quando comparado aos pacientes do grupo controle. Foi observado também que a presença de saliva inibiu significativamente a capacidade de aderência dos isolados clínicos, talvez devido à ação das enzimas presentes na saliva. Os autores concluíram que a infecção por HIV está associada à seleção de cepas de *C. albicans* com maior capacidade de aderência à mucosa oral.

O efeito da irradiação por microondas sobre a estabilidade dimensional de próteses totais foi avaliado por Thomas, Webb⁸⁴, em 1995. Vinte próteses totais superiores foram confeccionadas e armazenadas a seco por aproximadamente 1 ano. Um calibrador eletrônico foi utilizado para calcular medidas horizontais e verticais, antes e após imersão em água a 37°C por 7 dias. Dez próteses foram irradiadas diariamente a 650W 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 350W por 6 minutos por 15 vezes consecutivas. Os resultados demonstraram que o peso das próteses aumentou com a hidratação. Após a irradiação, as medidas horizontais indicaram contração das próteses e, as verticais, expansão. Os autores concluíram que a irradiação de próteses por 10 minutos em potência elevada causa, provavelmente, alterações dimensionais clinicamente significantes. Entretanto, a irradiação em potência média por 6 minutos não resultaria em alterações dimensionais com implicação clínica.

Em 1997, Verran, Maryan⁸⁸ avaliaram a retenção de *Candida albicans* a superfícies lisas e rugosas de resina acrílica (Perspex) e silicone de adição. Antes dos experimentos de adesão, os materiais foram lavados em ultrassom 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 (x 1000). 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 microorganismos patogênicos, foi avaliada por Baysan et al.⁸, em 1998. 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 650W. Todos os corpos-de-prova foram esterilizados em autoclave, inoculados com os microorganismos testados (*Candida albicans* ou *Staphylococcus 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 salina fosfatada tamponada para remoção de células não aderentes. As amostras confeccionadas foram divididas em quatro grupos – três experimentais e um controle (n=10). 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 650W, 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 salina fosfatada tamponada por 5 horas em temperatura ambiente. A seguir, os corpos-de-prova foram individualmente colocados em tubos com 10 mL de solução salina fosfatada tamponada e agitados por 15 minutos. As diluições seriadas (10^{-1} a 10^{-3}) foram semeadas 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 a imersão em hipoclorito de sódio promoveu uma redução relativamente maior no número de microorganismos em relação ao tratamento por microondas, que, por sua vez, foi mais efetivo quando comparado ao tratamento a seco em temperatura ambiente por 5 horas. 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.

O objetivo do estudo de Revankar et al.⁶⁸, em 1998, foi avaliar sinais e sintomas dos episódios de candidíase orofaríngea de pacientes HIV positivo. Além disso, foi avaliada a resposta de isolados clínicos destes pacientes ao antifúngico sistêmico fluconazol. Os autores selecionaram 58 pacientes HIV positivo com 155 episódios de candidíase orofaríngea e avaliaram a condição da

infecção em função da presença de sinais/sintomas e extensão das lesões. Essas características foram classificadas em: ausentes, leves, moderadas e severas. Amostras clínicas dos pacientes foram coletadas semanalmente e quinzenalmente até a resolução da infecção. Placas de Petri com as amostras foram incubadas a 30°C por 48 horas. Três a 5 colônias de cada amostra foram isoladas e plaqueadas em placas contendo Chromagar associado ao fluconazol, para identificação de espécies não-*albicans* e de cepas resistentes. Todos os pacientes receberam tratamento com fluconazol até a completa resolução da sintomatologia da candidíase orofaríngea. Os episódios da infecção e seus sintomas foram classificados, em sua maioria, em moderados e severos. Com relação ao tratamento com fluconazol, 97% dos episódios de candidíase orofaríngea se resolveram após a utilização do medicamento. Em 31% dos episódios, foram encontradas cepas resistentes ao fluconazol, onde 46% eram da espécie *C. albicans* e 33% eram cepas não-*albicans*. Nestes últimos episódios, os sintomas relatados foram de moderados a severos em 85% dos casos, a infecção foi de moderada a severa em 98% dos casos e o tempo médio para resolução da infecção foi de 2 semanas. Os autores concluíram que os pacientes HIV positivo com candidíase orofaríngea e cepas resistentes ao fluconazol necessitam de maior tempo de administração e maior dosagem de medicamentos para a resolução da infecção. Entretanto, por esse medicamento ser efetivo, bem tolerado e ter demonstrado excelentes resultados, é uma alternativa de escolha para o tratamento de pacientes com infecção avançada pelo HIV.

Thuler et al.⁸⁵, em 1998, avaliaram os descritores clínico-epidemiológicos de mortalidade em pacientes internados por condições clínicas associadas à infecção pelo HIV. Para isso, os autores realizaram uma análise retrospectiva de pacientes adultos hospitalizados durante os períodos de 1990, 1992 e 1994. Foram avaliados, para cada paciente: idade, gênero, estado civil, comportamento de risco, infecções oportunistas ou neoplasias diagnosticadas durante a hospitalização, tempo entre o diagnóstico da infecção pelo HIV e a internação, motivo da internação, número de dias de hospitalização, história médica prévia e evolução clínica. Foram incluídos no estudo 240 pacientes e todos os dados obtidos foram analisados. Os resultados do estudo demonstraram que, entre 1990 e 1994, a idade média dos pacientes aumentou de 35 para 36,9 anos, a razão entre os sexos masculino e feminino caiu de 9,8 para 2, a proporção de não brancos cresceu de 18,5 para 41,3 e registrou-se um aumento do tempo médio entre a descoberta da infecção pelo HIV e a hospitalização de 0,7 para 2,5 anos. As principais causas de hospitalização foram candidíase oral e infecções respiratórias. Os autores enfatizaram que a candidíase oral foi a principal infecção oportunista e a mais frequentemente observada nos pacientes HIV positivo e concluíram que o conhecimento dos fatores associados a um risco aumentado de morte pode ser útil na tomada de decisão frente a pacientes hospitalizados com infecção pelo HIV.

Por meio de estudo in vitro, Webb et al.⁹¹, em 1998, avaliaram a eficácia de dois métodos de esterilização: a irradiação por microondas e a imersão em hipoclorito de sódio. Para o experimento, 20 próteses foram

confeccionadas e inoculadas com cepas de *Candida albicans* isoladas de saliva de pacientes saudáveis (n=10) e de *Streptococcus gordonii* isoladas de placa dentária (n=10). Dez próteses foram colocadas em 5 béqueres (2 próteses em cada béquer), contendo 110 mL de caldo Sabouraud, e contaminadas com 11 mL de inóculo de *C. albicans* cultivado. Os béqueres foram, então, incubados em banho de agitação (80 agitações por minuto) 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 (604W) e média (350W). 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, os valores de ufc/mL foram calculados. As próteses do grupo controle foram somente imersas em solução salina e não irradiadas. 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 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 foi efetiva para eliminar o crescimento de *C. albicans* e *S. gordonii*, apesar desse procedimento não ter removido os microorganismos 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*, mas somente reduziu o crescimento de *S. gordonii*. A remoção parcial desses microorganismos 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 poderia ser mais efetiva para a esterilização de próteses do que a imersão em hipoclorito de sódio, apesar de nenhum procedimento efetivamente eliminar todos os microorganismos das superfícies das próteses.

Em 1999, Dixon et al.²⁵ avaliaram a efetividade da irradiação por microondas na desinfecção de resinas acrílicas contaminadas com *Candida albicans* e seu efeito sobre a dureza desses materiais. Na primeira fase do experimento, foram confeccionados 45 corpos-de-prova (10 mm x 10 mm x 3 mm) de cada material, sendo três reembasadores 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 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 a longo prazo (duas semanas) foi observada pela análise de crescimento visível através da imersão dos corpos-de-prova em meio de Tioglicolato. Após 2 semanas, as leituras de dureza foram realizadas novamente para todos os corpos-de-prova. Para a segunda fase do experimento, 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 terceira fase, 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 a exposição às microondas.

Tendo em vista que o uso sucessivo de uma mesma esponja pode transferir bactérias de uma superfície à outra durante um procedimento de assepsia, Ikawa, Rossen⁴⁰, 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 microorganismos 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 *Escherichia coli*, *Salmonella choleraesuis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Shewanella putrefaciens*. As esponjas foram incubadas a 35°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 isopropílico, 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 em ebulição 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 microorganismos 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 microorganismos em 99,9%.

Lin et al.⁴⁷, em 1999, analisaram 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), tendo sido 88 esterilizados por meio de óxido de etileno e 4 esterilizados por autoclave. Os 4 corpos-de-prova esterilizados por autoclave não foram expostos às suspensões microbianas (controle negativo). Os 88 corpos-de-prova esterilizados por meio de óxido de etileno foram colocados em erlenmeyer contendo 400 mL de meio de cultura Tryptic Soy Broth com os seguintes microorganismos em concentração inicial de 10^7 ufc/mL: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*. Metade das amostras (n=44) foi desinfetada por meio de spray de solução de dióxido de cloro (Alcide LD disinfectant) e a outra metade (n=44) permaneceu não desinfetada (controle positivo). 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. Todas as amostras do grupo controle negativo não apresentaram crescimento aparente nos tubos de ensaio. As amostras não desinfetadas (controle positivo), fraturadas ou não, apresentaram crescimento microbiano. A soma das colônias para *E. coli* foi maior que a soma para *S. aureus* e *C. albicans*. A microscopia eletrônica de varredura dos corpos-de-prova não

desinfetados revelou maior quantidade de microorganismos nas superfícies externas, enquanto que a microscopia das amostras desinfetadas exibiu microorganismos nas superfícies interna e externa, com exceção da presença de *C. albicans*, que não foi verificada no interior das amostras. Os autores concluíram que os microorganismos *E. coli* e *S. aureus* penetraram no interior da resina acrílica e que a desinfecção por 3 minutos com Alcide LD foi eficaz para reduzir a quantidade de microorganismos, mas não para sua completa eliminação.

O efeito de compostos iônicos associados à irradiação por microondas sobre a inativação de microorganismos foi analisado por Watanabe et al.⁸⁹, em 2000. Suspensões de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* foram cultivadas 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 microorganismo foi colocado em um erlenmeyer com 90 mL de água. Esse conjunto foi posicionado no centro do prato giratório do forno de microondas e irradiado a 500W durante vários tempos de exposição. Amostras de 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 microorganismos ocorreu, principalmente, devido ao calor gerado na suspensão celular. A adição de NaCl e KCl à suspensão aumentou os efeitos da irradiação por microondas na inativação de *E. coli* e *C. albicans*. 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. 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.

Por meio de análise in vivo, a efetividade da desinfecção de próteses totais, com solução de clorexidina ou irradiação por microondas, foi avaliada como método adjunto no tratamento de estomatite protética por Banting, Hill⁶, em 2001. Trinta e quatro pacientes portadores de próteses totais superiores com esfregaços positivos para pseudohifas de *Candida 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 1 minuto a 850W em três dias diferentes (1º, 5º e 10º 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 2 dias. Essas próteses também foram escovadas em 3 dias diferentes (1º, 5º e 10º 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, os esfregaços citológicos referentes à mucosa palatina dos pacientes cujas próteses foram irradiadas apresentaram $\frac{1}{4}$ do risco de infecção dos tecidos palatinos em relação aos pacientes que tiveram suas próteses imersas em clorexidina. Três meses após o tratamento, o grupo controle foi considerado cinco vezes mais susceptível a apresentar pseudohifas de *C. albicans*, quando comparado ao grupo que recebeu tratamento com as microondas. Os autores concluíram que a exposição das próteses às microondas foi efetiva para uma adequada desinfecção das próteses, sem ocasionar efeitos deletérios aparentes em suas propriedades.

Hiti et al.³⁷, em 2001, avaliaram a efetividade da irradiação por microondas na desinfecção de recipientes para armazenagem de lentes de contato contaminados com trofozoitos e cistos de *Acanthamoeba*. Três diferentes espécies de *Acanthamoeba* (*A. comandoni*, *A. castellani* e *A. hatchetti*) foram cultivadas em dois tipos de estojos de armazenamento (Essilor e Titmus Washer). Uma alíquota de 100 μ L da suspensão trofozoito (10^6 ufc/mL) de cada espécie foi inoculada nos estojos Essilor. Cistos de cada espécie foram inoculados nos estojos Titmus Washer, os quais foram preenchidos com 8 mL de cloreto de sódio. Foi também avaliado o efeito das microondas sobre cistos de *Acanthamoeba* totalmente desidratados. Em seguida, cada estojo foi colocado em diferentes partes do prato rotatório do forno de microondas e individualmente irradiado a

600W durante 3, 5 e 8 minutos. Após a irradiação, as amostras previamente inoculadas nos estojos foram semeadas em placas de Petri por meio de swab estéril. Todas 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 de todas as espécies avaliadas, foram efetivamente inativados pelo tratamento em microondas, independentemente do tempo de irradiação e do tipo de estojo utilizado. Análise microscópica revelou ruptura celular. Os experimentos controle 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.

A hidrofobicidade e aderência ao acrílico de 33 isolados de *Candida glabrata* e 14 de *Candida albicans* foram avaliadas por Luo, Samaranayke⁴⁹, em 2002. Além disso, os autores tentaram confirmar a correlação entre hidrofobicidade e aderência para a *C. glabrata*. Corpos-de-prova de resina acrílica auto-polimerizável, com dimensões de 5 mm x 5 mm, foram confeccionados, submersos em 0,4 mL de uma suspensão de 10⁷org/mL das cepas avaliadas e incubados por 1 hora a 37°C, com leve agitação de 75 rpm. Após o período de incubação, os corpos-de-prova foram lavados em água destilada, secos, corados e avaliados automaticamente em um sistema de análise de imagens e em microscópio óptico. Para avaliar a hidrofobicidade dos microorganismos, uma alíquota de 5 mL da suspensão previamente obtida, para cada cepa avaliada, foi

transferida para 2 tubos, representando os grupos controle e experimental. A hidrofobicidade foi avaliada através da diminuição da densidade óptica dos tubos experimentais, quando comparados aos tubos controle. Testes para avaliar a influência de diferentes temperaturas de incubação (37°C e 25°C) na hidrofobicidade e aderência de 6 isolados de *C. glabrata* também foram realizados. Os resultados do estudo demonstraram que a *C. glabrata* tem 247% maior afinidade ao acrílico quando comparada à *C. albicans*. Os autores justificaram esses resultados por meio de duas observações realizadas durante a avaliação das fotomicrografias: as cepas de *C. glabrata* são de proporções bem reduzidas e o fenômeno de co-adesão (adesão de cepas a outras cepas já aderidas) ocorreu em maior intensidade nesta espécie. Foi observado também que os microorganismos da espécie *C. glabrata* apresentam hidrofobicidade significativamente superior aos da *C. albicans* e os autores encontraram uma correlação positiva entre hidrofobicidade e aderência, para ambas as espécies. Com relação às diferentes temperaturas avaliadas, 4 dos 6 isolados avaliados tiveram sua capacidade de aderência e hidrofobicidade afetadas pela diminuição da temperatura de incubação. Os autores concluíram que os resultados deste estudo oferecem informações que justificam a maior prevalência das duas espécies avaliadas em infecções oportunistas.

O objetivo de Pires et al.⁶⁷, em 2002, foi avaliar a associação entre estomatite protética e o fluxo salivar, bem como a quantificação e a identificação das espécies de *Candida*, antes e 6 meses após a substituição de próteses totais superiores. Setenta e sete voluntários foram incluídos no estudo,

com idade entre 36 e 84 anos, sendo a maioria mulheres (63,6%). A estomatite protética foi classificada de acordo com os critérios de Newton e a higiene da prótese foi qualificada como boa, regular, deficiente ou inadequada. Para a determinação do fluxo salivar, amostras de saliva não estimulada foram coletadas dos pacientes durante 5 minutos. Alíquotas das amostras coletadas foram semeadas em Sabouraud Dextrose Agar e, após 48 horas de incubação, foi realizada a contagem de colônias viáveis (ufc/mL). As espécies de *Candida* foram identificadas pelos testes de tubo germinativo, produção de clamidósporos e assimilação e fermentação de carboidratos. Todos os pacientes receberam instruções de higiene bucal após a substituição das próteses totais e não foram medicados. Após 6 meses da substituição, os pacientes retornaram para uma segunda avaliação, onde todos os procedimentos clínicos e laboratoriais realizados previamente foram repetidos. Os resultados demonstraram que, na primeira avaliação, 50,6% dos pacientes apresentavam estomatite protética e 63% demonstravam higienização inadequada das próteses. Na segunda avaliação, a porcentagem de pacientes com estomatite protética foi reduzida a 18,2% e a higienização das próteses foi considerada regular em 100% dos casos. Em ambas as avaliações, a prevalência de estomatite protética foi maior em pacientes do sexo feminino. O fluxo salivar dos pacientes variou de 0,02 mL/min a 1,66 mL/min e foi semelhante nas duas avaliações. Espécies de *Candida* foram identificadas em 84,4% dos pacientes na primeira avaliação e em 79,2% na segunda. Todos os portadores de estomatite protética apresentaram *Candida* spp. na saliva e o número de ufc/mL da maioria desses pacientes foi superior a 400. A *C. albicans*

foi a espécie mais comum em ambas as avaliações (50%) e a associação mais encontrada foi entre esse microorganismo e a *C. tropicalis* (15,4%). Os autores concluíram que a substituição das próteses e a melhora da higiene bucal promoveram a resolução dos sinais clínicos de estomatite protética. Entretanto, a persistência de elevada contagem de *Candida* spp. na saliva dos pacientes deveria ser considerada como um fator importante na recorrência da patologia. Os autores sugeriram que a substituição periódica das próteses e as instruções adequadas de higiene bucal são fundamentais para prevenir o desenvolvimento da estomatite protética.

