

## Efetividade da irradiação por microondas na desinfecção de resinas reembasadoras rígidas e resina acrílica para base de prótese

*Karin Hermana NEPPELENBROEK<sup>a</sup>, Ewerton Garcia de Oliveira MIMA<sup>a</sup>,  
Denise Madalena Palomari SPOLIDORIO<sup>b</sup>, Eunice Teresinha GIAMPAOLO<sup>a</sup>,  
Carlos Eduardo VERGANI<sup>a</sup>, Ana Cláudia PAVARINA<sup>a</sup>*

<sup>a</sup>*Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese, Faculdade de Odontologia, UNESP,  
14801-903 Araraquara - SP, Brasil*

<sup>b</sup>*Departamento de Fisiologia e Patologia, Faculdade de Odontologia, UNESP,  
14801-903 Araraquara - SP, Brasil*

Neppelenbroek KH, Mima EGO, Spolidorio DMP, Giampaolo ET, Vergani CE, Pavarina AC. Effectiveness of microwave irradiation on disinfection of hard chairside relines resins and denture base resin. Rev Odontol UNESP. 2006; 35(4): 305-311.

**Resumo:** Este estudo avaliou a efetividade da irradiação por microondas na desinfecção de duas resinas acrílicas autopolimerizáveis rígidas para reembasamento imediato (Duraliner II-D e New Truliner-N) e uma resina acrílica termopolimerizável para base de prótese (Lucitone 550-L). Os corpos-de-prova (n = 276) foram confeccionados e esterilizados por óxido de etileno. Então, os corpos-de-prova foram individualmente inoculados com  $10^7$  cfu.mL<sup>-1</sup> de cada microorganismo patogênico testado (*C.albicans-Ca*, *S. aureus-Sa*, *B. subtilis-Bs* e *P. aeruginosa-Pa*). Após 48 horas de incubação a 37 °C, 40 corpos-de-prova de cada material foram imersos em 200 mL de água e irradiados a 650 W por 6 minutos e 40 corpos-de-prova não foram irradiados (controle positivo). Da suspensão resultante da agitação dos corpos-de-prova, foram obtidas diluições seriadas de  $10^{-3}$  a  $10^{-6}$ , que foram semeadas (25 µL) em duplicata nos meios de cultura seletivos para cada microrganismo. Após o período de incubação, os números de ufc.mL<sup>-1</sup> referentes às colônias viáveis foram transformados em logaritmo na base 10 e submetidos ao teste de Kruskal-Wallis ( $\alpha = 0,05$ ). Os corpos-de-prova irradiados foram incubados a 37 °C por 7 dias. Doze corpos-de-prova de cada material foram preparados para análise em MEV e observados em aumentos de 2.000 e 3.500x. A energia de microondas esterilizou os materiais testados após a irradiação e 7 dias de incubação. A análise em MEV indicou alteração na colônia e na morfologia dos microrganismos após irradiação. Para o grupo controle, foi possível verificar que, estatisticamente, os números de ufc.mL<sup>-1</sup> dos microrganismos testados se apresentaram da seguinte forma:  $Pa = Sa > Ca = Bs$  para as resinas D e N e  $Sa > Pa = Ca > Bs$  para a resina L. A irradiação por microondas por 6 minutos a 650 W foi efetiva ao esterilizar os três materiais avaliados após 48 horas e 7 dias de incubação a 37 °C.

