

KARIN HERMANA NEPPELENBROEK

Efetividade da irradiação por microondas na esterilização de materiais reembasadores rígidos

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, para a obtenção do título de Mestre em Reabilitação Oral.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Cláudia Pavarina

Araraquara
2003

Neppelenbroek, Karin Hermana

Efetividade da irradiação por microondas na esterilização de materiais reembasadores rígidos / Karin Hermana Neppelenbroek. – Araraquara : [s.n.], 2003.

150 f. ; 30 cm.

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

Orientadora: Profa. Dra. Ana Cláudia Pavarina

1. Reembasadores de dentadura 2. Esterilização 3. Microondas
4. Infecção - Transmissão I. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marley Cristina Chiusoli Montagnoli CRB 8/5646

Serviço de Biblioteca e Documentação da Faculdade de Odontologia de Araraquara / UNESP

Dados curriculares

KARIN HERMANA NEPPELENBROEK

NASCIMENTO 25/09/1979 – Orlandia São Paulo

FILIAÇÃO Antonio Marino Geraldo Neppelenbroek

Jacyra Abrahão Neppelenbroek

1997/2000 Curso de graduação pela Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

2001/2002 Curso de pós-graduação em Reabilitação Oral, nível de Mestrado, pela Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP

Banca Examinadora

A na Cláudia Pavarina (Orientadora)

Carlos Eduardo Vergani

Maria da Glória

Agradeço a **Deus** pela minha conversão, pelas oportunidades concedidas e pelos sonhos que me permitiu realizar.

“Esperei no Senhor com toda a confiança. Ele se inclinou para mim, ouviu meus brados. Tirou-me da fossa mortal, de um charco de lodo; assentou-me os pés numa rocha, firmou meus passos; pôs-me nos lábios um novo cântico, um hino à glória de nosso Deus. Muitos verão essas coisas e prestarão homenagem a Deus, e confiarão no Senhor.”

SI 39:2-4

Dedicatória

Ao meu querido pai, **Antonio** pelo pleno apoio e pela intensa dedicação que permitiram a concretização dos meus ideais e deste acontecimento.

“Feliz o homem que encontrou a sabedoria, daquele que adquiriu a inteligência, porque mais vale esse lucro que o da prata, e o fruto que se obtém é melhor que o fino ouro.” Pv 3:13

A minha querida mãe, **Jacyra** pela contínua doação de amor incondicional e pelo grande laço de amizade, que ainda tanto contribuem à minha formação.

“Humilhai-vos, pois, debaixo da poderosa mão de Deus, para que Ele vos exalte no tempo oportuno. Confiai-lhe todas as vossas preocupações, porque ele tem cuidado de vós.” 1 Pe 5:6-7.

Ao meu irmão **Gustavo**, pelo incentivo na concretização dos meus ideais.

“Aquele, pois, que ouve estas palavras e as põe em prática é semelhante a um homem prudente, que edificou sua casa sobre a rocha. Caiu a chuva, vieram as enchentes, sopraram os ventos e investiram contra aquela casa; ela, porém não caiu, porque estava edificada na rocha.” Mt 7:24-25

À memória de minha querida **Tia Chafia**, pelo amor materno e pelas profundas lições de vida.

“A nossa esperança a respeito de vós é firme: sabemos que, como vós sois companheiros das nossas aflições, assim também o sereis da nossa consolação.” 2Co 1:7

DEDICO ESTE TRABALHO

A gradecimento especial

À minha orientadora, **Profa. Dra. Ana Cláudia Pavarina**, que pelo incentivo, pelas oportunidades concedidas, pela confiança no meu trabalho e pela paciência ao longo dessa caminhada, todo o meu agradecimento, respeito e admiração.

“Há um sábio que é sábio para si mesmo, e os frutos de sua sabedoria são verdadeiramente louváveis. O sábio ensina o seu povo e os frutos da sua sabedoria são duradouros. O homem sábio será cumulado de bênçãos. Aqueles que o virem o louvarão.” Ecl 37:25-27

À minha amiga, **Ana Cláudia**, pela atenção, conselhos, carinho e compreensão em importantes momentos da minha vida.

“Espera no Senhor e faze o bem; habitarás a terra em plena segurança. Confia no senhor a sua sorte, espera nele, e ele agirá. Como a luz, fará brilhar a tua justiça; e como o sol do meio-dia, o teu direito.” Sl 36: 3-6

A gradecimentos especiais

À minha co-orientadora **Denise Madalena Palomari Spolidorio**, pela confiança, apoio e amizade que tanto contribuíram para este acontecimento.

Ao professor **Carlos Eduardo Vergani**, pelo constante apoio e incentivo e pela credibilidade nos momentos mais difíceis dessa caminhada.

À professora **Ana Lúcia Machado** pela atenção, amizade e pela grande confiança em mim depositada.

À professora **Eunice Terezinha Giampaolo** pelo carinho, amizade sincera e confiança em todos os momentos.

Aos professores do Departamento de Materiais e Prótese, em especial, ao professores **Carlos Alberto dos Santos Cruz, Gelson Luís Adabo, Marco Antonio Compagnoni, Luís Geraldo Vaz e Sérgio Russi**, pela colaboração, amizade, apoio e convívio agradável.

A toda minha família, e em especial à **Tia Claudete e filhos**, e **Tia Jandyra e família** pelo incentivo constante e carinho.

“ Mesmo que eu tivesse o dom da profecia, e conhecesse todos os mistérios e toda a ciência; mesmo que tivesse toda a fé, a ponto de transportar montanhas, se não tiver amor, não sou nada. O amor é paciente, o amor é bondoso. Não tem inveja. O amor não é orgulhoso. Não é arrogante. Tudo desculpa, tudo crê, tudo espera, tudo suporta. As profecias desaparecerão, o dom da ciência findará. A nossa ciência é parcial, a nossa profecia é imperfeita. O amor jamais acabará. “ 1 Co 13:2-9

A gradecimentos

Aos colegas da pós-graduação, **André, Andréa, Daniela, Débora, Eduardo, Fabiana, Fabiano, Fernandinho, Hercules, Janaína, José Fernando, Marcinho, Márcio, Nara, Max, Raphael, Renata, Roberta, Rosangela, Sabrina, Sickan, Suzana, Vanessa e Weber** pelos muitos momentos de convívio agradável.

Aos amigos da 72ª turma da Faculdade de Odontologia de Araraquara, em especial às amigas **Carolina Letícia, Ana Carolina e Alice**, pelo incentivo e companheirismo em momentos importantes da minha vida.

Ao G.O.U. (Grupo de Oração Universitário), em especial, aos amigos **Débora, Laura, Roberto, Patrícia, Juliana e Fernanda** pelo redirecionamento da minha vida a Deus.

Ao amigo **José Antonio Zuanon**, pela valiosa contribuição nas fotografias deste trabalho.

Aos funcionários e estagiários do Laboratório de Patologia, em especial a **Glória, Betinha e Taís**, pelo apoio e amizade.

Aos estagiários da Disciplina de Prótese Parcial Removível, em especial, aos amigos **Adriana, Ewerton, Luciano e Maurício**.

Aos alunos da graduação e, em especial, à 75ª turma pelo companheirismo e compreensão que tanto favoreceram meu aprendizado.

Aos funcionários do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese, em especial ao **Sr. Moacir, Malú, Dulce, Inês, Sílvia e Maria Lúcia** pela amizade e colaboração.

Às funcionárias da Seção de Pós-Graduação, **Mara, Rosangela, Vera Lúcia, Sílvia e Regina** pela amizade e atenção com que sempre me atenderam.

Aos funcionários da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Araraquara pela atenção e amizade e, em especial, a **Maria José** pela solicitude e pela organização das referências bibliográficas deste estudo.

Aos funcionários do xerox da Faculdade de Odontologia de Araraquara, **Marquinho e Wellington**, pela amizade, paciência e atenção.

Aos amigos de Ituverava, em especial, às amigas **Jace, Jaque, Fabiana e Camila**, pelo carinho e apoio que tornaram muitos momentos inesquecíveis.

Aos porteiros e guarda-noturnos da Faculdade de Odontologia de Araraquara, em especial aos senhores **Euclides, Eliezer, Jesuel, Ailton e Guiomar** pela atenção e cuidados a mim direcionados.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para que este a realização deste acontecimento.

“Permaneça fiel ao teu amigo em sua pobreza, a fim de alegrar-te com ele na sua prosperidade. Permanece-lhe fiel no tempo da aflição, a fim de ter parte com ele em sua herança. Não me envergonharei de saudar um amigo, nem me esconderei da sua presença; e, se me acontecer algum mal por isso, eu o suportarei, mas quem o souber dele desconfiará.”Ecl 22:28-32

Sumário

Karin Hermana Neppelenbroek

1. INTRODUÇÃO.....	
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	
3. PROPOSIÇÃO.....	
4. MATERIAL E MÉTODO.....	
4.1-Material.....	
4.2-Instrumentos.....	
4.3-Aparelhos.....	
4.4-Métodos.....	
4.5- Planejamento Experimental	
5. RESULTADOS.....	
6. DISCUSSÃO.....	
7. CONCLUSÃO.....	
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	
RESUMO.....	
ABSTRACT.....	

1- Introdução

A fase de controle posterior é indispensável para assegurar a longevidade das próteses parciais removíveis. Durante essa avaliação, em muitos casos, observa-se a necessidade de reembasamento das bases, procedimento esse que pode ser realizado por meio de duas técnicas distintas: reembasamento mediato e reembasamento imediato⁴². O reembasamento do tipo mediato requer uma nova inclusão e prensagem da prótese para a polimerização da resina termoativada utilizada por este método, procedimentos estes que podem vir a acarretar possíveis alterações na dimensão vertical ou distorções irreversíveis na estrutura metálica da prótese parcial removível. Dessa forma, algumas resinas acrílicas autopolimerizáveis têm sido desenvolvidas para a realização do reembasamento do tipo imediato, proporcionando vantagens em relação ao método convencional^{3,13,17}. Dentre as principais vantagens, podem ser citadas a menor complexidade para sua realização, a rapidez na execução e o custo mais acessível. Além disso, os pacientes não necessitam permanecer sem as próteses, como ocorre no reembasamento mediato, durante a realização das fases laboratoriais⁵⁹.

As próteses removidas da cavidade bucal dos pacientes podem conter microrganismos patogênicos no interior dos poros da resina acrílica, tanto na sua superfície quanto na parte interna^{16,40}. Além disso, independentemente do tipo de acabamento utilizado, os microrganismos

podem penetrar e sobreviver a uma profundidade que varia de 1,0 a 2,0 micrometros²². Tem sido demonstrado, ainda, que os materiais reembasadores são facilmente colonizados e profundamente infectados por esses microrganismos, uma vez que apresentam maior porosidade quando comparados com as resinas termopolimerizáveis convencionais¹³.

Powell et al.⁴⁸, verificaram que 67% de todos os materiais enviados dos consultórios odontológicos aos laboratórios de prótese estavam contaminados com microrganismos patogênicos, incluindo *P. aeruginosa* e *Streptococcus sp.*, *M. tuberculosis*, *E. coli*, entre outros. Além disso, tem sido relatado que as próteses são contaminadas em vários estágios durante a confecção, podendo transmitir microrganismos para outros materiais, equipamentos odontológicos e também para os técnicos de laboratório que manipulam esses itens contaminados²⁰. Kahn et al.³⁴ demonstraram que próteses esterilizadas foram contaminadas após polimento com pedra-pomes e roda de pano. Verran et al.⁶⁶ não verificaram crescimento de microrganismos patogênicos em culturas realizadas a partir de amostras de pedra-pomes nova, indicando que as bactérias observadas nesse material são oriundas de próteses que foram polidas sem limpeza e desinfecção prévias. Além disso, foi verificado que as amostras de pedra-pomes coletadas em quatro laboratórios de prótese estavam contaminadas com microrganismos patogênicos não presentes na microbiota bucal, incluindo os gêneros *Acinetobacter* e *Moraxella*, causadores de infecções oculares, gênero *Enterobacter*, responsável por

infecções pulmonares, e gênero *Bacillus*, associado a endocardite bacteriana quando na presença de feridas cirúrgicas⁶⁹. Dessa forma, a manipulação das próteses durante os diversos procedimentos odontológicos pode dissipar e disseminar os microrganismos pelo ambiente, na forma de aerossóis⁶. Esses microrganismos podem ser inalados pelo profissional, pelo técnico de laboratório e por outros pacientes, resultando em infecção cruzada entre pacientes e profissionais^{2,35}.

Considerando esses aspectos, para o controle da infecção cruzada, torna-se necessária a utilização de procedimentos de desinfecção com o objetivo de reduzir a quantidade de microrganismos presentes nas superfícies das próteses. Chau et al.¹⁶ relataram que os técnicos de laboratório deveriam ter a responsabilidade inicial no controle da infecção cruzada. Entretanto, em um estudo de Clifford & Burnett¹⁸, 56% dos técnicos entrevistados não realizavam nenhum procedimento de desinfecção nos trabalhos protéticos. Sendo assim, há necessidade de conscientização desses profissionais em relação a esse aspecto. Além disso, os profissionais deveriam assumir uma postura definida em relação à prevenção da infecção cruzada, adotando alguns procedimentos fundamentais como rotina no consultório, tal como utilização das barreiras universais de proteção em qualquer procedimento clínico. Ainda, cabe aos cirurgiões-dentistas realizarem a desinfecção dos trabalhos protéticos antes e após os procedimentos laboratoriais^{2,16}.

Dentre os métodos de desinfecção de próteses, a utilização de soluções químicas, como glutaraldeído a 2%, hipoclorito de sódio, dióxido de cloro, iodoforo, álcool e clorexidina, tem sido recomendada^{10,12,16,29,36,43,54}. Entretanto, há vários inconvenientes relatados com a utilização desses agentes químicos para a desinfecção de próteses^{23,41}. O glutaraldeído, apesar de possuir ação bactericida, não deveria ser utilizado para desinfecção de próteses uma vez que a resina é porosa e essa solução ficaria impregnada nas porosidades, sendo difícil sua remoção, o que resultaria em efeito irritante aos tecidos bucais¹. Foi também relatado que o glutaraldeído pode ocasionar manchamento da resina acrílica para base de prótese⁵⁷. A utilização de hipoclorito de sódio, efetiva para desinfecção, tem sido limitada devido aos efeitos deletérios que pode ocasionar, como o branqueamento das bases acrílicas e a corrosão dos componentes metálicos das próteses⁴⁴. Além disso, a descoloração de bases de próteses pela utilização de soluções à base de clorexidina e a redução da resistência à flexão após a desinfecção por imersão em álcool têm sido relatadas^{4,5}.

Porém, se a prótese apresentar alto grau de contaminação, a desinfecção realizada somente por imersão não será completamente efetiva. Considerando esse aspecto, alguns estudos recomendaram a escovação da prótese com solução desinfetante ou sabão antes dos procedimentos laboratoriais para remoção de resíduos orgânicos para atuação mais efetiva da solução desinfetante^{12,43,56,64}. No

entanto, a remoção mecânica dos microrganismos pela escovação, mesmo quando associada a soluções desinfetantes, é dificultada pelas irregularidades presentes na superfície das próteses.

Tendo em vista as considerações anteriores, seria necessária a utilização de um método seguro, de custo reduzido e simples, que facilitasse a desinfecção das próteses. Neste contexto, algumas pesquisas vêm sendo realizadas para avaliar a irradiação em forno de microondas com o propósito de desinfecção e esterilização.

A desinfecção pelo método das microondas tem sido considerada uma alternativa à desinfecção por imersão. A irradiação por microondas pode ser utilizada para desinfecção de alimentos²¹, materiais microbiológicos laboratoriais³⁸, instrumentos odontológicos^{31,61}, aparelhos inaladores para sedação com óxido nítrico⁷², lentes de contato^{30,52}, esponjas de uso doméstico³², roupas íntimas contaminadas com *C.albicans*²⁶ e materiais utilizados em laboratórios de análises clínicas¹¹.

No forno de microondas caseiro, onde a frequência normalmente é de 2.450 MHz, a eletricidade passa por um tubo de magnetron para produzir as microondas em uma radiação eletromagnética com comprimento de onda de aproximadamente 10 centímetros. Essas microondas são canalizadas para um ventilador, que as distribui em uma cavidade no interior do forno contendo o material a ser irradiado. O aquecimento pela irradiação por microondas é fundamentado no princípio de que as microondas são absorvidas por

substâncias dielétricas em uma solução, como por exemplo, a água presente em alimentos ou em células biológicas⁶⁷. Quando esse fenômeno ocorre, o calor é gerado pela coesão e pela fricção entre as substâncias dielétricas que rotacionam vigorosamente para orientarem-se na direção no campo elétrico das microondas (cerca de 2.450 milhões de vezes por segundo). Portanto, o calor gerado é proveniente de uma perda dielétrica, e o aumento da magnitude dessa perda tende a converter a energia de microondas em maior quantidade de calor. Dessa forma, a absorção da irradiação pelas microondas promove uma alta energia interna nas moléculas dielétricas, produzindo uma elevada temperatura interna no material irradiado.

Entretanto, há pouca informação na literatura sobre a utilização da irradiação por microondas para desinfecção de resinas acrílicas. Roher & Bulard⁵¹ demonstraram que a exposição de próteses contaminadas com *S. epidermis*, *S. aureous*, *K. pneumonia*, *B. subtilis* e *C. albicans* à energia de microondas por 10 minutos a 720 Watts foi efetiva para a eliminação dos microrganismos. No entanto, a esterilização somente foi observada quando as próteses foram acopladas a um dispositivo rotacional tridimensional. Esse dispositivo, porém, não está comercialmente disponível. Webb et al.⁶⁸ demonstraram que o forno de microondas caseiro convencional pode promover uma redução do número de microrganismos nas próteses totais inoculadas com *C. albicans* e *S. gordonii* após 6 minutos de exposição a uma potência de 350 Watts.

Baysan et al.⁸ avaliaram a efetividade de diferentes métodos de desinfecção de materiais reembasadores resilientes contaminados com *C. albicans* e *S. aureus*. Três tipos de tratamento foram avaliados: os corpos-de-prova foram deixados a seco por 5 horas, irradiados por 4 minutos a 650 Watts (a seco) ou imersos em solução de hipoclorito de sódio. Os autores observaram que o hipoclorito de sódio e a irradiação com microondas promoveram uma redução na contagem de células. No entanto, o hipoclorito de sódio foi levemente mais efetivo para a desinfecção que a irradiação por microondas. Mais recentemente, a energia de microondas foi sugerida como um método efetivo na desinfecção de próteses totais superiores quando no tratamento da estomatite protética⁷. Foi observado que os níveis de reinfecção nas superfícies das próteses e de infecção na mucosa tecidual adjacente foram significativamente reduzidos nos pacientes cujas próteses foram irradiadas por microondas em relação aos pacientes cujas próteses foram imersas em solução de clorexidina⁷. Dixon et al.²⁴ demonstraram que 5 minutos de irradiação por microondas em potência máxima não esterilizou três resinas reembasadoras resilientes e uma resina acrílica para base de prótese quando as amostras foram testadas a seco. No entanto, quando os materiais avaliados foram imersos em água antes do tratamento com as microondas por 5 minutos, uma esterilização efetiva foi obtida.

Não há, até o presente momento, estudos realizados com o objetivo de avaliar o efeito da desinfecção por microondas sobre microrganismos presentes em resinas acrílicas rígidas, indicadas para reembasamento do tipo imediato. É importante enfatizar que não há, também, relatos na literatura disponível de estudos que avaliaram a utilização de forno de microondas caseiro na inativação de microrganismos patogênicos tais como os recomendados por uma recente publicação do *Handbook of disinfectants and Antiseptics*¹⁹, para estudos envolvendo simulação da microflora bucal. Entre esses microrganismos, há os que são considerados como indicadores de esterilização, como *S. aureus* (bactéria gram-positiva), *P. aeruginosa* (bactéria gram-negativa), *C. albicans* (fungo) e *B. subtilis* (aeróbico esporulado).

Com base nas considerações anteriormente citadas, este estudo teve como objetivo avaliar a efetividade da desinfecção por irradiação de microondas em resinas reembasadoras do tipo imediato contaminadas com microrganismos patogênicos.

2- Revisão da literatura

Olsen⁴⁶, em 1965, investigou o mecanismo de ação da irradiação por microondas sobre os microrganismos patogênicos. Os esporos de três leveduras (*Aspergillus niger*, *Penicillium sp.* e *Rhizopus nigricans*) foram irradiados por 2 minutos em um aparelho de microondas não convencional em uma potência de 5000 Watts. Após a irradiação, os esporos foram colocados em um béquer contendo 50 mililitros de água destilada e agitados. Em seguida, amostras de 0,5 mililitros da solução resultante foram semeadas em placas de Petri e o número de colônias foi contado. Foi observado que o número de esporos viáveis dos três fungos avaliados reduziu significativamente após a irradiação em microondas. O autor relatou que tem sido demonstrado que as espécies de *Aspergillus* e *Penicillium* são inativadas em temperaturas entre 336,6°C a 345,6°C, quando mantidas por 20 minutos. No entanto, a maior temperatura registrada no aparelho de microondas utilizado nesse estudo foi de 327,6°C. Considerando o tempo de exposição utilizado (2 minutos) e a incapacidade de uma levedura para reter uma temperatura aplicada por mais de 5 a 10 minutos, o autor concluiu que a redução no número de esporos após a irradiação não foi provavelmente originada de um efeito térmico convencional. Além disso, foi sugerido que as soluções salinas presentes no citoplasma dos esporos podem representar um alvo preferencial para a energia de microondas, o que leva a temperatura

interna desses microrganismos a exceder o suficiente para promover lise ou inativação.

Segundo Larato³⁷, em 1967, existe a possibilidade de transmissão de microrganismos de paciente para paciente por meio da reutilização da pedra-pomes para polimento de próteses. Procurando solucionar esse problema, o autor realizou um estudo que avaliou a efetividade da desinfecção da pedra-pomes por uma solução à base de hipoclorito de sódio por 30 minutos. Inicialmente, a pedra-pomes foi seca e dividida em 20 partes iguais, sendo uma metade misturada à solução desinfetante (A) e a outra à água (B). A roda de pano utilizada no torno também foi imersa na solução por 30 minutos. Todas as próteses contaminadas foram lavadas com água e sabão, ajustadas com ponta montada e lavadas novamente. Em seguida, 10 próteses foram polidas com a mistura A e 10 com a mistura B. Vinte minutos após o polimento, as amostras de pedra-pomes utilizadas foram semeadas em placas de Petri e as colônias viáveis foram quantificadas. Os resultados evidenciaram que, apesar das amostras misturadas com a solução A terem apresentado menor número de microrganismos que as amostras misturadas à solução B, a solução de hipoclorito de sódio não promoveu uma desinfecção efetiva na pedra-pomes. Diante dos resultados, o autor sugeriu que a pedra-pomes, além de ser misturada a uma solução desinfetante, deveria ser descartada após cada polimento. Esses cuidados, segundo o autor,

poderiam prevenir a transmissão de microrganismos entre os pacientes portadores de prótese.

Carroll & Lopez¹⁵, em 1969, realizaram um estudo para avaliar a possibilidade de um efeito não-térmico de inativação de microrganismos pelas microondas. Para os procedimentos experimentais, foi utilizado um aparelho de microondas não convencional com potência de 500 Watts. Inicialmente, foi avaliado o efeito das alterações de pH sobre os microrganismos testados (*B. subtilis*, *E. coli* e *S. cerevisiae*). Para isso, os microrganismos foram imersos em solução tampão com pH específico. Os microrganismos também foram inoculados em alimentos (leite, suco de tomate e suco de laranja) e irradiados por períodos entre 16 e 64 minutos antes das sementeiras nas placas de Petri. Os autores observaram que não houve redução significativa do número dos microrganismos testados nas soluções com diferentes valores de pH. Não houve redução dos microrganismos *S. cerevisiae* e *E. coli* inoculados no leite e no suco de tomate após o tratamento com as microondas. Para o suco de laranja, houve uma redução progressiva do número de microrganismo com o aumento do tempo de exposição às microondas. A variabilidade dos resultados obtidos levou os autores a sugerirem 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 da lise celular

de um microrganismo ocorrer devido à rápida oscilação das cargas celulares elétricas negativas em decorrência de interação com o campo eletromagnético das microondas. Essa oscilação, segundo os autores, pode exceder os limites elásticos da estrutura celular, promovendo seu rompimento. Foi também enfatizado que, desde que a energia das microondas é absorvida seletivamente por certas moléculas constituintes de uma célula microbiana, tais como DNA ou alguma proteína essencial, ocorre uma desnaturação irreversível dessas estruturas e os microrganismos podem ser inativados em níveis baixos de calor.