Bosco et al.¹³, em 2003, avaliaram crianças com AIDS com o objetivo de analisar sua microbiota fúngica quanto à: frequência de cepas de *Candida*, espécies das cepas isoladas e fatores de virulência das cepas isoladas dos pacientes HIV positivo, como a capacidade de produção de enzimas (fosfolipase e proteinase) e a susceptibilidade a antifúngicos. Dessa forma, os autores recolheram uma amostra de 30 pacientes com AIDS e compararam sua microbiota fúngica com 30 pacientes saudáveis (grupo controle). Todos os pacientes receberam exame extra-oral, onde foram realizadas palpação das cadeias linfáticas e inspeção visual em busca de lesões faciais, e exame intra-oral, com o objetivo de diagnosticar possíveis manifestações orais. A seguir, foi realizada coleta da mucosa dos pacientes com swab estéril e o material coletado foi plaqueado em placas de Petri com Sabouraud Dextrose Agar. As placas foram incubadas a 25°C por 15 dias e as cepas foram analisadas em função de sua cor, textura, tamanho, topografia, brilho, bordas e consistência. As espécies de *Candida* foram

identificadas pelos testes de tubo germinativo, produção de hifas e clamidósporos, assimilação de carbono e fermentação de carboidratos. Os resultados do estudo demonstraram que a presença de cepas isoladas da microbiota fúngica das crianças com AIDS foi significativamente maior quando comparada ao grupo controle. A espécie mais comumente isolada dos pacientes portadores de AIDS foi a *C. albicans*. Os isolados de crianças portadoras de HIV também exibiram maior capacidade de produção de proteinase e fosfolipase e significante resistência ao fluconazol, itraconazol, 5-fluorocitosine e cetoconazol. Os autores concluíram, em seu estudo, que ocorre maior patogenicidade nos microorganismos isolados de pacientes HIV positivo, pois são mais freqüentes, mais seletivos e possuem maior nível de produção enzimática do que os isolados de crianças assintomáticas.

Tendo em vista a importância e necessidade de esterilização dos instrumentos rotatórios utilizados em odontologia, Farias²⁶, 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 (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus*, *Actinomyces viscosus*, *Enterococcus faecalis* e *Bacillus subtilis*), divididas em três diferentes grupos e submetidas à irradiação por microondas em potência máxima (800W). 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 expostos 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.

O estudo de Neppelenbroek et al.⁶⁰, em 2003, avaliou a efetividade da irradiação por microondas na esterilização de resinas rígidas para reembasamento imediato. Corpos-de-prova (10 mm x 10 mm 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) em meio de cultura Tryptic Soy Broth contendo um dos seguintes microorganismos: *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas aeruginosa*. Após 48 horas de incubação a 37°C, 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 µL da suspensão resultante das diluições seriadas de 10^{-3} a 10^{-6} foram semeados em placas de Petri contendo os meios de cultura seletivos para cada microorganismo. 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 microorganismos após irradiação em microondas. Os corpos-de-prova irradiados e incubados por 7 dias não demonstraram crescimento microbiológico visível no meio de cultura. Segundo os autores, a irradiação por microondas por 6 minutos a 650W provou ser um método efetivo para a esterilização de resinas reembasadoras rígidas.

A *Candida dubliniensis* é uma espécie de *Candida* que foi isolada e identificada em 1995 e tem se mostrado prevalente e altamente associada à candidíase orofaríngea em pacientes com AIDS ou HIV positivo. Dessa forma, Sullivan et al.⁸⁰, em 2004, realizaram uma revisão de literatura abordando aspectos como epidemiologia, resistência a medicamentos e virulência de *C. dubliniensis* e *C. albicans*. Por apresentarem características fenotípicas quase que idênticas, a *C. dubliniensis* e a *C. albicans* foram, por muito tempo, confundidas. Atualmente, diversos testes já existem para diferenciá-las, sendo os métodos genotípicos considerados os mais confiáveis para esta finalidade. Em indivíduos saudáveis, a *C. dubliniensis*, quando comparada à *C. albicans*, é raramente encontrada na microbiota oral. Entretanto, em pacientes com AIDS ou HIV positivo, essa prevalência se eleva, principalmente em casos de infecções recorrentes. Com relação aos fatores de virulência, a *C. dubliniensis* também tem

a capacidade de produzir hifas, além de desenvolver maior resistência aos antifúngicos sistêmicos quando comparada à *C. albicans*. De acordo com os autores, é possível que tratamentos com fluconazol resultem em seleção de isolados de *C. dubliniensis* menos susceptíveis a este antifúngico. Além disso, este microorganismo apresenta maior nível de produção de enzimas, como a proteinase, e, conseqüentemente, maior capacidade de aderência às células epiteliais. Dessa forma, esses tratamentos favorecem o crescimento desta nova espécie, prejudicando a proliferação de *C. albicans* sob as mesmas condições na cavidade oral. Os autores concluíram que a *C. dubliniensis* deve ser considerada um importante patógeno para os seres humanos e sua prevalência deve ser monitorada, principalmente em pacientes imunocomprometidos, onde esta espécie é mais comumente encontrada e uma causa freqüente de infecções recorrentes, principalmente após tratamentos com antifúngicos sistêmicos, como o fluconazol.

A efetividade da desinfecção de próteses totais no tratamento da estomatite protética associada à *Candida* spp. foi avaliada por Neppelenbroek KH⁵⁹, em 2005. Sessenta pacientes com estomatite protética foram divididos em quatro grupos, de acordo com o tratamento instituído. O primeiro tratamento foi a escovação das próteses totais com sabão de coco e dentifrício, deixando-as imersas em água durante a noite (grupo 0); no segundo tratamento instituído, as próteses totais foram irradiadas por microondas a 650W por 6 minutos, três vezes por semana, por 30 dias (grupo 1); no terceiro tratamento, os pacientes também tiveram suas próteses totais irradiadas no microondas (650W/3 minutos) e ainda realizaram aplicação tópica de miconazol, três vezes ao dia, por 30 dias (grupo 2);

o último tratamento instituído foi somente a prescrição de terapia antifúngica tópica com miconazol, também três vezes ao dia, por 30 dias (grupo 3). Antes do início do tratamento, exames citológicos por esfregaço e culturas micológicas quantitativas foram obtidos da superfície interna das próteses totais superiores e da mucosa palatina de suporte de todos os pacientes. Os esfregaços e as culturas foram repetidos durante 15 dias, ao final do tratamento (30 dias) e após sua suspensão (30 e 60 dias). Para a avaliação clínica, foram realizadas fotografias da mucosa palatina dos pacientes em cada consulta. Os autores observaram que nos períodos durante (15 dias) e imediatamente após os tratamentos dos grupos 1 e 2 (30 dias), os esfregaços citológicos e culturas quantitativas referentes à mucosa palatina e a superfície interna das próteses dos pacientes não demonstraram formas miceliais e colônias viáveis de *Candida* spp. Em até 60 dias após a suspensão do tratamento, os autores também não observaram formas miceliais na mucosa palatina dos pacientes dos grupos 1 e 2. Entretanto, 33% dos pacientes do grupo 1 e 40% dos pacientes do grupo 2 demonstraram recorrência de formas miceliais e colônias de *Candida* spp, e essa diferença não foi estatisticamente significativa. As fotografias da mucosa palatina dos pacientes dos grupos 1 e 2 demonstraram progressiva redução na inflamação ao longo das avaliações clínicas. O tratamento instituído no grupo 3 promoveu uma melhora considerável na inflamação palatina, mas não eliminou as formas miceliais e as colônias de *Candida* spp., exceto para dois pacientes. Os exames clínicos e micológicos do grupo controle não evidenciaram redução da infecção fúngica em até 60 dias de avaliação. Os autores deste estudo concluíram que a desinfecção das próteses

totais superiores por microondas foi efetiva para o tratamento da estomatite protética associada à *Candida* spp. Independentemente da associação à terapia antifúngica tópica, a recorrência de formas miceliais de *Candida* spp. à superfície interna das próteses após a suspensão do tratamento foi significativamente reduzida nos pacientes cujas próteses foram submetidas à desinfecção por microondas.

Um estudo clínico foi realizado por Webb et al.⁹⁰, em 2005, com o objetivo de avaliar a eficácia de 2 métodos de tratamento de estomatite protética associada à *Candida* em pacientes idosos institucionalizados. Para isso, os autores visitaram instituições e avaliaram a presença de estomatite protética em pacientes idosos portadores de próteses totais. Sessenta pacientes com estomatite protética foram selecionados e divididos em 3 grupos de tratamento. No primeiro grupo, as próteses foram imersas em hipoclorito de sódio 0,02% durante todas as noites, por 1 semana; no segundo grupo, as próteses totais foram irradiadas a seco por microondas a 350W durante 10 minutos, todas as noites, por 1 semana; no terceiro grupo, os pacientes não receberam tratamento para a estomatite protética, tendo sido, apenas, fornecidas instruções sobre cuidados de higiene oral (grupo controle). Antes do início do tratamento, amostras de biofilme da superfície interna das próteses totais e da mucosa palatina de suporte de todos os pacientes foram submetidas a exames citológicos por esfregaço e análises bacteriológicas e micológicas quantitativas. Os esfregaços e as culturas foram repetidos 1 semana após o término dos tratamentos aplicados. As espécies de *Candida* isoladas foram identificadas pelo sistema ID 32C. Para a avaliação clínica, foram realizadas

fotografias da mucosa palatina dos pacientes na primeira e na segunda consultas. Os resultados demonstraram que a estomatite protética esteve presente em 33,7% dos pacientes avaliados no estudo. Tanto o tratamento com imersão em hipoclorito de sódio como aquele por meio de irradiação por microondas reduziram significativamente o número de cepas de *Candida* e de bactérias aeróbias nas próteses totais. Porém, apenas as cepas de *Candida* foram significativamente eliminadas do palato dos pacientes. Os indivíduos do grupo controle não tiveram redução significativa dos microorganismos. Três diferentes espécies de *Candida* foram identificadas: *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. tropicalis*. Os observadores que analisaram as fotografias clínicas do palato dos pacientes conseguiram identificar os grupos antes e após os tratamentos aplicados, porém, tiveram dificuldade em diferenciar as fotografias dos pacientes do grupo controle. Os autores concluíram que ambos os tratamentos de desinfecção de próteses avaliados são eficientes para a eliminação de microorganismos patogênicos da mucosa palatina e das superfícies das próteses totais.

O objetivo do estudo de Golecka et al.³¹, em 2006, foi avaliar a frequência e a intensidade da estomatite protética em pacientes portadores de próteses que receberam tratamento com drogas imunossupressoras após transplante de órgãos. Para isso, a avaliação intra-oral e anamnese de dois grupos de pacientes portadores de próteses (pacientes transplantados e pacientes saudáveis) foram obtidas em função de sintomas não-objetivos na cavidade oral, avaliação dos hábitos de higiene, condição da mucosa oral, presença de queilite angular, estabilidade e idade da prótese total. A presença de estomatite protética

foi determinada e classificada de acordo com os critérios de Newton. Investigações micológicas, em ambos os grupos, foram realizadas por meio de coleta, com swab oral, nas regiões da mucosa do palato e superfície interna da prótese. As coletas foram semeadas em placas de Petri com Sabouraud Dextrose Agar e incubadas por 48 horas a 37°C. Os resultados do experimento demonstraram que, quando comparados aos pacientes do grupo controle, os pacientes transplantados têm maior prevalência de estomatite protética tipos II e III de Newton, maior frequência de queilite angular, maior idade das próteses totais e melhores condições de higiene oral, por terem recebido instruções sobre higienização oral antes da realização do transplante. Além disso, estes pacientes se queixam com maior frequência de sintomas não-objetivos na cavidade oral, como dor e boca seca. Culturas positivas de *Candida* foram isoladas com maior frequência nos pacientes transplantados, tanto na mucosa oral, quanto na superfície interna das próteses. Os autores concluíram que os pacientes com imunossupressão são mais susceptíveis às infecções por *Candida*.

A estabilidade dimensional e a resistência ao cisalhamento de resinas odontológicas, após desinfecção química por imersão em perborato de sódio e desinfecção por irradiação com microondas, foram avaliadas por Gonçalves et al.³², em 2006. Os autores utilizaram no estudo uma resina termopolimerizável para base de prótese (Lucitone 550) e quatro resinas autopolimerizáveis para reembasamento (Kooliner, New Truliner, Tokuso Rebase, Ufi Gel Hard). Foi avaliada também a resistência ao cisalhamento de corpos-de-prova reembasados com a resina Lucitone 550. Os resultados deste estudo

demonstraram que a desinfecção pela irradiação por microondas aumentou significativamente os valores médios da estabilidade dimensional da resina termopolimerizável Lucitone 550 e das resinas autopolimerizáveis Kooliner e New Truliner. A resina New Truliner também demonstrou aumento na estabilidade dimensional após os 2 ciclos de desinfecção química. Para os materiais Ufi Gel Hard e Tokuso Rebase Fast não foram encontradas alterações significativas na estabilidade dimensional. Os autores concluíram que a irradiação por microondas altera significativamente a estabilidade dimensional de alguns materiais para base de próteses.

He et al.³⁵, em 2006, realizaram estudo in vitro com o objetivo de comparar a adesão de espécies de *Candida* (*C. albicans*, *C. krusei*, *C. glabrata* e *C. dubliniensis*) a 4 diferentes materiais para bases de próteses, autopolimerizáveis e termo-polimerizáveis. Para o experimento, corpos-de-prova de 5 mm x 5 mm foram confeccionados, esterilizados, imersos em 300 mL de suspensão das cepas avaliadas ($3-4 \times 10^6$ ufc/ml) e agitados (75 rpm) a 35°C por 2 horas. Após esse período, cada corpo-de-prova foi lavado com solução salina fosfatada tamponada estéril para a remoção das células não viáveis e colocado para secar a 60°C durante o período da noite. Os corpos-de-prova foram, então, corados e montados sobre lâminas e sob lamínulas de vidro. As cepas aderentes foram contadas com o auxílio de microscópio óptico com aumento de 400 vezes. Os autores encontraram diferença estatisticamente significativa na adesão de *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. krusei* entre a resina auto-polimerizável e a termo-polimerizável e apenas a espécie *C. glabrata* se aderiu a todos os materiais

avaliados. Os autores concluíram que a aderência de *Candida* aos materiais para base de prótese depende da qualidade da resina utilizada e da espécie de *Candida* avaliada. Além disso, foi observado que, em geral, um menor número de células aderiu às resinas termo-polimerizáveis em comparação às resinas auto-polimerizáveis.

O objetivo de Lopman et al.⁴⁸, em 2006, foi identificar as causas de óbito mais freqüentes em pacientes HIV positivo, na região do Zimbábue. Assim, os autores aplicaram um questionário verbal aos responsáveis pela assistência médica dos pacientes HIV positivo sobre a autópsia dos que foram a óbito entre 1998 e 2003. Os resultados revelaram que um total de 404 óbitos de pacientes HIV positivo foi registrado no período avaliado, porém, apenas 381 foram submetidos ao questionário sobre a causa do óbito. Destes 381 óbitos avaliados, 74% foram devido a 8 causas diretamente relacionadas à infecção por HIV, entre elas, a candidíase oral.

A habilidade de aderência de isolados clínicos de *Candida albicans*, obtidos da cavidade oral de pacientes com e sem sinais clínicos de estomatite protética, foi analisada por Lyon, Resende⁵⁰, em 2006. Para a realização do estudo, 99 indivíduos saudáveis, portadores de próteses totais, foram diagnosticados em função da presença de estomatite protética. Quarenta e quatro pacientes foram portadores da infecção e 55 apresentaram a mucosa palatina saudável. Os resultados do experimento demonstraram que as cepas de *C. albicans* obtidas de pacientes com estomatite protética foram significativamente mais aderentes às células buco-epiteliais e produziram maior quantidade de

enzimas quando comparadas aos isolados de pacientes com a mucosa saudável. Além disso, foi observado que o fluconazol diminui a capacidade de aderência dos isolados clínicos, independentemente de sua origem ser de pacientes com ou sem estomatite protética. Uma correlação positiva também foi encontrada entre maior capacidade de aderência e maior nível de produção enzimática. O estudo concluiu que a adesão dos isolados e a produção de enzimas específicas são fatores de virulência da *Candida* que, associados à susceptibilidade do indivíduo, podem favorecer o aparecimento da estomatite protética.

O estudo de Silva et al.⁷⁸, em 2006, teve por objetivo avaliar a efetividade da irradiação por microondas na esterilização de próteses totais. Oitenta próteses totais padronizadas foram confeccionadas e submetidas à esterilização por meio de óxido de etileno. As próteses foram, individualmente, inoculadas (10^7 ufc/mL) com meio de cultura Tryptic Soy Broth contendo um dos seguintes microorganismos: *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas aeruginosa*. Após 48 horas de incubação a 37°C, 40 próteses foram imersas em 200 mL de água e irradiadas a 650W por 6 minutos. Quarenta amostras não irradiadas foram utilizadas como controle. As diluições seriadas de 10^{-1} a 10^{-6} foram obtidas e 25 μ L da suspensão resultante de cada diluição foram semeados em placas de Petri contendo os meios de cultura seletivos para cada microorganismo. Todas as placas foram incubadas a 37°C por 48 horas. Após a incubação, as colônias foram quantificadas em ufc/mL. Para verificar a efetividade da exposição às microondas a longo prazo, as amostras irradiadas foram imersas em meio de cultura e incubadas a 37°C por 7 dias. Não

houve crescimento microbiano 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 microorganismo *P. aeruginosa*. Após 7 dias de incubação a 37°C, houve crescimento microbiológico em 3 culturas de Tryptic Soy Broth, sendo 2 para *P. aeruginosa* e 1 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 650W 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 próteses inoculadas com *C. albicans* e *S. aureus*.