**Palavras-chave:** Reembasadores de dentadura; resinas acrílicas; desinfecção; microondas; controle de infecção.

**Abstract:** This study assessed the effectiveness of microwave irradiation on disinfection of two hard chairside relines resin (Duraliner II-D and New Truliner-N) and one denture base resin (Lucitone 550-L). Specimens (n = 240) were produced and subjected to ethylene oxide sterilization. Then, specimens were individually inoculated with  $10^7$  cfu.mL<sup>-1</sup> of one tested microorganism (*C.albicans-Ca*, *S. aureus-Sa*, *B. subtilis-Bs*, and *P. aeruginosa-Pa*). After 48 hours at 37 °C, 40 specimens of each material were immersed in 200 mL of water and microwaved at 650 W for 6 minutes and 40 specimens were not irradiated (positive control). Dilutions of  $10^{-3}$  to  $10^{-6}$  from the suspension of vortexed specimens were plated (25 µL) in duplicate on plates of selective media appropriate for each organism. All plates were incubated at 37 °C for 48 hours and colonies were counted. Irradiated specimens were incubated at 37 °C for 7 days. Log cfu.mL<sup>-1</sup> values were calculated and statistically analyzed by the Kruskal-Wallis test ( $\alpha = 0.05$ ). All irradiated specimens showed sterilization after microwave irradiation and 7 days of incubation. Twelve specimens of each material were prepared for SEM analysis and examined at 2,000 and 3,500x magnification.

SEM examination indicated alteration in cell and colony morphology after irradiation. The sequence in cfu.mL<sup>-1</sup> values for control specimens, arranged in terms of statistical significance was: Pa = Sa > Ca = Bs for N and D resins, and Sa > Pa = Ca > Bs, for L resin. Microwave irradiation for 6 minutes at 650 W was effective for sterilization of the 3 tested materials.

**Keywords:** Denture liners; acrylic resins; disinfection; microwave; infection control.

## Introdução

Durante a fase de controle posterior, em muitos casos de próteses removíveis parciais e totais, observa-se a necessidade de reembasamento das bases acrílicas, procedimento que pode ser realizado por duas técnicas: mediata e imediata. O reembasamento mediato requer uma nova inclusão e prensagem da prótese para a polimerização da resina termoativada, o que pode resultar em alterações na dimensão vertical das próteses ou distorções irreversíveis na estrutura metálica no caso de prótese parcial removível<sup>1</sup>. Dessa forma, algumas resinas acrílicas autopolimerizáveis têm sido desenvolvidas para a realização do reembasamento imediato, proporcionando vantagens em relação ao reembasamento mediato tais como menor complexidade, rapidez de execução e custo mais acessível. Como o reembasamento imediato é realizado diretamente na cavidade bucal, os pacientes não necessitam permanecer sem as próteses como ocorre na técnica mediata durante os procedimentos laboratoriais<sup>1-3</sup>.

As próteses da cavidade bucal dos pacientes podem conter microrganismos patogênicos no interior dos poros da resina acrílica, tanto na sua superfície quanto na parte interna, a uma profundidade que varia de 1,0 a 2,0  $\mu\text{m}$ <sup>4</sup>. Tem sido demonstrado que os materiais reembasadores são facilmente colonizados por esses microrganismos, já que apresentam maior porosidade que as resinas termopolimerizáveis convencionais<sup>3</sup>. Powell et al.<sup>5</sup> verificaram que 67% de todos os materiais enviados dos consultórios odontológicos aos laboratórios de prótese estavam contaminados com microrganismos patogênicos. 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<sup>6</sup>. Dessa forma, a manipulação das próteses durante os diversos procedimentos odontológicos pode dissipar e disseminar os microrganismos pelo ambiente, na forma de aerossóis, o que pode resultar em infecção cruzada entre pacientes, técnicos e profissionais<sup>4-7</sup>. 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<sup>4-7</sup>.

A irradiação por microondas pode ser utilizada para desinfecção de alimentos<sup>8,9</sup>, instrumentos odontológicos<sup>10</sup>, lentes de contato<sup>11,12</sup>, esponjas de uso doméstico<sup>13</sup>,

roupas íntimas contaminadas com *C.albicans*<sup>14</sup>, materiais laboratoriais<sup>15</sup> e suspensões microbianas<sup>16-18</sup>. Entretanto, há pouca informação na literatura sobre a desinfecção de resinas acrílicas por microondas, sobretudo das resinas para reembasamento imediato. Tendo em vista esses aspectos, Neppelenbroek et al.<sup>19</sup> avaliaram a efetividade das microondas na desinfecção de três materiais reembasadores rígidos (Kooliner, Ufi Gel hard e Tokuso Rebase) e observaram que todos os corpos-de-prova foram esterilizados após 6 minutos de irradiação a 650 W. Esse método também provou ser efetivo a longo prazo, uma vez que, após 7 dias de incubação, não houve crescimento microbiológico no meio de cultura contendo os corpos-de-prova irradiados.