Katerberg Jr.³⁵, em 1974, realizou um estudo para determinar a presença de contaminação cruzada entre pacientes com próteses totais, incluindo próteses imediatas, durante a fase de acabamento no laboratório de prótese. As próteses foram demufladas, semeadas em placas de Petri e polidas com pedra-pomes. Em seguida, metade das próteses foi imersa em compostos quaternários de cloro e amônio por 15 minutos e a outra metade não foi desinfetada. As próteses foram semeadas em placas de Petri e incubadas a 37°C por 24 e 48 horas. Os resultados evidenciaram que houve uma redução do número de colônias viáveis para as próteses imersas em solução desinfetante. Por outro lado, a pedra-pomes sempre apresentou contaminação. Além disso, foi observada pouca contaminação após a demuflagem, sugerindo que a incorporação de microrganismos ocorreu nos procedimentos

subseqüentes a essa fase. Entre as possíveis causas da contaminação, o autor citou: 1- ajuste e reparo das próteses; 2- as mãos, o nariz e a boca dos técnicos de laboratório; 3- os aerossóis e as substâncias contaminadas no laboratório; 4- contaminação da água da torneira. O autor concluiu que os resultados obtidos indicam a presença de contaminação de paciente para paciente e de técnico para paciente via laboratório. Segundo o autor, a utilização de medidas simples, como esterilização da roda de pano e da pedra-pomes em autoclave e imersão das próteses em solução desinfetante por 15 minutos, pode reduzir os riscos de transmissão de doenças entre o consultório odontológico e o laboratório de prótese.

O efeito das condições de polimerização e do tipo de material na distribuição do peso molecular e do conteúdo de monômero residual de resinas acrílicas auto e termopolimerizáveis foi avaliado por Beech⁹, em 1975. Segundo o autor, o peso molecular é uma característica importante na determinação das propriedades do material como resistência à tração, ao impacto e à fadiga. O autor relatou que as resinas autopolimerizáveis apresentam propriedades inferiores relacionadas ao baixo peso molecular e/ou ao alto conteúdo de monômero residual. As amostras avaliadas demonstraram um peso molecular mais alto que o polímero original, entretanto, a amostra quimicamente ativada apresentou um peso molecular inferior. Após o armazenamento por 7 dias e o

aquecimento em água a 100°C por 2 horas, a resistência à flexão das amostras polimerizadas quimicamente aumentou em níveis comparáveis aos das resinas termopolimerizáveis. O autor também observou uma diminuição no peso molecular e um aumento na largura de distribuição do peso molecular, além de um aumento na porcentagem de polímeros com pesos inferiores a 10^5 . Assim, a resistência à flexão inferior das resinas autopolimerizáveis foi relacionada ao conteúdo de monômero residual e não ao peso molecular. Além disso, o aumento da relação tempo/temperatura de polimerização proporcionam aumento da formação de polímero e da velocidade da reação, respectivamente, resultando em um maior grau de conversão do monômero.

Culkin & Fung²¹, em 1975, avaliaram a efetividade da irradiação por microondas na eliminação de microrganismos presentes em alimentos e seu mecanismo de ação sobre os microrganismos irradiados. Para a realização dos experimentos, as bactérias selecionadas (*E. coli* e *S. typhimurium*) foram inoculadas em uma concentração de 10^7 org/mL nos alimentos líquidos (sopa de tomate, sopa de vegetais e caldo de carne). O número de células viáveis tanto nos alimentos crus quanto nos cozidos, para porções individuais (200 mililitros) ou triplas (600 mililitros), foi determinado por semeadura em placas de Petri incubadas a 37°C por 24 horas. A irradiação das sopas inoculadas foi realizada em períodos superiores a 150 segundos para porções individuais e a 10 minutos para

as porções triplas. Tiras de papel térmicas foram utilizadas nas mensurações das temperaturas das sopas irradiadas. Os resultados evidenciaram uma redução progressiva na viabilidade das bactérias avaliadas com o aumento do tempo de exposição às microondas. Foi observado padrão similar para o aquecimento das sopas avaliadas com maior temperatura observada na região intermediária. Segundo os autores, se a ação letal da energia de microondas fosse atribuída ao efeito do calor produzido pelas ondas, seria esperado que os microrganismos da região de maior temperatura apresentassem os menores valores de viabilidade microbiana. Entretanto, foi evidenciado que os microrganismos nas regiões superficiais, de temperatura inferior, apresentaram menores níveis de viabilidade quando comparado às regiões intermediárias, que apresentaram maior temperatura. Considerando esses aspectos, os autores sugeriram que o mecanismo de ação das microondas sobre os microrganismos pode ser explicado não somente por um efeito térmico, produzido pelo calor gerado com a irradiação, mas também por um provável efeito mecânico, resultante da intensidade do campo das microondas.

Latimer & Matsen³⁸, em 1977, realizaram uma série de experimentos para avaliar as microondas na inativação de bactérias

patogênicas presentes em laboratório de análises clínicas microbiológicas. As bactérias patogênicas gram-positivas e gram-negativas selecionadas (*B. subtilis*, *E. cloacae*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens*, *E. coli*, *P. mirabilis*, *P. aeruginosa*, *Alpha streptococcus* do grupo D, *Enterococcus* e *S. epidermidis*.) foram inoculadas em 50 mililitros de Tryptic Soy Broth (TSB) e incubadas pelo período noturno a 35°C. Após a incubação, as culturas foram irradiadas por 15, 30, 45 ou 60 segundos. Essas amostras foram diluídas e semeadas em placas de Tryptic Soy Agar (TSA). Além disso, tiras de papel com esporos de *B. stearothermophilus* foram irradiadas por um dos seguintes tempos experimentais: 15, 30, 45 e 60 segundos e 2, 3, 4 e 5 minutos. Após a exposição, as tiras foram inoculadas em TSB e incubadas a 56°C por 72 horas. Em outro experimento, suspensões de esporos de *B. subtilis* foram irradiadas em tempos entre 15 segundos e 11 minutos e semeadas em placas de TSA para quantificação dos esporos viáveis. Além disso, os autores testaram a efetividade das microondas nos tempos de exposição de 5, 10, 15 ou 20 minutos na desinfecção de embalagens autoclaváveis contendo placas de Petri plásticas com meio de cultura contaminado. Em seguida, as tiras foram incubadas em meio de TSB por 48 horas a 35°C. Os resultados desse estudo evidenciaram esterilização das bactérias patogênicas gram-positivas e gram-negativas selecionadas após 60 segundos de exposição às microondas. Por outro lado, as tiras de papel contaminadas com *B. subtilis* não foram esterilizadas após

11 minutos de irradiação em microondas. Além disso, os autores concluíram que um tempo de exposição de 5 minutos às microondas foi adequado para assegurar a eliminação dos esporos de *B. stearothermophilus* presentes nas culturas puras e que esse tempo também promoveu uma esterilização das placas contaminadas.

Fitzpatrick et al.²⁵, em 1978, avaliaram a efetividade da irradiação por microondas na esterilização de microrganismos patogênicos. Para os experimentos foram utilizados tubos de ensaio com suspensão salina de *S.aureus*; esporos a seco de *B.subtilis* ou tiras umedecidas com esporos de *B.subtilis*. Inicialmente, cada condição avaliada foi submetida a cinco irradiações sucessivas por 12 segundos a 1000 Watts. 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, 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.

Hume & Makinson³¹, em 1978, avaliaram a efetividade da irradiação por microondas e da utilização de óleos lubrificantes bactericidas para peças de mão na esterilização odontológica. Para os experimentos com as microondas, tiras de papel com esporos de *B. stearothermophyllus* foram irradiadas por tempos de até 64 minutos e incubadas por 24 horas. Instrumentais odontológicos (alicates ortodônticos, alargadores endodônticos, escovas de profilaxia e brocas carbide) foram contaminados com *S.aureus*, irradiados por tempos de até 12 minutos e incubados a 37°C por 24 horas. Em outro experimento, alicates ortodônticos e peças de mão, contaminados com *H. simplex*, foram irradiados por até 12 minutos e analisados quanto às alterações no citoplasma. Além disso, várias marcas de óleos lubrificantes foram aplicadas em meios de cultura com *S.aureus* incubados a 37°C por 24 horas. Os resultados demonstraram que a exposição às microondas não foi efetiva na inativação dos esporos em até 64 minutos de

exposição. Além disso, foi observado crescimento bacteriano mesmo após 12 minutos de exposição. O crescimento viral também foi positivo para todos os alicates irradiados, mas apresentou-se negativo para as peças de mão expostas irradiadas por 12 minutos. Foi demonstrado que os óleos lubrificantes avaliados, exceto o KaVo All-Air, apresentaram apenas um efeito bacteriostático. Os autores concluíram que a ineficácia na esterilização pela irradiação por microondas pode ser atribuída ao fato dos microrganismos terem sido protegidos das microondas pela superfície metálica dos instrumentos odontológicos, bem como pelo fato dos experimentos terem sido realizados com os microrganismos a seco, não sendo avaliados os efeitos do calor proveniente do meio circundante e das alterações ocorridas na água presente no próprio microrganismo.

Considerando o potencial de contaminação cruzada observado entre os pacientes portadores de próteses removíveis e os cirurgiões-dentistas, Stern & Whitacre⁶⁰, em 1981, recomendaram uma série de cuidados que podem ser tomados ante o tratamento protético. Os autores sugeriram que instrumentos difíceis de esterilizar, como arco facial e peças de mão, deveriam ser envolvidos com um plástico protetor e que instrumentos rotineiramente utilizados, como espátulas, moldeiras, deveriam ser esterilizados. Foi também recomendada a desinfecção de superfícies contaminadas com solução de iodo a 1% diluído em álcool 70% e de moldes e próteses removíveis em soluções químicas como

glutaraldeído a 2%, iodo a 1% diluído em álcool ou hipoclorito de sódio diluído em água. Além disso, foi enfatizado que os profissionais deveriam, em qualquer procedimento com pacientes ou manipulação de objetos contaminados, utilizar as barreiras universais de proteção (luvas, máscaras, gorro, avental e óculos), desprezando qualquer tipo de material descartável. Os autores concluíram que todos esses procedimentos conseguiram reduzir de forma eficiente o potencial de transmissão de doenças durante os tratamentos reabilitadores em prótese.

Sanborn et al.⁵⁵, em 1982, realizaram um estudo com o objetivo de avaliar o efeito da irradiação por microondas na esterilização de recipientes plásticos para cultura de células. Recipientes estéreis de várias marcas e dimensões foram inoculados com meios de cultura contendo um dos seguintes microrganismos: *E.coli*, *P. fluorescens*, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris*, *S. lútea*, *C. equi*, *B. alvei*, *B. globigii* e *S. faecium*. Após a contaminação, os recipientes foram submetidos às microondas nos tempos de exposição de 0, 15, 30, 60, 120, 180, 240, 300 ou 600 segundos. Após a irradiação, as superfícies dos recipientes foram recobertas com meio de cultura, incubadas a 37°C por 48 horas e avaliadas quanto à presença de crescimento bacteriano. Além disso, os autores avaliaram se os recipientes de culturas poderiam ser lavados, esterilizados por microondas e reutilizados. Para esses experimentos, recipientes utilizados foram escovados com detergente para remoção de

células aderentes e enxaguados quatro vezes com água deionizada. Após 2 horas em temperatura ambiente, os recipientes foram irradiados durante os tempos de exposição previamente selecionados. Em seguida, vários tipos de células foram colocados nos recipientes. O crescimento dessas células foi comparado com o de outras colocadas em recipientes novos quanto à capacidade de aderência e formação de monocamadas. Os resultados demonstraram que, após 3 minutos de irradiação, todos os recipientes contaminados com as bactérias selecionadas foram esterilizados. Não foi observada diferença no crescimento das células colocadas nos recipientes estéreis e não reutilizados em relação ao crescimento nos recipientes reutilizados após exposição às microondas.

Inoue et al.³³, em 1983 avaliaram o efeito do conteúdo de monômero residual sobre as propriedades viscoelásticas de uma resina termopolimerizável (Acron) e cinco resinas autopolimerizáveis (Repairsin, Cast resin, Palapress, Pour-n-cure e Pronto II. Além disso, os autores também avaliaram o efeito de um tratamento térmico em água a 100°C por 1 hora sobre a viscoelasticidade e quantidade de monômero residual das resinas acrílicas testadas. O conteúdo de monômero residual foi verificado por cromatografia gasosa e a leitura da viscoelasticidade dos materiais foi realizada em um viscoelastômetro dinâmico com temperatura entre 120 e 130°C. Cada corpo-de-prova foi pesado e armazenado em dissecador por 3, 7 ou 14 dias a $23 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Os resultados

demonstraram que a quantidade de monômero residual das resinas autopolimerizáveis foi de 3,6 a 4,7 vezes maior que a da resina termopolimerizável. A porcentagem do monômero residual das resinas autopolimerizáveis diminuíram com o armazenamento após a polimerização. Após o tratamento térmico a 100°C por 1 hora as propriedades viscoelásticas das resinas autopolimerizáveis melhoraram e a quantidade de monômero residual para todos os materiais avaliados foi diminuída.

Roher & Bulard⁵¹, em 1985, realizaram um estudo para avaliar a efetividade das microondas na redução da infecção cruzada entre consultório odontológico e laboratório de prótese. Os autores realizaram as experiências com os microrganismos inoculados em tubos de ensaio contendo meio de Brain-(Heart Infusion), próteses com metal ou totalmente em resina acrílica, brocas metálicas e peças de mão. Os corpos-de-prova foram contaminados com 10^5 org/mL de cada um dos seguintes microrganismos: três tipos de bactérias não esporuladas (*S. aureus*, *S. epidermidis* e *K. pneumoniae*), uma bactéria aeróbica esporulada (*B. subtilis*), uma bactéria esporulada anaeróbica (*C. histolyticum*), um fungo (*C. albicans*) e dois vírus (polio tipo 1 e herpes simplex tipo 1). Para as irradiações no forno de microondas, os corpos-de-prova foram ou não fixados a um dispositivo rotacional tridimensional desenvolvido pelos autores. Os corpos-de-prova

contaminados foram submetidos às microondas a uma potência de 720 Watts, nos tempos experimentais de 0, 1, 3, 5, 8 e 10 minutos, e incubados a 37°C. A bactéria *B.subtilis* foi também inoculada em tiras de papel irradiadas por 20 minutos. O crescimento dos microrganismos foi avaliado para todos os materiais após 24 e 48 horas pela análise da turvação do meio e crescimento de colônias em placas de Petri. Para a irradiação das próteses, duas condições foram avaliadas para os testes de estabilidade dimensional: as próteses foram mantidas por 15 minutos em água ou foram mantidas a seco, antes de serem irradiadas. Segundo os autores, os resultados obtidos quando o dispositivo rotacional tridimensional foi utilizado evidenciaram maior efetividade no tratamento com microondas. Os tubos de ensaio contaminados com a mistura de quatro bactérias aeróbicas e *C. albicans* não demonstraram crescimento após 10 minutos de irradiação. A esterilização da bactéria esporulada anaeróbica *C. histolyticum* ocorreu após 3 minutos de irradiação. As tiras de papel com a bactéria esporulada aeróbica *B. subtilis* demonstraram esterilização apenas após 15 minutos de irradiação. As brocas dentárias, quando imersas em suspensão de quatro bactérias aeróbicas e expostas às microondas por 10 minutos, apresentaram esterilização. As peças de mão contaminadas com a mesma suspensão bacteriana foram esterilizadas após 10 minutos de irradiação. As próteses contaminadas com as suspensões individuais de quatro bactérias aeróbicas e do fungo apresentaram esterilização para todos os microrganismos testados após

8 minutos de exposição às microondas. Quando uma mistura de suspensões desses microrganismos foi utilizada, a esterilização das próteses foi observada após 10 minutos de irradiação. Não foram observadas alterações dimensionais tanto para as próteses imersas previamente em água quanto para as mantidas a seco e expostas às microondas por até 16 minutos. Para uma esterilização efetiva de materiais odontológicos, os autores sugeriram a irradiação por microondas associada à utilização do dispositivo tridimensional desenvolvido nesse estudo.

Williams et al.⁶⁹, em 1985, realizaram um estudo para quantificar e avaliar as espécies de bactérias presentes na pedra-pomes em quatro laboratórios de prótese. Dez amostras de pedra-pomes de cada laboratório avaliado foram coletadas, semeadas em placas de Petri e incubadas. A identificação das espécies foi realizada com base nos resultados de testes bioquímicos e das características morfológicas das colônias. Os autores observaram uma predominância de microrganismos patogênicos nas amostras de pedra-pomes, incluindo os gêneros *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Moraxellae* e *Alcaligenes*. Além disso, foram sugeridos alguns procedimentos para reduzir a contaminação nos laboratórios, como utilização de doses únicas de pedra-pomes ou a mistura da pedra-pomes a uma solução desinfetante nos casos de utilização da roda de pano. Os autores enfatizaram que a

contaminação é um fator a ser considerado especialmente nos casos de manipulação de próteses totais mediatas e de próteses pertencentes a pacientes com doenças crônicas debilitantes. Com base nos resultados que evidenciaram a presença de alto número de bactérias nas amostras de pedra-pomes analisadas, os autores concluíram que os procedimentos de higiene, desinfecção e esterilização, adotados nos laboratórios de prótese e nos consultórios odontológicos, não são considerados aceitáveis.

Em 1985, Young et al.⁷² avaliaram a efetividade da irradiação por microondas na esterilização de aparelhos nasais para sedação com óxido nitroso. Os autores utilizaram o mesmo forno de microondas com dispositivo rotacional tridimensional idealizado por Roher & Bulard⁵¹. Inicialmente, os aparelhos nasais foram esterilizados com óxido de etileno e contaminados com rinovírus, vírus parainfluenza tipo 3, adenovírus tipo 1 e vírus herpes simplex tipo 1. Os aparelhos inoculados foram irradiados por 0, 1, 2, 4, 6, 8 ou 10 minutos. Após a desinfecção, os microrganismos residuais foram removidos das áreas contaminadas dos aparelhos por meio de enxágüe com meio de cultura. Duas amostras de 50 microlitros desse meio foram diretamente colocadas em duas monocamadas de células e, em seguida, foram realizadas diluições seriadas da solução resultante. A eliminação dos vírus testados após a irradiação em microondas foi avaliada pela observação da redução da

formação de placa (CPE) nas monocamadas infectadas. Os experimentos foram realizados em triplicatas. Além disso, com o objetivo de avaliar a possibilidade de efeitos deletérios por exposições sucessivas às microondas, um aparelho nasal foi irradiado por 25 vezes com intervalos de 5 minutos entre cada exposição. De acordo com os resultados, após 4 minutos de exposição às microondas, todos os vírus avaliados foram completamente inativados. O aparelho nasal exposto por 25 vezes consecutivas às microondas não evidenciou nenhuma alteração quanto à textura e flexibilidade. Os autores concluíram que os aparelhos nasais para sedação com óxido nitroso contaminados por vírus podem ser adequadamente esterilizados por meio de um forno de microondas convencional apropriadamente modificado por um dispositivo rotacional tridimensional.

Com base em um estudo prévio⁵¹ para esterilização de instrumentos odontológicos por irradiação em microondas, Roher et al.⁵², em 1986, desenvolveram um método para esterilização de lentes de contato hidrófilas. Previamente à inoculação, as lentes de contato utilizadas foram esterilizadas em autoclave. Em seguida, dez lentes de contato foram contaminadas com um dos seguintes microrganismos (10^6 org/mL): *S.aureus*, *S.pneumoniae*, *P.aeruginosa*, *P.vulgaris*, *B.cereus*, *E.coli*, *S.marcescens*, *A.fumigatus* e *C.albicans*. Após a contaminação, as lentes foram transferidas para casulos de hidratação

estéreis e colocadas em embalagens autoclaváveis, que foram fixadas no dispositivo tridimensional rotatório previamente desenvolvido pelos autores Roher & Bulard⁵¹. As embalagens contendo as lentes de contato foram irradiadas a 700 Watts por 1, 2, 4, 6, 8 ou 10 minutos. Após a irradiação, as lentes foram transferidas para tubos de ensaio contendo meio de cultura e incubadas a 37°C por 24 horas. O crescimento dos microrganismos foi avaliado por análise da turvação do meio de cultura nos tubos de ensaio. As amostras foram semeadas em placas de Petri e incubadas a 37°C por 48 horas ou 7 dias, de acordo com o microrganismo testado. Os experimentos foram realizados em triplicatas. Para a avaliação das possíveis alterações nas propriedades refringentes das lentes de contato após a irradiação, um par de lentes para hipermetropia foi exposto às microondas durante 10 minutos por 101 vezes. Além disso, um par de lentes de contato submetido a este tratamento foi preparado para avaliação em microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os resultados evidenciaram que a exposição às microondas resultou em desidratação das lentes de contato após um período de aproximadamente 2 minutos. Porém, uma nova hidratação com solução salina restaurou a forma e a aparência das lentes sem alterações microscópicas. Foi observada a presença de pequenas partículas nas superfícies das lentes de contato testadas para a refração. A MEV demonstrou pequenas partículas de detritos com estrutura cristalina em ambas lentes avaliadas. Os autores observaram que, para a esterilização completa das bactérias

avaliadas, foram necessários 8 minutos de irradiação em microondas. Já para a eliminação de dois fungos patogênicos avaliados (*C. albicans* e *A. fumigatus*), 4 minutos de exposição às microondas foram suficientes para promover inativação. Os autores atribuíram a efetividade de esterilização em microondas a um possível efeito “não térmico” proveniente dessa irradiação. Esse efeito seria explicado pela absorção das microondas em vários graus por moléculas fundamentais dos microrganismos, tais como os ácidos nucleicos.

Com o objetivo de minimizar a infecção cruzada entre o consultório odontológico e o laboratório de prótese, Henderson et al.²⁹, em 1987, avaliaram a efetividade de um protocolo experimental (*barrier system*) para desinfecção de próteses. O protocolo foi realizado de acordo com os seguintes procedimentos: 1- para a cultura inicial, foi obtida uma coleta, por meio de “swab oral”, das próteses removidas da cavidade bucal do paciente; 2- a prótese, no laboratório, foi escovada com uma solução de clorexidina a 4% por 1 minuto; 3- a prótese foi seca com jatos de ar; 4- a prótese foi imersa em uma das soluções desinfetantes avaliadas (glutaraldeído a 2%, glutaraldeído diluída ou hipoclorito de sódio a 5,25%) e submetida ao ultra-som por 10 minutos; 6- uma nova cultura foi obtida. Os resultados evidenciaram culturas positivas para todas as próteses removidas das cavidades bucais dos pacientes. Nas diversas coletas, menores números de culturas negativas foram observados com

as soluções de glutaraldeído concentradas e de hipoclorito de sódio em relação à de glutaraldeído diluída. Os autores recomendaram a utilização do protocolo desenvolvido, que foi considerado efetivo no controle de infecção cruzada no laboratório de prótese.

Robinson et al.⁵⁰, em 1987, avaliaram os efeitos de agentes de limpeza de próteses e da exposição a vapores de solventes na alteração de cor, na resistência à flexão e na estrutura microscópica de resinas acrílicas para base de prótese. Foram utilizadas duas resinas termopolimerizáveis, Trevalon C e Metrocyl Clear, polimerizadas por 6 horas a 70°C e 3 horas a 100°C, e uma resina autopolimerizável, De Trey Rapid Repair. As resinas foram imersas em peróxido alcalino, em hipoclorito ou em água, sob temperaturas recomendadas pelos fabricantes ou ainda, em temperaturas mais elevadas. As amostras não apresentaram alteração de cor quando imersas em qualquer das soluções preparadas nas temperaturas recomendadas. Entretanto, quando imersas nas soluções de desinfecção ou em água em temperaturas elevadas (95°C), as amostras demonstraram alteração de cor, tendo sido esse efeito mais pronunciado quando expostas à acetona, previamente às imersões. No entanto, esse tratamento em água aumentou de forma significativa a resistência à flexão das resinas avaliadas. Os resultados demonstraram diminuição na resistência à flexão quando as amostras de resina termopolimerizável foram expostas à acetona. Segundo os autores,

se forem utilizados ciclos curtos ou com baixas temperaturas, uma certa quantidade de monômero residual ou que não reagiu estaria presente na prótese confeccionada. Além disso, de acordo com os autores, em todos os tratamentos de limpeza, nos quais altas temperaturas foram utilizadas, o monômero residual poderia ter causado uma dissolução local e a re-precipitação das superfícies das pérolas do polímero, resultando em alteração de cor. Foi observado, ainda, que a resina Metrocryl apresentou um aumento significativo na resistência quando imersa em água quente, possivelmente devido a um aumento no grau de polimerização.