Campanha et al.¹⁷, em 2007, investigaram os efeitos da irradiação por microondas sobre células de *Candida albicans* por meio de parâmetros de contagem celular e de liberação de substâncias intracelulares. Para isso, foram obtidas culturas de *C. albicans* de 24 horas em meio de cultura Tryptic Soy Broth a partir de cepas padrão. As células foram centrifugadas, lavadas e re-suspensas em 400 mL de água destilada gelada na concentração de 10^8 org/mL. Essa suspensão foi dividida em experimental e controle. A suspensão experimental (200 mL) foi colocada em um béquer de 500 mL contendo uma prótese total acrílica estéril e irradiada por microondas durante 6 minutos a 650W. A suspensão controle não foi submetida à irradiação. Para ambas as suspensões, diluições seriadas foram realizadas para contagem celular em câmara de Neubauer, utilizando a entrada do corante azul de metileno como indicativo de alteração de permeabilidade de membrana. Alíquotas diluídas também foram

semeadas em Sabouraud Dextrose Agar. Alíquotas não diluídas foram analisadas quanto à densidade óptica. Para a quantificação de substâncias liberadas, as células foram eliminadas das suspensões por centrifugação e filtração e a solução resultante foi liofilizada. O conteúdo liofilizado foi re-suspenso em 5 mL de água destilada e analisado pelos métodos Microprote e Sensiprote, para quantificação de proteínas; potenciometria, para quantificação de Na^+ e K^+ ; Liquiform, para quantificação de Ca^{++} ; e densidade óptica a 260 nm, para quantificação de ácidos nucleicos. Todos os testes foram realizados em duplicata e repetidos em 8 dias diferentes. Não foram encontradas diferenças entre as suspensões experimental e controle quando foram comparadas as suas médias de densidade óptica. As células da suspensão controle apresentaram-se íntegras, enquanto que as da suspensão experimental não apresentaram integridade de membrana, de acordo com a entrada de azul de metileno. Não foram observadas colônias viáveis de *C. albicans* nas placas de Petri da suspensão experimental, enquanto a suspensão controle apresentou contagem da ordem de 10^8 ufc/mL. A liberação de proteínas da suspensão experimental foi significativamente maior do que a da suspensão controle, tanto pelo sistema Microprote quanto para o sistema Sensiprote. A liberação de K^+ , Ca^{++} e ácidos nucleicos da suspensão experimental foi significativamente maior do que a da suspensão controle. Pela técnica de potenciometria, não foi detectada a presença de Na^+ em nenhuma das suspensões. Os autores concluíram que, para a maioria dos parâmetros utilizados, a suspensão experimental apresentou valores significativamente menores de contagem de

células e maiores de substâncias liberadas. Entretanto, a irradiação por microondas não causou redução na densidade óptica das células em suspensão.

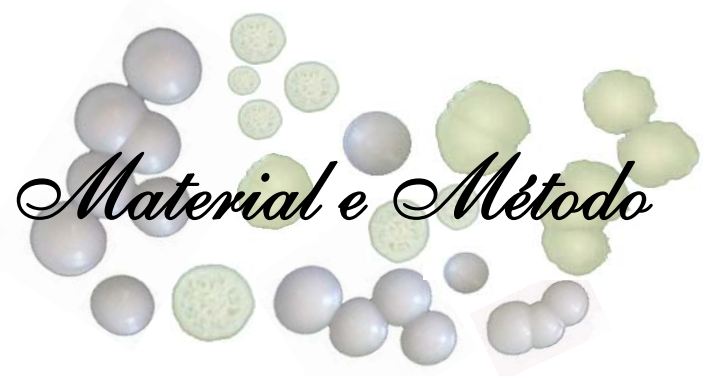
Com o objetivo de avaliar a efetividade de diferentes tempos de irradiação por microondas na desinfecção da resina rígida para reembasamento imediato Tokuso Rebase Fast, Mima et al.⁵⁶, em 2007, inocularam 240 corpos-de-prova (10 mm x 10 mm x 1 mm) com um dos seguintes microorganismos: *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas aeruginosa*. Após 48 horas de incubação a 37°C, os corpos-de-prova foram divididos em 6 grupos (n=10), imersos em 200 mL de água e submetidos à irradiação em microondas (650W) em um dos seguintes tempos experimentais: G I - 1 min; G II - 2 min; G III - 3 min; G IV - 4 min e G V - 5 min. A seguir, 25 µL da suspensão resultante das diluições seriadas de 10⁻³ a 10⁻⁶ foram semeados em placas de Petri, que foram incubadas a 37°C por 48 horas. Após a incubação, as colônias foram quantificadas em ufc/mL. Os corpos-de-prova irradiados ainda foram imersos em meio de cultura e incubados a 37°C por 7 dias e 44 corpos-de-prova foram preparados para microscopia eletrônica de varredura. De acordo com os resultados, todos os corpos-de-prova dos grupos III, IV e V demonstraram efetiva esterilização após a irradiação em microondas. Para o grupo II, as amostras contaminadas com *C. albicans* também foram esterilizadas após a irradiação. Todos os corpos-de-prova do grupo I apresentaram crescimento microbiológico após incubação por 48 horas e 7 dias. A análise em microscopia eletrônica de varredura indicou alteração na morfologia celular dos microorganismos presentes nas amostras esterilizadas. Os autores concluíram que a irradiação por microondas

durante 3, 4 e 5 minutos a 650W demonstrou ser um método efetivo de esterilização para resina reembasadora rígida.



3 Proposição

Com base nas informações obtidas da literatura, o objetivo desse estudo in vitro foi avaliar a efetividade da irradiação por microondas a 650W durante 3 minutos na desinfecção de próteses totais simuladas e contaminadas por diferentes espécies do microorganismo *Candida* (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei* e *C. dubliniensis*), isoladas de culturas padrão e de pacientes HIV positivo.



4 *Material e Método*

*P*ara a realização da fase experimental do presente estudo, os seguintes materiais, instrumentos e aparelhos foram utilizados:

4.1 *Materiais*

1. Água destilada;
2. Branco de Espanha K-dent, fabricado por Quimidrol, Joinville, SC, Brasil;
3. Cultura de *Candida albicans* proveniente da empresa American Type Culture Collection (ATCC number - 2327), Manassas, EUA;
4. Cultura de *Candida dubliniensis* proveniente da empresa American Type Culture Collection (ATCC number - 7987S), Manassas, EUA;
5. Cultura de *Candida krusei* proveniente da empresa American Type Culture Collection (ATCC number - 6258), Manassas, EUA;
6. Cultura de *Candida tropicalis* proveniente da empresa American Type Culture Collection (ATCC number - 4563), Manassas, EUA;
7. Cultura de *Candida glabrata* proveniente da empresa American Type Culture Collection (ATCC number - 2001), Manassas, EUA;
8. Culturas de três cepas clínicas isoladas de pacientes HIV positivo da espécie *Candida albicans* proveniente da Escola Paulista de Medicina – UNIFESP (números de referência - 8-1159-3, 5135, 5133), São Paulo, SP, Brasil;

9. Culturas de três cepas clínicas isoladas de pacientes HIV positivo da espécie *Candida dubliniensis* proveniente da Escola Paulista de Medicina – UNIFESP (números de referência - CD6, CD7, CD8), São Paulo, SP, Brasil;
10. Culturas de três cepas clínicas isoladas de pacientes HIV positivo da espécie *Candida krusei* proveniente da Escola Paulista de Medicina – UNIFESP (números de referência - 4749A, 4801A, 5043), São Paulo, SP, Brasil;
11. Culturas de três cepas clínicas isoladas de pacientes HIV positivo da espécie *Candida tropicalis* proveniente da Escola Paulista de Medicina – UNIFESP (números de referência - 5147-B, 5292B2, 7549), São Paulo, SP, Brasil;
12. Culturas de três cepas clínicas isoladas de pacientes HIV positivo da espécie *Candida glabrata* proveniente da Escola Paulista de Medicina – UNIFESP (números de referência - 5379B, 5250B, 5233B), São Paulo, SP, Brasil;
13. Dentes artificiais Vipi Dent Plus, Molelo 2D / 30M, cor 66, fabricados por Dental Vipi Ltda, Pirassununga, SP, Brasil.
Lotes n^{os}. 3052338511, 3052338508, 08718590, 30523385;
14. Detergente líquido ODD; fabricado por Bombril-Cirio, São Paulo, SP, Brasil;
15. Embalagens para esterilização em óxido de etileno, produzidas por ACECIL – Comércio e Esterilização a Óxido de Etileno Ltda, Campinas, SP, Brasil;
16. 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;
17. Gesso pedra tipo III Herodent; fabricado por Vigodent SA Ind. Com., Rio de Janeiro, RJ, Brasil;

18. Gesso pedra tipo IV Herodent; fabricado por Vigodent SA Ind. Com., Rio de Janeiro, RJ, Brasil;
19. Isolante indicado para resina acrílica, marca Cel-Lac, fabricado por SSWhite, Rio de Janeiro, RJ, Brasil;
20. Lixa d' água marca Norton, granulação 0, 120 e 180;
21. Meio de cultura Sabouraud Dextrose Agar, produzido por Acumedia Manufactures Inc., Baltimore, Maryland, EUA.
Código 7150A. Lote nº. 0011-105;
22. Meio de cultura Tryptic Soy Broth, produzido por Acumedia Manufactures Inc., Baltimore, Maryland, EUA.
Código 7164A. Lote nº. 0008-120;
23. Papel celofane;
24. Pedra Pomes, fabricada por Orlando Antônio Bussioli, Rio Claro, SP, Brasil;
25. Pontas descartáveis para micropipeta;
26. Resina acrílica autopolimerizável Jet; fabricada por Artigos Odontológicos Clássico, São Paulo, SP, Brasil;
27. Resina acrílica para base de prótese termopolimerizável Lucitone 550, fabricada por Dentsply Ind. e Com. Ltda, Petrópolis, RJ, Brasil;
Lotes nºs. 303758 e 213457;
28. Silicone para molde RTV 3120, fabricado por Daltomare Ind. e Com. Ltda, Santo Amaro, SP, Brasil;
29. Silicona de condensação para inclusão de consistência pesada Labor Mass, fabricado por Vipi Ind. e Com. Ltda, Pirassununga, SP, Brasil;

Lotes n^{os}. 50560647 e 15681.

30. Sódio cloreto (P. A. A. C. S.), produzido por CAQ - Casa da química Ind. e Com. Ltda;
31. Vaselina sólida, fabricada por Chemco Ind. e Com. Ltda, Campinas, SP, Brasil.

4.2 Instrumentos

1. Alça de Drigalsky, fabricada por Vidrolabor;
2. Alça metálica para inoculação de microorganismos;
3. Béquer graduado, fabricado por Vidrolabor;
4. Bico de Bunsen;
5. Buril de Le Cron, 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 05-50µL, 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. Prensa de bancada, fabricada pela VH Equipamentos Médicos e Odontológicos, Araraquara, SP, Brasil;
22. Tesoura ouro reta, fabricada por Golgran Instrumentos Cirúrgicos e Odontológicos, São Paulo, SP, Brasil;
23. Tubos de ensaio pyrex nº. 9820, fabricados por Petriq.

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, Brasil;

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 Microprocessada Automática SOLAB, fabricada por SOLAB Equipamentos para Laboratório Ltda, Piracicaba, SP, Brasil;
14. Torno para polimento.

4.4 Métodos

Esta pesquisa in vitro somente foi iniciada após a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa – CEP da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP (Apêndice 1).

Para a realização desse estudo, 50 próteses totais superiores foram confeccionadas seguindo a metodologia proposta por Silva et al.⁷⁸ em 2006, descrita a seguir.

4.4.1 Obtenção dos modelos de gesso superiores

Para obtenção dos modelos de gesso superiores, uma caixa com dimensões de 8,5 cm x 8,5 cm de largura e 2,5 cm de profundidade foi confeccionada em cera rosa nº. 7, posicionando, na região central, um modelo de

latão simulando 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 (Figura 1), utilizada para confecção de modelos de gesso superiores com forma e dimensões padronizadas.



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

Cinquenta 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 regularizado.

4.4.2 Obtenção das próteses totais superiores em cera

ma prótese total foi encerada sobre o modelo de gesso previamente confeccionado. O enceramento e confecção desta prótese seguiram a seqüência descrita a seguir. Inicialmente, foi realizado isolamento do modelo de gesso 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. A resina acrílica, manipulada de acordo com as recomendações do fabricante, foi acomodada sobre o modelo de gesso ao atingir a fase plástica e os excessos foram recortados com um buril de Le Cron. Após 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 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)^{83,86}. A prótese total encerada juntamente com 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).



FIGURA 3 - Prótese total encerada sobre o modelo de gesso.



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

Dessa forma, as demais próteses totais 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. O conjunto modelo, base de prova em cera e dentes artificiais foi removido do molde de RTV após o resfriamento completo da cera por 30 minutos e o acabamento foi realizado com o objetivo de remover porções de cera recobrindo os dentes artificiais, mantendo-os limpos e livres de qualquer excesso. Além disso, as regiões das bossas e das papilas interdentais foram arredondadas com o auxílio da lâmpada de chama horizontal, contribuindo para a obtenção de uma superfície lisa e brilhante (Figura 5).



FIGURA 5 - Prótese total superior encerada.

4.4.3 Inclusão e Prensagem

Cada prótese total encerada, juntamente com o modelo, 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, a seguir, foi preenchida até a borda superior com gesso pedra tipo III, 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 também foi isolada com vaselina sólida e o conjunto modelo / prótese encerada foi centralizado na mufla, aprofundando-o até o nivelamento de sua base com a superfície do gesso. Nesse momento, as superfícies oclusais dos dentes foram mantidas paralelas à base da mufla, evitando deslocamentos dentais durante a prensagem⁷. Após a reação de presa (45 minutos), o gesso foi isolado com uma fina camada de cera rosa nº. 7, como preconizado por Compagnoni et al.²². Em seguida, a segunda etapa de inclusão foi realizada através da acomodação de uma muralha de silicona de condensação de consistência pesada, recobrimdo toda a prótese, desde a superfície dos dentes artificiais até a área correspondente à cera da base da prótese. Para a fixação da silicona à terceira camada, que também foi composta por gesso pedra tipo III, retenções em forma de “concha” foram confeccionadas com a silicona de condensação, sendo distribuídas por toda a superfície da prótese já recoberta. Passado o tempo de reticulação da silicona e a realização do isolamento do gesso da mufla e da silicona com uma fina camada de vaselina sólida, a contra-mufla foi posicionada e preenchida com a terceira camada de gesso. A seguir, a mufla foi fechada com a tampa, levando ao escoamento de gesso pelos seus orifícios. O conjunto foi mantido em prensa manual⁷ até a presa final do gesso (45 minutos). Após esse período, a mufla foi imersa em água em ebulição por aproximadamente 15 minutos para a completa plastificação da cera da base de prova e,

posteriormente, aberta para a eliminação da cera com água em ebulição e detergente. Após o seu resfriamento, o gesso da mufla e contra-mufla foi isolado com Cel-Lac e a resina acrílica termopolimerizável Lucitone 550, proporcionada e manipulada 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-mufla⁷. A pressão foi aplicada de forma lenta e gradual até atingir 0,5 tonelada, o que permitiu acomodação inicial da resina acrílica e 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 com 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 na termopolimerizadora microprocessada automática SOLAB 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 para acabamento e remoção das irregularidades.

4.4.4 *Limpeza e polimento das próteses*

O modelo de gesso foi removido da prótese com auxílio de tesoura ouro reta. O acabamento da prótese foi realizado por meio da remoção dos excessos com ponta Maxi-cut. O polimento foi realizado no torno mecânico em duas etapas. Primeiramente, com o torno em baixa rotação, foi utilizada uma escova de cerdas pretas com uma mistura de pedra-pomes e água. 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). 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^{2,41}.



FIGURA 6 - Prótese total polida.

4.4.5 *Esterilização das próteses*

Logo após a sua confecção, as próteses foram colocadas em embalagens estéreis e esterilizadas por meio de óxido de etileno^{47,56,60,78} (ACECIL – Central de Esterilização e Ind. Ltda., Campinas, São Paulo - Brasil). O gás de óxido de etileno utilizado para a esterilização das próteses consiste de uma mistura de 30% de EtO (óxido de etileno) e 70% de CO₂ (gás carbônico). Para o ciclo de esterilização, 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 as próteses totais 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. A eficácia deste método de esterilização foi comprovada em estudos anteriores^{47,56,60,78}.

4.4.6 Preparo dos materiais microbiológicos

O meio de cultura Tryptic Soy Broth (TSB) foi preparado para a inoculação dos microorganismos 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 microorganismos, incluindo as espécies de *Candida* testadas neste estudo. O meio de cultura TSB foi proporcionado, manipulado e esterilizado segundo as recomendações do fabricante. Para o preparo do meio, foi utilizada uma proporção de 30 g de pó para 1 L de água destilada. Após o preparo do meio de cultura, para a inoculação dos microorganismos, uma alíquota de 10 mL foi pipetada e dispensada em tubos de ensaio. Os tubos de ensaio foram tampados com algodão e devidamente identificados e datados. Para a contaminação e a incubação das próteses totais, 200 mL do meio de cultura TSB previamente preparado foi dispensado em béquer de 600 mL, os quais foram posteriormente cobertos com papel alumínio, identificados e datados. Os tubos de ensaio e os béqueres foram, então, levados em autoclave vertical para esterilização a 121°C por 20 minutos. Após esse procedimento, foram resfriados, lentamente, até atingirem a temperatura

ambiente. Finalmente, 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 distribuído em tubos de ensaio e 200 mL foi dispensado em béquer de 600 mL. A seguir, os tubos tampados com algodão e os béqueres cobertos com papel alumínio foram levados em autoclave vertical para esterilização a 121°C por 20 minutos. Após a esterilização, foram resfriados lentamente até atingirem a temperatura ambiente. Finalmente, foram armazenados em refrigerador a 5°C até a utilização nos procedimentos experimentais.