Considerando a ampla utilização de resinas reembasadoras rígidas pela classe odontológica bem como a disponibilidade de inúmeras marcas de reembasadores, julgou-se oportuno avaliar a desinfecção de microondas sobre uma variedade maior desses materiais, bem como compará-los com resinas acrílicas termopolimerizáveis para base de prótese. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a efetividade da irradiação por microondas na desinfecção de microrganismos patogênicos presentes em duas resinas reembasadoras rígidas e uma resina para base de prótese.

## Material e método

Foram selecionadas duas resinas acrílicas autopolimerizáveis indicadas para reembasamento do tipo imediato e uma resina termopolimerizável para confecção de bases de próteses e reembasamento do tipo mediato (Tabela 1). Foram confeccionados 276 corpos-de-prova, sendo 92 de cada material selecionado. Do total de corpos-de-prova de cada material, 80 foram utilizados para os procedimentos microbiológicos e 12 para a análise em microscopia eletrônica de varredura.

Os corpos-de-prova das resinas autopolimerizáveis (N e D) foram confeccionados em uma matriz com centro vazado (10 x 10 x 1 mm) posicionada entre duas placas de vidro recobertas por duas lâminas de acetato. Um peso de 50 g foi mantido sobre todo o conjunto até a polimerização final de cada material. Os corpos-de-prova da resina termopolimerizável (L) foram confeccionados em moldes de silicone (Zetaplus/Oranwash L, Zhermack, Badia Polesine, Rovigo, Itália) obtidos de padrões metálicos (10 x 10 x 1 mm). A

**Tabela 1.** Materiais avaliados

Material	Sigla	Fabricante	Proporção pó-líquido	Condição de polimerização
New truliner	N	Bosworth Co. Skokie, EUA	1,34 g/1 mL	15 minutos a temperatura ambiente
Duraliner II	D	Reliance Dental Mfg. Co., Worth, Ill, EUA.	2,0 g/2 mL	12 minutos a temperatura ambiente
Lucitone 550	L	Dentsply International Inc., York, EUA	2,1 g/1 mL	90 minutos a 73 °C e 100 °C por 30 minutos

resina L foi inserida nas cavidades dos moldes previamente incluídos em muflas metálicas, que foram colocadas em uma termopolimerizadora (Termotron Equipamentos Ltda. São Bernardo do Campo - SP, Brasil). Terminado o ciclo curto de polimerização da resina L (Tabela 1), procedeu-se ao resfriamento das muflas de maneira convencional.

Os excessos laterais verificados nos corpos-de-prova foram removidos com lixas de carvão de silício (granulação 600) acopladas a uma politriz automática (Metaserv 2000, Buehler. Lake Bluff, IL, EUA). Após esse procedimento, todos os corpos-de-prova foram esterilizados por óxido de etileno (ACECIL, Campinas, SP, Brasil).

#### Contaminação e esterilização dos corpos-de-prova

Os microrganismos selecionados, de acordo com as recomendações do *Handbook of Disinfectants and Antiseptics*<sup>20</sup>, para a contaminação dos materiais foram: *Staphylococcus aureus* (*Sa*) ATCC 25923 (gram-positivo), *Pseudomonas aeruginosa* (*Pa*) ATCC 27853 (gram-negativo), *Candida albicans* (*Ca*) ATCC 60193 (levedura) e *Bacillus subtilis* (*Bs*) ATCC 6633 (aeróbico esporulado).