Friedrich Jr. & Phillips²⁶, em 1988, avaliaram a efetividade das microondas na esterilização de tecidos de algodão contaminados com *C. albicans*. Amostras de tecidos de algodão para roupas íntimas femininas foram imersas em suspensão de *C. albicans*, mantidas a seco em placas de Petri por três dias em temperatura ambiente e irradiadas por 5, 10, 15, 20, 25 ou 30 minutos. As amostras irradiadas foram semeadas em placas de Petri e incubadas por 48 horas a 35°C. Em um segundo experimento, as amostras foram umedecidas em solução salina estéril, irradiadas e semeadas em placas de Petri incubadas a 35°C por 48 horas. De acordo com os resultados, a exposição do material seco às microondas não foi efetiva para eliminar *C. albicans*. Entretanto, quando as amostras foram umedecidas em salina antes das irradiações e expostas às microondas por 5 minutos ou mais não foi observado

crescimento de *C. albicans*. Dessa forma, a esterilização por microondas de roupas íntimas, desde que mantidas úmidas, foi sugerida como um método para redução de doenças recorrentes.

O efeito da irradiação por microondas sobre a estabilidade dimensional de resinas acrílicas foi avaliado por Burns et al.¹⁴, em 1990. Vinte corpos-de-prova (36 mm X 6 mm) foram confeccionados para cada uma das resinas testadas (Lucitone 199, Triad e Perm). Em seguida, todos os corpos-de-prova foram pesados e mensurados. Seis amostras de cada material foram imersas em água à temperatura ambiente por 30 dias antes dos testes e seis amostras de cada resina foram armazenadas a seco pelo mesmo período de tempo. Após a armazenagem, os corpos-de-prova foram pesados e mensurados novamente. As amostras foram colocadas individualmente em um forno de microondas contendo um recipiente de vidro com água. Os corpos-de-prova foram irradiados por 15 minutos em potência máxima. Após a irradiação, os corpos-de-prova foram novamente pesados e mensurados. Os resultados demonstraram que todos os materiais testados apresentaram uma pequena alteração dimensional (de 0,02% a 0,03%) após a exposição às microondas. Entretanto, essas alterações não foram consideradas significantes clinicamente. Além disso, os autores observaram que as amostras mantidas a seco apresentaram aumento de peso e maior alteração dimensional que as amostras imersas em água.

Esse aumento de peso foi atribuído à absorção de água pelos corpos-de-prova durante a irradiação, devido ao ambiente úmido criado pela evaporação da água mantida no recipiente no interior do forno. Por outro lado, as amostras armazenadas em água antes da irradiação apresentaram redução de peso após a exposição às microondas.

Considerando o potencial de contaminação entre a clínica odontológica e o laboratório de prótese, Powell et al.⁴⁸, em 1990, realizaram um estudo com o objetivo de identificar microrganismos presentes em trabalhos protéticos. Para os experimentos, foram avaliados próteses totais, moldes, registros em cera e coroas enviados a vários laboratórios de prótese. Assim que eram recebidos nos laboratórios, esses trabalhos eram submetidos a um esfregaço por meio de *swab*. Em seguida, os *swabs* foram imersos em meio de cultura e submetidos a métodos e procedimentos laboratoriais padronizados para cultura, incubação e identificação de microrganismos. Os resultados indicaram que 67% dos trabalhos protéticos avaliados apresentaram presença de bactérias patogênicas como *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca* e *Pseudomona aeruginosa*. Além disso, os autores observaram que existe a possibilidade de transmissão de microrganismos patogênicos como *Streptococcus* do grupo A, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Chlamydia* e *Mycoplasma*. Os autores também enfatizaram, com base nos resultados, a importância de se realizar procedimentos para

controle de infecção cruzada entre pacientes, técnicos de laboratório e equipe odontológica.

Connor²⁰, em 1991, enfatizou após uma revisão da literatura, a importância de medidas para controle de infecção cruzada, sobretudo em procedimentos protéticos clínicos e laboratoriais. O autor relatou que o controle de infecção cruzada pode ser convenientemente discutido de acordo com as seguintes categorias: avaliação do paciente, proteção do cirurgião-dentista, desinfecção dos equipamentos e instrumentos, técnica clínica utilizada, manipulação de moldagens e assepsia do ambiente de laboratório de prótese. Neste contexto, foi ressaltado o aumento na população de pacientes imunocomprometidos, portadores de prótese, e que são considerados de alto risco para transmitir e adquirir doenças infecciosas. Dessa forma, os profissionais devem considerar todos os pacientes a serem tratados como sendo de alto risco e adotar medidas de controle para interromper a propagação de infecção, como a utilização das barreiras universais de proteção. O autor ressaltou também a importância da desinfecção de moldes, registros e próteses e outros materiais freqüentemente expostos à contaminação na cavidade bucal do paciente e não passíveis de esterilização. Foi enfatizado que a manutenção da assepsia tanto no consultório odontológico quanto no laboratório de prótese é essencial para prevenir a transmissão de bactérias, vírus e fungos. Considerando a alta prevalência

de contaminação cruzada durante os procedimentos protéticos, o autor enfatizou a necessidade do desenvolvimento de um programa de pesquisa e da melhoria dos métodos atuais de controle de infecção com o objetivo de melhorar a proteção da equipe odontológica, do técnico de laboratório e do paciente contra a disseminação de doenças infecciosas.

O efeito das microondas produzidas por dois fornos convencionais (Néon-licence Litton e Néon-type Riviera) sobre bactérias esporuladas e não- esporuladas foi avaliado por Najdovski et al.⁴⁵, em 1991. Suspensões aquosas de cepas vegetativas de *S.aureus*, *S. pyogenes* do Grupo A, *E. coli*, *P. aeruginosa* e *E. faecalis* e de esporos de *B. subtilis* e *B. stearothermophilus* foram irradiadas a 325 ou 650 Watts em diferentes tempos de exposição (5, 10, 15 e 20 minutos). Adicionalmente, cepas vegetativas de *S. faecalis* e esporos de *B.subtilis* e *B. stearothermophilus* a seco e em suspensões aquosas foram irradiados a 1.400 Watts, nos tempos de exposição de 3, 5, 10 e 20 minutos. Após a exposição às microondas, as amostras foram observadas microscopicamente e as culturas foram quantificadas por meio de semeadura em placas de Petri. Os resultados demonstraram que as cepas vegetativas avaliadas foram eliminadas após 5 minutos de irradiação a 650 Watts, exceto pelas cepas de *E. faecalis*, que foram inativadas após 10 minutos de exposição. Quando a potência de 1.400 Watts foi utilizada, cepas de *E. faecalis* a seco foram eliminadas após

5 minutos e as suspensões aquosas dos esporos bacterianos foram somente inativadas após 10 minutos (*B. subtilis*) ou 20 minutos (*B. stearothermophilus*). As suspensões a seco não foram completamente eliminadas mesmo após a exposição por 20 minutos a 1.400 Watts. Com base nos resultados, os autores sugeriram que os fornos de microondas convencionais podem ser utilizados para desinfecção quando em presença de uma quantidade suficiente de água.

Rosaspina et al.⁵³, em 1994, avaliaram o efeito da irradiação de microondas na esterilização de instrumentais cirúrgicos contaminados com *C. albicans*. As amostras (50 lâminas de bisturi em aço inoxidável e 25 lamínulas de microscopia) foram contaminadas com *C. albicans* a uma concentração de 10^7 org/mL. Em seguida, as amostras contaminadas foram imersas em recipiente de vidro contendo 0,4 cm de esferas de vidro e água destilada. Esses recipientes foram irradiados a 600 Watts durante 1, 3, 5, ou 6 minutos. As amostras do grupo controle foram preparadas similarmente às amostras irradiadas e esterilizadas em estufa por 2 horas a 140°C ou em autoclave por 20 minutos a 121°C. Amostras adicionais foram imersas em banho de água fervente durante os mesmos tempos determinados para as exposições às microondas. Além disso, algumas amostras foram preparadas para análise em microscopia eletrônica de varredura (MEV). As lâminas de bisturi e de microscopia foram colocadas em contato com placas de Petri contendo Trypic Soy

Agar e incubadas a 37°C por 48 horas. Os resultados demonstraram, para todas as amostras preparadas, uma efetiva esterilização após 2 minutos de irradiação por microondas. A análise em MEV revelou que alterações causadas pelas microondas para o microrganismo estudado foram proporcionais ao tempo de exposição testado. Quando amostras contaminadas foram colocadas em banho de água fervente por 9 minutos, foi verificada uma efetiva esterilização (inativação celular), embora não tenham sido observadas modificações na morfologia celular. Foi sugerido que as microondas produziram efeito letal inicial sobre os microrganismos sem provocar alterações na morfologia celular. A desintegração celular foi efetiva somente quando uma irradiação em tempo de exposição prolongado foi utilizada. Como as alterações morfológicas obtidas após a exposição em microondas foram completamente diferentes daquelas verificadas após o tratamento em banho de água, os autores concluíram que, além de um efeito proporcionado pelo aumento de temperatura, as microondas também exercem um efeito mais complexo no corpo celular dos microrganismos. Esse efeito, segundo os autores, ainda precisa ser avaliado.

Chau et al.¹⁶, em 1995, realizaram um estudo para avaliar a possibilidade de penetração de bactérias na resina acrílica após curto período de exposição. Os corpos-de-prova de três resinas acrílicas foram polidos apenas em uma de suas superfícies para simular as superfícies

externa e interna (não polida) de uma prótese. Em seguida, os corpos-de-prova foram imersos por 24 horas em um meio de cultura contendo bactérias gram-positivas e gram-negativas. Os corpos-de-prova contaminados foram, então, imersos em uma das soluções desinfetantes avaliadas (iodóforo, dióxido de cloro e hipoclorito de sódio a 5,25%) ou em uma solução salina estéril por 10 minutos (controle). Após a desinfecção, os dois lados dos corpos-de-prova foram submetidos à coleta de material para as sementeiras em placas de Petri. Essas 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 iodóforo 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 na placas de Petri. Os autores concluíram que a resina acrílica pode ser contaminada com bactérias tanto na parte externa quanto na interna e que o tratamento com hipoclorito de sódio foi eficiente para inativar esses microrganismos.

Hause & Errington²⁸, em 1995, realizaram um estudo para mensurar as alterações nos parâmetros do ciclo celular ocorridas durante a transição do crescimento vegetativo para a esporulação *B. subtilis*, com o objetivo de explicar o processo de divisão assimétrica verificada nesse

processo. Considerando que a tendência de crescimento do microrganismo *B. subtilis* em cadeias de células impede a utilização de aparelhos automáticos para avaliação das alterações celulares ocorridas, os autores desenvolveram um método microscópico fluorescente para analisar os parâmetros do ciclo celular em células individuais. De acordo com os resultados obtidos e com as mensurações das velocidades de alongação dos prolongamentos de replicação do DNA, foi possível obter uma escala detalhada de tempo para os eventos morfológicos iniciais de esporulação. Foi observado que a passagem da fase vegetativa para esporos tem início após 60 minutos e é principalmente constituída de alterações no ciclo celular seguida de mudanças nutricionais. Segundo os autores, o estágio sensitivo previamente citado no ciclo de replicação de DNA, sem o qual a célula é incapaz de esporular, poderia representar um ponto no ciclo de divisão celular. Nesse ponto, a célula morta não conseguiu alcançar a massa de iniciação para a replicação de DNA. Os autores concluíram que o final do evento celular, representado pela formação de septos de esporos assimétrico, ocorreu quando, no ciclo celular, uma célula não induzida poderia dividir-se centralmente, uma vez que a septação é uma versão modificada da divisão celular.

Polysois et al.⁴⁷, em 1995, avaliaram o efeito dos métodos de desinfecção por meio de glutaraldeído e microondas na estabilidade dimensional, na dureza e nas propriedades flexurais (deflexão, módulo e

resistência) de uma resina para base de prótese. Sessenta corpos-de-prova (65 mm X 10 mm X 2,5 mm) foram confeccionados em resina termopolimerizável (Paladon 65), polimerizados em microondas a 500 Watts por 3 minutos e então armazenados em água por 24 horas a 37°C antes da desinfecção. Para a desinfecção em glutaraldeído, os corpos-de-prova foram imersos em solução de glutaraldeído alcalino a 2% (Cidex-7) por 1 hora ou 12 horas. Para a desinfecção em microondas, os corpos-de-prova foram irradiados a 500 Watts por 3 ou 15 minutos. Durante a irradiação, um béquer com 150 mililitros de água foi colocado no interior do forno. Os corpos-de-prova utilizados como controle foram imersos em água por 1 hora ou 12 horas. Dez amostras foram confeccionadas para cada grupo. Após os procedimentos experimentais, cada corpo-de-prova foi analisado quanto à estabilidade dimensional, aos ensaios de flexão e à dureza respectivamente. Os resultados revelaram que não houve alterações significativas nas propriedades mecânicas avaliadas para os corpos-de-prova do grupo controle. Foi observado que os procedimentos de desinfecção testados (microondas ou imersão em glutaraldeído) promoveram alterações dimensionais lineares em todos os corpos-de-prova. Entretanto, essas alterações dimensionais não foram consideradas clinicamente significantes. As propriedades flexurais (resistência, módulo e deflexão) não foram alteradas pelos procedimentos de desinfecção. Além disso, as amostras irradiadas apresentaram um aumento nos valores de dureza comparadas às amostras do grupo

controle. Por outro lado, uma hora de imersão em glutaraldeído resultou em redução nos valores médios de dureza quando em comparação ao grupo controle. No entanto, as alterações de dureza para os três grupos avaliados não foram consideradas clinicamente significantes. Os autores concluíram que irradiação por microondas e a imersão em glutaraldeído podem ser indicadas como métodos de desinfecção de resinas acrílicas e sugeriram a utilização do microondas como uma alternativa viável, efetiva e rápida para a desinfecção de próteses.

Como a esterilização de próteses por meio de microondas tem sido recomendada, Thomas & Webb⁶³, em 1995, avaliaram o efeito desse método sobre a estabilidade dimensional de próteses totais. Vinte próteses totais superiores foram armazenadas a seco por um ano e então pesadas. As mensurações foram realizadas nas próteses mantidas a seco e após sua imersão em água por 7 dias a 37°C. Dez próteses foram irradiadas durante 10 minutos a 650 Watts por 15 vezes, mensuradas e pesadas. As outras dez próteses não foram irradiadas (controle). As próteses não irradiadas foram mensuradas após 54 dias em água, irradiadas 15 vezes a 350 Watts por 6 minutos e, então, mensuradas e pesadas. Os resultados evidenciaram aumento significativo nos pesos das próteses após a hidratação por 7 dias, que foi ainda maior após 54 dias de imersão em água. Não foi observado um aumento significativo nos pesos verificados entre as próteses hidratadas (controle) e as irradiadas.

Os autores concluíram que as próteses irradiadas a 650 Watts por 10 minutos apresentaram alterações dimensionais consideradas significativas. Entretanto, a irradiação das próteses a 350 Watts por 6 minutos foi recomendada pelos autores para esterilização de próteses, uma vez que promoveu uma alteração dimensional aceitável.

Em 1996, Cole & Robison¹⁹ relataram que, para selecionar os microrganismos adequados em uma avaliação de efetividade de tratamento químicos, é importante considerar os mecanismos de resistência germicida, bem como os conceitos de microrganismos patogênicos hospedeiros e indicadores. Com base em dados científicos publicados na literatura, os autores sugeriram alguns grupos de microrganismos que poderiam ser utilizados em pesquisas para avaliação da capacidade de desinfecção de agentes químicos. A utilização de formas bacterianas vegetativas gram-positivas, como *Staphylococcus aureus*, e gram-negativas, como *Pseudomonas aeruginosa*, foi recomendada. Estes microrganismos foram relatados como resistentes à inativação química, sendo a *P. aeruginosa* mais resistente a uma ampla variedade de classes de germicidas em relação ao *S. aureus*. Segundo os autores, de acordo com métodos padrões europeus e com um estudo que avaliou nove fungos expostos a sete germicidas, a *Candida albicans* foi considerada o fungo mais resistente e por isso deveria ser utilizada em pesquisas de desinfecção. Dentre os

esporos bacterianos, considerados os microrganismos mais resistentes à inativação por desinfecção, os autores recomendaram a utilização de esporos de *B. stearothermophilus* ou *B. subtilis*. Os autores relataram que esses microrganismos são considerados indicadores de esterilização e devem ser testados para validar métodos de desinfecção.

Os efeitos da irradiação por microondas sobre a inativação de bactérias patogênicas foram avaliados por Wu⁷⁰ em 1996. Quatro bactérias foram selecionadas por serem consideradas indicadoras de esterilização: *B. subtilis* e *S.aureus*, *B. pumilis* E₆₀₁ e *B.stearothermophilus*. Além disso, foram avaliados o *B. subtilis* var. *nigar* e o *B. cereus*. Os materiais selecionados para a irradiação (placas, bastões e papéis para embalagens de comida) foram contaminados individualmente com 10⁶ org/mL de uma das bactérias testadas. Os materiais foram divididos em vários grupos, sendo submetidos a potência alta ou média por tempos de exposição entre 0 e 50 minutos. Após a irradiação de cada grupo, os materiais foram colocados em cultura de Agar nutriente e incubados. Em seguida, o crescimento foi avaliado nos tubos após os tempos de incubação de 24, 48 e 72 horas para a quantificação das bactérias avaliadas. Foi observado que a eliminação de todas as bactérias sobre os itens contaminados não dependeu somente do tempo de exposição às microondas e dos tipos de materiais envolvidos, mas também da potência de irradiação utilizada e das

espécies de bactérias testadas. A bactéria *B. subtilis* foi considerada como uma ótima indicadora para a desinfecção em microondas, uma vez que necessitou de maior tempo de irradiação para ser eliminada (45 minutos em média potência ou 35 minutos em alta potência). Para os bastões e papéis para embalagens de comida testados, as outras bactérias testadas foram inativadas, em média, após 20 minutos em alta ou média potência.

Tarantino et al.⁶¹, em 1997, avaliaram a efetividade das microondas na esterilização de espelhos odontológicos contaminados com microrganismos patogênicos (*S.aureus*, *B. subtilis* e *B. sterarothermophilus*) inoculados em concentrações iniciais de 10^4 e 10^9 ufc/mL. Para simular condições clínicas, os instrumentos foram testados quando úmidos (irradiados imediatamente após a inoculação) e quando mantidos a seco (irradiados após 8 horas da inoculação). As irradiações foram realizadas a 650 Watts por 4 minutos em um aparelho de microondas em que o fabricante recomenda a imersão do material a ser irradiado em um líquido à base de aldeído. Para os experimentos, três diferentes grupos foram avaliados: 1- os instrumentos foram imersos no líquido e submetidos às microondas; 2- os instrumentos foram imersos em solução salina a 0,9% e submetidos apenas à irradiação no aparelho; e 3- os instrumentos foram apenas imersos no líquido e colocados em forno comum por 4 minutos, não sendo irradiados. Os autores observaram que

a esterilização ocorreu somente quando o líquido sugerido pelo fabricante foi utilizado (Grupo 3) ou quando a imersão no líquido foi associada às microondas (Grupo 1). A utilização de irradiação sem imersão no líquido não demonstrou uma completa eliminação dos microrganismos avaliados. De acordo com os resultados obtidos, os autores sugeriram que, para se obter uma esterilização efetiva, os instrumentos deverão ser imersos no líquido proposto pelo fabricante e irradiados em microondas.

Verran & Maryan⁶⁵, em 1997, avaliaram o efeito da rugosidade na aderência de *C. albicans* em resina acrílica e elastômero. Próteses de resina acrílica de polimetil metacrilato foram submetidas a polimento (superfície lisa) ou a desgaste manual com lixa de granulação 600 (superfície rugosa). Os moldes de silicone de adição foram confeccionados sobre uma superfície polida de resina acrílica (superfície lisa) ou sobre modelo de gesso (superfície rugosa). A rugosidade dos materiais foi mensurada por meio de um perfilômetro antes dos procedimentos de aderência. Em seguida, suspensões de *C. albicans* ($1,29 \times 10^7$ org/mL) foram adicionadas em placas de Petri contendo um dos materiais avaliados. Após a incubação por uma hora a 24°C, os materiais foram enxaguados cuidadosamente, para que as células pouco aderidas fossem removidas. Em seguida, os materiais foram secos em temperatura ambiente, fixados com metanol e corados para possibilitar a análise microscópica e a contagem do número de células aderentes por

área. Os resultados evidenciaram que não houve diferença estatisticamente significativa para o número de células verificadas em cada um dos lados das amostras com superfície lisa. As amostras com superfície rugosa apresentaram números de células significativamente mais elevados em relação às amostras com superfícies lisas. No entanto, os moldes de silicone com superfície rugosa demonstraram maior aderência comparados às próteses com superfície rugosa. Os autores concluíram que um aumento da rugosidade superficial facilitou a aderência de *C. albicans* nas superfícies da resina e do silicone avaliados.

A efetividade da irradiação por microondas na desinfecção de um material reembasador resiliente contaminado com microrganismos patogênicos foi avaliada por Baysan et al.⁸, em 1998. Os corpos-de-prova (2 cm X 2 cm) foram confeccionados em uma resina reembasadora resiliente (Molloplast -b) e polimerizados em microondas por 3 minutos a 650 Watts. Todos os corpos-de-prova foram esterilizados em autoclave, inoculados com os microrganismos 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 mililitros de salina fosfatada tamponada (PBS) para remoção de células não aderentes. As amostras confeccionadas foram divididas em quatro grupos (três experimentais e um controle) com dez amostras cada.

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

Furukawa et al.²⁷, em 1998, avaliaram a efetividade da solução de dióxido de cloro (Alcide LD) na desinfecção de reembasadores resilientes para próteses (Coe Soft e Coe Comfort). Na primeira fase do estudo, a efetividade das técnicas de spray e imersão em dióxido de cloro foi analisada para seis grupos experimentais (n=14). Cada grupo consistiu de dez amostras para avaliação da efetividade do dióxido de cloro e quatro amostras para avaliação em microscópio eletrônico de varredura (MEV). Os corpos-de-prova foram inoculados com *E. coli*, *S. aureus* e *C. albicans*, incubados a 37°C por 72 horas, desinfetados por spray ou imersão de dióxido de cloro por 3 minutos. Cada corpo-de-prova foi colocado em tubo de ensaio contendo Tryptic Soy Broth (TSB) e, a seguir, diluições 10⁻¹, 10⁻³ e 10⁻⁵ foram semeadas em meios seletivos: Mannitol Salt Agar para *S. aureus*; MacConkey Agar para *E. coli* e Tryptic soy com 5 µg/ml de gentamicina para *C. albicans*. As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas e as colônias foram contadas. A segunda fase do trabalho avaliou o tempo de exposição ao spray desinfetante. Foram confeccionados 48 corpos-de-prova, divididos em 4 grupos, sendo 3 corpos-de-prova de cada reembasador submetido ao desinfetante testado por 1, 3 ou 10 minutos. De acordo com os resultados, o dióxido de cloro para as técnicas de spray e a imersão por 3 minutos não foram efetivos para promover desinfecção dos materiais reembasadores avaliados. O aumento no tempo de desinfecção em até 10 minutos não foi efetivo na redução do número de microrganismos viáveis. Considerando

que, mesmo após a desinfecção, houve a presença elevado número de microrganismos viáveis nos materiais reembasadores avaliados, os autores sugeriram, para um efetivo controle de contaminação cruzada, a remoção desses materiais das bases das próteses antes de seu envio ao laboratório.