O meio de cultura selecionado para a semeadura das placas de Petri foi Sabouraud Dextrose Agar (SDA) contendo 5 µg/mL de cloranfenicol, antibacteriano utilizado com o objetivo de prevenir o crescimento de outros microorganismos. O SDA é um meio de cultura sólido após o preparo e específico para o microorganismo *Candida*. Esse meio de cultura foi proporcionado, manipulado e esterilizado segundo as recomendações do fabricante. Para o preparo do meio, foi utilizada uma proporção de 65 g de pó e 0,005 g de cloranfenicol para 1 L de água destilada. Após o seu preparo, uma alíquota de 20 mL da solução resultante foi pipetada e dispensada em tubos de ensaio devidamente identificados, datados e tampados com algodão. Em seguida, os tubos foram levados à autoclave vertical para esterilização a 121°C por 20 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 3 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, 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 do meio 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 microorganismos (diluição seriada por quadrante). Finalmente, as placas de Petri foram armazenadas em refrigerador a 5°C para serem utilizadas nos procedimentos de semeadura dos microorganismos.

4.4.7 Contaminação e desinfecção das próteses

Os microorganismos selecionados para a contaminação das próteses foram obtidos junto ao Laboratório Especial de Microbiologia Clínica – LEMC (Disciplina de Microbiologia Clínica e Doenças Infecciosas – Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, Escola Paulista de Medicina). Esses microorganismos foram fungos das espécies *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *C. krusei*. Estas cepas de origem clínica foram isoladas de episódios de candidíase oral de pacientes com infecção por HIV e possuem os

seguintes números de registro, no Laboratório Especial de Micologia – UNIFESP: *C. albicans* (isolados n°. 811593, 5135, 5133), *C. dubliniensis* (isolados n°. CD6, CD7, CD8), *C. glabrata* (isolados n°. 5379B, 5250B, 5233B), *C. tropicalis* (isolados n°. 5147B, 5292B2, 7549) e *C. krusei* (isolados n°. 4749A, 4801A, 5043). Além das cepas de origem clínica, foram utilizados para preparo de solução - inóculo os seguintes microorganismos de referência: *C. albicans* ATCC 2327, *C. dubliniensis* ATCC 7987, *C. krusei* ATCC 6258, *C. glabrata* ATCC 2001, *C. tropicalis* ATCC 4563. Após coleta e identificação, as cepas foram mantidas em meio de cultura YEPD – Yeast-Peptone-Glucose (1% yeast extract, 2% Bacto peptone, 2% D-glucose, 2% agar)³⁰, congeladas a -70°C e estocadas.

Previamente à contaminação das próteses, os microorganismos 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 agitados por 30 segundos em um agitador de tubos e o grau de turvação presente nos mesmos foi avaliado por meio da correlação com os padrões da escala de McFarland. Dessa forma, foi obtida uma alíquota do meio de cultura inoculado correspondente a uma concentração de, aproximadamente, 10^7 ufc/mL para cada microorganismo avaliado. A seguir, dois grupos principais foram obtidos: próteses não irradiadas (I - controle positivo) e próteses irradiadas (II - grupo experimental). Cada um desses 2 grupos foi subdividido em 20 subgrupos (n = 10):

1. Próteses inoculadas por *C. albicans* – cepas padrão (AP);
2. Próteses inoculadas por *C. dubliniensis* – cepas padrão (DP);
3. Próteses inoculadas por *C. glabrata* – cepas padrão (GP);

4. Próteses inoculadas por *C. tropicalis* – cepas padrão (TP);
5. Próteses inoculadas por *C. Krusei* – cepas padrão (KP);
6. Próteses inoculadas pelo 1º isolado clínico de *C. albicans* (1ºAI);
7. Próteses inoculadas pelo 2º isolado clínico de *C. albicans* (2ºAI);
8. Próteses inoculadas pelo 3º isolado clínico de *C. albicans* (3ºAI);
9. Próteses inoculadas pelo 1º isolado clínico de *C. dubliniensis* (1ºDI);
10. Próteses inoculadas pelo 2º isolado clínico de *C. dubliniensis* (2ºDI);
11. Próteses inoculadas pelo 3º isolado clínico de *C. dubliniensis* (3ºDI);
12. Próteses inoculadas pelo 1º isolado clínico de *C. glabrata* (1ºGI);
13. Próteses inoculadas pelo 2º isolado clínico de *C. glabrata* (2ºGI);
14. Próteses inoculadas pelo 3º isolado clínico de *C. glabrata* (3ºGI);
15. Próteses inoculadas pelo 1º isolado clínico de *C. tropicalis* (1ºTI);
16. Próteses inoculadas pelo 2º isolado clínico de *C. tropicalis* (2ºTI);
17. Próteses inoculadas pelo 3º isolado clínico de *C. tropicalis* (3ºTI);
18. Próteses inoculadas pelo 1º isolado clínico de *C. krusei* (1ºKI);
19. Próteses inoculadas pelo 2º isolado clínico de *C. krusei* (2ºKI);
20. Próteses inoculadas pelo 3º isolado clínico de *C. krusei* (3ºKI).

As 50 próteses foram imersas nos béqueres contendo 200 mL do meio de cultura estéril TSB e contaminadas com a alíquota correspondente a 10^7 ufc/mL dos microorganismos descritos, isolados de culturas padrão, correspondendo aos 5 grupos controle (n=10) de cepas padrão – AP, DP, GP, TP, KP. Os béqueres foram agitados e incubados a 37°C por 24 horas (Figura 8).



FIGURA 8 - Prótese total contaminada após 24 horas de incubação a 37°C.

A seguir, as próteses foram assepticamente transferidas para outro béquer contendo 200 mL de solução salina estéril, que foram agitados por 1 minuto em agitador de tubos orbital e deixados em repouso por 9 minutos. Posteriormente, esses béqueres foram levemente agitados para re-suspender as células microbianas e o processo de diluição seriada foi realizado através da transferência de uma alíquota de 500 μL do béquer com 200 mL de solução salina para um tubo de ensaio contendo 4,5 mL da mesma solução. O tubo foi agitado vigorosamente em agitador de tubos por 1 minuto e uma nova alíquota de 500 μL foi removida e colocada em outro tubo de ensaio contendo 4,5 mL dessa solução. Esse procedimento foi realizado quatro vezes para cada prótese total e, desta forma, as diluições seriadas de 10^{-1} a 10^{-4} foram obtidas^{47,56,60,78}. Uma alíquota de 25 μL de cada uma dessas diluições foi semeada em um dos quadrantes de uma placa de Petri contendo SDA com 5 $\mu\text{L/mL}$ de cloranfenicol. 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 seguir, as placas foram incubadas a 37°C por 48 horas para verificação do crescimento e contagem das colônias viáveis.

As 50 próteses utilizadas na fase anterior foram autoclavadas, limpas, polidas em torno mecânico, como foi previamente descrito, e, novamente, submetidas à esterilização com óxido de etileno. O processo de polimento foi repetido previamente a cada esterilização das próteses, padronizando sua textura e rugosidade superficial. Cada prótese foi, então, inoculada com os isolados clínicos de pacientes HIV positivo. Assim, a mesma metodologia anteriormente descrita foi realizada e as placas obtidas foram incubadas para a verificação do crescimento das colônias e sua contagem, completando o procedimento para os outros 15 grupos controle (n=10): 1°AI, 2°AI, 3°AI, 1°DI, 2°DI, 3°DI, 1°GI, 2°GI, 3°GI, 1°TI, 2°TI, 3°TI, 1°KI, 2°KI, 3°KI.

Para avaliação dos 5 grupos experimentais de cepas padrão – AP, DP, GP, TP, KP, as próteses foram igualmente autoclavadas, limpas, polidas e submetidas à esterilização com óxido de etileno antes dos procedimentos de contaminação. Após o período de incubação, as próteses foram removidas dos béqueres e imersas individualmente em outro béquer contendo 200 mL de água destilada estéril. Em seguida, cada béquer foi posicionado no prato giratório do forno de microondas (Brastemp, Manaus, AM, Brasil) e irradiado a 650W por 3 minutos (Figura 9). O tempo de irradiação utilizado neste experimento foi selecionado com base nos resultados de estudo anterior, que demonstrou a

inativação de *C. albicans* (aderida à resina acrílica) após 3 minutos de irradiação a 650W⁵⁶.

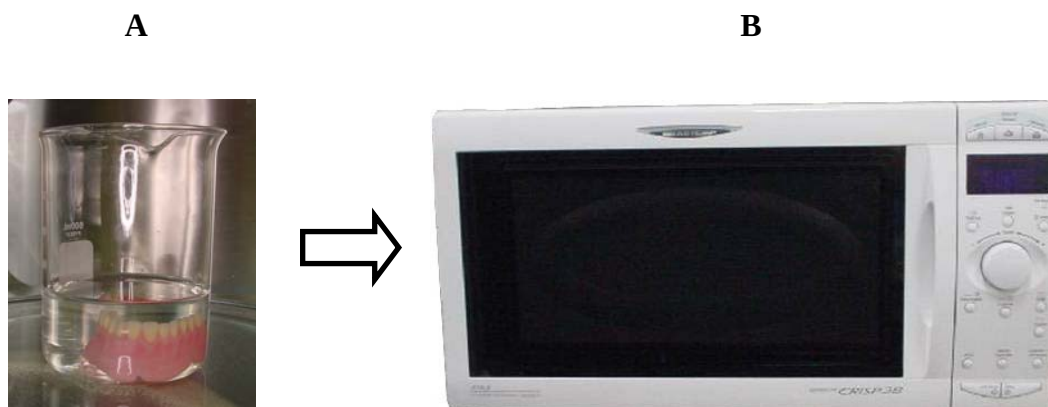


FIGURA 9 - Prótese no interior do forno de microondas imersa em béquer com 200 mL de água estéril (A) para ser submetida à irradiação em microondas (B).

Após a irradiação, cada prótese foi assepticamente removida do béquer e colocada em outro béquer contendo 200 mL de solução salina estéril, o qual foi vigorosamente agitado por 1 minuto, deixado em repouso por 9 minutos e novamente agitado para desprender qualquer célula microbiana da superfície da prótese para a solução resultante. A seguir, foram realizados os mesmos procedimentos descritos nas amostras do grupo controle positivo para obtenção das diluições seriadas e para a realização de semeadura em placas de Petri. As placas referentes a estes grupos experimentais foram igualmente submetidas à incubação a 37°C por 48 horas e ao processo de contagem das colônias viáveis. Estes mesmos procedimentos foram realizados para os grupos experimentais 1°AI, 2°AI, 3°AI, 1°DI, 2°DI, 3°DI, 1°GI, 2°GI, 3°GI, 1°TI, 2°TI, 3°TI, 1°KI,

2°KI, 3°KI, onde as próteses foram contaminadas com microorganismos isolados de pacientes HIV positivo, obtendo-se, assim, os últimos 15 grupos experimentais. É importante ressaltar que a irradiação em microondas não altera a rugosidade superficial das resinas utilizadas para a confecção das próteses⁶⁵.

4.4.8 Contagem de microorganismos

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 digital^{56,60,78}. 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 mililitro (ufc/mL) foram calculados e comparados para verificação da efetividade do método de desinfecção testado.

4.4.9 Efetividade da desinfecção a longo prazo

Para a verificação da efetividade do método de desinfecção em microondas a longo prazo, as próteses submetidas à desinfecção foram colocadas individualmente em um béquer contendo 200 mL de meio de cultura estéril TSB. Esses béqueres foram incubados em estufa bacteriológica a 37°C por 7 dias. Após

esse período, foi observada a presença ou ausência de turvação do meio de cultura. A presença de leve turvação no meio de cultura indicaria o crescimento dos microorganismos.

4.5 *Planejamento estatístico*

Nesse estudo foram verificadas duas condições experimentais: com e sem desinfecção (grupo experimental e controle, respectivamente). Para cada condição, foram estabelecidos os seguintes fatores de variação: **Espécie** de *Candida* (*C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. krusei*, *C. glabrata* e *C. tropicalis*) e **Origem** de *Candida* (culturas padrão ou amostras clínicas). Definiu-se, então, a amostra de um isolado padrão (controle) e de três isolados clínicos para cada espécie avaliada. Ainda, foram necessárias 10 repetições para cada prótese total contaminada com um dos microorganismos e submetida ou não à desinfecção. Portanto, o total amostral obtido foi de 200 próteses para o grupo sem desinfecção (controle) e 200 próteses para o grupo com desinfecção (experimental).

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

Foram considerados somente os valores entre 30 e 300 colônias, sendo escolhido, para cada microorganismo, 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 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, 2, 3 ou 4) e q equivale à quantidade, em mL, pipetada para cada diluição semeada nas placas determinada através dos padrões da escala de McFarland. 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 variaram muito em relação à média, com distribuição diferente da normal. Dessa forma, foram transformados para logaritmo na base dez. Foi empregada a análise de variância – ANOVA dos fatores citados – espécie e origem dos microorganismos – para a avaliação proposta neste estudo. Esta análise foi complementada pelo teste de Tukey para a comparação de médias duas a duas. Adotou-se o nível de 5% de significância como regra de decisão para aceitar como significativa uma diferença entre as médias.



5 Resultado

As semeaduras das placas de Petri referentes às próteses irradiadas (grupo experimental) não apresentaram colônias viáveis para todos os microorganismos avaliados (Figura 10) após 48 horas de incubação a 37°C. Dessa forma, os resultados demonstraram uma efetiva esterilização após 3 minutos de irradiação a 650W para todas as próteses desse grupo. Além disso, após 7 dias de incubação a 37°C, os resultados demonstraram ausência de crescimento microbiológico nos béqueres de TSB para as próteses irradiadas, independentemente do microorganismo avaliado (Figura 11), demonstrando também a efetividade da irradiação por microondas a longo prazo.



FIGURA 10 - Placa de Petri representativa das semeaduras dos microorganismos referentes aos grupos experimentais.



FIGURA 11 - Béquer de TSB representativo dos grupos experimentais, contendo uma prótese irradiada, após 7 dias de incubação.

Com relação ao grupo controle (não irradiado), os valores originais dos números de colônias para todos os microorganismos avaliados estão apresentados no Apêndice 2 (Tabelas de A1 a A20).

As placas de Petri semeadas correspondentes às próteses do grupo controle (não irradiadas) apresentaram crescimento microbiano após 48 horas de incubação (Figuras de 12 a 16).



Ca - ATCC



Ca - Isolado Clínico

FIGURA 12 - Placas de Petri referentes aos grupos controle, com as sementeiras correspondentes aos microorganismos da espécie *C. albicans* (Ca).



Cd - ATCC



Cd - Isolado Clínico

FIGURA 13 - Placas de Petri referentes aos grupos controle, com as sementeiras correspondentes aos microorganismos da espécie *C. dubliniensis* (Cd).



Cg - ATCC



Cg - Isolado Clínico

FIGURA 14 - Placas de Petri referentes aos grupos controle, com as sementeiras correspondentes aos microorganismos da espécie *C. glabrata* (Cg).

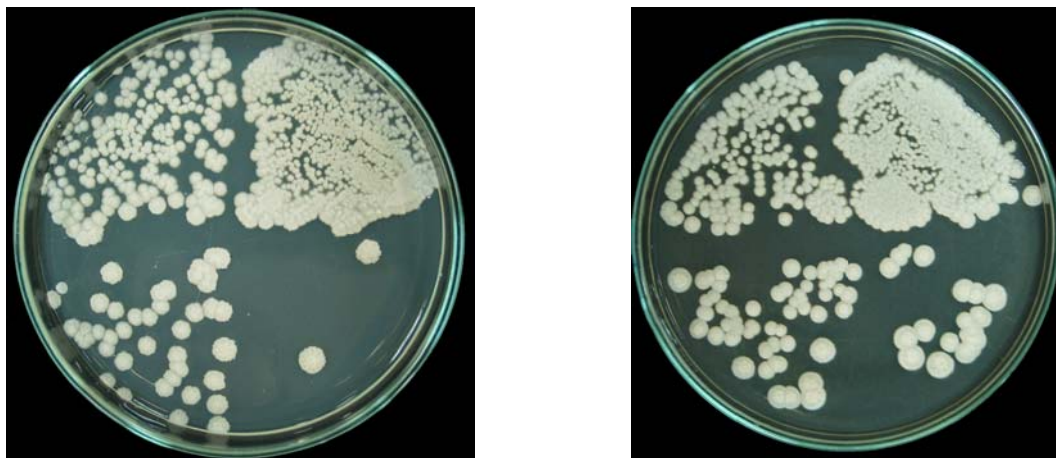


Ck - ATCC



Ck - Isolado Clínico

FIGURA 15 - Placas de Petri referentes aos grupos controle, com as sementeiras correspondentes aos microorganismos da espécie *C. krusei* (Ck).



Ct - ATCC

Ct - Isolado Clínico

FIGURA 16 - Placas de Petri referentes aos grupos controle, com as sementeiras correspondentes aos microorganismos da espécie *C. tropicalis* (Ct).

Os valores originais das médias das duplicatas em ufc/mL para as próteses dos grupos controle estão representados graficamente na Figura 17. Estes valores estão descritos a seguir nas Tabelas de 1 a 5. Nestas Tabelas, constam também as estatísticas descritivas das contagens: mínimo, máximo, mediana e média.