Os microrganismos foram individualmente inoculados em 10 mL de meio de cultura Tryptic Soy Broth (TSB; Acumedia Manufactures Inc., Baltimore - MA, EUA) e incubados a 37 °C por 24 horas. Oitenta corpos-de-prova de cada material (N, D e L) foram individualmente colocados em 10 mL de TSB estéril e inoculados com  $10^7$  ufc.mL<sup>-1</sup> de cada microrganismo. Após a incubação a 37 °C por 24 horas, metade dos corpos-de-prova de cada material (n = 40) foi selecionada para a irradiação por microondas (grupo experimental). Para isso, cada amostra contaminada foi assepticamente colocada em um béquer contendo 200 mL de água destilada estéril. Em seguida, cada béquer foi colocado no centro do prato giratório do forno de microondas (Model Sensor Crisp 38, Brastemp, Double Emission System, Manaus - AM, Brasil) e submetido à irradiação a 650 W por 6 minutos. Após a irradiação, cada amostra foi cuidadosamente colocada em tubos de ensaio contendo 4,5 mL de solução salina estéril. Os tubos foram agitados por 1 minuto, e, da solução resultante, foram obtidas as diluições

seriadas de  $10^{-1}$  a  $10^{-6}$ , sendo as quatro últimas semeadas (25 µL) em duplicata em placas de Petri contendo os meios de cultura específicos para cada microrganismo: Mannitol Salt Agar para *Sa*; Miller Hinton para *Pa*; Sabourand Agar com 5 µg.mL<sup>-1</sup> de cloranfenicol para *Ca* e Tryptic Soy Agar para *Bs*. Após a semeadura, as placas de Petri foram incubadas a 37 °C por 48 horas.

A outra metade dos corpos-de-prova de cada material (n = 40) não foi submetida à irradiação por microondas (controle positivo). Esses corpos-de-prova foram inoculados com os microrganismos testados e incubados a 37 °C por 24 horas. Em seguida, foram realizados os mesmos procedimentos de semeadura e incubação descritos para o grupo experimental.

Após a incubação, as colônias viáveis presentes nas placas de Petri referentes ao grupo controle positivo e ao grupo experimental foram contadas em um contador de colônias digital (Phoenix CP 600 Plus; Phoenix Ltda., Araraquara - SP, Brasil). Os números de unidades formadoras de colônias por mililitro (ufc.mL<sup>-1</sup>) foram calculados.

Com o objetivo de avaliar a efetividade das microondas a longo prazo, os corpos-de-prova irradiados foram individualmente colocados em tubos de ensaio com 10 mL de meio de cultura TSB estéril e incubados a 37 °C por 7 dias. Após este período, os tubos de ensaio incubados foram agitados e avaliados quanto à presença de turvação, considerada como indicativa de crescimento microbiológico.

#### Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Para a análise em MEV, 12 corpos-de-prova (10 x 10 x 1 mm) de cada material foram confeccionados da mesma forma que a descrita previamente. Três corpos-de-prova de cada material foram individualmente inoculados em tubos de ensaio com 10 mL de TSB contendo um dos microrganismos testados (*Sa*, *Pa*, *Ca* e *Bs*). Os tubos de ensaio foram incubados a 37 °C por 48 horas. Após a incubação, dois corpos-de-prova de cada material foram imersos em água e irradiados em microondas (650 W por 6 minutos). A seguir, um destes corpos-de-prova irradiados foi preparado para MEV. O outro foi colocado em um tubo de ensaio contendo 5 mL de TSB e incubado a 37 °C

por 7 dias antes do preparo para MEV. O corpo-de-prova restante de cada material não foi irradiado, sendo preparado para MEV imediatamente após a incubação por 48 horas.