Radford et al.⁴⁹, em 1998, compararam a capacidade de aderência da *C. albicans* (com e sem alterações fenotípicas) às superfícies de uma resina acrílica termopolimerizável (Trevalon) e dois materiais reembasadores (Molloplast B e Novus) com diferentes rugosidades superficiais. Para cada material, foram confeccionados 30 corpos-de-prova unidos dois a dois e uma das hemi-partes de cada um foi polimerizada contra duas lâminas de vidro e não receberam acabamento (controle). A outra hemi-parte dos corpos-de-prova da resina termopolimerizável recebeu acabamento com fresa de aço e dos reembasadores com lixas de carbetto de silício. As colônias com e sem alteração de morfologia foram obtidas a partir de colônia padrão de *C. albicans* e incubadas por 18 a 20 horas em caldo nutriente. Em seguida, uma suspensão celular (10^7 /org/ml) foi incubada durante uma hora em placas de orifícios. Após a remoção das placas, os corpos-de-prova foram secos, montados em lâminas de vidro e corados. As leveduras e hifas aderidas foram contadas microscopicamente pela técnica de amostra estratificada. Para as leveduras, os resultados demonstraram que não houve diferença

estatisticamente significativa na adesão dos dois tipos de *C. albicans*. Além disso, foi observado que esses tipos morfológicos apresentaram maior aderência nas superfícies com acabamento e também para os materiais reembasadores em relação à resina termopolimerizável. Para as hifas, foi observado maior aderência de *C. albicans* com alteração fenotípica, mas não diferença significativa entre os diferentes materiais. Os autores concluíram que, para os materiais reembasadores, foi verificada uma maior aderência às superfícies rugosas em relação às superfícies lisas para a resina termopolimerizável.

Webb et al.⁶⁸, em 1998, avaliaram a efetividade das microondas e do hipoclorito de sódio na desinfecção de próteses. Próteses totais superiores foram confeccionadas em resina acrílica e esterilizadas em autoclave. Dez próteses foram inoculadas com *C. albicans* e outras dez com *S.gordonii* foram incubadas a 37°C. Após a incubação, cinco das dez próteses de cada microrganismo foram utilizadas como controle (não irradiadas) e imersas em solução salina. As outras cinco próteses foram irradiadas a 350 Watts ou 604 Watts por 1, 2, 4, 6, 8 ou 10 minutos e então submetidas à cultura em placas de Petri. Seguindo os mesmos procedimentos descritos, dez próteses foram inoculadas com *C. albicans* e dez com *S. gordonii* e incubadas em banho de ultra-som por 48 horas a 37°C. A seguir cinco próteses foram imersas por 8 horas em solução de hipoclorito de sódio a 1%, a 0,02% ou a

0,0125%. As outras cinco foram selecionadas como controle, sendo imersas em solução salina. Todas as próteses foram submetidas à cultura em placas de Petri. Algumas amostras em resina acrílica de cada condição foram preparadas para microscopia eletrônica de varredura (MEV). 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 remover os microrganismos não-viáveis das superfícies das próteses conforme observado nas fotomicrografias. Além disso, a imersão das próteses por 8 horas em hipoclorito de sódio nas concentrações de 0,02 e 0,0125% eliminou o crescimento de *C. albicans* e reduziu o crescimento de *S. gordonii* pela remoção dos microrganismos da superfície das amostras, como observado nas análises em MEV. Dessa forma, os autores indicaram que a irradiação em microondas por 6 minutos poderia ser mais efetiva para a esterilização de próteses que a imersão em hipoclorito de sódio, apesar de nenhum procedimento efetivamente eliminar todos os microrganismos das superfícies das próteses.

Border & Rice-Spearman¹¹, em 1999, avaliaram a efetividade da irradiação por microondas na esterilização de materiais laboratoriais (meios de cultura, gases e chumaços de algodão). Quatro bactérias (*E. coli*, *S. aureus*, *S. epidermidis* e *P. aeruginosa*) e um fungo

(*C. albicans*) foram inoculados individualmente em cinco tubos de ensaio contendo meio de cultura Trypticase Soy Broth (TSB) e incubados a 37°C por 24 horas. A seguir, 25 mililitros de cada solução foram irradiados a 650 Watts por 5 segundos. Esse procedimento foi repetido e, após 15 segundos de intervalo, uma nova irradiação de 90 s foi realizada. Os meios de cultura irradiados foram semeados em placas de Petri incubadas por 24 horas a 37°C. Chumaços de algodão estéreis e gases foram imersos separadamente no meio de cultura TSB inoculado, irradiados por 15 segundos a 650 Watts e novamente irradiados por 90 segundos após 15 segundos de intervalo. Após as irradiações, os gases e os chumaços foram semeados por esfregaço em placas de Petri incubadas a 37°C por 24 horas. As colônias foram quantificadas em números por quadrante. Além disso, um frasco contendo TSB não inoculado foi irradiado em intervalos de um minuto até um total de 5 minutos de irradiação e semeados em placas de Petri a cada intervalo. As placas foram incubadas a 37°C por 48 horas. Os resultados demonstraram que foram necessários 60 segundos de irradiação para a esterilização de todos os microrganismos presentes no meio de cultura, nos gases e nos chumaços de algodão. Além disso, os autores verificaram que, para esterilizar o meio de cultura não inoculado, foram necessários 3 minutos de irradiação.

Em 1999, Dixon et al.²⁴ avaliaram a efetividade da irradiação por microondas na desinfecção de resinas acrílicas contaminadas com *C. albicans* e seu efeito sobre a dureza desses materiais. Na fase 1 do experimento, foram confeccionados 45 corpos-de-prova (10 mm x 10 mm x 3 mm) de cada material, sendo três rembasadores resilientes (Molloplast-B, Permaflex e/ou Permasoft) e uma resina termopolimerizável (Lucitone 199). Os corpos-de-prova foram submetidos aos ensaios de dureza (durômetro Shore A) e então inoculados com *C. albicans*. Após 48 horas, 30 corpos-de-prova foram irradiados a seco por 5 minutos em potência máxima, e o crescimento microbiológico foi avaliado por semeadura em placas de Petri. A esterilização a longo prazo (duas semanas) foi observada pela análise de crescimento visível no meio de tioglicolato contendo os corpos-de-prova desinfetados imersos nesse meio. Após 2 semanas, as leituras de dureza foram realizadas novamente para todos os corpos-de-prova. Para a fase 2, 15 corpos-de-prova de cada material foram irradiados a seco pelos tempos de exposição de 10 ou 15 minutos e submetidos aos ensaios de dureza. Na fase 3, 15 corpos-de-prova de cada material foram imersos em água e irradiados por 5 minutos em potência máxima. Para avaliar o efeito desse procedimento sobre a dureza, os corpos-de-prova foram irradiados por 5 vezes. De acordo com os resultados, a irradiação a seco por 5 minutos não esterilizou nenhum dos materiais avaliados. Além disso, os corpos-de-prova não imersos e irradiados por 10 e 15 minutos

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

Tendo em vista que o uso sucessivo de uma mesma esponja pode transferir bactérias de uma superfície a outra durante um procedimento de assepsia, Ikawa & Rossen³², em 1999, avaliaram vários métodos para desinfecção de rotina em esponjas. Para simular utilização doméstica, algumas esponjas, previamente ao tratamento, foram lavadas manualmente em solução de composto quaternário de amônio e cloreto de magnésio, secas ao ar ambiente e embaladas. Outras esponjas foram inoculadas com microrganismos patogênicos com o objetivo de simular condições de uso em laboratório. Essas esponjas foram individualmente umedecidas com 54 mililitros de água destilada estéril e contaminadas

com 4 mililitros de uma suspensão bacteriana de *E. coli*, *S. choleraesuis*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *S. putrefaciens*. As esponjas foram incubadas a 25°C por 48 horas. Os tratamentos químicos selecionados, para cada condição simulada, constituíram-se de imersão por 5 minutos, em uma das seguintes soluções: hipoclorito de sódio, peróxido de hidrogênio, álcool isopropil, quaternário de amônio, vinagre e amônia. Os tratamentos físico-químicos avaliados foram: escovação com detergente à base de composto quaternário de amônia ou alvejante e secagem associada ou não a um ciclo de alta temperatura a seco. Além disso, foi utilizada a imersão em água fervente por 5 minutos ou irradiação em microondas por um minuto em alta potência (tratamento físico). 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 mililitro da solução remanescente das esponjas foi inoculado em tubos de ensaio contendo Tryptic Soy Broth, que foram incubados a 35°C por 48 horas. Após esse período, os tubos de ensaio que apresentaram crescimento foram semeados em placas de Petri. Os tratamentos químicos avaliados foram efetivos na redução dos microrganismos presentes nas esponjas onde a utilização doméstica foi simulada, mas esses produtos não reduziram de forma significativa as bactérias presentes nas esponjas onde a utilização laboratorial foi simulada. Além disso, foi verificado que, para as duas condições de uso simuladas, a limpeza com detergente

alvejante ou à base de composto quaternário de amônio, a imersão em água em ebulição por 5 minutos ou irradiação em alta potência por um minuto reduziram a viabilidade dos microrganismos em 99,9 %.

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

preparadas para microscopia eletrônica de varredura (MEV), e a análise foi realizada tanto na superfície interna quanto na externa. As amostras não submetidas a MEV foram colocadas em tubos de ensaio contendo 15 mililitros de TSB, agitadas por um minuto e deixadas em descanso por 9 minutos. Após esse período, as soluções dos tubos foram levemente agitadas e então submetidas às diluições seriadas em solução salina. Uma alíquota de 0,1 mililitro das diluições de 10^{-3} a 10^{-5} foi semeada em placas contendo um dos meios de cultura específicos para cada microrganismo testado: MacConkey Agar (*E. coli*), Mannitol Salt Agar (*S. aureus*) e Tryptic Soy Agar com 5g/ml de gentamicina (*C. albicans*). Todas as placas foram incubadas a 37°C por 7 dias. Os meios de cultura dos tubos de ensaio contendo as amostras foram avaliados quanto à presença de crescimento nos períodos de 24 horas, 48 horas e 7 dias, e as placas foram analisadas quanto à presença de colônias viáveis. Todas as amostras do grupo controle negativo não apresentaram crescimento aparente nos tubos de ensaio. As amostras não desinfetadas (controle positivo), fraturadas ou não, produziram crescimento microbiano. O soma das colônias para *E. coli* foi maior que a soma para *S. aureus* e *C. albicans*. A MEV dos corpos-de-prova do controle positivo revelou maior quantidade de microrganismos nas superfícies externas comparadas às internas. Imediatamente após a desinfecção, para as amostras intactas ou fraturadas, foi observada a presença de um número significativamente menor de colônias viáveis, em comparação ao grupo

controle positivo. Entretanto, após 7 dias, as amostras desinfetadas exibiram crescimento aparente nos tubos de ensaio. A MEV das amostras desinfetadas exibiu microrganismos nas superfícies interna e externa, à exceção da presença de *C. albicans*, que não foi verificada no interior das amostras. Os autores concluíram que os microrganismos *E. coli* e *S. aureus* penetraram no interior da resina acrílica e que a desinfecção por três minutos com Alcide LD foi eficaz para reduzir os microrganismos, mas não para eliminar completamente os mesmos.

Em 1999, Shim & Watts⁵⁸, avaliaram o efeito de um ciclo adicional de polimerização sobre a concentração de monômero residual de duas resinas acrílicas para base de prótese (Lucitone 199 e Trevalon). Os corpos-de-prova (50 mm x 3 mm) foram polimerizados pelo ciclo de polimerização curto (90 minutos a 73°C seguido de 30 minutos a 100°C) ou longo (9 horas a 73°C). Após 24 horas da polimerização, metade dos corpos-de-prova e horas foi submetida a um ciclo de polimerização adicional em água a 100°C por 2 horas. Este ciclo, sugerido pelo fabricante de uma resina reembasadora resiliente (Molloplast B), foi realizado com objetivo de avaliar o efeito desse tratamento empregado no reembasamento de próteses sobre a concentração de monômero residual das resinas testadas. Os demais corpos-de-prova não foram submetidos ao ciclo de polimerização adicional, sendo utilizados como controle. Foram confeccionados 6 corpos-de-prova para cada condição avaliada.

De acordo com os resultados, o ciclo adicional em água a 100°C por 2 horas promoveu uma redução significativa na concentração de monômero residual nas duas resinas avaliadas. Além disso, a concentração de monômero residual mais elevada foi observada quando o ciclo longo foi utilizado sem a aplicação do ciclo de polimerização adicional.

O mecanismo de transferência transitória de calor de uma suspensão de *S. aureus* após a irradiação em microondas foi avaliado por Yeo et al.⁷¹, em 1999. Culturas bacterianas de *S. aureus* foram inoculadas em meio nutriente, incubadas a 37°C por 8 horas e centrifugadas por 10 minutos. Para a exposição às microondas, foram utilizadas suspensões bacterianas em meio de cultura e em água destilada estéril. Adesivos indicadores de temperatura foram aplicados em discos estéreis de aço inoxidável (15 x 5 mm). As suspensões bacterianas em meio de cultura ou em água destilada foram pipetadas sobre as superfícies dos discos. Em seguida, os discos foram irradiados a 800 Watts em vários tempos de exposição. As potências absorvidas pelos discos de aço inoxidável e pelas suspensões bacterianas foram calculadas por uma equação de condução térmica. A análise de transferência de calor entre o microrganismos e a água destilada foi avaliada por um método específico capaz de calcular o nível tempo –dependente de absorção de energia do microrganismo e do líquido circundante ao mesmo. Os resultados

evidenciaram que a viabilidade celular foi reduzida com o aumento do tempo de exposição, havendo uma inativação completa da suspensão bacteriana após 110 segundos, quando a temperatura atingiu o valor de 61,4°C. O baixo índice de aumento de temperatura da suspensão bacteriana quando comparada com água destilada estéril ou meio de cultura testados sem inóculo foi atribuído pelos autores a uma significativa influência da eficácia de esterilização pelas microondas nas propriedades térmicas dos microrganismos. Os autores concluíram que, quando o inóculo bacteriano sobre o disco de aço inoxidável foi submetido às microondas, a condução de calor do disco de aço para o inóculo foi a causa do efeito bacteriostático, com absorção de 23,8 Watts de potência pelo aço e de 0,16 Watts pela suspensão bacteriana. Dessa forma, os autores sugeriram que a ação de eliminação de *S. aureus* em discos de aço inoxidável foi principalmente atribuída à transferência de calor do substrato de aço, com pouca energia absorvida diretamente da irradiação por microondas.

Liatsikos et al.³⁹, em 2000, avaliaram, por meio de uma revisão da literatura, a utilização das microondas no tratamento da prostatite. Os primeiros estudos utilizavam as microondas para promover uma hipertemia na próstata com um aquecimento de 42°C para 44°C. A terapia por microondas evoluiu e passou a ser aplicada por um dispositivo transuretral sob um tratamento denominado termoterapia transuretral por

microondas (TUMT). Essa terapia utiliza energia térmica gerada pelas microondas para produzir mudanças celulares irreversíveis no tecido da próstata sem que haja alterações significativas na uretra. A interação das microondas com os tecidos resulta em geração de calor por meio da oscilação de cargas livres no campo eletromagnético e da polarização de pequenas moléculas. A energia cinética molecular resultante aumenta a temperatura tecidual (45°C por 30 minutos) causando a morte celular. Além disso, segundo os autores, as microondas também possuem um efeito não térmico resultante da interação do campo eletromagnético com as moléculas dos microrganismos. Foi também relatado que a TUMT pode ser uma terapia benéfica e efetiva a longo prazo, tanto nos casos de prostatite não bacteriana ou bacteriana. Foi observada uma redução significativa no número de colônias de microrganismos causadores da prostatite bacteriana (*E. coli* e *E. cloacae*). Com base nos dados encontrados na literatura, os autores concluíram que não somente o calor gerado pelas microondas, mas também o efeito das ondas eletromagnéticas são responsáveis pelas alterações causadas nos microrganismos.

Watanabe et al.⁶⁷, em 2000, investigaram o efeito dos componentes iônicos na inativação de microrganismos pela irradiação em microondas. As suspensões microbianas utilizadas (*E. coli*, *S. aureus* e *C. albicans*) apresentaram uma concentração inicial de 2×10^7 ufc/mL.

Periodicamente, concentrações de NaCl, KCl e sacarose foram adicionadas às suspensões resultantes. Tubos de ensaio com a suspensão resultante foram colocados individualmente em Erlenmeyer contendo água e mantidos a 30°C por 5 minutos. A seguir, cada Erlenmeyer foi irradiado a 500 Watts por vários tempos experimentais e amostras da solução irradiada foram utilizadas para a contagem dos microrganismos viáveis. A temperatura das suspensões microbianas foi determinada com o auxílio de um termômetro digital. Os resultados evidenciaram que os microrganismos avaliados foram inativados após 50 segundos de irradiação. A temperatura das suspensões microbiológicas aumentou de 30°C para 100°C após 30 segundos de irradiação a 500 Watts. Quando a temperatura inicial foi mantida a 0,5°C, a temperatura das suspensões aumentou para 28°C após 30 segundos de irradiação e, nessas condições, as células de *E. coli* não foram inativadas. De acordo com os resultados, os autores sugeriram que o efeito das microondas sobre os microrganismos foi principalmente devido ao calor gerado nas suspensões das células microbianas. Além disso, foi observado que as células microbianas foram inativadas com o aumento das concentrações de NaCl e KCl. Por outro lado, variando-se as concentrações de sacarose houve mínima alteração de temperatura e a inativação as células microbianas foi pouco afetada. Para explicar esses resultados, os autores avaliaram o efeito das condições utilizadas no frasco de Erlenmeyer no aumento da temperatura do líquido contido nos

tubos de ensaio colocados no frasco. Para este procedimento, os autores colocaram os tubos de ensaio com líquido (água ou solução de NaCl) em Erlenmeyers vazios ou cheios de líquido (água ou solução de NaCl). Foi verificado que o líquido no interior do tubo de ensaio aqueceu mais rapidamente quando o Erlenmeyer estava vazio. Essa observação foi atribuída ao fato da energia de microondas ter penetrado diretamente no líquido do tubo de ensaio, uma vez que não havia líquido no Erlenmeyer. No entanto, quando o Erlenmeyer estava com a solução de NaCl, o líquido no interior dos tubos de ensaio aqueceu muito menos que a solução do frasco. Os autores concluíram que, quando o volume da solução irradiada é menor ou quando a área superficial exposta às microondas é ampla, há maior possibilidade da irradiação por microondas aquecer todo o líquido contendo substâncias com alta perda dielétrica.

Banting & Hill⁷, em 2001, realizaram um estudo para comparar a efetividade da energia de microondas como tratamento coadjuvante de candidose bucal. Trinta e quatro pacientes portadores de próteses totais superiores com teste positivo para pseudohifas de *C. albicans* foram selecionados para um dos seguintes tratamentos: irradiação da prótese em microondas ou imersão da prótese em solução clorexidina a 0,2% (controle). Todos os pacientes receberam medicação antifúngica tópica (Nistatina 300000 IU 3 vezes ao dia) por 14 dias. As próteses selecionadas para o tratamento com as microondas foram

escovadas com sabão anti-séptico e água e então irradiadas por um minuto a 850 Watts em três dias diferentes (1, 5 e 10^o dia). Para o grupo controle, as próteses foram imersas na solução de clorexidina durante a noite por 14 dias, com renovação da solução a cada dois dias. Essas próteses também foram escovadas em 3 dias diferentes (1, 5 e 10^o dias) estabelecendo parâmetro para comparação entre os grupos. Os resultados demonstraram que, após 14 dias, 53% das próteses submetidas ao tratamento com microondas apresentaram pseudohifas de *C. albicans* e que essa porcentagem aumentou para 84% para as próteses submetidas à imersão em clorexidina. Por outro lado, após esse mesmo período, as camadas citológicas referentes à mucosa palatina dos pacientes cujas próteses foram irradiadas apresentaram um quarto do risco de infecção dos tecidos palatinos em relação aos pacientes que tiveram suas prótese imersas em clorexidina. Três meses após o tratamento, o grupo controle foi considerado cinco vezes mais susceptível a apresentar pseudohifas de *C. albicans* quando em comparação com o grupo que recebeu tratamento com as microondas. Os autores observaram que a exposição das próteses às microondas foi efetiva para uma adequada desinfecção nas próteses sem ocasionar efeitos deletérios aparentes no material das mesmas.

Hiti et al.³⁰, em 2001, avaliaram o efeito da irradiação por microondas na desinfecção de recipientes para armazenamento de lentes

de contato contaminados com *Acanthamoeba*. Recipientes para armazenamento de lentes de contato foram contaminados (10^6 org/mL) com três diferentes espécies de *Acanthamoeba* (*A. comandoni*, *A. castellanii*, *A. hatchetti*), nas formas de trofozoítos e cistos. Foi também avaliado o efeito das microondas sobre cistos de *Acanthamoeba* completamente desidratados. A irradiação por microondas para cada recipiente foi realizada a 600 Watts por 3, 5 ou 8 minutos. Em seguida, esfregaços da parte interna dos recipientes foram semeados em placas de Petri incubadas a 30°C por 14 dias. Os autores observaram que a irradiação por microondas foi efetiva na esterilização dos recipientes contaminados com três espécies de *Acanthamoeba* após 3 minutos de exposição a 600 Watts. Além disso, a desidratação dos cistos de *Acanthamoeba* reduziu sua susceptibilidade às microondas, uma vez que houve crescimento independentemente do tempo de exposição utilizado. Os autores enfatizaram que os materiais contendo água são aquecidos pela vibração molecular e, como a célula biológica é caracterizada por um alto conteúdo de água, os microrganismos se tornam sensíveis à irradiação por microondas. Dessa forma, a célula desidratada não apresenta essa vibração molecular e, por isso, a efetividade das microondas, nessas condições, é significativamente reduzida.

As propriedades relacionadas às superfícies dos materiais utilizados para a confecção de próteses são importantes do ponto de vista

clínico, uma vez que podem interferir com o acúmulo de placa e manchamento. Dentre essas características podem ser citadas rugosidade, hidrofobicidade, interações eletrostáticas, tensão superficial, energia livre de superfície, umidade e dureza superficial. Em particular, a rugosidade provoca aderência e retenção de *C. albicans* e pode estar relacionada à etiologia de estomatite protética. Considerando esses aspectos, Zissis et al.⁷³, em 2001, avaliaram a rugosidade de resinas para base de prótese e resinas reembasadoras. Para a confecção dos corpos-de-prova, foram selecionadas quatro resinas para base de prótese (Microbase, Trevalon, MC Acron, SR 3/60 Plus), nove resinas reembasadoras rígidas (Light Liner Hard, Triad Reline, Lighton-U, Triad DualLine, Rebaron LC, Astron LC. Rebaron, Probase Cold, SR3/60 Triplex) e sete resinas reembasadoras resilientes (Perform Soft, Light Liner Soft, Resiline, Astron LC, Mollosil, Mollosil + varnish, Molloplast B, Molloplast B+ varnish, Permafex, Permafex + varnish). Cinco corpos-de-prova de cada material foram obtidos a partir de moldes incluídos em mufla. Após a confecção, os corpos-de-prova foram armazenados em água destilada a 37° C por um mês antes dos testes. As leituras de rugosidade foram obtidas por mapeamento (scanning) realizado com um estilete de diamante sob carga constante, posicionado sobre a superfície do material avaliado. Cinco leituras de rugosidade foram realizadas em cada corpo-de-prova. O valor médio de rugosidade (R_a) de cada amostra foi obtido pelo cálculo da média aritmética das

leituras obtidas. Os resultados evidenciaram que os valores de R_a obtidos para os materiais avaliados variaram de 3,4 a 7,6 micrômetros. Os materiais para base de prova apresentaram valores de R_a entre 3,4 micrômetros e 1,6 micrômetros, enquanto os materiais reembasadores rígidos exibiram valores de R_a entre 0,7 a 4,4 micrômetros. Os valores de R_a para as resinas reembasadoras resilientes auto e fotopolimerizáveis variaram entre 0,7 a 3,5 micrômetros e os mesmos valores obtidos com as resinas reembasadoras resilientes termopolimerizáveis variaram entre 3,5 a 4,0 micrômetros. Como os valores de rugosidade obtidos com todos os materiais avaliados foram superiores a 0,7 micrômetros, os autores concluíram que há possibilidade de acúmulo de placa, uma vez que 0,2 micrômetros é considerado o limiar abaixo do qual a aderência de fungos e bactérias não é possível.