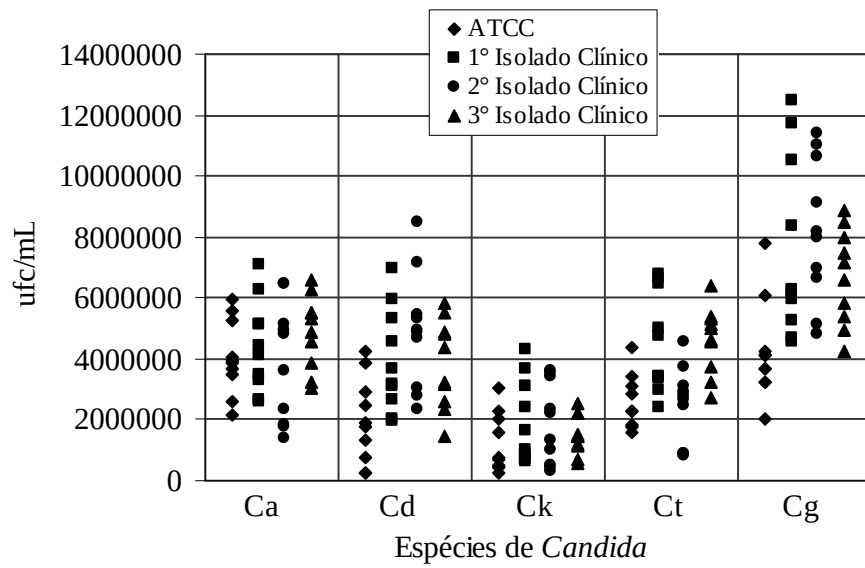


FIGURA 17 - Representação gráfica de contagens de microorganismos (ufc/mL) para as espécies *C. albicans* (Ca), *C. dubliniensis* (Cd), *C. krusei* (Ck), *C. tropicalis* (Ct) e *C. glabrata* (Cg).

Tabela 1 - Contagens (ufc/mL) dos microorganismos da espécie *C. albicans* (Ca) para as próteses dos grupos controle. Valores de ufc/mL em $\times 10^6$

Prótese	Origem			
	ATCC	Isolados Clínicos		
	Ca 2327	Ca 811593	Ca 5135	Ca 5133
1	3,90	6,30	6,50	5,50
2	5,90	4,10	4,80	5,30
3	3,70	7,10	1,80	3,00
4	3,50	5,10	1,40	3,90
5	5,30	2,60	5,10	3,20
6	3,90	5,10	1,80	5,50
7	5,60	3,30	3,60	6,60
8	2,60	3,50	2,30	4,60
9	2,20	4,40	6,40	6,30
10	4,10	2,70	4,90	4,90
Mínimo	2,20	2,60	1,40	3,00
Máximo	5,90	7,10	6,50	6,60
Mediana	3,90	4,25	4,20	5,10
Média	4,07	4,42	3,86	4,88

Tabela 2 - Contagens (ufc/mL) dos microorganismos da espécie *C. dubliniensis* (Cd) para as próteses dos grupos controle. Valores de ufc/mL em $\times 10^6$

Prótese	Origem			
	ATCC	Isolados Clínicos		
	Cd 7987	Cd CD7	Cd CD6	Cd CD8
1	0,27	2,00	8,50	2,60
2	1,90	2,00	7,10	1,40
3	2,50	7,00	4,70	4,90
4	4,30	3,10	5,30	2,30
5	2,90	4,60	4,90	3,20
6	3,90	3,70	5,40	5,80
7	1,30	6,00	3,10	4,80
8	1,80	5,30	2,80	5,50
9	0,24	3,20	2,40	4,30
10	0,75	2,60	5,00	3,20
Mínimo	0,24	2,00	2,40	1,40
Máximo	4,30	7,00	8,50	5,80
Mediana	1,85	3,45	4,95	3,75
Média	1,99	3,95	4,92	3,80

Tabela 3 - Contagens (ufc/mL) dos microorganismos da espécie *C. krusei* (Ck) para as próteses dos grupos controle. Valores de ufc/mL em $\times 10^6$

Prótese	Origem			
	ATCC	Isolados Clínicos		
	Ck 6258	Ck 5043	Ck 4749A	Ck 4801A
1	0,3	3,10	3,60	2,20
2	2,00	3,70	0,50	1,50
3	0,46	4,30	3,40	2,20
4	0,78	0,88	0,34	2,60
5	0,23	2,40	1,40	1,20
6	0,68	1,00	1,00	1,50
7	2,30	0,79	2,20	1,50
8	1,60	0,67	0,46	0,58
9	0,49	1,70	3,60	0,67
10	0,470	0,62	2,40	1,10
Mínimo	0,23	0,62	0,34	0,58
Máximo	2,30	4,30	3,60	2,60
Mediana	0,73	1,35	1,80	1,50
Média	1,20	1,92	1,89	1,50

Tabela 4 - Contagens (ufc/mL) dos microorganismos da espécie *C. tropicalis* (Ct) para as próteses dos grupos controle. Valores de ufc/mL em $\times 10^6$

Prótese	Origem			
	ATCC	Isolados Clínicos		
	Ct 4563	Ct 5292B2	Ct 5147B	Ct 7549
1	4,40	6,70	0,82	6,40
2	3,10	6,40	0,91	5,30
3	2,80	6,80	2,90	5,10
4	1,80	3,40	2,60	4,60
5	1,60	3,40	4,60	5,40
6	2,30	2,40	0,88	3,30
7	2,30	4,70	2,50	2,70
8	3,40	5,00	3,80	3,70
9	1,80	3,30	3,10	4,60
10	1,80	3,00	2,80	5,00
Mínimo	1,6	2,40	0,82	2,70
Máximo	4,40	6,80	4,60	6,40
Mediana	2,30	4,05	2,70	4,80
Média	2,53	4,51	2,50	4,61

Tabela 5 - Contagens (ufc/mL) dos microorganismos da espécie *C. glabrata* (Cg) para as próteses dos grupos controle. Valores de ufc/mL em $\times 10^6$

Prótese	Origem			
	ATCC	Isolados Clínicos		
	Cg 2001	Cg 5233B	Cg 5379B	Cg 5250B
1	4,20	4,60	8,00	8,00
2	3,70	6,00	6,60	7,50
3	7,80	4,70	11,0	7,10
4	3,70	6,20	5,10	5,80
5	2,00	12,0	11,0	5,40
6	3,30	13,0	4,80	6,60
7	3,20	8,40	9,10	8,90
8	4,10	11,0	11,0	8,50
9	6,10	5,20	8,20	4,90
10	4,10	6,30	7,00	4,20
Mínimo	2,00	4,60	4,80	4,20
Máximo	7,80	13,0	11,0	8,90
Mediana	3,90	6,25	8,10	6,85
Média	4,22	7,74	8,18	6,69

De acordo com a Figura 17 e as Tabelas de 1 a 5, é possível observar que os valores originais de ufc/mL, todos em torno de 10^6 , variaram muito em relação às médias, com distribuição diferente da normal. Desta maneira, foi realizada uma transformação dos valores originais para logaritmos na base dez para as próteses totais não submetidas à irradiação por microondas. Nas Tabelas de 6 a 10 são apresentados esses valores após a transformação logarítmica. São apresentadas, também, as estatísticas descritivas dessas medidas: mínimo, máximo, média, mediana e desvio padrão.

Tabela 6 - Logaritmos decimais de contagens dos microorganismos da espécie *C. albicans* (Ca) dos grupos controle, em ufc/mL

Prótese	Origem			
	ATCC	Isolados Clínicos		
	Ca 2327	Ca 811593	Ca 5135	Ca 5133
1	6,594	6,799	6,810	6,817
2	6,773	6,613	6,684	6,724
3	6,563	6,851	6,255	6,743
4	6,544	6,710	6,140	6,659
5	6,721	6,415	6,711	6,799
6	6,587	6,708	6,260	6,740
7	6,748	6,521	6,554	6,480
8	6,415	6,544	6,365	6,589
9	6,336	6,647	6,808	6,505
10	6,609	6,425	6,693	6,690
Mínimo	6,336	6,415	6,140	6,480
Máximo	6,773	6,851	6,810	6,817
Mediana	6,590	6,630	6,619	6,707
Média	6,589	6,623	6,528	6,674
Desvio Padrão	0,139	0,148	0,251	0,116

Tabela 7 - Logaritmos decimais de contagens dos microorganismos da espécie *C. dubliniensis* (Cd) dos grupos controle, em ufc/mL

Prótese	Origem			
	ATCC	Isolados Clínicos		
	Cd 7987	Cd CD7	Cd CD6	Cd CD8
1	6,296	6,299	6,929	6,415
2	6,279	6,301	6,853	6,158
3	6,391	6,845	6,668	6,687
4	6,629	6,496	6,724	6,369
5	6,467	6,659	6,687	6,505
6	6,587	6,568	6,735	6,763
7	6,114	6,775	6,486	6,685
8	6,250	6,724	6,441	6,740
9	6,296	6,500	6,373	6,637
10	5,875	6,420	6,695	6,500
Mínimo	5,875	6,299	6,373	6,158
Máximo	6,629	6,845	6,929	6,763
Mediana	6,296	6,534	6,691	6,571
Média	6,318	6,558	6,659	6,545
Desvio Padrão	0,221	0,190	0,176	0,192

Tabela 8 - Logaritmos decimais de contagens dos microorganismos da espécie *C. krusei* (Ck) dos grupos controle, em ufc/mL

Prótese	Origem			
	ATCC	Isolados Clínicos		
	Ck 6258	Ck 5043	Ck 4749A	Ck 4801A
1	6,481	6,496	6,551	6,342
2	6,307	6,563	5,699	6,170
3	5,663	6,633	6,535	6,342
4	5,892	5,944	5,531	6,408
5	5,362	6,380	6,134	6,076
6	5,833	6,013	6,000	6,188
7	6,354	5,898	6,344	6,164
8	6,196	5,826	5,663	5,763
9	5,690	6,223	6,556	5,826
10	5,672	5,792	6,373	6,045
Mínimo	5,362	5,792	5,531	5,763
Máximo	6,481	6,633	6,556	6,408
Mediana	5,862	6,118	6,239	6,167
Média	5,945	6,176	6,138	6,132
Desvio Padrão	0,368	0,321	0,395	0,213

Tabela 9 - Logaritmos decimais de contagens dos microorganismos da espécie *C. tropicalis* (Ct) dos grupos controle, em ufc/mL

Prótese	Origem			
	ATCC	Isolados Clínicos		
	Ct 4563	Ct 5292B2	Ct 5147B	Ct 7549
1	6,639	6,823	5,914	6,806
2	6,491	6,808	5,959	6,727
3	6,452	6,830	6,462	6,710
4	6,265	6,531	6,420	6,659
5	6,193	6,531	6,659	6,729
6	6,354	6,386	5,944	6,513
7	6,362	6,675	6,391	6,436
8	6,537	6,699	6,575	6,572
9	6,246	6,522	6,491	6,666
10	6,250	6,477	6,447	6,699
Mínimo	6,193	6,386	5,914	6,436
Máximo	6,639	6,830	6,659	6,806
Mediana	6,358	6,603	6,433	6,682
Média	6,378	6,628	6,326	6,651
Desvio Padrão	0,146	0,159	0,278	0,112

Tabela 10 - Logaritmos decimais de contagens dos microorganismos da espécie *C. glabrata* (Cg) dos grupos controle, em ufc/mL

Prótese	Origem			
	ATCC	Isolados Clínicos		
	Cg 2001	Cg 5233B	Cg 5379B	Cg 5250B
1	6,626	6,659	6,903	6,903
2	6,563	6,777	6,822	6,875
3	6,892	6,672	7,041	6,853
4	6,568	6,794	6,708	6,763
5	6,307	7,068	7,027	6,732
6	6,513	7,097	6,684	6,817
7	6,509	6,922	6,959	6,947
8	6,616	7,022	7,057	6,927
9	6,782	6,719	6,914	6,693
10	6,799	6,799	6,843	6,626
Mínimo	6,307	6,659	6,684	6,626
Máximo	6,892	7,097	7,057	6,947
Mediana	6,592	6,796	6,908	6,835
Média	6,617	6,852	6,895	6,813
Desvio Padrão	0,169	0,163	0,132	0,106

De acordo com as Tabelas de 6 a 10, é possível observar que os valores de logaritmos decimais de contagens dos microorganismos apresentam pouca variação em torno da média, com distribuição aproximadamente normal, viabilizando a aplicação da análise de variância – ANOVA, que avaliou as médias de valores de ufc/mL, após a transformação para logaritmo na base de 10. No presente estudo, dois fatores foram considerados para a análise: espécie de *Candida* (*C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. krusei*, *C. glabrata* e *C. tropicalis*) e origem dos microorganismos (culturas padrão ou amostras clínicas). Estudos preliminares mostraram que a interação entre os dois fatores tem pouca importância para as comparações de interesse. Assim, o efeito da interação foi incorporado ao resíduo da análise de variância. A pressuposição de homogeneidade de variância, avaliada pelos testes estatísticos usuais, não foi atendida para o fator espécies de microorganismos, mas, como o maior desvio padrão não chega a duas vezes o menor, aplicou-se este tipo de análise, dando-se maior atenção às diferenças altamente significantes, isto é, aquelas com valor -p bem menores do que o nível de significância adotado. Em seguida, foram então realizadas comparações múltiplas das médias duas a duas pelo teste de Tukey. Adotou-se o nível de 5% de significância como regra de decisão.

O sumário da análise de variância é apresentado na Tabela 11, onde se observa que os efeitos dos dois fatores em análise são significativos. A aplicação do teste de Tukey para a comparação de médias de espécies (Tabela 12) indicou que a média da espécie *C. glabrata* (Cg) é a maior, enquanto a média da espécie *C. krusei* (Ck) é a menor. As outras três médias são intermediárias e

equivalentes. Em relação à comparação de médias de origens, o teste de Tukey (Tabela 13) mostrou que a média de ATCC é significativamente menor quando comparada à média dos isolados de origem clínica.

Tabela 11 - Sumário da análise de variância

Efeito	Graus de liberdade	Média quadrática	F	p
Espécie	4	2,569	52,108	<0,001
Origem	3	0,445	9,021	<0,001
Resíduo	192	0,049		

Tabela 12 - Valores p do teste de Tukey para a comparação de médias de espécies, independentemente das origens

Espécie (n=40)	Espécie				
	Ca	Cd	Ck	Ct	Cg
<i>C. albicans</i> (Ca)		0,448	<0,001*	0,193	0,001*
<i>C. dubliniensis</i> (Cd)			<0,001*	0,988	<0,001*
<i>C. krusei</i> (Ck)				<0,001*	<0,001*
<i>C. tropicalis</i> (Ct)					<0,001*
<i>C. glabrata</i> (Cg)					

* Valores significantemente diferentes pelo Teste de Tukey ao nível de 5%

Tabela 13 - Valores p do teste de Tukey para a comparação de médias de origens, independentemente das espécies

Origem (n=50)	Origem			
	ATCC	1ºIC	2ºIC	3ºIC
ATCC		<0,001*	0,007*	<0,001*
1º Isolado Clínico (IC)			0,552	1,000
2º Isolado Clínico (IC)				0,614
3º Isolado Clínico (IC)				

* Valores significantemente diferentes pelo Teste de Tukey ao nível de 5%

Nas Tabelas 14 e 15 estão reunidos as médias e os desvios padrão de logaritmos de ufc/mL relativos às espécies e origens, respectivamente.

Tabela 14 - Médias e desvios padrão de logaritmos de ufc/mL relativos às espécies, independentemente das origens

Espécie (n=40)	Média	Desvio padrão	
<i>C. albicans</i>	6,604	0,173	A
<i>C. dubliniensis</i>	6,521	0,227	A
<i>C. krusei</i>	6,098	0,332	B
<i>C. tropicalis</i>	6,496	0,231	A
<i>C. glabrata</i>	6,790	0,179	C

Médias com letras iguais não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ao nível de 5%

Tabela 15 - Médias e desvios padrão de logaritmos de ufc/mL relativos às origens, independentemente das espécies

Origem (n=50)	Média	Desvio padrão	
ATCC	6,366	0,322	A
1° Isolado Clínico	6,568	0,298	B
2° Isolado Clínico	6,510	0,365	B
3° Isolado Clínico	6,564	0,277	B

Médias com letras iguais não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ao nível de 5%

Nas Figuras 18 e 19 estão representadas graficamente as médias, respectivamente, de espécies de microorganismos e de origens dos microorganismos, em logaritmo de ufc/mL. Nesses gráficos foram traçados também os intervalos de confiança para as médias populacionais, que permitem quantificar as diferenças entre as médias. Quanto maior a sobreposição dos intervalos, menor a evidência de diferença entre as médias.