Para o preparo para MEV, os corpos-de-prova foram fixados em glutaraldeído 2,5% por 24 horas e, então, submetidos à desidratação por 15 minutos em cada uma das concentrações seriadas de álcool etílico: 30, 50, 70, 90 e 100%. Os corpos-de-prova foram colocados em dessecador por 72 horas e, em seguida, montados em *stubs* e submetidos à metalização áurica. Os corpos-de-prova metalizados foram examinados em um microscópio eletrônico de varredura (JEOL JSM T 300, Tóquio, Japão) e fotografados em aumentos de 2.000 e 3.500x.

Os valores de ufc.mL<sup>-1</sup> foram transformados para logaritmo na base 10 e, em seguida, comparados pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis ( $\alpha = 0,05$ ). As diferenças significativas foram avaliadas por comparações múltiplas dos postos médios dois a dois (Método de Dunn).

## Resultado

Após 48 horas de incubação a 37 °C, para os três materiais avaliados, as sementeiras das placas de Petri referentes aos corpos-de-prova desinfetados (experimental) não apresentaram colônias viáveis para os quatro microrganismos testados em todos os materiais. Além disso, após 7 dias de incubação a 37 °C, não houve crescimento microbiológico visível nos tubos de TSB contendo as amostras irradiadas.

As placas de Petri semeadas correspondentes aos corpos-de-prova do grupo controle positivo (não desinfetados) apresentaram crescimento microbiano após 48 horas de incubação. Pela Tabela 2, é possível observar que, numericamente, para as três resinas avaliadas, as médias dos números de ufc.mL<sup>-1</sup> para *Sa* e *Pa* foram maiores do que as médias observadas para *Ca* e *Bs*. Estatisticamente, essa diferença foi observada para as resinas D e N para as quais os valores de *Pa* e *Sa* foram significativamente ( $p < 0,05$ ) superiores em relação aos valores de *Ca* e *Bs* ( $(Ca = Bs) < (Pa = Sa)$ ). Por outro lado, para a resina L, os valores de *Sa* foram estatisticamente superiores ( $p < 0,05$ ) aos valores de *Pa* e *Ca*, que não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si ( $p > 0,05$ ). Ainda para a resina L, médias de ufc.mL<sup>-1</sup> para

*Bs* foram consideradas estatisticamente inferiores às obtidas com os demais microrganismos ( $(Bs < (Pa = Ca) < Sa)$ ). Além disso, os três materiais avaliados não apresentaram diferenças significantes ( $p > 0,05$ ) entre si para os valores obtidos com os microrganismos *Pa* e *Sa*. Os valores de ufc.mL<sup>-1</sup> para *Ca* foram estatisticamente superiores para a resina L ( $p < 0,05$ ), quando comparados com os materiais D e N, que não apresentam diferenças entre si ( $p > 0,05$ ). Para o microrganismo *Bs*, as maiores médias de ufc.mL<sup>-1</sup> foram observadas para os materiais D e N quando comparadas ao material L.

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 (Figura 1). As fotomicrografias das amostras irradiadas imediatamente após a desinfecção ou após 7 dias de incubação revelaram evidência de danos à morfologia e/ou à célula dos microrganismos testados (Figura 2). 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 W por 6 minutos.

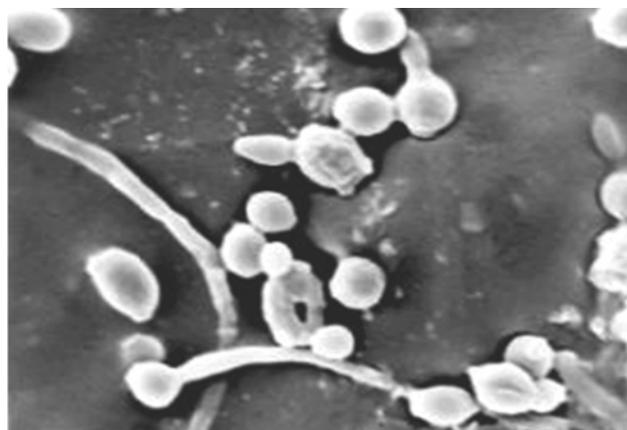


Figura 1. *C. albicans* em corpos-de-prova do grupo controle positivo (3.500x).