3-Proposição

Com base nas informações apresentadas nos capítulos anteriores, este estudo teve como objetivo avaliar a efetividade da desinfecção por microondas em função de:

- ✓ três tipos de materiais para reembasamento de prótese
- ✓ quatro espécies de microrganismos patogênicos

4- Material e método

Para a realização da fase experimental dessa pesquisa foram utilizados os seguintes materiais, instrumentos e aparelhos:

4.1- Materiais

- 1- Resina acrílica autopolimerizável para rebasamento imediato
Ufigel Hard C Intro Set, fabricada pela Voco, Cuxhaven, Alemanha
Lote nº 02218E1
- 2- Resina acrílica autopolimerizável para rebasamento imediato
Tokuso Rebase Fast Set, fabricada pela Tokuyama Corp., Tokyo, Japão
Lote nº 576541E
- 3- Resina autopolimerizável para reembasamento imediato Kooliner, fabricada pela GC América Inc., Alsip, Illinois, EUA
Lote nº 062900 A
- 4- Gás de óxido de etileno (mistura de 30% de óxido de etileno e 70% de gás carbônico), produzido pela Wait Martins Ltda., Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil
- 5- Cultura de *Pseudomonas aeruginosa* proveniente da empresa American Type Culture Collection (ATCC), Manassas, EUA
Número (ATCC number): 27853

6- Cultura de *Staphylococcus aureus* proveniente da empresa American Type Culture Collection (ATCC), Manassas, EUA

Número (ATCC number): 25923

7- Cultura de *Candida albicans* proveniente da empresa American Type Culture Collection (ATCC), Manassas, EUA

Número (ATCC number): 60193

8- Cultura de *Bacillus subtilis* proveniente da empresa American Type Culture Collection (ATCC), Manassas, EUA

Número (ATCC number): 6633

9- Lixa d'água marca Norton, granulação 600

10-Lâminas de acetato

11-Água destilada

12-Meio de cultura Muller Hinton produzido pela Acumedia

Manufactures, Inc. Baltimore, Maryland 21220, EUA

Cod 7101A

Lote nº0010-126

13-Meio de cultura Tryptic Soy Broth (TSB), produzido pela Acumedia

Manufactures, Inc. Baltimore, Maryland 21220, EUA

Cod 7164A

Lote nº0008-120

-
- 14-Meio de cultura Mannitol Salt Agar, produzido pela Acumedia
Manufactures, Inc. Baltimore, Maryland 21220, EUA
Cod 7143A
Lote nº0007-101
- 15-Meio de cultura Sabourand Agar, produzido pela Acumedia
Manufactures, Inc. Baltimore, Maryland 21220, EUA
Cod 7150A
Lote nº0011-105
- 16- Meio de cultura Tryptic soy Agar, produzido pela Acumedia
Manufactures, Inc. Baltimore, Maryland 21220, EUA
Cod 7100A
Lote nº0012-108
- 17-Sódio cloreto (P. A. A. C. S.), produzido por CAQ- Casa da química
Indústria e Comércio Limitada
- 18- Alcohol Etílico Absoluto Anhidro, produzido pela Mallinckrodt
Baker, S.A. de C.V. 55320, Xalostoc, Edo. de Méx., México
- 19-Pontas descartáveis para micropipeta
- 20- Embalagens para esterilização em óxido de etileno, produzido por
ACECIL – Comércio e Esterilização a Óxido de Etileno Limitada,
Campinas, São Paulo, Brasil

4.2- Instrumentos

- 1- Matriz metálica quadrada de aço inoxidável, com centro vazado com dimensões de 10 mm de largura por 1 mm de altura e canal de escape
- 2- Placas de vidro quadradas com dimensões de 20 mm de largura por 2 mm de altura
- 3- Placas de Petri pyrex 100 X 15 mm, fabricada por Petriq
- 4- Tubos de ensaio pyrex nº9820
- 5- Pipetador de borracha
- 6- Pipeta de vidro de 2 mL, fabricada pela Vidrolabor
- 7- Béquer graduado, fabricado pela Vidrolabor
- 8- Erlenmeyer graduado, fabricado pela Vidrolabor
- 9- Micropipeta de 20-200 μ L, fabricada pela Boeco, Alemanha
- 10- Micropipeta de 100-1000 μ L, fabricada pela Boeco, Alemanha
- 11- Bico de Bunsen
- 12- Alça metálica para inoculação de microrganismos
- 13- Alça de Drigalsky, fabricada pela Vidrolabor

4.3- Aparelhos

1- Contador de colônias CP 600 Plus, fabricado pela Phoenix - Indústria e Comércio de Equipamentos Científicos Limitada, Araraquara, São Paulo, Brasil

Modelo: CP-600

Nr-série: 919

2- Balança de precisão, fabricada por Gehaka – Indústria e Comércio Eletro Eletrônica Gehaka Limitada, São Paulo, São Paulo, Brasil

Modelo: BG 400

Nº 016450

3- Autoclave vertical, fabricada pela Phoenix - Indústria e Comércio de Equipamentos Científicos Limitada, Araraquara, São Paulo, Brasil

Modelo : AV 60

Nº 6614

4- Estufa para secagem e esterilização, fabricada por Marconi Equipamentos Laboratoriais Limitada, Piracicaba, São Paulo, Brasil

Modelo: MA 033

Série: 9819

5- Agitador de tubos, fabricado por Marconi Equipamentos Laboratoriais Limitada, Piracicaba, São Paulo, Brasil

Modelo: A 162

Série: 8187148

6- Estufa bacteriológica, produzida por Marconi Equipamentos Laboratoriais Limitada, Piracicaba, São Paulo, Brasil

Modelo – MA 0324

Série – 9819011

7- Câmara de fluxo laminar vertical, fabricada pela Pachane Indústria e Comércio Limitada, Piracicaba, São Paulo, Brasil

Modelo – PA 115

Número - 12898

8- Microondas de dupla emissão de ondas, produzido pela Brastemp, Manaus, Amazonas, Brasil

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

9- Polidora automática Politriz Metaserv 2000, produzida por Buehler, UK Ltd., Coventry, England

Modelo : 952829

11-Microscópio Eletrônico de varredura:

Modelo: JEOL JSM – T330-A Scanning Microscope, produzido pela JEOL, Lt. Tokyo, Japan

Tensão: 10,0 KV

Aumentos: 2000 X e 3500 X

12- Metalizador

Modelo: SCD 050

13- Dessecador, marca pyrex, Indústria Brasileira, SM

14- Câmara de autoclave para esterilização com óxido de etileno, fabricado pela LUTIS-Ferrando, Brasil

Modelo -1800L

Especificação - LUTIS Ferrando 1800

4.4- Métodos

Obtenção dos corpos-de-prova

Para a confecção dos corpos-de-prova, foram utilizadas matrizes metálicas quadradas com centro vazado apresentando 10 mm de largura e 1 mm de altura (Figura 1).

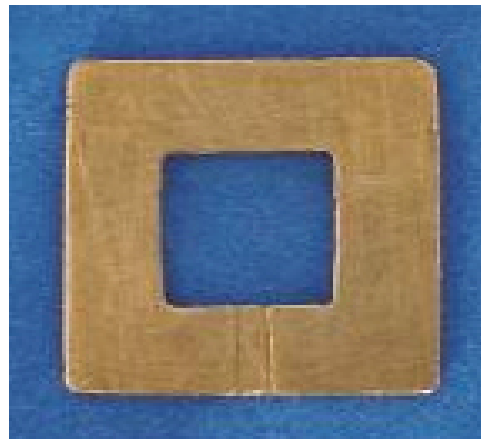


FIGURA 1: Matriz metálica de centro vazado

Inicialmente, para a obtenção de cada corpo-de-prova, uma lâmina de acetato (20 mm X 20 mm X 2 mm) foi colocada sobre uma placa de vidro (20 mm X 20 mm X 2 mm). Em seguida, cada matriz

metálica foi posicionada sobre a lâmina de acetato, e o material reembasador selecionado foi proporcionado e manipulado segundo as recomendações do fabricante e vertido no centro da matriz metálica. A seguir, uma outra lâmina de acetato (20 mm X 20 mm X 2 mm) foi colocada sobre a resina reembasadora e uma outra placa de vidro de mesmas dimensões foi posicionada sobre todo o conjunto. Um peso de 50 gramas foi colocado sobre a última placa de vidro e mantido sobre a mesma até a reação final de polimerização de cada material (Figura 2).



FIGURA 2: Peso posicionado sobre o corpo-de-prova

Para cada corpo-de-prova da resina Kooliner, foi utilizada uma proporção de 1 grama de pó para 1 mililitro de líquido. O pó da resina Kooliner foi colocado no recipiente plástico fornecido pelo fabricante e, a seguir, o líquido dosado foi adicionado ao pó. A manipulação, por um período de 30 segundos, foi realizada por meio de uma espátula de metal

fornecida pelo fabricante. Após este período, o material foi cuidadosamente vertido na matriz metálica e os procedimentos descritos até a polimerização final do material (10 minutos) foram realizados. A resina Tokuso Rebase foi dosada numa proporção de 2,052 gramas para 1 mililitro de líquido para cada corpo-de-prova do material. O pó da resina Tokuso Rebase foi colocado no gral de borracha fornecido pelo fabricante e, a seguir, o líquido previamente dosado foi acrescentado ao pó. A manipulação do material foi realizada por um período de 5 a 10 segundos por meio de uma espátula de plástico fornecida pelo fabricante. Após a manipulação, a resina foi vertida no centro da matriz metálica e os mesmos procedimentos descritos anteriormente até a polimerização final (8 minutos) do material foram realizados. A resina Ufigel hard foi proporcionada e manipulada com o auxílio de um aparelho dispensador automático fornecido pelo fabricante. Para cada corpo-de-prova da resina Ufigel hard, uma ponta descartável, fornecida pelo fabricante, foi adaptada ao dispensador automático. Este aparelho foi acionado até que o comprimento de um centímetro do material fosse dispensado diretamente no centro da matriz metálica. A seguir, a lâmina de acetato e a placa de vidro foram acomodadas sobre o material e mantidas sobre o mesmo durante um período de 7 minutos.

Concluída a polimerização de cada material, a placa de vidro e a lâmina de acetato posicionadas sobre a matriz metálica foram removidas. Em seguida, os corpos-de-prova foram cuidadosamente

removidos das matrizes metálicas. Em seguida, os excessos laterais verificados nos corpos-de-prova foram removidos com o auxílio de uma lixa de carbeto de silício (granulação 600) acoplada a uma politriz automática (Figura 3).

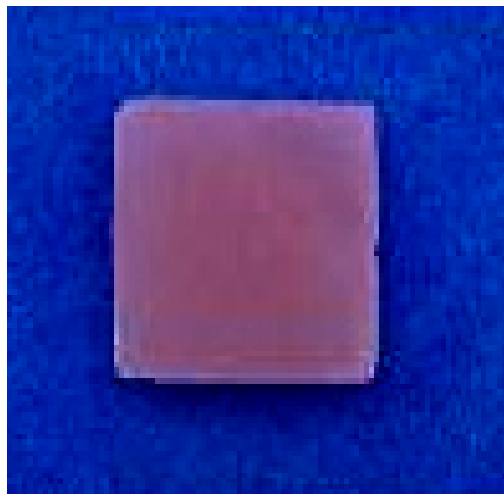


FIGURA 3: Corpo-de-prova polido

Foram confeccionados 82 corpos-de-prova para cada resina reembasadora (Kooliner, Tokuso Rebase e Ufigel hard).

Preparo dos materiais microbiológicos

O meio de cultura Tryptic Soy Broth (TSB) foi preparado para a inoculação dos microrganismos e para a contaminação e a incubação dos corpos-de-prova. Esse meio de cultura constitui-se de um

caldo nutriente que propicia o crescimento de vários tipos de microrganismos, incluindo os que foram testados neste estudo.

O meio de cultura (TSB) foi proporcionado, manipulado e esterilizado segundo as recomendações do fabricante. Para o preparo do meio, foi utilizada uma proporção de 30 gramas de pó do meio de cultura para 1 litro de água destilada. O pó proporcionado foi colocado em um béquer e a água dosada foi adicionada. A seguir, o béquer foi colocado em banho-maria até que fosse observada uma dissolução completa do meio de cultura na água destilada. Após a dissolução, a solução resultante foi distribuída em tubos de ensaio. Uma alíquota de 10 mililitros do meio de cultura preparado foi pipetada e dispensada em cada um dos tubos de ensaio. Os tubos de ensaio foram devidamente identificados e datados. A seguir, esses tubos contendo o meio de cultura, foram tampados com algodão e levados em autoclave vertical para esterilização a 121°C por 15 minutos. Após esse procedimento, os tubos de ensaio tampados foram deixados ao ar livre até atingirem a temperatura ambiente. Finalmente, foram armazenados em geladeira a 5°C até a utilização nos procedimentos experimentais.

A solução salina utilizada nas diluições seriadas realizadas neste estudo foi preparada pela diluição completa de 8,5 gramas de cloreto de sódio em 1 litro de água destilada. A dissolução do sal na água destilada foi realizada em um béquer, pela manipulação de uma haste de vidro. Após a dissolução, a solução salina resultante, na

concentração de 0,15 mol, foi distribuída em tubos de ensaio. Para a distribuição, 4,5 mililitros da solução salina foram pipetados e transferidos para cada um dos tubos de ensaio. A seguir, esses tubos foram tampados com algodão e levados em autoclave vertical para esterilização a 121°C por 15 minutos. Após a esterilização, os tubos de ensaio foram deixados ao ar livre até atingirem a temperatura ambiente. Finalmente, os tubos de ensaio contendo solução salina foram armazenados em geladeira a 5°C até a utilização nos procedimentos experimentais.

Os meios de cultura utilizados nas sementeiras das placas de Petri são sólidos após o preparo, sendo específicos para certas espécies de microrganismos. Os meios de cultura selecionados para este estudo foram os seguintes: Muller Hinton para *P. aeruginosa*, Mannitol Salt Agar para *S. aureus*, Sabouraud Agar contendo 5µg/mL de gentamicina para *C.albicans* e Tryptic Soy Agar para *B. subtilis*. Esses meios de cultura foram proporcionados, manipulados e esterilizados segundo as recomendações dos fabricantes. Para o preparo dos meios de cultura, foram utilizadas as seguintes proporções: 38 gramas de pó de Miller Hinton para 1 litro de água destilada; 111 gramas de pó de Mannitol Salt Agar para 1 litro de água destilada, 65 gramas de Sabourand Agar misturada a 0,005 grama de gentamicina para 1 litro de água destilada e 40 gramas de pó de Tryptic Soy Agar para 1 litro de água destilada. Para o preparo, os meios de cultura proporcionados foram individualmente colocados em um béquer e misturados com a água destilada. A seguir,

cada béquer foi levado ao banho-maria até que ocorresse a dissolução completa de cada meio de cultura. Uma alíquota de 20 mililitros da solução resultante foi pipetada e dispensada em tubos de ensaio, ainda na fase líquida (temperatura superior à temperatura de solidificação). A seguir, os tubos de ensaio foram devidamente identificados, datados, tampados com algodão e levados em autoclave vertical para esterilização a 121°C por 15 minutos. Após a esterilização, os meios de cultura, ainda na fase líquida, foram vertidos em placas de Petri estéreis. Para a realização desse procedimento, os tubos de ensaio contendo os meios de cultura foram levados à câmara de fluxo laminar.

Para receber os tubos de ensaio, a câmara de fluxo laminar vertical foi preparada para permitir um ambiente asséptico para a manipulação dos tubos de ensaio e das placas de Petri. Para isso, a porta de vidro da câmara de fluxo laminar foi fechada e a luz ultravioleta foi acionada por 10 minutos. Após esse período, a luz ultravioleta foi desligada e o ventilador da câmara de fluxo laminar foi acionado para aclimatização do ambiente. A porta de vidro da câmara de fluxo laminar foi ligeiramente aberta para que os tubos de ensaio e as placas de Petri estéreis fossem colocados no ambiente asséptico criado. É importante ressaltar que a esterilização das placas de Petri foi realizada previamente aos procedimentos executados na câmara de fluxo laminar. Para a esterilização das placas de Petri, um papel filtro cortado em círculo foi interposto entre as partes superior e inferior de cada delas. A parte

superior e a inferior das placas de Petri foram encaixadas e todo o conjunto foi embalado em papel comum. As placas embaladas foram esterilizadas em estufa a 175°C por 2 horas.

Após a esterilização, as placas de Petri embaladas foram deixadas ao ar livre até atingirem a temperatura ambiente. Após esse procedimento, as placas de Petri foram levadas à câmara de fluxo laminar e retiradas das embalagens de papel comum. Após a colocação das placas de Petri e dos tubos de ensaio na câmara de fluxo laminar, foram repetidos os procedimentos previamente descritos para que a manipulação dos meios de cultura fosse realizada de forma asséptica. Após a aclimatização, o ventilador permaneceu ligado durante todo o procedimento de colocação dos meios de cultura nas placas. Os tubos de ensaio foram individualmente vertidos nas placas de Petri. Cada tubo de ensaio contendo 20 mililitros de um dos meios de cultura específicos para cada microrganismo foi aberto e o conteúdo do mesmo foi vertido na parte inferior da placa de Petri. As placas de Petri foram individualmente fechadas e mantidas na câmara de fluxo laminar até que fosse observada a solidificação do meio de cultura. Após a solidificação dos meios de cultura, o ventilador foi desligado e a câmara de fluxo laminar foi aberta. Todas as placas de Petri foram devidamente identificadas, datadas e incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas. Estes procedimentos foram realizados com o objetivo de verificar a esterilização das placas de Petri e dos meios de cultura. Após a incubação, foram

descartadas deste estudo todas as placas que apresentaram quaisquer indícios de crescimento microbiano. A seguir, a parte inferior de cada placa de Petri foi externamente dividida em quadrantes. Esses quadrantes foram traçados com caneta para retroprojeter para facilitar posteriormente os procedimentos de semeadura dos microrganismos (diluição seriada por quadrante). Finalmente, as placas de Petri foram armazenadas em geladeira a 5°C para serem utilizadas nos procedimentos de semeadura dos microrganismos.

Os béqueres utilizados para a esterilização dos corpos-de-prova em microondas foram previamente autoclavados. Para este procedimento, 200 mililitros de água destilada foram medidos em proveta de 500 mililitros e transferidos para cada um dos béqueres. Estes béqueres foram tampados com papel alumínio e levados em autoclave vertical a 121°C por 15 minutos.

Esterilização dos corpos-de-prova

Logo após a confecção, todos os corpos-de-prova foram esterilizados por meio de óxido de etileno. Esse procedimento foi selecionado por ser considerado seguro para a esterilização dos materiais, uma vez que apresenta a vantagem de preservar as propriedades inerentes à resina acrílica⁴⁰. Para a realização desse

procedimento, cada corpo-de-prova foi acondicionado em embalagem individual especial fornecida pela indústria responsável pela esterilização. Essas embalagens funcionam, quando lacradas, como uma barreira à passagem de microrganismos uma vez que são constituídas de papel grau cirúrgico e filme plástico. Segundo a indústria responsável pela esterilização, o papel grau cirúrgico apresenta poros especiais que permitem a passagem de gás de óxido de etileno para esterilização dos corpos-de-prova quando colocadas na câmara de autoclave. O gás de óxido de etileno utilizado para a esterilização dos corpos-de-prova consiste de uma mistura de 30% de EtO (óxido de etileno) e 70% de CO₂ (gás carbônico). Para o ciclo de esterilização dos corpos-de-prova, foram utilizados 450 mmHg de vácuo, 1,0 Kg/cm² de pressão, aeração de 3 lavagens com nitrogênio líquido e umidade relativa de 50% a 55%. A temperatura utilizada no ciclo de esterilização foi de 40°C. Após 8 horas nessas condições, as embalagens lacradas contendo os corpos-de-prova foram retiradas da câmara de esterilização (Figura 4). É importante ressaltar que os corpos-de-prova permaneceram por um mínimo de 15 dias no interior das embalagens lacradas antes de serem utilizados. Segundo a indústria responsável pela esterilização, esse período é considerado suficiente para que haja a liberação do gás de óxido de etileno absorvido. Se o óxido de etileno não for completamente liberado, os resultados microbiológicos podem ser invalidados uma vez que, nessa fase, não há crescimento microbiano.



FIGURA 4: Corpo-de-prova esterilizado

Com o objetivo de avaliar a eficácia da esterilização com óxido de etileno, dois corpos-de-prova (controle negativo) de cada material reembasador foram colocados em meio de cultura e incubados em estufa bacteriológica⁴⁰. Para a realização deste procedimento, cada corpo-de-prova foi assepticamente colocado em um tubo de ensaio contendo 10 mililitros de meio de cultura Tryptic Soy Broth. A seguir, os tubos de ensaio contendo os corpos-de-prova foram incubados em estufa bacteriológica e mantidos a 37°C por 7 dias. Após este período, foi observado que não houve crescimento visível nos meios de cultura dos tubos de ensaio para os três materiais avaliados (Figura 5).

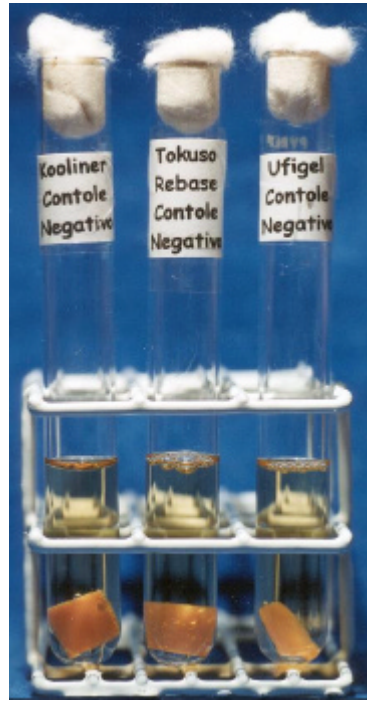


FIGURA 5- Corpos-de-prova esterilizados com óxido de etileno após 7 dias de incubação a 37°C

Contaminação e esterilização dos corpos-de-prova

Os microrganismos selecionados para a contaminação das resinas reembasadoras foram os seguintes: *S aureus* ATCC 25923 (gram-positivo), *P. aeruginosa* ATCC 27853 (gram-negativo), *C. albicans* ATCC 60193 (levedura) e *B. subtilis* ATCC 6633 (aeróbico esporulado). Esses microrganismos foram selecionados de acordo com as recomendações publicadas recentemente no *Handbook of Disinfectants*

*and Antiseptics*¹⁹, com base em médias científicas para indicação de microrganismos patogênicos.

Inicialmente, os microrganismos foram individualmente inoculados em meio de cultura e incubados em estufa bacteriológica.¹¹ Para a realização desses procedimentos, os microrganismos selecionados foram individualmente inoculados em tubos de ensaios contendo 10 mililitros de Tryptic Soy Broth. A seguir, estes tubos foram incubados a 37°C por 24 horas (Figura 6).

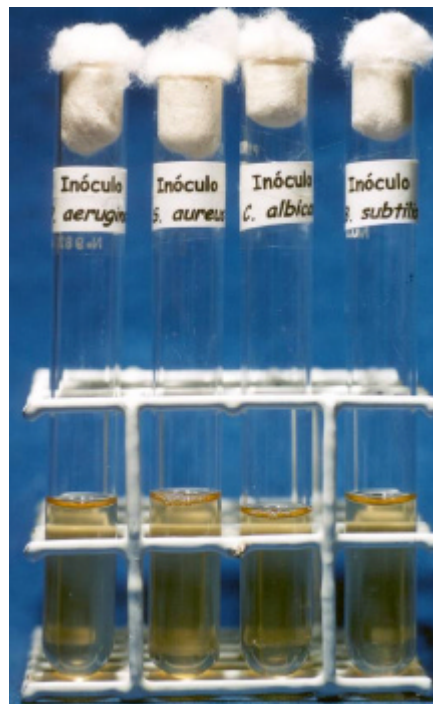


FIGURA 6: Tubos de ensaio contendo o meio de cultura com os microrganismos inoculados

Para observar o crescimento dos microrganismos, os tubos de ensaio foram colocados em agitador de tubos e agitados vigorosamente por 30 segundos. Então, os tubos de ensaio foram retirados do agitador e o grau de turvação presente nos mesmos foi avaliado pela correlação com os padrões da escala de McFarland. A partir do nível de crescimento constatado nos tubos de ensaio pela comparação com a escala de McFarland¹¹, foi possível obter uma alíquota do meio de cultura inoculado correspondente a uma concentração de aproximadamente 10^7 ufc/mL para cada microrganismo avaliado.

Previamente à contaminação, 80 corpos-de-prova de cada material (Kooliner, Tokuso Rebase ou Ufigel hard) foram individualmente colocados em tubos de ensaio contendo 10 mililitros de meio de cultura estéril (Tryptic Soy Broth)⁵¹. A seguir, uma alíquota correspondente a 10^7 ufc/mL⁴⁰ de cada microrganismo testado foi pipetada dos tubos de ensaio previamente inoculados e então transferida individualmente para cada um dos tubos de ensaio contendo os corpos-de-prova (Figura 7). Após a contaminação, estes tubos foram vigorosamente agitados em agitador de tubos e incubados a 37°C por 24 horas. É importante salientar que foram contaminados 20 corpos-de-prova de cada material para cada tipo de microrganismo selecionado.