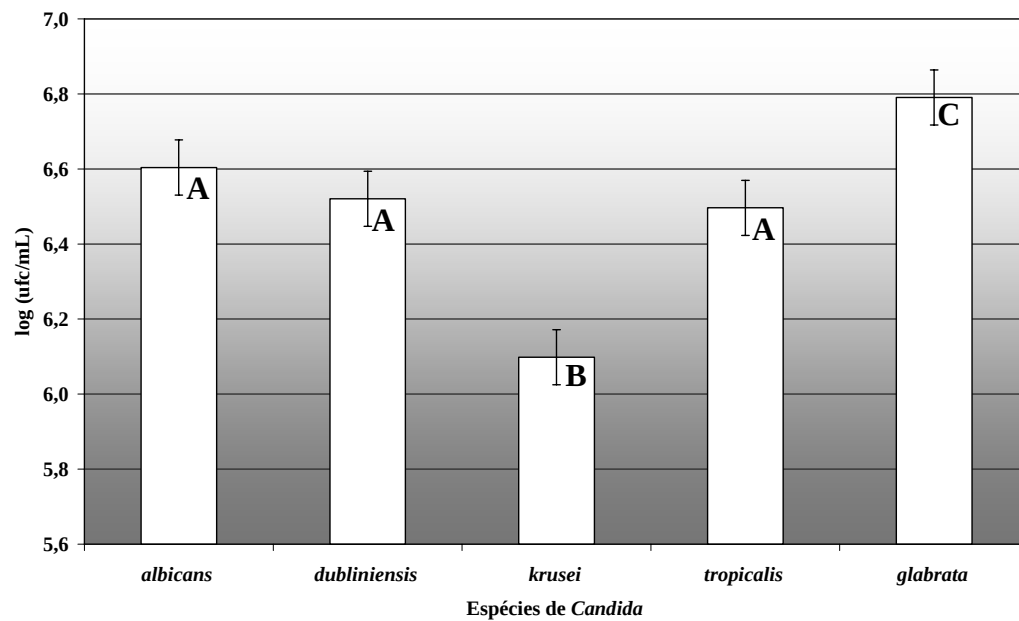


FIGURA 18 - Médias de logaritmos de ufc/mL relativas às espécies de microorganismos, independentemente das origens. As barras verticais representam intervalos de 95% de confiança para as médias populacionais. Colunas com letras iguais não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

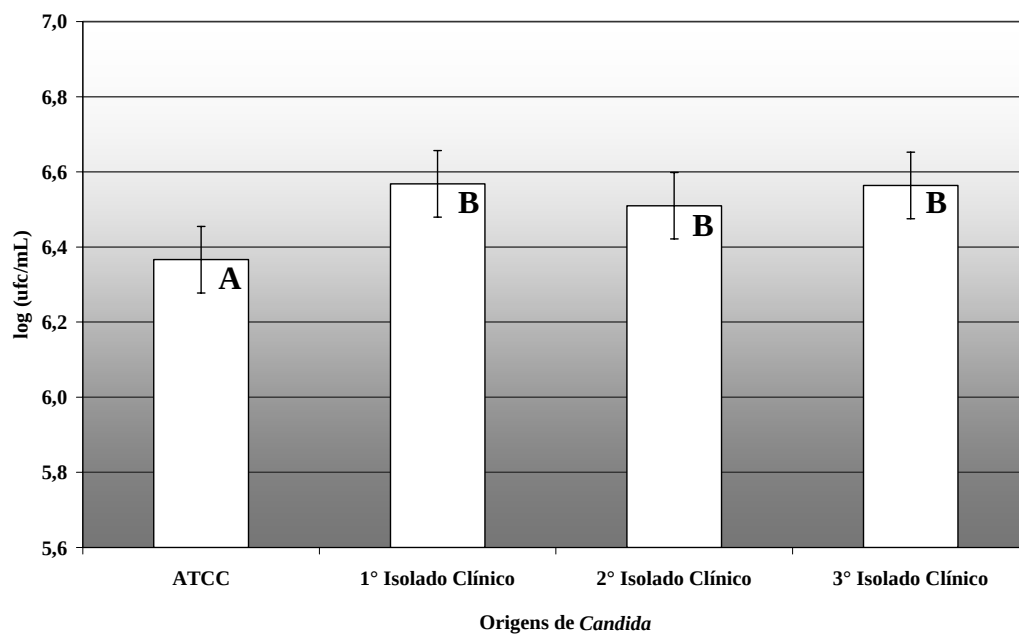


FIGURA 19 - Médias de logaritmos de ufc/mL relativas às origens de microorganismos, independentemente das espécies. As barras verticais representam intervalos de 95% de confiança para as médias populacionais. Colunas com letras iguais não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ao nível de 5%.



6 Discussão

A estomatite protética é a infecção mais comumente encontrada em pacientes portadores de próteses dentárias⁶⁷, principalmente em indivíduos imunocomprometidos^{73,74}, sendo a colonização por *Candida* um dos principais agentes etiológicos⁸⁰. A presença de próteses dentárias, por beneficiar a aderência e colonização do microorganismo *Candida*, favorece o aparecimento da estomatite protética³¹. Além disso, a higiene bucal e das próteses é essencial, tanto para manter as propriedades estéticas da reabilitação oral, quanto para prevenir o aparecimento de infecções oportunistas, como a estomatite protética⁸. Estudos recentes^{6,59,90,91} têm relacionado o tratamento desta infecção a um prático e simples procedimento de desinfecção de próteses, a irradiação por microondas. Dessa forma, o presente estudo avaliou a efetividade da irradiação por microondas a 650W por 3 minutos na desinfecção de próteses totais contaminadas por diferentes espécies do microorganismo *Candida*, isoladas de culturas padrão e de pacientes HIV positivo, e constatou que todas as próteses totais superiores, contaminadas com todos os microorganismos avaliados, foram efetivamente esterilizadas pela irradiação por microondas após 48 horas. Os resultados de estudos prévios^{20,47} indicaram que microorganismos podem penetrar nos poros de resinas acrílicas e que, geralmente, é necessário um período superior a 48 horas para que o crescimento microbiológico seja aparente no meio de cultura, indicando que organismos viáveis podem sobreviver no interior dos poros dos materiais²⁵. Dessa forma, neste estudo, as próteses totais foram incubadas por 7

dias a 37°C após a irradiação por microondas, a fim de se verificar a efetividade do procedimento de desinfecção a longo prazo. Todas as próteses totais incubadas por 7 dias também foram efetivamente esterilizadas pela irradiação por microondas. Esses resultados estão de acordo com estudos prévios que verificaram que a irradiação por microondas foi efetiva na desinfecção e até mesmo na esterilização de próteses dentárias^{6,59,69,78,90,91}. Um destes estudos⁶⁹ demonstrou esterilização de próteses totais contaminadas com *C. albicans* após 15, 10 e 8 minutos de irradiação por microondas a 720W. Silva et al.⁷⁸ também observaram que próteses dentárias simuladas contaminadas com suspensões individuais de *C. albicans* foram esterilizadas após 6 minutos de irradiação por microondas (650W). Este protocolo de desinfecção foi sugerido como um método efetivo para inativar *C. albicans* das superfícies de materiais reembasadores⁶⁰. Da mesma forma, Dixon et al.²⁵ demonstraram que microorganismos aderidos a resinas acrílicas podem ser erradicados após irradiação por microondas por um período de 5 minutos.

Apesar dos métodos de desinfecção por microondas utilizados nos estudos prévios^{6,25,56,59,60,69,78,90,91} serem efetivos para esterilização de próteses e de resinas acrílicas, os tempos de exposição selecionados podem resultar em alterações dimensionais das resinas utilizadas na confecção de bases de próteses³². Thomas, Webb⁸⁴ observaram que a energia gerada pelas microondas durante 10 minutos de irradiação em potência máxima pode gerar alterações dimensionais inaceitáveis em próteses totais. Porém, estas alterações foram mínimas em potência média por 6 minutos. Entretanto, os resultados de um recente estudo³²

demonstraram que 6 minutos de irradiação por microondas podem causar alterações dimensionais lineares em materiais para base de prótese, com valores variando entre 0.98% e 1.43%. Alterações dimensionais de bases de próteses desta magnitude, provavelmente, poderão resultar em compressão dos tecidos de suporte, gerando desconforto aos pacientes⁵⁴. Desta forma, no presente estudo, um tempo de exposição reduzido (3 minutos) foi utilizado e, segundo os resultados, suficiente para esterilizar todas as próteses totais simuladas contaminadas com as 5 espécies de *Candida*, isoladas de pacientes HIV positivo e de culturas padrão. Podemos supor que o tempo de exposição às microondas avaliado neste estudo deve limitar os efeitos indesejáveis da irradiação por microondas sobre a estabilidade dimensional das bases de prótese. Entretanto, futuros estudos são necessários para confirmar esta hipótese.

Diferentes regimes de desinfecção por microondas foram testados e recomendados na literatura^{6,25,56,59,60,69,78,84,90,91}. Na maioria dos estudos relatados que utilizaram a exposição às microondas como método de desinfecção, a irradiação foi realizada a seco^{6,69,90,91}. Entretanto, a efetividade da ação das microondas parece estar relacionada à imersão em água das amostras contaminadas durante a irradiação. No experimento de Rohrer, Bulard⁶⁹, próteses totais contaminadas com suspensões individuais de *C. albicans* foram irradiadas a 720W em diferentes períodos de exposição. Os microorganismos presentes nas próteses foram eliminados somente após 8 ou 10 minutos de irradiação, possivelmente, devido à irradiação ter sido realizada a seco. Dixon et al.²⁵ observaram que a imersão em água de amostras de resinas para base de próteses,

contaminadas com *C. albicans*, durante a exposição às microondas por 5 minutos em potência máxima, resultou em sua esterilização, enquanto que a irradiação destas amostras a seco, pelo mesmo tempo e potência descritos, resultou somente em sua desinfecção. Farias²⁶, em 2003, avaliou a efetividade das microondas na esterilização de pontas diamantadas contaminadas por uma suspensão formada por bactérias pertencentes ao meio bucal, tendo constatado a esterilização dos instrumentos imersos em água após 1 minuto de irradiação na potência de 800W. Por outro lado, aquelas pontas irradiadas a seco foram esterilizadas somente após 6 minutos de exposição. Friedrich Jr., Phillips²⁹ 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 microorganismo avaliado. Entretanto, quando as amostras foram umedecidas, não foi observado o crescimento do microorganismo. Além disso, Ikawa, Rossen⁴⁰ obtiveram uma redução de 99,9% no número dos microorganismos viáveis presentes em esponjas domésticas umedecidas após 1 minuto de irradiação por microondas. Assim, os resultados favoráveis observados no presente estudo podem estar relacionados ao fato de que todas as próteses simuladas foram imersas em água durante a exposição às microondas.

Apesar de vários estudos evidenciarem a ação letal das microondas sobre os microorganismos^{17,56,59,60,69,78}, os mecanismos pelos quais as microondas promovem a sua inativação não estão bem estabelecidos. Em um recente estudo¹⁷, foi observado que a irradiação por microondas de suspensões de *C. albicans* produziu alterações na integridade estrutural das células, modificando

a permeabilidade da membrana celular e seu metabolismo, resultando em morte celular. Alguns autores^{8,18,24,37,62,69,70} atribuem o efeito letal da irradiação sobre a atividade metabólica de diferentes microorganismos ao calor gerado pelas microondas (efeitos térmicos). Os resultados de um estudo prévio²⁷ demonstraram que a esterilização obtida com a irradiação por microondas foi devido a um efeito puramente térmico, uma vez que a inativação dos microorganismos ocorreu pelo vapor produzido durante a irradiação em recipientes selados. Entretanto, outros pesquisadores^{18,24,37,62,70,89} acreditam que somente o aumento da temperatura causado pela ação das microondas é insuficiente para explicar sua ação letal, sugerindo a existência de efeitos não-térmicos sobre a atividade metabólica dos diferentes microorganismos. Rosaspina et al.⁷⁰ demonstraram que as microondas promoveram alterações nos microorganismos diretamente proporcionais ao tempo de exposição utilizado, com a completa destruição das células ao final da irradiação. Os autores também observaram que essas alterações não ocorreram nas células submetidas ao aquecimento térmico convencional em banho de água, sugerindo a existência de efeitos mais complexos das microondas sobre os microorganismos. Estes efeitos mais complexos, descritos como não-térmicos, poderiam ser considerados uma interação entre o campo eletromagnético das microondas e as moléculas das células, resultando em mecanismos moleculares^{24,37,62}, mecânicos^{18,37} ou de aquecimento seletivo^{62,89}. Alguns autores⁷⁰ acreditam que, quando as microondas entram em contato com materiais contendo água, como as células microbianas, este líquido poderia absorver a radiação, fazendo as células vibrarem, o que causaria um aumento de sua energia

interna o suficiente para aumentar ao extremo a temperatura celular. Como resultado, ocorreriam alterações morfológicas nas células e sua conseqüente desintegração. Segundo Hiti et al.³⁷, as células biológicas são caracterizadas por apresentarem alto conteúdo de água na sua composição, justificando sua sensibilidade à irradiação por microondas. Além disso, dependendo do meio circundante dos microorganismos e da concentração dos 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^{62,89}. Isto poderia explicar, parcialmente, o efeito bactericida da irradiação por microondas^{18,62}. Além disso, tem sido sugerido que a energia gerada pelas microondas poderia causar uma oscilação muito rápida da célula microbiana. Conseqüentemente, o limite elástico da estrutura celular poderia ser excedido, causando a sua ruptura¹⁸. Entretanto, no caso das células de *C. albicans*, a irradiação em microondas parece alterar a permeabilidade celular, sem contudo produzir sua lise completa¹⁷. Com base nas informações disponíveis na literatura, a natureza da ação letal das microondas sobre os microorganismos avaliados no presente estudo pode ter sido uma combinação dos efeitos térmicos, moleculares, mecânicos ou de aquecimento seletivo.

O presente estudo constatou, também, diferenças significantes para os dois fatores avaliados neste estudo: espécie de *Candida* (*C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. krusei*, *C. glabrata* e *C. tropicalis*) e origem de *Candida* (culturas padrão ou amostras clínicas). Quando o fator espécie de *Candida* foi avaliado, os resultados evidenciaram que as próteses totais superiores contaminadas com o

microorganismo *C. glabrata* apresentaram valores médios de ufc/mL significativamente maiores do que aqueles das espécies *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. krusei* e *C. tropicalis*. Recentemente, os resultados do estudo de Luo e Samaranayake⁴⁹ indicaram que a espécie *C. glabrata* tem 247% mais afinidade ao acrílico quando comparada à *C. albicans*. He et al.³⁵ também demonstraram que a *C. glabrata* foi a única espécie de *Candida* a se aderir a todos os materiais para base de prótese avaliados. O processo de adesão das diferentes espécies de *Candida* ao acrílico é considerado, ainda, complexo. Entretanto, a maior aderência da *C. glabrata* pode ser atribuída a algumas diferenças importantes entre as espécies. Em primeiro lugar, os isolados de *C. glabrata* possuem tamanho reduzido quando comparados às outras espécies, como a *C. albicans*, necessitando de defeitos menores na superfície da resina acrílica para se instalar⁴⁹. Verran, Maryan⁸⁸ relataram que células de tamanho maior, como *C. albicans*, também são mais facilmente deslocadas da superfície da resina acrílica quando em comparação às células menores, como *C. glabrata*. Isso possivelmente pode explicar os maiores valores médios de ufc/mL desta espécie, uma vez que suas células são menores quando comparadas às células de *C. albicans*. Além disso, tem sido sugerido que os isolados de *C. glabrata* são mais hidrofóbicos quando comparados aos isolados de *C. albicans*^{49,57}. A hidrofobicidade da superfície celular está envolvida com a aderência de uma variedade de microorganismos a diferentes superfícies, além de ser considerada um importante atributo patogênico das espécies de *Candida*⁷⁵. A hidrofobicidade celular parece também afetar o número total de cepas aderidas a uma superfície através do

fenômeno de co-adesão, definido como a adesão de cepas a outras cepas e bactérias já aderidas⁷⁵.

Uma outra diferença significativa foi encontrada quando o fator espécie de *Candida* foi avaliado. As próteses totais superiores contaminadas com o microorganismo *C. krusei* apresentaram valores médios de ufc/mL significativamente menores do que aqueles relacionados às espécies *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. glabrata* e *C. tropicalis*. Essa diferença não era esperada, considerando que estudos prévios demonstraram que cepas de *C. krusei* têm maior aderência às superfícies acrílicas das próteses⁷⁵ e maior hidrofobicidade^{57,75}, quando comparadas às cepas de *C. albicans*. Porém, considerando que tem sido observada uma grande variação de hidrofobicidade intra-espécie^{75,76}, essa divergência nos resultados pode ser explicada pelo limitado número de isolados de *C. krusei* testados no presente estudo (4 isolados)^{44,57}. Embora alguns estudos^{13,35,44,49,50,57,75,76,81} investigaram os mecanismos de aderência do microorganismo *Candida* a diferentes superfícies, um número reduzido de espécies de *Candida* tem sido avaliado. Assim, futuras investigações devem ser realizadas para explicar os resultados do presente estudo.

Quando o fator origem de *Candida* foi avaliado, os resultados demonstraram que as próteses totais superiores contaminadas com os isolados clínicos de pacientes HIV positivo apresentaram valores médios de ufc/mL significativamente maiores do que aquelas contaminadas com cepas padrão. Alguns autores observaram que isolados clínicos de pacientes com AIDS ou HIV positivo apresentaram maior adesão às células buco-epiteliais do que isolados

clínicos de pacientes saudáveis⁸¹. Além disso, isolados clínicos obtidos de pacientes portadores de próteses com sinais clínicos de estomatite protética também foram mais aderentes às células buco-epiteliais do que os isolados obtidos de pacientes sem sinais da infecção⁵⁰. Entretanto, não foram encontrados na literatura dados que justifiquem a diferença de adesão observada entre isolados clínicos e cepas de referência. A habilidade de adesão destes isolados clínicos às células buco-epiteliais parece estar relacionada à produção de algumas enzimas específicas⁵⁰. Isolados clínicos de diferentes espécies de *Candida* produzem fosfolipase e proteinase, definidas como exoenzimas que atacam e degradam substratos e fosfolipídios, comuns em todas as membranas celulares^{13,50}. Estudos que avaliaram pacientes com estomatite protética⁵⁰ e indivíduos imunocomprometidos com AIDS¹³ observaram elevada produção de fosfolipase e proteinase entre seus isolados clínicos de *Candida*. Embora esses estudos tenham demonstrado uma maior adesão das cepas isoladas de pacientes com estomatite protética ou indivíduos imunocomprometidos às células buco-epiteliais, as diferenças no mecanismo de adesão às superfícies acrílicas entre os isolados clínicos de *Candida* e as cepas padrão ainda necessitam ser elucidados. Consequentemente, futuras investigações serão necessárias para explicar os resultados do presente estudo.