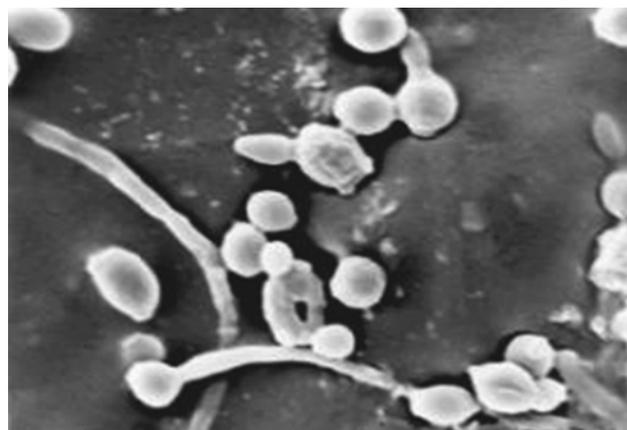


Figura 2. *C. albicans* em corpo-de-prova irradiado (2.000x).

**Tabela 2.** Média e desvio padrão em Log(ufc.mL<sup>-1</sup>) dos microrganismos avaliados (*Pa*, *Sa*, *Ca* e *Bs*) para os materiais D, N e L no grupo controle positivo

	<i>Pa</i>	<i>Sa</i>	<i>Ca</i>	<i>Bs</i>
D	7,54 ± 0,26 <sup>A</sup>	7,72 ± 0,31 <sup>A</sup>	5,27 ± 0,15 <sup>B</sup>	5,37 ± 0,11 <sup>B</sup>
N	7,74 ± 0,20 <sup>A</sup>	8,66 ± 0,17 <sup>A</sup>	4,89 ± 0,20 <sup>B</sup>	5,37 ± 0,16 <sup>B</sup>
L	7,17 ± 0,10 <sup>A</sup>	8,91 ± 0,12 <sup>A</sup>	6,58 ± 0,31 <sup>C</sup>	4,51 ± 0,13 <sup>D</sup>

Letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ).

## Discussão

No presente estudo, a utilização da irradiação por microondas foi proposta inicialmente para a avaliação de seu efeito na desinfecção de resinas acrílicas contaminadas com microrganismos patogênicos. No entanto, os resultados obtidos evidenciaram esterilização dos corpos-de-prova considerando todos os microrganismos estudados. Esses resultados estão de acordo com os obtidos por Neppelenbroek et al.<sup>19</sup>, que observaram que os corpos-de-prova de três materiais reembasadores rígidos (Kooliner, Ufi Gel hard e Tokuso Rebase) contaminados com quatro tipos de microrganismos patogênicos foram esterilizados após irradiação por microondas a 650 W por 6 minutos. A efetividade das microondas na esterilização dos materiais D, N e L pode ter sido assegurada pela imersão dos corpos-de-prova em água durante a irradiação. Segundo Dixon et al.<sup>21</sup>, a irradiação da resina acrílica em água favorece a eliminação dos microrganismos, inclusive daqueles localizados no interior dos poros, uma vez que esse procedimento proporciona um aquecimento uniforme dos materiais. Outros estudos também sugeriram o umedecimento dos materiais em água antes da desinfecção<sup>13,14,17</sup>.