FIGURA 7: Corpos-de-prova do material Tokuso Rebase contaminados individualmente com os microrganismos selecionados

Nesta fase, metade dos tubos de ensaio contendo as amostras de cada material foi selecionada para o grupo controle positivo⁴⁰. Neste grupo, os corpos-de-prova foram inoculados com os microrganismos e não foram submetidos aos procedimentos de esterilização. Os resultados obtidos com as culturas dessas amostras foram utilizados como parâmetro para comparação com aqueles obtidos com as culturas das amostras desinfetadas.

Cada amostra do grupo controle positivo foi removida dos tubos de ensaio incubados e então transferida para um outro tubo de ensaio contendo 4,5 mililitros de solução salina estéril. A seguir, esses tubos de ensaio foram agitados vigorosamente em agitador de tubos por

1 minuto e deixados em repouso por 9 minutos. Posteriormente, cada tubo de ensaio foi rapidamente agitado para desprender qualquer célula microbiana aderente do corpo-de-prova para a solução resultante. Em seguida, foram realizadas as diluições seriadas a partir dessa solução resultante. Para isso, uma alíquota de 500 microlitros da solução resultante foi pipetada e transferida para outro tubo de ensaio contendo 4,5 mililitros de solução salina estéril. Este último tubo foi agitado vigorosamente em agitador de tubos e uma nova alíquota de 500 microlitros foi removida do mesmo e colocada em outro tubo de ensaio contendo 4,5 mililitros de solução salina. Esse procedimento foi realizado seis vezes para cada corpo-de-prova e, desta forma, as diluições seriadas de 10^{-1} a 10^{-6} foram obtidas^{27,40}.

As últimas quatro diluições seriadas (10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} e 10^{-6}) foram separadas para a realização da semeadura das placas de Petri contendo os meios de cultura específicos para cada microrganismo²⁷: Mannitol Salt Agar para *S. aureus*; Miller Hinton para *P. aeruginosa*; Sabourand Agar com 5µg/mL de cloranfenicol para *C. Albicans* e Tryptic Soy Agar para *B. subtilis*. Para este procedimento, os tubos de ensaio contendo as diluições seriadas selecionadas foram individualmente agitados em agitador de tubos de ensaio. A seguir, uma alíquota de 25 microlitros de cada diluição seriada selecionada, a partir da diluição de 10^{-6} até 10^{-3} , foi pipetada. Cada alíquota foi transferida para um dos quadrantes de uma placa de Petri contendo o meio de cultura específico

para cada microrganismo. Uma alça de Drigalsky estéril foi utilizada para espalhar a solução sobre o meio de cultura em cada quadrante da placa. É importante enfatizar que os procedimentos de semeadura foram realizados em duplicatas.

A outra metade dos tubos de ensaio contendo as amostras de cada resina reembasadora foi selecionada para o grupo experimental. Neste grupo, as amostras foram contaminadas e submetidas aos procedimentos de esterilização. Para isso, cada amostra contaminada foi cuidadosamente removida dos tubos de ensaio e então colocada em um recipiente contendo 200 mililitros de água destilada estéril. A seguir, cada recipiente foi colocado no centro do prato giratório do forno de microondas e submetido à irradiação em potência de 650 Watts por 6 minutos (Figura 8). A relação tempo-potência adotada nos experimentos foi estabelecida com base em médias sugeridas em estudos prévios. Por estes estudos, o tempo de exposição e a potência adotada seriam suficientes para promover uma inativação de microrganismos^{8,24,51,68} sem interferir com as propriedades do material^{14,24,47,51,63}.



FIGURA 8: Corpo-de-prova imerso em recipiente com 200 mL de água estéril para ser submetido em irradiação no forno de microondas

Após a irradiação, cada amostra foi assepticamente removida do béquer e colocada em tubo de ensaio contendo 4,5 mililitros de solução salina estéril. Cada tubo foi vigorosamente agitado em agitador de tubos por 1 minuto, deixado em repouso por 9 minutos e novamente agitado para desprender qualquer célula microbiana do corpo-de-prova para a solução resultante. A seguir, foram realizados os mesmos procedimentos descritos para a obtenção das diluições seriadas e para a realização de semeadura para as amostras do grupo controle positivo. As placas referentes ao grupo experimental foram igualmente submetidas à incubação a 37°C por 48 horas.

Esterilização em microondas à longo prazo

Com o objetivo de avaliar a efetividade do método de esterilização proposto, os corpos-de-prova irradiados foram incubados em meio de cultura estéril por 7 dias.²⁴ Para este procedimento, os corpos-de-prova irradiados foram colocados individualmente em tubos de ensaio com 10 mililitros de meio de cultura TSB e incubados em estufa bacteriológica a 37°C por 7 dias. Após este período, os tubos de ensaio incubados foram agitados em agitador de tubos e analisados por um microbiologista. A presença de turvação no meio de cultura foi considerada como indicadora de crescimento microbiológico.

Contagem de microrganismos

Após 48 horas de incubação a 37°C, as placas de Petri referentes às amostras do grupo controle positivo e às amostras do grupo experimental foram submetidas à contagem de microrganismos. Para este procedimento, cada placa de Petri foi posicionada em um contador de colônias digital.²⁷ A quantificação das colônias foi realizada e os números de unidades formadoras de colônias foram calculados.

Microscopia Eletrônica de Varredura

Para a análise em microscopia eletrônica de varredura (MEV), 12 corpos-de-prova (10 mm x 10 mm x 1 mm) de cada material foram confeccionados da mesma forma que o descrito previamente. Três amostras de cada material foram individualmente inoculadas em tubos de ensaio com 5 mililitros de TSB contendo um dos microrganismos testados (*S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* e *C. albicans*). Os tubos de ensaio foram incubados a 37°C por 48 horas. Após a incubação, uma das três amostras foi imediatamente preparada para MEV. As duas amostras restantes foram imersas em água e irradiadas em microondas (650 Watts por 6 minutos). A seguir, uma destas amostras irradiadas foi preparada para MEV. A outra foi colocada em um tubo de ensaio contendo 5 mililitros de TSB e incubada a 37°C por 7 dias antes do preparo para MEV.

Para a análise em MEV, os corpos-de-prova foram fixados em glutaraldeído 2,5% por 24 horas. Após este período, os corpos-de-prova foram desidratados por 15 minutos em cada uma das concentrações seriadas de álcool etílico: 30%, 50%, 70%, 90% e 100%. É válido ressaltar que os corpos-de-prova foram submetidos a duas imersões por 15 minutos nas soluções de álcool etílico a 90 e 100%, com renovação das soluções a cada imersão. Os corpos-de-prova foram colocados em dessecador por 72 horas e, em seguida, foram montados

em *stubs* (Figura 9) e submetidos à metalização áurica (Figura 10). Os corpos-de-prova metalizados foram examinados em um microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM T 300 e fotografados em aumentos de 2.000 e 3.500 vezes.

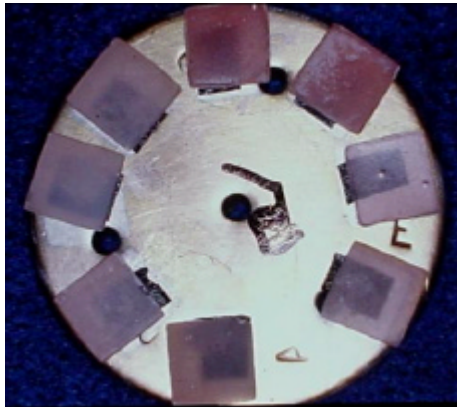


Figura 9: Corpos-de-prova montados em *stubs*

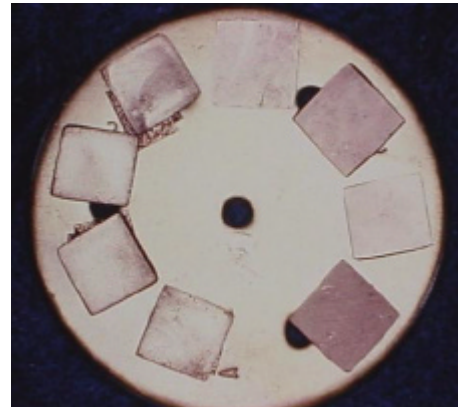


Figura 10: Corpos-de-prova metalizados

4.5- Planejamento Experimental

O número de corpos-de-prova utilizado neste estudo foi determinado com base nos resultados obtidos no teste piloto. Este trabalho teve por objetivo verificar a efetividade da desinfecção por microondas em resinas reembasadoras contaminadas com microrganismos patogênicos. Sendo assim, foram verificadas as variáveis com e sem desinfecção (grupo experimental e controle positivo, respectivamente). Para cada variável foram estabelecidos dois fatores de variação: Material, em 3 níveis e Microrganismo, em 4 níveis. Definiu-se,

então, que seriam necessárias 10 repetições para cada material contaminado com um dos microrganismos e submetido ou não à desinfecção. O total amostral obtido foi, portanto, de 120 corpos-de-prova para o grupo sem desinfecção (controle positivo) e 120 corpos-de-prova para o grupo com desinfecção (experimental).

Para determinar a efetividade das microondas na desinfecção das resinas avaliadas, foi necessário calcular o número de microrganismos viáveis, em valores de ufc/mL, obtido com e sem o procedimento de desinfecção pela irradiação em microondas. Para o cálculo desses valores, as colônias viáveis presentes nas placas de Petri de cada duplicata foram contadas com o contador de colônias digital. É importante ressaltar que, para cada duplicata, a contagem do número de colônias foi realizada para cada uma das diluições semeadas (10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} e 10^{-6}). Foram considerados somente os valores entre 30 e 300 colônias, sendo escolhido, para cada microrganismo, o número de colônias referente a uma única diluição que representasse um valor entre a variação considerada. Após a obtenção desse valor em cada duplicata, o número de unidades formadoras de colônias por mililitro (ufc/mL) foi calculado. Para esse cálculo, utilizou-se a fórmula a seguir:

$$\text{ufc/mL} = \frac{\text{número de colônias}}{10^n}$$

Nessa fórmula, n equivale ao valor absoluto da diluição (3, 4, 5 ou 6) e q equivale à quantidade, em mililitros pipetada para cada diluição quando nas sementeiras das placas. No presente estudo, $q = 0,25$ já que foram pipetados 25 microlitros para cada diluição. Os valores de ufc/mL obtidos foram deixados em notação científica e foi obtida então a média aritmética dos valores das duplicatas de cada amostra.

Os valores de ufc/mL são extremamente elevados e, por isso, considerados de difícil avaliação. Para facilitar algumas interpretações dos resultados obtidos, os valores de ufc/mL obtidos foram transformados para logaritmo na base dez. A transformação logarítmica reduziu a assimetria, mas não promoveu a homogeneização da variabilidade. Considerando essa variabilidade, os resultados obtidos foram analisados por um método não-paramétrico. Assim, foi utilizado o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, que avaliou os postos médios das contagens de microrganismos após a transformação para logaritmo. Esse teste também foi utilizado com o objetivo de acompanhar aqueles adotados por parte significativa da literatura relacionada a este estudo. Com isso, foi possível estabelecer comparações dos resultados deste trabalho com os obtidos por outras pesquisas relacionadas. O teste de Kruskal-Wallis foi aplicado diretamente sobre 12 condições determinadas pela combinação das 3 resinas avaliadas e dos 4 microrganismos

selecionados. O teste de Kruskal-Wallis foi seguido de comparações múltiplas não-paramétricas dos postos médios dois a dois.

Adotou-se o nível de 5% de significância como regra de decisão para aceitar como significativa uma diferença entre postos médios. A regra de decisão adotada foi estabelecida a partir de $p = P(F > F_0)$, ou seja, a probabilidade da estatística de F de Snecedor ser maior que seu valor observado F_0 nos dados amostrais, do modo que se segue: se p foi maior que 0,05, o valor de F_0 foi não-significante e a hipótese sob o teste não rejeitada e, em caso contrário, esse valor foi significativo e a hipótese sob teste rejeitada.

5- Resultados

Avaliação dos valores de ufc/mL obtidos com os corpos-de-prova do grupo experimental

Após 48 horas de incubação a 37°C, para qualquer um dos materiais estudados, as semeaduras das placas de Petri referentes aos corpos-de-prova desinfetados (experimental) não apresentaram colônias viáveis para os quatro microrganismos avaliados em todos os materiais (Figura 10). Dessa forma, os resultados evidenciaram que as amostras do grupo experimental demonstraram uma efetiva esterilização após 6 minutos de irradiação a 650 Watts.

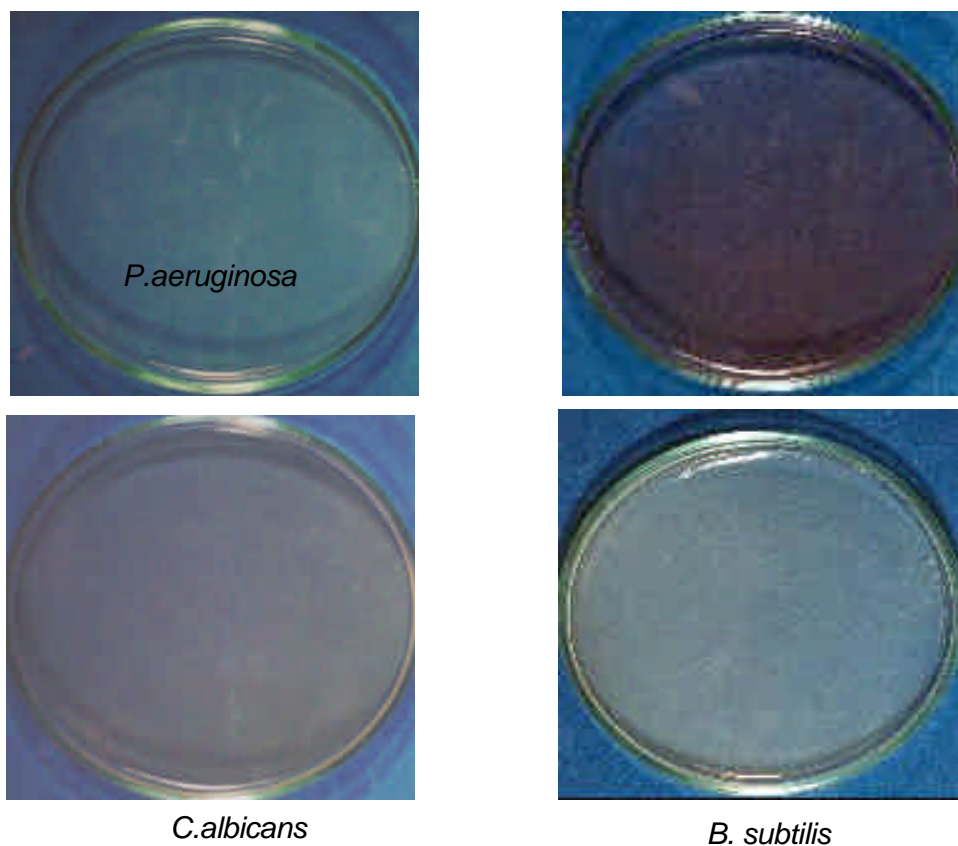


FIGURA 11: Placas de Petri com as semeaduras dos microrganismos referentes ao grupo experimental da resina Kooliner.

Além disso, os resultados demonstraram ausência de crescimento microbiológico nos tubos de TSB para as amostras desinfetadas, após 7 dias de incubação a 37°C (Figura12).

Considerando que os valores de ufc/mL foram nulos para as três resinas avaliadas, uma vez que não houve crescimento de microrganismos, não foi aplicada a análise estatística para os resultados obtidos no grupo experimental.

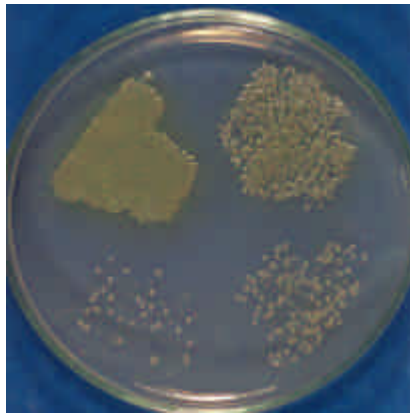


FIGURA 12: Corpos-de-prova da resina Ufigel hard referentes ao grupo experimental para os microrganismos avaliados, após 7 dias de incubação a 37°C.

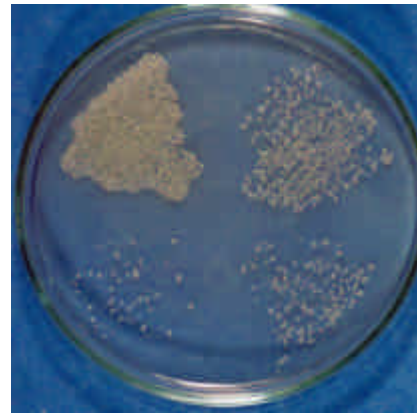
Avaliação do número de ufc/mL obtidos para os corpos-de-prova do grupo controle positivo

As placas de Petri semeadas correspondentes aos corpos-de-prova do grupo controle positivo (não desinfetados) apresentaram crescimento microbiano após 48 horas de incubação (Figura 13).

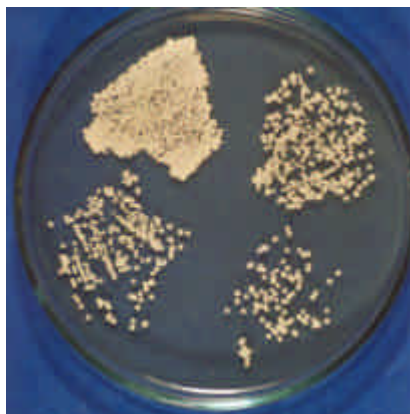
O número de colônias de cada duplicata foi contado e os valores de ufc/mL foram calculados. Os valores originais das médias das duplicatas em ufc/mL e os valores originais transformados para logaritmo na base dez para os corpos-de-prova do grupo controle positivo das resinas Kooliner (K), Tokuso Rebase (TR) e Ufigel hard (UGH) para os microrganismos *P. aeruginosa* (Pa), *S. aureus* (Sa), *C. albicans* (Ca) e *B..subtilis* (Bs) estão descritos nas Tabelas 1, 2 e 3, respectivamente.



P.aeruginosa



S.aureus



C.albicans



B. subtilis

FIGURA 13: Placas de Petri com as sementeiras dos microrganismos referentes ao grupo controle positivo, para o material Tokuso Rebase

Tabela 1: Dados dos valores originais em ufc/mL e valores originais transformados para logaritmo na base dez para a resina K referentes aos microrganismos Pa, Sa, Ca e Bs.

Valores originais em ufc/mL				Valores originais em logaritmo			
Pa	Sa	Ca	Bs	Pa	Sa	Ca	Bs
1,2E+13	8,6E+12	1,0E+08	5,5E+09	13,08	12,90	8,01	9,74
7,0E+12	1,4E+13	1,3E+08	8,4E+09	12,84	13,14	8,10	9,92
1,2E+13	5,6E+12	3,5E+07	3,4E+09	13,08	12,54	7,55	9,49
1,2E+13	2,9E+12	2,4E+07	3,9E+09	13,08	12,46	7,36	9,58
3,4E+12	1,0E+13	5,1E+07	8,1E+09	12,53	13,00	7,71	9,91
3,5E+12	7,2E+12	1,5E+07	9,5E+09	12,54	12,85	7,17	9,97
1,2E+12	3,1E+12	1,0E+07	1,0E+10	12,09	12,48	7,01	10,00
1,2E+13	1,2E+13	2,2E+07	4,9E+09	13,08	13,08	7,34	9,69
1,6E+12	1,2E+13	3,3E+07	1,1E+10	12,21	13,08	7,52	10,03
6,1E+12	2,8E+12	1,9E+07	1,1E+10	12,78	12,44	7,28	10,03

Tabela 2: Dados dos valores originais em ufc/mL e valores originais transformados para logaritmo na base dez para a resina TR referentes aos microrganismos Pa, Sa, Ca e Bs.

Valores originais em ufc/mL				Valores originais em logaritmo			
Pa	Sa	Ca	Bs	Pa	Sa	Ca	Bs
6,0E+07	1,2E+08	5,8E+05	3,9E+05	7,77	8,08	5,76	5,59
7,5E+07	2,7E+08	7,7E+05	4,3E+05	7,87	8,03	5,88	5,62
7,4E+07	8,1E+08	8,5E+05	1,2E+06	7,87	8,90	5,93	6,08
5,2E+07	8,6E+08	6,0E+05	2,0E+06	7,71	8,94	5,77	6,30
6,9E+07	2,2E+08	8,3E+05	1,6E+06	7,84	8,30	5,92	6,21
1,0E+08	1,2E+08	3,4E+05	4,1E+05	8,00	8,08	5,53	5,61
4,7E+07	3,9E+08	8,1E+05	3,0E+05	7,67	8,50	5,91	5,47
6,2E+07	4,9E+08	6,2E+05	2,3E+06	7,79	8,66	5,79	6,37
5,0E+07	7,8E+08	6,4E+05	2,9E+06	7,70	8,89	5,81	6,46
5,2E+07	1,2E+08	3,2E+05	2,1E+06	7,71	8,08	5,50	6,32

Tabela 3: Dados dos valores originais em ufc/mL e valores originais transformados para logaritmo na base dez para a resina UGH referentes aos microrganismos Pa, Sa, Ca e Bs.

Valores originais em ufc/mL				Valores originais em logaritmo			
Pa	Sa	Ca	Bs	Pa	Sa	Ca	Bs
1,0E+08	1,2E+08	4,3E+05	8,2E+05	7,99	8,08	5,64	5,90
4,5E+07	1,2E+08	5,8E+05	3,1E+06	7,65	8,08	5,75	6,49
5,4E+07	2,2E+08	7,3E+05	4,9E+05	7,73	8,29	5,86	5,69
5,6E+07	1,2E+08	7,5E+05	2,4E+05	7,75	8,08	5,87	5,37
6,3E+07	9,0E+08	5,9E+05	1,9E+06	7,80	8,95	5,77	6,27
7,8E+07	5,6E+08	8,3E+05	1,3E+06	7,89	8,53	5,92	6,11
6,4E+07	5,2E+08	6,9E+05	1,7E+06	7,80	8,70	5,84	6,23
6,2E+07	1,1E+09	7,8E+05	2,0E+06	7,79	9,03	5,89	6,29
5,3E+07	9,6E+08	8,4E+05	4,3E+05	7,72	8,98	5,92	5,63
8,0E+07	1,1E+09	7,0E+05	1,3E+06	7,90	9,03	5,85	6,11

De acordo com as Tabelas 1, 2 e 3, é possível observar que os valores originais de ufc/mL, além de elevados, apresentam uma distribuição assimétrica e variabilidade muito acentuada entre os materiais e microrganismos avaliados. A transformação logarítmica diminuiu a assimetria, mas não conseguiu a homogeneização da variabilidade.

Como não houve homogeneização da variabilidade, optou-se pela análise não-paramétrica dos dados. O método estatístico empregado foi o de Kruskal-Wallis, que avaliou os postos médios de valores de ufc/mL após a transformação para logaritmo na base de 10. O teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis apresentou o valor $H = 112,1$, que corresponde a um valor de probabilidade $p < 0,0001$. Esse valor, muito menor que o nível de significância adotado, indica com segurança que, pelo menos, um posto médio é diferente dos demais. Em seguida, foram realizadas comparações múltiplas dos postos médios dois a dois. Os resultados obtidos com as comparações múltiplas estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Valores de probabilidade (p) relativos à comparações múltiplas de postos médios dois a dois

Material	Microorganismo	Posto médio	Tokuso Rebase				Ufigel hard				Kooliner			
			Pa	Sa	Ca	Bs	Pa	Sa	Ca	Bs	Pa	Sa	Ca	
Tokuso Rebase	Pa	57,7												
	Sa	79,1	0,17											
	Ca	16,1	<0,01	<0,01										
	Bs	23,1	0,03	<0,01	0,65									
Ufigel hard	Pa	59,1	0,93	0,20	<0,01	0,02								
	Sa	81,4	0,13	0,88	<0,01	<0,01	0,15							
	Ca	18,2	0,01	<0,01	0,89	0,75	<0,01	<0,01						
	Bs	24,7	0,03	<0,01	0,58	0,92	0,03	<0,01	0,68					
Kooliner	Pa	110,1	<0,01	0,05	<0,01	<0,01	<0,01	0,06	<0,01	<0,01				
	Sa	110,9	<0,01	0,04	<0,01	<0,01	<0,01	0,06	<0,01	<0,01	0,96			
	Ca	50,4	0,64	0,07	0,03	0,08	0,58	0,05	0,04	0,10	<0,01	<0,01		
	Bs	95,5	0,02	0,29	<0,01	<0,01	0,02	0,36	<0,01	<0,01	0,35	0,32	<0,01	

Na Tabela 4 também estão indicados os valores de probabilidade, de forma que é possível decidir se não há evidência de diferença entre dois postos médios quando $p > 0,05$ ou se há evidência de diferença quando $p = 0,05$. Além disso, na Tabela 4, é possível observar quando a diferença entre postos médios dos valores de ufc/mL, para três resinas avaliadas, é menos acentuada ($p < 0,05$ e $p > 0,01$) ou quando é muito acentuada ($p < 0,01$). Na Tabela 5 estão expostos os postos médios, as médias e os desvios padrão referentes às três resinas estudadas para cada microrganismo avaliado.