Os resultados desta investigação in vitro demonstraram que a irradiação por microondas durante 3 minutos a 650W pode ser uma alternativa consistente na esterilização de próteses totais contaminadas com diferentes espécies de *Candida* isoladas de pacientes HIV positivo. Alguns estudos clínicos

revelaram, também, efeitos benéficos das microondas no tratamento da estomatite protética^{6,59,90}. Além disso, a re-infestação da superfície das próteses irradiadas, bem como a re-infecção dos tecidos adjacentes à prótese, foram reduzidas dramaticamente nos pacientes que tiveram suas próteses totais expostas à irradiação^{6,59}. A candidíase oral, representada pela estomatite protética nos pacientes portadores de próteses, é a manifestação fúngica oportunista mais comumente associada à infecção pelo HIV^{68,73,74} e uma causa notável de mortalidade entre os indivíduos imunocomprometidos^{48,85}. A prevenção e o tratamento da candidíase oral associada ao HIV pode favorecer o prognóstico e a qualidade de vida dos pacientes infectados. Dessa forma, a irradiação por microondas das próteses dentárias, por ser um método de esterilização simples, seguro, efetivo e de baixo custo, poderia ser utilizado com sucesso para tratar e prevenir o aparecimento de estomatite protética nos pacientes imunocomprometidos, tendo uma aplicação clínica particular em instituições e hospitais onde estes pacientes são tratados.



7 Conclusão

Com base nas condições experimentais do presente estudo e de acordo com a metodologia empregada, foi possível concluir que:

1. Todas as próteses totais superiores do grupo experimental, contaminadas com todos os microorganismos avaliados, foram efetivamente esterilizadas pela irradiação em microondas após 3 minutos de exposição a 650W.
2. As próteses totais superiores do grupo controle, contaminadas com o microorganismo *C. glabrata*, apresentaram valores de ufc/mL significativamente maiores quando comparados àqueles das próteses do grupo controle contaminadas com as demais espécies avaliadas.
3. As próteses totais superiores do grupo controle, contaminadas com o microorganismo *C. krusei*, apresentaram valores de ufc/mL significativamente menores quando comparados àqueles das próteses do grupo controle contaminadas com as demais espécies avaliadas.
4. As próteses totais superiores do grupo controle, contaminadas com os microorganismos de origem clínica, apresentaram valores de ufc/mL significativamente maiores quando comparados àqueles das próteses do grupo controle contaminadas com microorganismos padrão.



8 Referências *

1. American Dental Association. Council on Dental Materials, Instruments and Equipment. Denture cleansers. J Am Dent Assoc. 1983; 106: 77-9.
2. American Dental Association. Council on Dental Materials and Devices. Specification nº. 12 for denture base polymers. Chicago; 1999.
3. Arendorf TM, Walker DM. Denture stomatitis: a review. J Oral Rehabil. 1987; 14: 217-27.
4. Asad T, Watkinson AC, Huggett R. The effect of disinfection procedures on flexural properties of denture base acrylic resins. J Prosthet Dent. 1992; 68: 191-5.
5. Asad T, Watkinson AC, Huggett R. The effects of various disinfectant solutions on the surface hardness of an acrylic resin denture base material. Int J Prosthodont. 1993; 6: 9-12.
6. Banting DW, Hill SA. Microwave disinfection of dentures for the treatment of oral candidiasis. Spec Care Dentist. 2001; 21: 4-8.
7. Barbosa DB, Compagnoni MA, Leles CR. Changes in occlusal vertical dimension in microwave processing of complete dentures. Braz Dent J. 2002; 13: 197-200.

* De acordo com estilo Vancouver. Disponível no site: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html.

8. Baysan A, Whiley R, Wright PS. Use of microwave energy to disinfect a long-term soft lining material contaminated with *Candida albicans* or *Staphylococcus aureus*. J Prosthet Dent. 1998; 79: 454-58.
9. Bell JA. The effectiveness of two disinfectants on denture base acrylic resin with an organic load. J Prosthet Dent. 1989; 61: 580-3.
10. Blignaut E, Messer S, Hollis RJ, Pfaller MA. Antifungal susceptibility of South Africa oral yeast isolates from HIV/AIDS patients and healthy individuals. Diagn Microbiol Infect Dis. 2002; 44: 169-74.
11. Blomgren J, Berggren U, Jontell M. Fluconazole versus nystatin in the treatment of oral candidosis. Acta Odontol Scand. 1998; 56: 202-5.
12. Border BG, Rice-Spearman L. Microwaves in the laboratory: effective decontamination. Clin Lab Sci. 1999; 12: 156-60.
13. Bosco VL, Birman EG, Cury AE, Paula CR. Yeasts from the oral cavity of children with AIDS: exoenzyme production and antifungal resistance. Pesqui Odontol Bras. 2003; 17: 217-22.
14. Brace ML, Plummer KD. Practical denture disinfection. J Prosthet Dent. 1993; 70: 538-40.
15. Budtz-Jorgensen E. Materials and methods for cleaning dentures. J Prosthet Dent. 1979; 42: 619-23.
16. Budtz-Jorgensen E, Mojon P, Banon-Clement JM, Baehni P. Oral candidosis in long-term hospital care: comparison of edentulous and dentate subjects. Oral Dis. 1996; 2: 285-90.

17. Campanha NH, Pavarina AC, Brunetti IL, Vergani CE, Machado AL, Spolidorio DMP. *Candida albicans* inactivation and cell membrane integrity damage by microwave irradiation. *Mycoses*. 2007; 50: 140-7.
18. Carrol DE, Lopez A. Lethality of radio-frequency energy upon microorganisms in liquid, buffered, and alcoholic food systems. *J Food Sci*. 1969; 34: 320-4.
19. Cartledge JD, Midgley J, Gazzard G. Non-*albicans* oral candidosis in HIV-positive patients. *J Antimicrob Chemother*. 1999; 43: 419-22.
20. Chau VB, Saunders TR, Pimsler M, Elfring DR. In-depth disinfection of acrylic resins. *J Prosthet Dent*. 1995; 74: 309-13.
21. Colombo AL, Nakagawa Z, Valdetaro F, Branchini MLM, Kussano JU, Nucci M. Susceptibility profile of 200 bloodstream isolates of *Candida* spp. collected from Brazilian tertiary care hospitals. *Med Mycol*. 2003; 41: 235-9.
22. Compagnoni MA, Nogueira SS, Russi S, Lombardo JG, Ferreira PCP. Influência da união prévia dos dentes artificiais na confecção das próteses totais. *Rev Assoc Paul Cir Dent*. 1993; 47: 1111-5.
23. Costa CR, Lemos JA, Passos XS, Araújo CR, Cohen AJ, Souza LKH et al. Species distribution and antifungal susceptibility profile of oral *Candida* isolates from HIV-infected patients in the antiretroviral therapy era. *Mycopathologia*. 2006; 162: 45-50.

24. Culkin KA, Fung DY. Destruction of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* in microwave-cooked soups. J Milk Food Technol. 1975; 38: 8-15.
25. Dixon DL, Breeding LC, Faler TA. Microwave disinfection of denture base materials colonized with *Candida albicans*. J Prosthet Dent. 1999; 81: 207-14.
26. Farias RJM. Esterilização de pontas diamantadas através da energia por microondas [Dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2003.
27. Fitzpatrick JA, Kwao-Paul J, Massey J. Sterilization of bacteria by means of microwave heating. J Clin Eng. 1978; 3: 44-7.
28. Fletcher J, Mather J, Lewis MJ, Whiting G. Mouth lesions in iron-deficient anemia: relationship to *Candida albicans* in saliva and to impairment of lymphocyte transformation. J Infect Dis. 1975; 131: 44-50.
29. Friedrich Jr EG, Phillips LE. Microwave sterilization of *Candida* on underwear fabric. A preliminary report. J Reprod Med. 1988; 33: 421-2.
30. Goldman GH, Ferreira MES, Marques ER, Savoldi M, Perlin D, Park S et al. Evaluation of fluconazole resistance mechanisms in *Candida albicans* clinical isolates from HIV-infected patients in Brazil. Diagn Microbiol Infect Dis. 2004; 50: 25-32.
31. Golecka M, Oldakowska-Jedynak U, Mierzwinska-Nastalska E, Adamczyk-Sosinska E. *Candida*-associated denture stomatitis in patients after immunosuppression therapy. Transplant Proc. 2006; 38: 155-6.

32. Gonçalves AR, Machado AL, Giampaolo ET, Pavarina AC, Vergani CE. Linear dimensional changes of denture base and hard chair-side reline resins after disinfection. *J Appl Polymer Sci.* 2006; 102: 1821-6.
33. Graf B, Trost A, Eucker J, Göbel UB, Adam T. Rapid and simple differentiation of *C. dubliniensis* and *C. albicans*. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2004; 48: 149-51.
34. Greenspan D. Treatment of oral candidíases in HIV infection. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1994; 78: 211-5.
35. He XY, Meurman JH, Kari K, Rautemaa R, Samaranayake LP. In vitro adhesion of *Candida* species to denture base materials. *Mycoses.* 2006; 49: 80-4.
36. Henderson CW, Schwartz RS, Herbold ET, Mayhew RB. Evaluation of the barrier system, an infection control system for the dental laboratory. *J Prosthet Dent.* 1987; 58: 517-21.
37. Hiti K, Walochnik J, Faschinger C, Haller-Schober EM, Aspöck H. Microwave treatment of contact lens cases contaminated with *Acanthamoeba*. *Cornea.* 2001; 20: 467-70.
38. Hoffman PN, Hanley MJ. Assessment of a microwave-based clinical waste decontamination unit. *J Appl Bacteriol.* 1994; 77: 607-12.
39. Hunter KD, Gibson J, Lockhart P, Pithie A, Bagg J. Fluconazole-resistant *Candida* species in the oral flora of fluconazole-exposed HIV-positive patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1998; 85: 558-64.

-
40. Ikawa JY, Rossen JS. Reducing bacteria in household sponges. *J Environ Health*. 1999; 62: 1-5.
 41. International Organization for Standardization. Specification 1567 for denture base polymers. 2nd ed. Switzerland: ISO; 1999.
 42. Jasnow SB, Smith JL. Microwave sanitization of color additives used in cosmetics: feasibility study. *Appl Microbiol*. 1975; 30: 205-11.
 43. Jorgensen E. *Candida*-associated denture stomatitis and angular cheilitis. In: Samaranayake LP, MacFarlane TW. *Oral Candidosis*. London: Butterworth; 1990. p.156-83.
 44. Klotz SA, Drutz DJ, Zajic JE. Factors governing adherence of *Candida* species to plastic surfaces. *Infect Immun*. 1985; 50: 97-101.
 45. Koray M, Ak G, Kurklu, Issever H, Tanyeri H, Kulekci G et al. Fluconazole and/or hexitidine for management of oral candidiasis associated with denture-induced stomatitis. *Oral Dis*. 2005; 11: 309-13.
 46. Kulak Y, Arikan A, Delibalta N. Comparison of three different treatment methods for generalized denture stomatitis. *J Prosthet Dent*. 1994; 72: 283-8.
 47. Lin JJ, Cameron SM, Runyan DA, Craft DW. Disinfection of denture base acrylic resins. *J Prosthet Dent*. 1999; 81: 202-6.
 48. Lopman BA, Barnabas RV, Boerma JT, Chawira G, Gaitskell K, Harrop T, et al. Creating and validating an algorithm to measure AIDS mortality in the adult population using verbal autopsy. *PLoS Med*. 2006; 8: e312. Available

- at: <http://medicine.plosjournals.org/perlserv/?request=get-document&doi=.1371/journal.pmed.0030312>
49. Luo G, Samaranayake LP. *Candida glabrata*, an emerging fungal pathogen, exhibits superior relative cell surface hydrophobicity and adhesion to denture acrylic surfaces compared with *Candida albicans*. APMIS. 2002; 110: 601-10.
 50. Lyon JP, Resende MA. Correlation between adhesion, enzyme production, and susceptibility to fluconazole in *Candida albicans* obtained from denture wearers. Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2006; 102: 632-8.
 51. MacFarlane TW, Samaranayake LP. Clinical oral microbiology. London: Wright; 1989.
 52. Martinez M, López-Ribot JL, Kirkpatrick WR, Coco BJ, Bachmann SP, Patterson TF. Replacement of *Candida albicans* with *Candida dubliniensis* in human immunodeficiency virus-infected patients with oropharyngeal candidiasis treated with fluconazole. J Clin Microbiol. 2002; 40: 3135-9.
 53. McCarthy GM. Host factors associated with HIV-related oral candidiasis. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1992; 73: 181-6.
 54. McCartney JW. Flange adaptation discrepancy, palatal base distortion, and induced malocclusion caused by processing acrylic resin maxillary complete dentures. J Prosthet Dent. 1984; 52: 545-53.
 55. Merchant VA. An update on infection control in the dental laboratory. Quintessence Dent Technol. 1997; 20: 157-65.

-
56. Mima EGO, Pavarina AC, Neppelenbroek KH, Spolidorio DMP, Machado AL, Vergani CE. Effect of different exposure times of microwave irradiation on the disinfection of a hard chairside reline resin. J Prosthodont. 2007 (*in press*, manuscript number-06-054).
 57. Minagi S, Miyake Y, Fujioka Y, Tsuru H, Suginaka H. Cell-surface hydrophobicity of *Candida* species as determined by the contact-angle and hydrocarbon-adherence methods. J Gen Microbiol. 1986; 132: 1111-5.
 58. Nakamoto K, Tamamoto M, Hamada T. In vitro effectiveness of mouthrinses against *Candida albicans*. Int J Prosthodont. 1995; 8: 485-9.
 59. Neppelenbroek KH. Efetividade da desinfecção de próteses totais por energia de microondas no tratamento de estomatite protética [Tese de Doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2005.
 60. Neppelenbroek KH, Pavarina AC, Spolidorio DMP, Vergani CE, Mima EGO, Machado AL. Effectiveness of microwave sterilization on three hard chairside reline resins. Int J Prosthodont. 2003; 16: 616-20.
 61. Nikawa H, Iwanaga H, Kameda M, Hamada T. In vitro evaluation of *Candida albicans* adherence to soft denture-lining materials. J Prosthet Dent. 1992; 68: 804-8.
 62. Olsen CM. Microwaves inhibit bread mold. Food Eng. 1965; 37: 51-3.
 63. Parvinen T, Kokko J, Yli-Urpo A. Miconazole lacquer compared with gel in treatment of denture stomatitis. Scand J Dent Res. 1994; 102: 361-6.

-
64. Pavarina AC, Pizzolitto AC, Machado AL, Vergani CE, Giampaolo ET. An infection control protocol: effectiveness of immersion solutions to reduce the microbial growth on dental prostheses. *J Oral Rehabil.* 2003; 30: 532-6.
 65. Perez LEC, Azevedo A, Machado AL, Vergani CE, Pavarina AC, Giampaolo ET. Efeito da desinfecção química e por microondas sobre a dureza e rugosidade de resinas para reembasamento. *Pesqui Odontol Bras.* 2003; 17: 247.
 66. Perezous LF, Flaitz CM, Goldschmidt ME, Engelmeier RL. Colonization of *Candida* species in denture wearers with emphasis on HIV infection: A literature review. *J Prosthet Dent.* 2005; 93: 288-93.
 67. Pires FR, Santos EBD, Bonan PRF, de Almeida OP, Lopes MA. Denture stomatitis and salivary *Candida* in Brazilian edentulous patients. *J Oral Rehabil.* 2002; 29: 1115-9.
 68. Revankar SG, Dib OP, Kirkpatrick WR, McAtee RK, Fothergill AW, Rinaldi MG et al. Clinical evaluation and microbiology of oropharyngeal infection due to fluconazole resistant *Candida* in HIV-infected patients. *Clin Infect Dis.* 1998; 26: 960-3.
 69. Rohrer MD, Bulard RA. Microwave sterilization. *JADA.* 1985; 110: 194-8.
 70. Rosaspina S, Salvatorelli G, Anzanel D, Bovolenta R. Effect of microwave radiation on *Candida albicans*. *Microbios.* 1994; 78: 55-9.
 71. Rudd RW, Senia ES, McCleskey FK, Adams ED Jr. Sterilization of complete dentures with sodium hypochlorite. *J Prosthet Dent.* 1984; 51: 318-21.

-
72. Samaranayake LP. Host factors and oral candidosis. In: Samaranayake LP, MacFarlane TW. Oral candidosis. London: Wright; 1990. p. 66-132.
 73. Samaranayake LP. Oral mycoses in HIV infection. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1992; 73: 171-80.
 74. Samaranayake LP, Holmstrup P. Oral candidiasis and human immunodeficiency virus infection. J Oral Pathol Med. 1989; 18: 554-64.
 75. Samaranayake YH, Wu PC, Samaranayake LP, So M. Relationship between cell surface hydrophobicity and adherence of *Candida krusei* and *Candida albicans* to epithelial and denture acrylic surfaces. APMIS. 1995; 103: 707-13.
 76. Samaranayake YH, Wu PC, Samaranayake LP, So M, Yuen KY. Adhesion and colonization of *Candida krusei* on host surfaces. J Med Microbiol. 1994; 41: 250-8.
 77. Shen C, Javid NS, Colaizzi FA. The effect of glutaraldehyde base disinfectants on denture base resins. J Prosthet Dent. 1989; 61: 583-9.
 78. Silva MM, Vergani CE, Giampaolo ET, Neppelenbroek KH, Spolidorio DMP, Machado AL. Effectiveness of microwave irradiation on the disinfection of complete dentures. Int J Prosthodont. 2006; 3: 151-6.
 79. Stern MA, Whitacre RJ. Avoiding cross-contamination in prosthodontics. J Prosthet Dent. 1981; 46: 120-2.
 80. Sullivan DJ, Moran GP, Pinjon E, Al-Mosaied A, Stokes C, Vaughan C et al. Comparison of the epidemiology, drug resistance mechanisms, and

- virulence of *Candida dubliniensis* and *Candida albicans*. FEMS Yeast Res. 2004; 4: 369-76.
81. Sweet SP, Cookson S, Challacombe SJ. *Candida albicans* isolates from HIV-infected and AIDS patients exhibit enhanced adherence to epithelial cells. J Med Microbiol. 1995; 43: 452-7.
82. Tarantino L, Tomassini S, Petti A, D'Arca S. L'impiego di un apparecchio a microonde nella sterilizzazione di strumentario odontoiatrico: possibilità e limiti. Minerva Stomatol. 1997; 46: 561-6.
83. Tamaki T. Processamento da base da dentadura. In: Tamaki T. Dentaduras completas. São Paulo: Savier; 1983. p. 197-207.
84. Thomas CJ, Webb BC. Microwaving of acrylic resin dentures. Eur J Prosthodont Rest Dent. 1995; 3: 179-82.
85. Thuler LC, Hatherly AL, Goes PN, Almeida e Silva Jr. Mortality descriptors in HIV in patients. Rev Saúde Pública. 1998; 32: 572-8.
86. Turano JC, Turano LM. Limpeza e polimento – adaptação das próteses totais. In: Turano JC, Turano LM. Fundamentos de prótese total. São Paulo: Santos; 2002. p. 449-63.
87. Tylenda CA, Larsen J, Yeh CK, Lane HC, Fox PC. High levels of oral yeasts in early HIV-1 infection. J Oral Pathol Med. 1989; 18: 520-4.
88. Verran J, Maryan CJ. Retention of *Candida albicans* on acrylic resin and silicone of different surface topography. J Prosthet Dent. 1997; 77: 535-9.