Tabela 5- Média, desvio padrão e posto médio de contagens, em Log(ufc/ml), de microorganismos: Pa, Sa, Ca e Bs presentes nos materiais TR, UGH e K.

Resina	Microorganismo	Posto médio	Desvio padrão	Média
Tokuso Rebase	Pa	57,7	0,10	7,79
	Sa	79,1	0,38	8,44
	Ca	16,1	0,15	5,78
	Bs	23,1	0,38	6,00
Ufigel hard	Pa	59,1	0,10	7,80
	Sa	81,4	0,42	8,58
	Ca	18,2	0,09	5,83
	Bs	24,7	0,35	6,01
Kooliner	Pa	110,1	0,37	12,73
	Sa	110,9	0,29	12,80
	Ca	50,4	0,35	7,50
	Bs	95,5	0,20	9,84

Pela Tabela 5, é possível observar que os postos médios apresentam uma estreita relação com as médias. Dessa forma, para facilitar as

interpretações dos resultados, os valores de ufc/mL transformados para logaritmo na base 10 e as respectivas médias estão expostos na Figura 14.

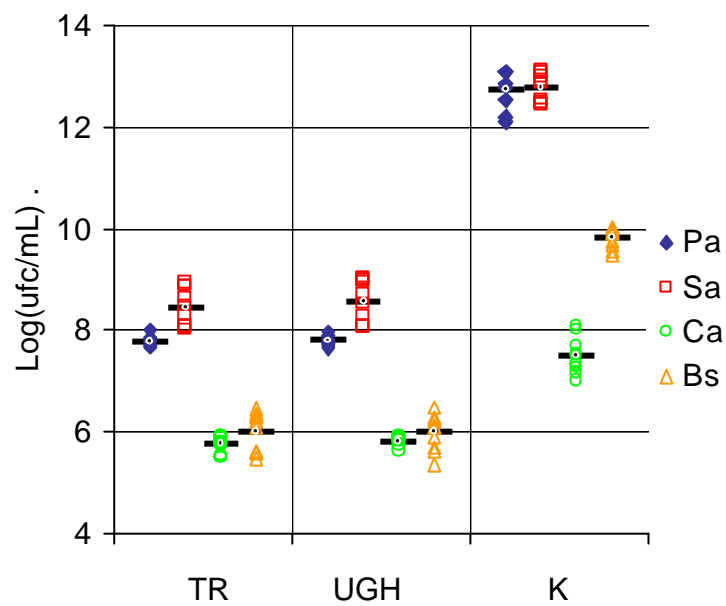


FIGURA 14 - Representação gráfica de $\log(\text{ufc/ml})$ de microorganismos Pa, Sa, Ca e Bs relativos aos materiais TR, UGH e K. Os traços horizontais representam as médias.

Analisando a Figura 14 podemos observar que, numericamente, para as três resinas avaliadas, as médias dos números de ufc/mL para Sa e Pa foram maiores que as médias observadas para Ca e Bs. Estatisticamente, essa diferença foi observada para as resinas UGH e TR com as quais os valores de Pa e Sa foram significativamente superiores em relação aos

valores de Ca e Bs ((Pa=Sa)<(Pa=Ba)). Por outro lado, para a resina K, não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias de ufc/mL para Sa, Pa e Bs, sendo apenas as médias de ufc/mL para Ca consideradas estatisticamente inferiores (Ca<(Pa=Ba=Bs)). Além disso, para cada tipo de microorganismo avaliado, o material K sempre apresentou maiores médias de ufc/mL quando comparado aos materiais UGH e TR.

Análise da microscopia eletrônica de varredura para os grupos avaliados

A análise em MEV dos corpos-de-prova não desinfetados (controle positivo) demonstrou a presença de um elevado número de microrganismos sobre as resinas avaliadas. A análise microscópica das amostras irradiadas revelou evidência de danos à morfologia e ou à célula dos microrganismos testados. Além disso, a análise em MEV demonstrou que parte dos microrganismos não viáveis foi removida da superfície das resinas após a irradiação em potência de 650 Watts por 6 minutos. A MEV referente às amostras irradiadas e incubadas por 7 revelou menor quantidade de microrganismos não viáveis quando comparada à MEV dos corpos-de-prova obtida imediatamente após a irradiação por microondas. As análises obtidas para cada condição avaliada microscopicamente podem ser conferidas pela observação das Figuras 15 a 26. As Figuras 15, 16 e 17 ilustram, respectivamente, as superfícies da resina K referentes às condições

.....

dos corpos-de-prova contaminados com Pa e não desinfetados, imediatamente após a irradiação e 7 dias após a irradiação por microondas. Nas Figuras 18, 19 e 20, é possível observar, respectivamente, as superfícies da resina TR referentes as condições dos corpos-de-prova contaminados com *S. aureus* e não desinfetados, imediatamente após a irradiação e 7 dias após a irradiação por microondas. As Figuras 21, 22 e 23 demonstram, respectivamente, as superfícies da resina TR referentes às condições dos corpos-de-prova contaminados com *C. albicans* e não desinfetados, imediatamente após a irradiação e 7 dias após a irradiação por microondas. As Figuras 24, 25 e 26 demonstram, respectivamente, as superfícies da resina UFH referentes às condições dos corpos-de-prova contaminados com *B. subtilis* e não desinfetados, imediatamente após a irradiação e 7 dias após a irradiação por microondas.

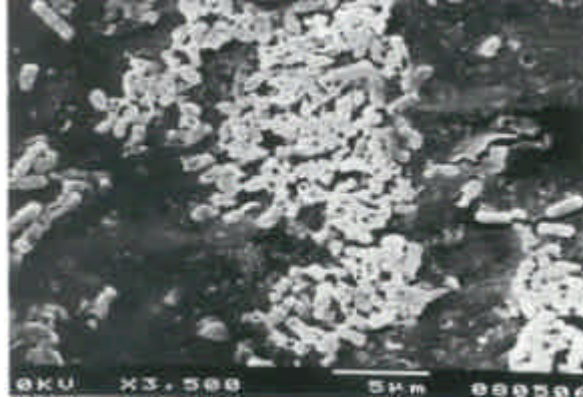
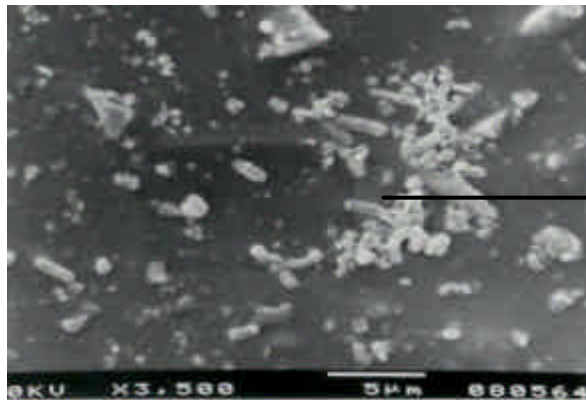


FIGURA 15: *P. aeruginosa* referente ao controle positivo da resina Kooliner



Dano à morfologia da colônia

FIGURA 16: *P. aeruginosa* referente à amostra irradiada resina Kooliner

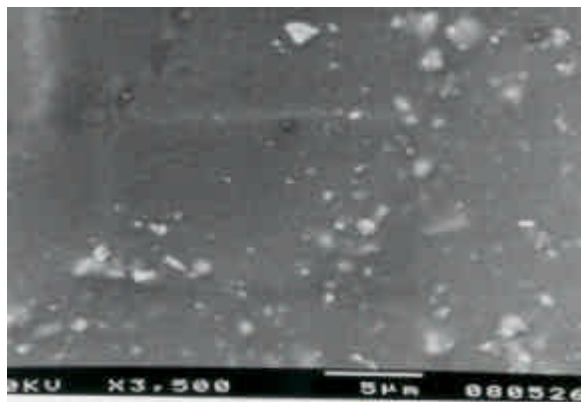


FIGURA 17: *P. aeruginosa* referente à amostra da resina Kooliner 7 dias após irradiação

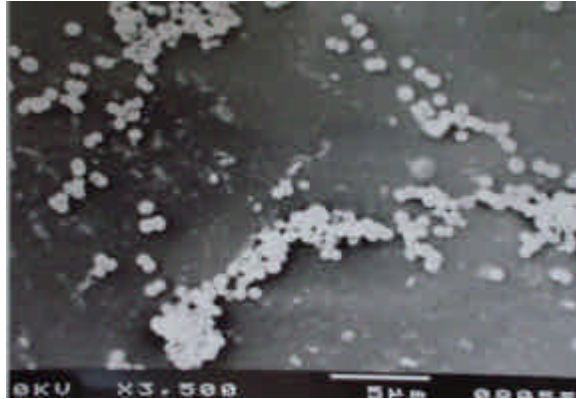
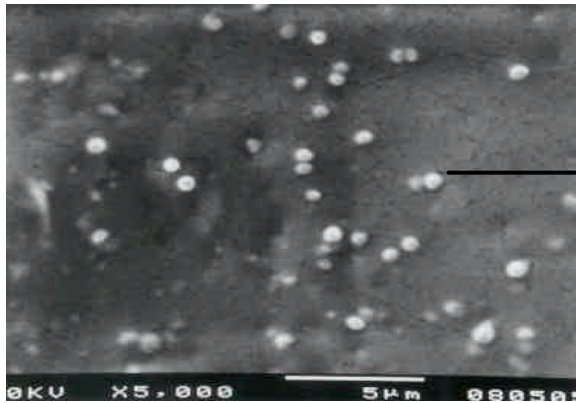


FIGURA 18: *S. aureus* referente ao controle positivo da resina Tokuso Rebase



Dano à
morfologia
da colônia

FIGURA 19: *S. aureus* referente à amostra irradiada da resina Tokuso Rebase



FIGURA 20: *S. aureus* referente à amostra da resina Tokuso Rebase 7 dias após irradiação



FIGURA 21: *C. albicans* referente ao controle positivo da resina Tokuso Rebase



Dano à hifa de
C.albicans

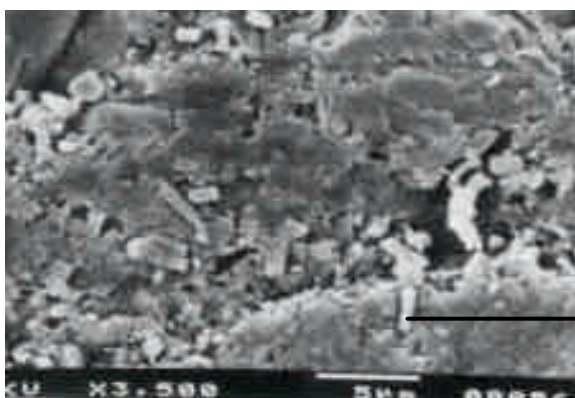
FIGURA 22: *C. albicans* referente à amostra irradiada da resina Tokuso Rebase



FIGURA 23: *C. albicans* referente à amostra da resina Tokuso Rebase após 7 dias da irradiação



FIGURA 24: *B. subtilis* referente ao controle positivo da resina Ufigel hard



Dano à morfologia da colônia

FIGURA 25: *B. subtilis* referente à amostra irradiada da resina Ufigel hard



FIGURA 26: *B. subtilis* referente à amostra da resina Ufigel hard após 7 dias da irradiação

6- Discussão

A adoção de procedimentos adequados de desinfecção permite um controle efetivo da infecção cruzada entre a clínica odontológica e o laboratório via próteses contaminadas^{20,27,60}. Uma vez removidas da cavidade bucal, as próteses podem estar contaminadas com microrganismos patogênicos tanto na superfície quanto na parte interna da prótese devido às porosidades presentes na resina acrílica^{16,40}. Considerando esses aspectos, as próteses devem ser desinfetadas pelo cirurgião-dentista ao serem enviadas ao laboratório^{29,48}. Da mesma forma, após os procedimentos laboratoriais, cabe ao técnico de laboratório realizar uma nova desinfecção das próteses, uma vez que estas podem ter sido contaminadas durante os procedimentos de acabamento e polimento^{35,37,69}.

A irradiação por microondas tem sido sugerida como um método alternativo para desinfecção de próteses dentárias^{7,8,24,51,68}. Alguns estudos têm avaliado irradiação por microondas como meio de desinfecção de alimentos²¹, lentes de contacto^{30,52}, aparelhos inaladores para sedação com óxido nítrico⁷², esponjas de uso doméstico³² e roupas íntimas contaminadas com *C.albicans*²⁶. Além disso, tem sido relatada a utilização da irradiação por microondas no tratamento de infecções como prostatite³⁹ e também na esterilização de materiais utilizados em laboratórios de análises clínicas³⁸, materiais para cultura microbiológica¹¹, instrumentos odontológicos^{31,61} e cirúrgicos⁵³ e recipientes plásticos para cultura de

células⁵⁵. Há ainda alguns estudos que avaliaram a inativação de cepas patogênicas de microrganismos esporulados e não esporulados^{25,45,70}.

Entretanto, a consulta à literatura demonstrou que há poucos estudos utilizando esse método de desinfecção para a inativação dos microrganismos presentes sobre as superfícies das próteses. Além disso, não foram encontrados na literatura relacionada trabalhos que avaliassem a efetividade da irradiação por microondas na desinfecção de materiais reembasadores definitivos.

Os resultados obtidos demonstraram esterilização para os três materiais reembasadores avaliados após a irradiação por microondas durante 6 minutos a 650 Watts. A potência e o tempo de exposição às microondas adotados neste estudo foram selecionados com base em resultados obtidos em pesquisas previamente realizadas. A partir desses resultados foi estabelecida uma média geral para a relação tempo-potência a ser adotada que poderia ser efetiva para eliminar os microrganismos patogênicos^{8,24,51,68} sem causar efeitos adversos às propriedades físicas e mecânicas da resina acrílica irradiada^{14,24,47,51,63}. É importante ressaltar que, nesse estudo, a utilização da irradiação por microondas foi proposta inicialmente para avaliação de seu efeito na desinfecção de *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* e *C. albicans*. No entanto, os resultados obtidos evidenciaram uma esterilização das amostras para todos os microrganismos estudados.

Os resultados deste estudo estão de acordo com o trabalho realizado por Roher & Bulard⁵¹. Estes autores avaliaram a efetividade da irradiação por microondas em próteses totais contaminadas com suspensões individuais de quatro bactérias (*S. aureus*, *K. pneumonie*, *S. epidermidis* e *B. subtilis*) e um fungo (*C. albicans*). As próteses foram fixadas a um dispositivo tridimensional rotacional sugerido pelos autores e em seguida, submetidas individualmente às microondas a 720 Watts em diferentes tempos de exposição (1, 2, 3, 4, 6, 8 ou 10 minutos). Os microrganismos presentes nas próteses foram eliminados após 10 minutos de irradiação a 720 Watts⁵¹. No entanto, o dispositivo tridimensional proposto pelos autores não está comercialmente disponível. Considerando essa limitação, Webb et al.⁶⁸ demonstraram que um forno de microondas doméstico pode promover uma esterilização efetiva de próteses totais contaminadas com *C.albicans* e *S.gordonii*. Os autores verificaram que as próteses foram esterilizadas após irradiação por 6 minutos a 350 Watts⁶⁸.

Diferentes procedimentos de desinfecção por microondas têm sido testados e recomendados na literatura. Entretanto, na maioria desses estudos, os corpos-de-prova foram irradiados a seco. Baysan et al.⁸ avaliaram a efetividade da energia de microondas na desinfecção de resinas reembasadoras resilientes contaminadas com *C. albicans* ou *S. aureus*. Três métodos de desinfecção foram testados: as amostras foram deixadas a seco em temperatura ambiente por 5 horas, irradiadas a 650 Watts por 5 minutos

ou imersas em solução de hipoclorito de sódio. Segundo os autores, os três métodos de desinfecção avaliados demonstraram relativa efetividade. Entretanto, foi observado que a solução de hipoclorito de sódio foi mais efetiva para a desinfecção dos corpos-de-prova quando comparada à irradiação por microondas. Além disso, os autores relataram que nenhum dos métodos avaliados foi bactericida ou fungicida⁸. Dessa forma, a irradiação das amostras a seco diretamente sobre o prato giratório do forno de microondas não foi um procedimento adequado para eliminar todos os microrganismos.

Considerando esses aspectos, Dixon et al.²⁴ sugeriram a imersão das amostras em água durante a exposição às microondas. Este procedimento foi considerado adequado para eliminar microrganismos, inclusive aqueles localizados no interior dos poros, uma vez que a irradiação em água proporciona um aquecimento uniforme dos materiais. Esses autores concluíram que 5 minutos de irradiação em potência máxima foram suficientes para produzir uma esterilização efetiva nas resinas para base de próteses e resinas reembasadoras resilientes contaminadas com *C. albicans*²⁴. Outros autores também sugeriram o umedecimento dos materiais antes da irradiação, com o objetivo de obter um procedimento de desinfecção mais efetivo. Friedrich Jr. & Phillips²⁶ avaliaram a efetividade da irradiação por microondas na esterilização de tecidos de algodão para roupas íntimas femininas contaminados com *C. albicans*. A exposição das

amostras a seco às microondas por 5 minutos não foi efetiva na eliminação de *C. albicans*, sendo observada uma quantidade de colônias viáveis semelhante à obtida com as amostras não irradiadas. Entretanto, não foi observado o crescimento de *C. albicans* quando as amostras foram umedecidas em solução salina e irradiadas por 5 minutos²⁶. Os resultados obtidos em um estudo de Ikawa & Rossen³² evidenciaram uma redução de 99,9% no número de bactérias viáveis presentes em esponjas de uso doméstico umedecidas após 1 minuto de irradiação por microondas. Os autores enfatizaram que as esponjas deveriam ser sempre umedecidas antes da irradiação por microondas, uma vez que esse procedimento propicia um aquecimento uniforme do material, evitando também sua combustão³². Além disso, Najdovski et al.⁴⁵ demonstraram que as suspensões aquosas das bactérias não-esporogênicas avaliadas (*S. aureus*, *S. pyogenes* do Grupo A, *E. coli*, *P. aeruginosa* e *E. faecalis*) foram eliminadas em 3 minutos de exposição às microondas a 1.400 Watts. Um tempo de exposição superior (5 minutos) para a mesma potência foi necessário para a eliminação das suspensões a seco de *E. faecalis* (não esporogênicas). As suspensões aquosas dos esporos bacterianos foram somente eliminadas após 10 minutos (*B. subtilis*) ou 20 minutos (*B. stearothermophilus*) de irradiação a 1.400 Watts. Entretanto, as suspensões a seco das bactérias esporuladas não foram eliminadas após a exposição por 20 minutos a 1.400 Watts. Considerando esses resultados, os

autores sugeriram que a desinfecção em forno de microondas convencional é efetiva quando o material a ser irradiado apresenta quantidade suficiente de água⁴⁵.

Segundo Dixon et al.²⁴, geralmente é necessário um período de incubação de, no mínimo, 48 horas para o crescimento microbiológico ser visível no meio de cultura utilizado. Após esse período, é possível detectar a viabilidade de microrganismos presentes no interior dos poros dos materiais, inclusive de resinas acrílicas²⁴. Neste estudo, com o objetivo de verificar a efetividade a longo prazo dos procedimentos de desinfecção por microondas, os tubos de ensaio contendo as amostras desinfetadas imersas em TSB foram incubados por um período superior ao estimado para avaliação do crescimento microbiológico. Os resultados evidenciaram ausência de microrganismos viáveis para todas as amostras irradiadas após 7 dias de incubação a 37°C. Dessa forma, o método de desinfecção proposto por este estudo pode ser considerado efetivo em longo prazo.

De acordo com as Tabelas 1, 2 e 3 foi observado, após 48 horas de incubação, crescimento dos quatro microrganismos nas placas das amostras não desinfetadas (controle positivo) para os três materiais avaliados. Analisando a Figura 14 foi possível observar que as amostras do grupo controle positivo da resina Kooliner apresentaram significativamente maiores valores de ufc/mL para cada microrganismo testado quando comparadas às amostras do controle positivo das resinas Ufigel hard e

Tokuso Rebase. Além disso, para cada microrganismo testado, não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os valores médios de ufc/mL obtidos para as resinas Ufigel hard e Tokuso Rebase. Os elevados valores de ufc/mL para a resina Kooliner podem ser atribuídos à composição do monômero desse material. Segundo o fabricante, o líquido da Kooliner é constituído basicamente de isobutil methacrilato enquanto os líquidos das resinas Tokuso Rebase e Ufigel hard contém principalmente 1,6 hexanediol dimetacrilato. Como as resinas Tokuso Rebase e Ufigel hard possuem os mesmos monômeros principais em suas formulações, e considerando que ambas não apresentaram diferenças significativas entre os valores de ufc/mL para cada microrganismo, é possível sugerir que a composição dos materiais pode interferir com a quantidade de microrganismos presentes em uma resina reembasadora. Neste estudo, a composição do material Kooliner possivelmente facilitou a colonização superficial pelos microrganismos avaliados, verificado quando em comparação com as outras resinas estudadas. Além disso, tem sido relatado que as propriedades superficiais de uma resina acrílica podem influenciar diretamente a colonização por microrganismos⁷³. Essas propriedades incluem: rugosidade do substrato, perfil e energia de superfície, tensão superficial, umidade, características hidrofóbicas, interações eletrostáticas e microdureza dos materiais^{49,62,65,73}. No entanto, pela literatura revisada, não foi possível encontrar uma resposta satisfatória que pudesse esclarecer as diferenças observadas entre os

valores de cfu/mL para as resinas avaliadas. Dessa forma, ainda são necessários trabalhos futuros para avaliar o efeito das propriedades superficiais na colonização de microrganismos em resinas para reembasamento.

A Figura 14 também evidencia que os três materiais apresentaram médias de ufc/mL para os microrganismos *S. aureus* e *P. aeruginosa* numericamente superiores às médias obtidas para *C. albicans* e *B. subtilis*. Essa diferença foi considerada estatisticamente significativa para as resinas Tokuso Rebase e Ufigel hard. No entanto, para a resina Kooliner, o teste estatístico empregado não demonstrou uma diferença estatisticamente significativa entre as médias de ufc/mL para *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *B. subtilis*, sendo apenas as médias de ufc/mL para *C. albicans* consideradas estatisticamente inferiores. Apesar destes resultados e considerando que a resina Kooliner apresentou sempre maiores médias de ufc/mL em relação às demais resinas, é possível observar, na Figura 14, que as três resinas apresentaram uma tendência semelhante no que se refere aos valores de ufc/mL para cada microrganismo.

As diferenças entre os valores de ufc/mL nos materiais avaliados podem ser atribuída à variabilidade morfológica e às características específicas de adesão verificadas entre os diferentes microrganismos testados. Verran & Maryan⁶⁵ relataram que células maiores, como leveduras (Figura 21), são facilmente deslocadas da superfície da resina acrílica

quando em comparação com células menores como as bacterianas (Figuras 15 e 18). Isso possivelmente pode explicar os maiores valores médios de ufc/mL para *S. aureus* e *P. aeruginosa*, uma vez que estas células bacterianas são menores quando comparadas com as formas de leveduras apresentadas pelas cepas de *C. albicans*. Além disso, os valores numericamente inferiores das médias de ufc/mL para *B. subtilis* (Figura 24) foram presumivelmente causados pelo mecanismo de formação de esporos apresentado por esse microrganismo. Foi demonstrado que a esporulação do *B. subtilis* é iniciada após um período relativamente curto de crescimento²⁸. Após a fase de crescimento das formas vegetativas, os esporos começam a se formar em 60 minutos²⁸. Considerando esse aspecto, o microrganismo provavelmente produziu um alto número de esporos após o período de 48 horas de incubação utilizado nesse estudo. Dessa forma, pode-se sugerir que as formas esporuladas, como as apresentadas pelo *B. subtilis*, são mais facilmente removidas da superfície da resina acrílica quando comparadas às formas bacterianas convencionais (*S. aureus* e *P. aeruginosa*).

Webb et al.⁶⁸ relataram que a irradiação por microondas por 6 minutos a 350 Watts eliminou o crescimento de *C. albicans* e *S. Gordonii* presentes nas superfícies de próteses totais irradiadas em condições a seco. No entanto, esse procedimento não removeu os microrganismos não viáveis da superfície das próteses⁶⁸. Por outro lado, os resultados obtidos com o

presente estudo demonstraram que a irradiação dos corpos-de-prova imersos em água resultou na remoção de parte dos microrganismos não viáveis das superfícies das resinas avaliadas (Figuras 16,19, 22 e 25). Essa remoção pode ser justificada pela imersão dos corpos-de-prova em água durante a irradiação. Após 1,5 minutos de irradiação, a água do béquer contendo cada amostra atingiu o estado de ebulição, o que resultou em uma movimentação da mesma. Com isso, parte do número de células não viáveis pode ter sido removida da superfície do material.

A análise em MEV também indicou alteração na morfologia das células após a irradiação. Rosaspina et al.⁵³ demonstraram que o método das microondas produziu alterações progressivas, diretamente proporcionais ao tempo de exposição utilizado, com a completa destruição das células dos microrganismos ao final da irradiação. Considerando esses aspectos, é possível sugerir que a irradiação por 6 minutos a 650 Watts inativou os microrganismos avaliados (*P. aeruginosa*, *S. aureus*, *C. albicans* e *B. subtilis*). Além disso, a irradiação em água removeu parte dos microrganismos não viáveis da superfície das três resinas testadas. As fotomicrografias dos corpos-de-prova após 7 dias da irradiação apresentaram-se similares àquelas referentes às amostras observadas imediatamente após irradiação com microondas. Esses resultados confirmam a eficiência, a longo prazo, do procedimento de esterilização por microondas utilizado nesse estudo.

A eliminação de todos os microrganismos testados após irradiação por microondas sugere que o procedimento é adequado para a esterilização da resina rígida de reembasamento estudada e não apenas a desinfecção. Entretanto, o mecanismo pelo qual a energia de microondas atua sobre os microrganismos ainda não foi completamente esclarecido. Fitzpatrick et al.²⁵ concluíram que a esterilização pelo método das microondas é resultante de um efeito puramente térmico. No entanto, vários estudos sugerem que outros fatores, além do calor gerado ao redor dos microrganismos, podem ser responsáveis pela destruição dos mesmos^{15,21,30,46,52,67}. Os efeitos térmicos são aqueles induzidos por um movimento cinético associado ao aumento de temperatura, não sendo diretamente causados pelo campo eletromagnético de microondas. Os efeitos não-térmicos são considerados resultantes diretamente da interação do campo eletromagnético com as moléculas, produzindo mecanismos que não podem ser explicados somente por uma ação térmica. Vários mecanismos têm sido sugeridos para explicar a natureza da chamada teoria não-térmica. Dependendo da composição química dos microrganismos e de seu meio circundante, as células microbianas podem ser aquecidas seletivamente pelas microondas.^{15,71} Hiti et al.³⁰ relataram que a célula biológica é caracterizada por um alto conteúdo de água, o que explica a sensibilidade dos microrganismos à irradiação de microondas. Dessa forma, determinada frequência de energia de microondas pode ser absorvida por

certas moléculas biológicas importantes, como os ácidos nucleicos.⁵² Além disso, o nível de resposta molecular do sistema biológico à quantidade de energia térmica pode também explicar o efeito não-térmico das microondas⁶⁷. As mudanças estruturais na camada mais periférica ao redor das macromoléculas biológicas podem alterar sua estabilidade e função, e, conseqüentemente, essas moléculas podem ser desnaturadas de forma irreversível²¹. Outras possíveis explicações incluem fenômenos na parede da membrana celular que pode envolver alteração na permeabilidade seletiva e ressonância molecular, o que resulta em clivagem⁴⁶.

Independentemente da letalidade da irradiação de microondas sobre microrganismos patogênicos ser de natureza molecular, mecânica ou proveniente de aquecimento seletivo, é necessário que tais efeitos sejam investigados. Além disso, é necessário ser avaliado o efeito do método de desinfecção proposto sobre as propriedades físicas e mecânicas dos materiais utilizados para a confecção de próteses. Alguns estudos na literatura avaliaram o efeito da água em ebulição sobre algumas propriedades de resinas acrílicas^{9,33,50,58}. Shim & Watts⁵⁸ relataram que um ciclo termopolimerização adicional a 100°C por 2 horas promoveu uma redução significativa nas concentrações de monômero residual, favorecendo propriedades mecânicas de resinas acrílicas para base de prótese. Beech³³ que o tratamento térmico em água em ebulição a 100°C por 2 horas aumentou o grau de conversão do monômero em polímero de resinas

termopolimerizáveis. Em um estudo de Inoue et al.³³ foi observado que o banho de água a 100°C por 1 hora melhorou as propriedades viscoelásticas e reduziu a porcentagem de monômero residual de resinas autopolimerizáveis e termopolimerizáveis. Além disso, Robinson et al.⁵⁰ demonstraram que um banho de água a 95°C aumentou significativamente a resistência à flexão de uma resina acrílica autopolimerizável e duas resinas acrílicas termopolimerizáveis.

Com base nos resultados deste estudo, a desinfecção por microondas por 6 minutos a 650 Watts provou ser um método efetivo para esterilização das resinas para reembasamento imediato avaliadas.

7- Conclusão

1. Todas os corpos-de-prova imersas em água foram efetivamente esterilizadas pela irradiação em microondas após 6 min de exposição a 650 Watts.
2. Não houve turvação do meio de cultura referente aos corpos-de-prova irradiadas, após a incubação por 7 dias a 37°C.
3. A análise em MEV dos corpos-de-prova irradiadas revelaram evidência de danos aos microorganismos imediatamente ou após 7 dias decorridos da irradiação.
4. Os valores médios de ufc/mL dos microorganismos testados foram observados para os corpos-de-prova do grupo controle positivo quando comparados aos dos outros materiais.

8- Referências*

1. AMERICAN DENTAL ASSOCIATION. COUNCIL ON DENTAL MATERIALS, INSTRUMENTS AND EQUIPMENT. Denture cleansers. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v. 106, n.1, p. 77-79, Jan. 1983.
2. AMERICAN DENTAL ASSOCIATION COUNCIL ON SCIENTIFIC AFFAIRS AND AMERICAN DENTAL ASSOCIATION COUNCIL ON DENTAL PRACTICE. Infection control recommendations for the dental office and the dental laboratory. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v.127, n.5, p.672-680, May 1996.
3. ARIMA, T. et al. Properties of highly cross-linked autopolymerizing reline resins. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v.73, n.1, p.55-59, Jan. 1995.
4. ASAD, T.; WATKINSON, A.C.; HUGGETT, R. The effect of disinfection procedures on flexural properties of denture base acrylic resins. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v.68, n.1, p.191-195, July 1992.

* ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação – referências – elaboração. Rio de Janeiro: ABNT, 2002. 24p.

-
5. ASAD, T.; WATKINSON, A.C.; HUGGETT, R. The effects of various disinfectant solutions on the surface hardness of an acrylic resin denture base material. **Int. J. Prosthodont.**, Lombard, v.6, n.1, p.9-12, Jan./Feb. 1993.
 6. ASSERY, M. et al. Control of microbial contamination with commercially available cleaning solutions. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v.67, n.2, p.275-277, Feb. 1992.
 7. BANTING, D.W.; HILL, S.A. Microwave disinfection of dentures for the treatment of oral candidiasis. **Spec. Care Dentist.**, Chicago, v.21, n.1, p. 4-8, 2001.
 8. BAYSAN, A.; WHILEY, R.; WRIGHT, P.S. Use of microwave energy to disinfect a long-term soft lining material contaminated with *Candida albicans* or *Staphylococcus aureus*. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v.79, n.4, p.454-458, Apr. 1998.
 9. BEECH, D.R. Molecular weight distribution of denture base acrylic. **J. Dent.**, Guildford, v.3, n.1, p.19-24, Jan. 1975.
 10. BELL, J.A. The effectiveness of two disinfectants on denture base acrylic resin with an organic load. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v. 61, n.5, p.580-583, May 1989.
 11. BORDER, B.G.; RICE-SPEARMAN, L. Microwaves in the laboratory: effective decontamination. **Clin. Lab. Sci.**, Bethesda, v.12, n.3, p.156-160, May/Jun. 1999.

-
12. BRACE, M.L.; PLUMMER, K.D. Practical denture disinfection. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v. 70, n.6, p. 538-540, Dec. 1993.
 13. BUNCH, J.; JOHNSON, G.H.; BRUDVIK, J.S. Evaluation of hard direct relined resins. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v. 57, n.4, p.512-519, Apr. 1987.
 14. BURNS, D.R. et al. Dimensional stability of acrylic resin materials after microwave sterilization. **Int. J. Prosthodont.**, Lombard, v.3, n.5, p.489-493, Sep./Oct. 1990.
 15. CARROL, D.E.; LOPEZ, A. Lethality of radio-frequency energy upon microorganisms in liquid, buffered, and alcoholic food systems. **J. Food. Sci.**, Champaign; v. 34, p.320-324, 1969.
 16. CHAU, V.B. et al. In-depth disinfection of acrylic resins. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v.74, n.3, p. 309-313. Sept. 1995.
 17. CLARKE, R.L.; BRADEN, M. Visco-elastic properties of some room-temperature polymerizing resins. **J. Dent. Res.**, Chicago, v.61, n.8, p.997-1001, Aug. 1982.
 18. CLIFFORD, T.J.; BURNETT, C.A. The practice of Consultants in Restorative Dentistry (UK) in routine infection control for impressions and laboratory work. **Eur. J. Prosthodont. Restorative Dent.**, Larkfield, v.3, n.4, p.175-177, June 1995.

-
19. COLE, E.C.; ROBISON, R. Test methodology for evaluation of germicides. In: ASCENZI, J.M. **Handbook of disinfectants and antiseptics**. New York: Marcel Dekker Inc, 1996. p.1-13.
20. CONNOR, C. Cross-contamination control in prosthodontic practice. **Int. J. Prosthodont.**, Lombard, v.4, n.4, p.337-344, July/Aug. 1991.
21. CULKIN, K. A.; FUNG, D.Y.C. Destruction of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* in microwave-cooked soups. **J. Milk Food Technol.**, v. 38, n. 1, p.8-15, Jan. 1975.
22. DAVENPORT, J.C. The denture surface. **Br. Dent. J.**, London, v.133, n.3, p.101-105, Aug.1972.
23. DE PAOLA, L.G.; MINAH, G.E. Isolation of pathogenic microorganisms from dentures and denture-soaking containers of myelosuppressed cancer patients. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v.49, n.1, p.20-24, Jan. 1983.
24. DIXON, D.L.; BREEDING, L.C.; FALER, T.A. Microwave disinfection of denture base materials colonized with *Candida albicans*. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v.81, n.2, p.207-214, Feb. 1999.
25. FITZPATRICK, J.A.; KWAO-PAUL, J.; MASSEY, J. Sterilization of bacteria by means of microwave heating. **J. Clin. Eng.**, Frederick, v.3, n.1, p.44-47, Jan./Mar. 1978.

-
26. FRIEDRICH Jr., E.G., PHILLIPS, L.E. Microwave sterilization of Candida on underwear fabric. A preliminary report. **J. Reprod. Med.**, St. Louis, v.33, n.5, p.421-422, May 1988.
27. FURUKAWA, K.K. et al. Effectiveness of chlorine dioxide in disinfection on two soft denture liners. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v.80, n.6, p.723-729, Dec. 1998.
28. HAUSER, P.M.; ERRINGTON, J. Characterization of cell cycle events during the onset of sporulation in *Bacillus subtilis*. **J. Bacteriol.** Washington, v.177, n.14, p. 3923-3931, July 1995.
29. HENDERSON, C.W. et al. Evaluation of the barrier system, an infection control system for the dental laboratory. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v.58, n.4, p.517-521, Oct. 1987.
30. HITI, K. et al. Microwave treatment of contact lens cases contaminated with acanthamoeba. **Cornea**, New-York, v.20, n.5, p.467-470, July 2001.
31. HUME, W.R.; MAKINSON, O.F. Sterilizing dental instruments: evaluation of lubricating oils and microwave radiation. **Oper. Dent.**, Seattle, v.3, n.3, p.93-96, 1978.
32. IKAWA, J. Y.; ROSSEN, J. S. Reducing bacteria in household sponges. **J. Environ. Health.**, Denver, v.62, n.1, p.1-5, July/Aug. 1999.

-
33. INOUE K. et al. Effect of residual monomer on viscoelastic properties of pour denture base resins. **Dent. Mater. J.**, Tokyo, v.2, n.2, p.192-197, Dec. 1983.
34. KAHN, R.C.; LANCASTER, M.V.; KATE Jr., W. The microbiologic cross-contamination of dental prostheses. **J Prosthet Dent.**, St. Louis, v.47, n.5, p.556-559, May 1982.
35. KATBERG Jr., J.W. Cross-contamination via the prosthodontic laboratory. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v.32, n.4, p.412-419, Oct. 1974.
36. KINYON, T.J. et al. The use of warm solutions for more rapid disinfection of prostheses. **Int. J. Prosthodont.**, Lombard, v.2, n.6, p.518-523, Nov./Dec. 1989.
37. LARATO, D.C. Disinfection of pumice. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v.18, n.6, p.534-535, Dec. 1967.
38. LATIMER, J.M.; MATSEN, J.M. Microwave oven irradiation as a method for bacterial decontamination in a clinical microbiology laboratory. **J. Clin. Microbiol.**, Washington, v.6, n.4, p.340-342, Oct. 1977.
39. LIATSIKOS, E.N. et al. Transurethral microwave thermotherapy for the treatment of prostatitis., **J. Endourol.**, New York, v.14, n.8, 689-692, Oct. 2000.

-
40. LIN, J.J. et al. Disinfection of denture base acrylic resin. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v. 81, n.2, p.202-206, Feb. 1999.
41. MA, T.; JOHNSON, G.H.; GORDON; G.E. Effects of chemical disinfectants on the surface characteristics and color of denture resins. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v.77, n.2, p.197-204, Feb. 1997.
42. Mc GIVNEY, G.; CASTLEBERRY, D. Reembasamento da prótese parcial removível. In:_____. **Prótese Parcial Removível de McCracken**. 8.ed. São Paulo: Artes Médicas, 1994. cap. 20, p.288-292.
43. MERCHANT, V.A. An update on infection control in the dental laboratory. **Quintessence Dent. Technol.**, Chicago, p. 157-65, 1997.
44. MOLINARI, J.A.; RUNNELLS, R.R. Role of disinfectants in infection control. **Dent. Clin. North Am.**, Philadelphia, v.35, n.2, p. 323-371, Apr.1991.
45. NAJDOVSKI, L.; DRAGAS, A.Z.; KOTNIK, V. The killing activity of microwaves on some non-sporogenic and sporogenic medically important bacterial strains. **J. Hosp. Infect.**, San Diego, v.19, n.4, p.239-247, Dec. 1991.
46. OLSEN, C.M. Microwaves inhibit bread mold. **Food. Eng.**, v.37, p. 51-53, 1965.

-
47. POLYZOIS, G.L.; ZISSIS, A.J.; YANNIKAKIS, S.A. The effect of glutaraldehyde and microwave disinfection on some properties of acrylic denture resin. **Int. J. Prosthodont.**, Lombard, v.8, n.2, p.150-154, Mar./Apr. 1995.
48. POWELL, G.L. et al. The presence and identification of organisms transmitted to dental laboratories. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v. 64, n.2, p. 235-237, Aug. 1990.
49. RADFORD, D.R.; CHALLACOMBE, S.J.; WALTER, J.D. Adherence of phenotypically switched *Candida albicans* to denture base materials. **Int. J. Prosthodont.**, Lombard, v. 11, n.1, p.75-81, Jan./Feb. 1998.
50. ROBINSON, J.G.; McCABE, J.F.; STORER, R. Denture bases: the effects of various treatments on clarity, strength and structure. **J. Dent.**, Guildford, v.15, n.4, p.159-165, Aug. 1987.
51. ROHRER, M.D.; BULARD, R.A. Microwave sterilization. **J. Am. Dent. Assoc.** Chicago, v.110, n.2, 194-198, Feb.1985.
52. ROHRER, M.D. et al. Microwave sterilization of hydrophilic contact lenses. **Am. J. Ophthalmol.** New York, v. 101, n.1, p. 49-57. Jan. 1986.
53. ROSASPINA, S. et al. Effect of microwave radiation on *Candida albicans*. **Microbios**, Cambridge, v.78, n.314, p.55-59, 1994.

-
54. RUDD, R.W. et al. Sterilization of complete dentures with sodium hypochlorite. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis v.51, n.3, p.318-321, Mar. 1984.
55. SANBORN, M.R.; WAN, S.K.; BULARD, R. Microwave sterilization of plastic tissue culture vessels for reuse. **Appl. Environ. Microbiol.** Washington, DC, v.44, n.4, Oct, 1982.
56. SCHWARTZ, R.; KINYON, T.; MAYHEW, R. Infection control in the dental laboratory: a review of the literature. **Mil. Med.**, Washington, v.156, n.1, p.1-4, Jan. 1991
57. SHEN, C.; JAVID, N.S.; COLAIZZI, F.A. The effect of glutaraldehyde base disinfectants on denture base resins. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v.61, n.5, p.583-589, May 1989.
58. SHIM, J.S.; WATTS, D.C. Residual monomer concentrations in denture-base acrylic resin after an additional, soft-liner, heat-cure cycle. **Dent. Mater.**, Copenhagen, v.15, n.4, p.296-300, July 1999.
59. STAFFORD, G.D. et al. A review of the properties of some denture base polymers. **J. Dent.**, Guildford, v.8, n.4, p.292-306, Dec. 1980.
60. STERN, M.A.; WHITACRE, R.J. Avoiding cross-contamination in prosthodontics. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v.46, n.2, p.120-122, Aug. 1981.

-
61. TARANTINO, L. et al. L'impriego di un apparecchio a microonde nella sterilizzazione di strumentario odontoiatrico: possibilità e limiti. **Minerva Stomatol.**, Torino, v.46, n.10, p.561-566, Oct. 1997.
62. TAYLOR, R.; MARYAN, C.; VERRAN, J. Retention of oral microorganisms on cobalt-chromium alloy and dental acrylic resin with different surface finishes. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v.80, n.5, p.592-597, Nov. 1998.
63. THOMAS, C.J.; WEBB, B.C. Microwaving of acrylic resin dentures. **Eur. J. Prosthodont. Restorative Dent.**, Larkfield, v.3, n.4, p.179-182 June 1995.
64. VAN BUEREN, J. et al. Inactivation of HIV-1 by chemical disinfectants: sodium hypochlorite. **Epidemiol. Infect.**, Cambridge, v.115, n.3, p.567-579, Dec. 1995.
65. VERRAN, J.; MARYAN, C.J. Retention of *Candida albicans* on acrylic resin and silicone of different surface topography. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v.77, n.5, p.535-539, May 1997.
66. VERRAN, J.; KOSSAR, S.; MCCORD, J.F. Microbiological study of selected risk areas in dental technology laboratories. **J. Dent.**, Guildford, v.24, n.1/2, p.77-80, Jan./Mar. 1996.
67. WATANABE, K. et al. Effect of ionic strength on the inactivation of micro-organisms by microwave irradiation. **Lett. Appl. Microbiol.**, Oxford, v.31, n.1, p.52-56, July 2000.

-
68. WEBB, B.C. et al. Effectiveness of two methods of denture sterilization. **J. Oral Rehabil.**, Oxford, v.25, n.6, p.416-423, June 1998.
69. WILLIAMS, H.N. et al. The recovery and significance of nonoral opportunistic pathogenic bacteria in dental laboratory pumice. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v.54, n.5, p.725-730, Nov .1985.
70. WU, Q. Effect of high-power microwave on indicator bacteria for sterilization. **IEEE Trans. Biomed. Eng.**, New York, v.43, n.7, p.752-754, July 1996.
71. YEO, C.B. et al. Heat transfer analysis of staphylococcus aureus on stainless steel with microwave radiation. **J. Appl. Microbiol.**, Melbourne, v.87, n.3, p.396-401, Sept. 1999.
72. YOUNG, S.K. et al. Microwave sterilization of nitrous oxide nasal hoods contaminated with virus. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v.60, n.6, p.581-585, Dec. 1985.
73. ZISSIS, A.J. et al. Roughness of denture materials: a comparative study. **Int. J. Prosthodont.**, Lombard, v.13, n.2, p.136-140, Mar./Apr. 2000.

NEPPELENBROEK, K.H. Efetividade da irradiação por microondas na esterilização de materiais reembasadores rígidos. Araraquara, 2003. 136p. Dissertação (Mestrado em Reabilitação Oral) – Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

Este estudo teve por objetivo avaliar a efetividade da irradiação por microondas na esterilização de resinas rígidas para reembasamento imediato. Corpos-de-prova (10 x 10 x 1 mm) de três resinas reembasadoras rígidas (Kooliner, Tokuso Rebase and Ufi Gel hard) foram confeccionados e esterilizados por meio de óxido de etileno. Os corpos-de-prova foram então individualmente inoculados (10^7 cfu/ml) com meio de cultura de Tryptic Soy Broth (TSB) contendo um dos seguintes microorganismos: *C.albicans*, *S. aureus*, *B. subtilis* and *P. aeruginosa*. Após 48 h de incubação a 37°C, os corpos-de-prova foram agitados por 1 min e deixados em repouso por 9 min, seguido de nova agitação para suspender qualquer microorganismo aderente. Após a inoculação, 40 corpos-de-prova de cada material foram imersos em 200 ml de água e irradiados a 650W por 6 min. Quarenta corpos-de-prova não irradiados foram utilizados como controle positivo. A seguir, 25 μ L da suspensão resultante das diluições seriadas de 10^{-3} a 10^{-6} , foram semeados em placas de Petri contendo os meios de cultura seletivo para cada

microrganismo. Todas as placas foram incubadas a 37°C por 48 h. 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 (MEV). Todos os corpos-de-prova demonstraram efetiva esterilização após a irradiação em microondas. A análise em MEV indicou alteração na morfologia celular dos microrganismos após irradiação em microondas. Os corpos-de-prova irradiados e incubados por 7 dias não demonstram crescimento microbiológico visível no meio de cultura. A esterilização por microondas por 6 min a 650 W provou ser um método efetivo para a esterilização de resinas reembasadoras rígidas.

NEPPELENBROEK, K.H. Effectiveness of microwave sterilization on hard chairside reline resins. Araraquara, 2003. 154p. Dissertação (Mestrado em Reabilitação Oral) – Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista.

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effectiveness of microwave irradiation sterilization on hard chairside reline resins. Specimens (10x10x1mm) of three hard chairside reline resins (Kooliner, Tokuso Rebase and Ufigel hard) were fabricated and submitted to ethylene oxide sterilization. The specimens were then individually inoculated (10^7 cfu/mL) with Tryptic Soy Broth media containing one of the tested microorganisms (*C.albicans*, *S. aureus*, *B. subtilis* and *P. aeruginosa*). After 48 hours at 37 °C, the samples were vortexed for 1 minute and allowed to stand for 9 minutes followed by a short vortex to resuspend any organisms present. After inoculation, forty specimens of each material were immersed in 200 millilitres of water and submitted to microwave irradiation at 650 Watts for 6 minutes. Forty non-irradiated specimens were used as positive controls. Replicate specimens (25 microlitres) of suspension were plated at dilutions of 10^{-3} to 10^{-6} on plates of selective media appropriate for each organism. All plates were incubated at 37 °C for 48 hours. After incubation, colonies were counted (cfu/mL) and the data were statistically analyzed by the Kruskal-Wallis's

test. Twelve specimens of each material were prepared for Scanning Electronic Microscopy (SEM). All immersed specimens showed consistent sterilization of all the individual organisms after microwave irradiation. SEM examination indicated an alteration in cell morphology after microwave irradiation. Microwave sterilization for 6 minutes at 650 Watts proved to be an effective method for the sterilization of hard chairside reline resins.

Key words: 1. Denture reline 2. Sterilization 3. Microwave
4. Infection-Transmission