-
89. Watanabe K, Kakita Y, Kashige N, Miake F, Tsukiji T. Effect of ionic strength on the inactivation of micro-organisms by microwave irradiation. *Lett Appl Microbiol.* 2000; 31: 52-6.
 90. Webb BC, Thomas CJ, Whittle T. A 2-year study of *Candida*-associated denture stomatitis treatment in aged care subjects. *Gerodontology.* 2005; 22: 168-76.
 91. Webb BC, Thomas CJ, Harty DWS, Willcox MDP. Effectiveness of two methods of denture sterilization. *J Oral Rehabil.* 1998; 25: 416-23.
 92. Wenzel RP. Nosocomial candidemia: risk factors and attributable mortality. *Clin Infect Dis.* 1995; 20: 1531-4.
 93. Winguard JR, Merz WG, Rinaldi MG, Johnstone TR, Karp JE, Saral R. Increase in *Candida krusei* infection among patients with bone marrow transplantation and neutropenia treated prophylactically with fluconazole. *N Engl J Med.* 1991; 325: 1274-7.



9.1 Apêndice 1



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA



Comitê de Ética em Pesquisa

Certificado

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado "**EFETIVIDADE DA IRRADIAÇÃO POR MICROONDAS NA DESINFECÇÃO DE PRÓTESES TOTAIS CONTAMINADAS POR DIFERENTES ESPÉCIES DE CANDIDA ISOLADAS DE PACIENTES HIV POSITIVO**", sob o protocolo nº 42/05 e o relatório final de responsabilidade do Pesquisador (a) **CARLOS EDUARDO VERGANI**, estão de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/MS, de 10/10/96, tendo sido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa-FOAr.

Certify that the research project titled "**EFFECTIVENESS OF MICROWAVE IRRADIATION ON THE DISINFECTION OF COMPLETE DENTURES COLONIZED WITH DIFFERENT SPECIES OF CANDIDA ISOLATES FROM HIV PATIENTS**", protocol number 42/05, and final technical report, under Dr **CARLOS EDUARDO VERGANI**, responsibility, is under the terms of Conselho Nacional de Saúde/MS resolution # 196/96, published on May 10, 1996. This research has been approved by Research Ethic Committee, FOAr-UNESP.

Araraquara, 15 de dezembro de 2006.

Prof^a Dra Mirian Aparecida Onofre
Coordenadora

9.2 Apêndice 2

Tabela A1 – Dados dos valores originais (ufc/mL) das duplicatas referentes ao microorganismo *Candida albicans* – ATCC 2327, 48 horas após as placas de Petri do grupo controle terem sido semeadas. Valores de ufc/mL em $\times 10^6$

Prótese	Grupo controle	
	Duplicata 1	Duplicata 2
1	3,86	4,00
2	5,26	6,60
3	2,80	4,53
4	3,20	3,80
5	5,13	5,40
6	3,40	4,33
7	5,73	5,46
8	2,26	2,93
9	1,28	3,06
10	3,73	4,40
Mínimo	1,28	2,93
Máximo	5,73	6,60
Mediana	3,56	4,36
Média	3,66	4,45

Tabela A2 – Dados dos valores originais (ufc/mL) das duplicatas referentes ao microorganismo *Candida albicans* – isolado clínico 811593, 48 horas após as placas de Petri do grupo controle terem sido semeadas.

Valores de ufc/mL em $\times 10^6$

Prótese	Grupo controle	
	Duplicata 1	Duplicata 2
1	6,13	6,46
2	5,00	3,20
3	7,46	6,73
4	6,00	4,26
5	3,20	2,00
6	4,73	5,46
7	3,32	3,32
8	3,76	3,24
9	4,56	4,32
10	2,56	2,76
Mínimo	2,56	2,00
Máximo	7,46	6,46
Mediana	4,64	3,79
Média	4,67	4,17

Tabela A3 – Dados dos valores originais (ufc/mL) das duplicatas referentes ao microorganismo *Candida albicans* – isolado clínico 5135, 48 horas após as placas de Petri do grupo controle terem sido semeadas.

Valores de ufc/mL em $\times 10^6$

Prótese	Grupo controle	
	Duplicata 1	Duplicata 2
1	6,20	6,73
2	4,80	4,86
3	1,20	1,37
4	1,62	1,15
5	4,76	5,52
6	2,00	1,64
7	3,28	3,88
8	2,20	2,44
9	7,20	5,66
10	5,60	4,26
Mínimo	1,20	1,15
Máximo	7,20	6,73
Mediana	4,02	4,07
Média	3,88	3,75

Tabela A4 – Dados dos valores originais (ufc/mL) das duplicatas referentes ao microorganismo *Candida albicans* – isolado clínico 5133, 48 horas após as placas de Petri do grupo controle terem sido semeadas.

Valores de ufc/mL em $\times 10^6$

Prótese	Grupo controle	
	Duplicata 1	Duplicata 2
1	6,00	5,06
2	6,33	4,26
3	5,00	5,06
4	6,66	6,26
5	5,80	4,86
6	5,40	5,60
7	3,48	4,40
8	2,84	2,64
9	1,20	6,36
10	2,66	7,13
Mínimo	1,20	2,64
Máximo	6,66	7,13
Mediana	5,20	5,06
Média	4,53	5,16

Tabela A5 – Dados dos valores originais (ufc/mL) das duplicatas referentes ao microorganismo *Candida dubliniensis* – ATCC 7987, 48 horas após as placas de Petri do grupo controle terem sido semeadas. Valores de ufc/mL em $\times 10^6$

Prótese	Grupo controle	
	Duplicata 1	Duplicata 2
1	0,28	0,25
2	1,96	1,84
3	2,53	2,40
4	3,60	4,93
5	2,60	3,26
6	3,46	4,26
7	1,24	1,36
8	1,84	1,72
9	0,26	0,22
10	0,72	0,79
Mínimo	0,26	0,22
Máximo	3,60	4,93
Mediana	1,90	1,78
Média	1,84	2,10

Tabela A6 – Dados dos valores originais (ufc/mL) das duplicatas referentes ao microorganismo *Candida dubliniensis* – isolado clínico CD7, 48 horas após as placas de Petri do grupo controle terem sido semeadas. Valores de ufc/mL em $\times 10^6$

Prótese	Grupo controle	
	Duplicata 1	Duplicata 2
1	3,40	0,58
2	2,00	2,00
3	7,26	6,73
4	3,00	3,26
5	3,73	5,40
6	3,40	4,00
7	7,73	4,20
8	6,13	4,46
9	3,06	3,26
10	2,73	2,53
Mínimo	2,00	0,580
Máximo	7,73	6,73
Mediana	3,40	3,63
Média	4,24	3,64

Tabela A7 – Dados dos valores originais (ufc/mL) das duplicatas referentes ao microorganismo *Candida dubliniensis* – isolado clínico CD6, 48 horas após as placas de Petri do grupo controle terem sido semeadas. Valores de ufc/mL em $\times 10^6$

Prótese	Grupo controle	
	Duplicata 1	Duplicata 2
1	8,46	8,53
2	7,93	6,33
3	5,26	4,06
4	6,60	4,00
5	4,86	4,86
6	5,26	5,60
7	3,00	3,13
8	1,44	1,88
9	1,32	1,52
10	2,80	3,16
Mínimo	1,32	1,52
Máximo	8,46	8,53
Mediana	5,06	4,03
Média	4,69	4,30

Tabela A8 – Dados dos valores originais (ufc/mL) das duplicatas referentes ao microorganismo *Candida dubliniensis* – isolado clínico CD8, 48 horas após as placas de Petri do grupo controle terem sido semeadas.

Valores de ufc/mL em $\times 10^6$

Prótese	Grupo controle	
	Duplicata 1	Duplicata 2
1	2,44	2,76
2	1,28	1,60
3	5,00	4,72
4	2,48	2,20
5	3,16	3,24
6	6,08	5,52
7	4,40	5,28
8	4,64	6,36
9	4,08	4,60
10	3,32	3,00
Mínimo	1,28	1,60
Máximo	6,08	6,36
Mediana	3,70	3,92
Média	3,68	3,92

Tabela A9 – Dados dos valores originais (ufc/mL) das duplicatas referentes ao microorganismo *Candida krusei* – ATCC 6258, 48 horas após as placas de Petri do grupo controle terem sido semeadas. Valores de ufc/mL em $\times 10^6$

Prótese	Grupo controle	
	Duplicata 1	Duplicata 2
1	3,66	2,40
2	2,00	2,06
3	0,47	0,44
4	0,78	0,78
5	0,23	0,23
6	0,78	0,58
7	2,33	2,20
8	1,08	2,06
9	0,50	0,49
10	0,53	0,42
Mínimo	0,23	0,23
Máximo	3,66	2,40
Mediana	0,78	6,80
Média	1,23	1,16

Tabela A10 – Dados dos valores originais (ufc/mL) das duplicatas referentes ao microorganismo *Candida krusei* – isolado clínico 5043, 48 horas após as placas de Petri do grupo controle terem sido semeadas.

Valores de ufc/mL em $\times 10^6$

Prótese	Grupo controle	
	Duplicata 1	Duplicata 2
1	3,00	3,26
2	4,00	3,33
3	5,53	3,06
4	0,84	0,92
5	2,33	2,46
6	1,17	0,90
7	0,58	1,00
8	0,72	0,63
9	1,15	2,20
10	2,50	0,98
Mínimo	0,25	0,63
Máximo	5,53	3,33
Mediana	1,16	1,60
Média	1,95	1,87

Tabela A11 – Dados dos valores originais (ufc/mL) das duplicatas referentes ao microorganismo *Candida krusei* – isolado clínico 4749A, 48 horas após as placas de Petri do grupo controle terem sido semeadas. Valores de ufc/mL em $\times 10^6$

Prótese	Grupo controle	
	Duplicata 1	Duplicata 2
1	3,33	3,80
2	0,44	0,56
3	2,80	2,06
4	0,32	0,36
5	1,53	1,20
6	0,94	1,06
7	2,66	1,76
8	0,47	0,44
9	3,73	3,46
10	2,53	2,20
Mínimo	0,32	0,36
Máximo	3,73	3,80
Mediana	2,03	1,48
Média	1,87	1,69

Tabela A12 – Dados dos valores originais (ufc/mL) das duplicatas referentes ao microorganismo *Candida krusei* – isolado clínico 4801A, 48 horas após as placas de Petri do grupo controle terem sido semeadas.

Valores de ufc/mL em $\times 10^6$

Prótese	Grupo controle	
	Duplicata 1	Duplicata 2
1	2,33	2,06
2	2,06	0,90
3	2,13	2,26
4	3,00	2,13
5	1,10	1,28
6	0,96	2,13
7	2,00	0,93
8	0,64	0,52
9	0,63	0,71
10	1,36	0,86
Mínimo	0,63	0,52
Máximo	3,00	2,26
Mediana	1,68	1,10
Média	1,62	1,37

Tabela A13 – Dados dos valores originais (ufc/mL) das duplicatas referentes ao microorganismo *Candida tropicalis* – ATCC 4563, 48 horas após as placas de Petri do grupo controle terem sido semeadas. Valores de ufc/mL em $\times 10^6$

Prótese	Grupo controle	
	Duplicata 1	Duplicata 2
1	4,73	4,00
2	2,86	3,33
3	3,40	2,26
4	1,40	2,28
5	1,80	1,32
6	2,36	2,16
7	2,12	2,48
8	2,92	3,96
9	1,64	1,88
10	1,68	1,88
Mínimo	1,40	1,32
Máximo	4,73	4,00
Mediana	2,24	2,27
Média	2,49	2,55

Tabela A14 – Dados dos valores originais (ufc/mL) das duplicatas referentes ao microorganismo *Candida tropicalis* – isolado clínico 5292B2, 48 horas após as placas de Petri do grupo controle terem sido semeadas. Valores de ufc/mL em $\times 10^6$

Prótese	Grupo controle	
	Duplicata 1	Duplicata 2
1	8,66	4,66
2	6,06	6,80
3	8,46	5,06
4	4,20	2,60
5	3,80	3,00
6	2,26	2,60
7	5,40	4,06
8	5,80	4,20
9	3,06	3,60
10	2,66	3,33
Mínimo	2,26	2,60
Máximo	8,66	6,80
Mediana	4,80	3,83
Média	5,03	3,99

Tabela A15 – Dados dos valores originais (ufc/mL) das duplicatas referentes ao microorganismo *Candida tropicalis* – isolado clínico 5147B, 48 horas após as placas de Petri do grupo controle terem sido semeadas. Valores de ufc/mL em $\times 10^6$

Prótese	Grupo controle	
	Duplicata 1	Duplicata 2
1	0,90	0,74
2	0,87	0,94
3	3,20	2,60
4	2,80	2,46
5	4,20	4,93
6	0,89	0,87
7	2,40	2,53
8	3,80	3,73
9	2,93	3,26
10	2,33	3,26
Mínimo	0,87	0,74
Máximo	4,20	4,93
Mediana	2,60	2,56
Média	2,43	2,53

Tabela A16 – Dados dos valores originais (ufc/mL) das duplicatas referentes ao microorganismo *Candida tropicalis* – isolado clínico 7549, 48 horas após as placas de Petri do grupo controle terem sido semeadas. Valores de ufc/mL em $\times 10^6$

Prótese	Grupo controle	
	Duplicata 1	Duplicata 2
1	6,40	6,40
2	6,00	4,66
3	4,80	5,46
4	4,93	4,20
5	6,26	4,46
6	3,26	3,26
7	2,73	2,73
8	4,00	3,46
9	4,33	4,93
10	5,80	4,20
Mínimo	2,73	2,73
Máximo	6,40	6,40
Mediana	4,86	4,33
Média	4,85	4,37

Tabela A17 – Dados dos valores originais (ufc/mL) das duplicatas referentes ao microorganismo *Candida glabrata* – ATCC 2001, 48 horas após as placas de Petri do grupo controle terem sido semeadas. Valores de ufc/mL em $\times 10^6$

Prótese	Grupo controle	
	Duplicata 1	Duplicata 2
1	4,13	4,33
2	3,93	3,40
3	8,00	7,66
4	3,40	4,00
5	2,00	2,06
6	3,86	2,66
7	3,26	3,20
8	4,13	4,13
9	6,00	6,13
10	4,13	4,13
Mínimo	2,00	2,06
Máximo	8,00	7,66
Mediana	4,03	4,06
Média	4,28	4,17

Tabela A18 – Dados dos valores originais (ufc/mL) das duplicatas referentes ao microorganismo *Candida glabrata* – isolado clínico 5233B, 48 horas após as placas de Petri do grupo controle terem sido semeadas. Valores de ufc/mL em $\times 10^6$

Prótese	Grupo controle	
	Duplicata 1	Duplicata 2
1	7,60	7,60
2	9,53	10,4
3	4,86	4,53
4	6,46	6,00
5	12,7	10,6
6	13,4	11,6
7	8,33	8,40
8	10,9	10,1
9	5,46	5,00
10	6,33	6,26
Mínimo	4,86	4,53
Máximo	13,4	11,6
Mediana	7,96	8,00
Média	8,56	8,05

Tabela A19 – Dados dos valores originais (ufc/mL) das duplicatas referentes ao microorganismo *Candida glabrata* – isolado clínico 5379B, 48 horas após as placas de Petri do grupo controle terem sido semeadas. Valores de ufc/mL em $\times 10^6$

Prótese	Grupo controle	
	Duplicata 1	Duplicata 2
1	8,66	7,33
2	6,66	6,60
3	10,0	12,0
4	5,13	5,06
5	11,2	10,6
6	4,13	5,53
7	8,53	9,66
8	12,2	10,6
9	7,13	9,26
10	5,53	8,40
Mínimo	4,13	5,06
Máximo	12,2	12,0
Mediana	7,83	8,83
Média	7,91	8,45

Tabela A20 – Dados dos valores originais (ufc/mL) das duplicatas referentes ao microorganismo *Candida glabrata* – isolado clínico 5250B, 48 horas após as placas de Petri do grupo controle terem sido semeadas. Valores de ufc/mL em $\times 10^6$

Grupo controle		
Prótese	Duplicata 1	Duplicata 2
1	7,93	8,20
2	7,20	7,80
3	7,60	6,66
4	6,06	5,53
5	4,53	6,26
6	6,73	6,40
7	9,06	8,66
8	8,53	8,40
9	6,00	3,86
10	4,53	3,93
Mínimo	4,53	3,86
Máximo	9,06	8,66
Mediana	6,96	6,53
Média	6,81	6,57

Autorizo a reprodução deste trabalho (Direitos de
publicação reservados ao autor).

Araraquara, Março de 2007.

Paula Volpato Sanitá