Ainda não há respaldo na literatura disponível para explicar o mecanismo pelo qual a energia de microondas atua sobre os microrganismos. Fitzpatrick et al.<sup>16</sup> concluíram que a esterilização pelo método das microondas é resultante de um efeito puramente térmico, ou seja, do calor gerado ao redor dos microrganismos. No entanto, vários estudos sugerem que existem outros efeitos (não-térmicos) resultantes diretamente da interação do campo eletromagnético com as moléculas e cujos mecanismos 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<sup>8,22</sup>. Hiti et al.<sup>11</sup> 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 nucléicos<sup>12</sup>. Além disso, o nível de resposta molecular do sistema biológico à quantidade de energia térmica pode também explicar o efeito não-térmico das microondas<sup>18</sup>. As mudanças estruturais na camada mais periférica ao redor das macromoléculas biológicas podem alterar sua estabilidade e função, resultando em desnaturação<sup>9</sup>. Outras possíveis explicações incluem fenômenos na parede da membrana celular que podem envolver alteração na permeabilidade seletiva e ressonância molecular, o que resulta em clivagem<sup>17</sup>.

Segundo Dixon et al.<sup>21</sup>, 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 acrílicas. No presente estudo, 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 pode ser considerado efetivo a longo prazo.

De modo geral, os três materiais apresentaram médias de ufc.mL<sup>-1</sup> para os microrganismos *Sa* e *Pa* numericamente superiores às médias obtidas para *Ca* e *Bs*. Essa diferença pode ser atribuída à variabilidade morfológica e às características específicas de adesão verificadas entre os diferentes microrganismos testados. Verran, Maryan<sup>23</sup> relataram que células maiores, como leveduras, são facilmente deslocadas da superfície da resina acrílica quando em comparação com células menores, como as bacterianas. Isso possivelmente pode explicar os maiores valores médios de ufc.mL<sup>-1</sup> para *Sa* e *Pa*, uma vez que estas células bacterianas são menores quando comparadas com as formas de leveduras apresentadas pelas cepas de *Ca*. Além disso, os valores numericamente inferiores das médias de ufc.mL<sup>-1</sup> para *Bs* foram presumivelmente causados pelo mecanismo de formação de esporos apresentado por esse microrganismo. Foi demonstrado que a esporulação do *Bs* é iniciada após um período relativamente curto de crescimento<sup>24</sup>. Após a fase de crescimento das formas vegetativas, os esporos começam a se formar em 60 minutos<sup>24</sup>. 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 *Bs*, são mais facilmente removidas da superfície da resina acrílica quando comparadas às formas bacterianas convencionais (*Sa* e *Pa*).

Os diferentes valores de ufc.mL<sup>-1</sup> para *Ca* e *Bs* obtidos para a resina L em relação às resinas D e N podem ser atribuídos ao método de polimerização desse material. Por ser termopolimerizável, a reação de polimerização da resina L é ativada pelo calor, que deve ser controlado por ciclos específicos. Como são autopolimerizáveis, as resinas D e N têm sua polimerização iniciada quando a amina terciária presente no líquido entra em contato com o pó durante a manipulação. Além disso, o monômero da resina L (metil metacrilato) é diferente dos monômeros das resinas D (butil metacrilato) e N (isobutil metacrilato). Estes dois monômeros são similares, já que são considerados quimicamente como isômeros de posição. É possível sugerir que as diferentes estruturas de monômeros principais dos materiais influenciem a quantidade de microrganismos aderidos aos mesmos. Zisis et al.<sup>25</sup> verificaram que as resinas termopolimerizáveis exibiram valores médios de

3,4 a 7,6  $\mu\text{m}$ , enquanto as autopolimerizáveis indicadas para reembasamento imediato apresentaram valores médios de 0,7 a 4,4  $\mu\text{m}$ . Verran, Maryan<sup>23</sup> observaram maior quantidade de *Ca* em superfícies rugosas de resina acrílica quando comparadas com as lisas. Conseqüentemente, é provável que a rugosidade superficial da resina termopolimerizável L tenha favorecido a maior colonização por *Ca*. Além disso, tem sido ainda relatado que outras propriedades superficiais, como perfil e energia de superfície, tensão superficial, umidade, características hidrofóbicas, interações eletrostáticas e microdureza<sup>23,25-27</sup>, podem interferir diretamente na colonização de resinas acrílicas por microrganismos. No entanto, para obter uma resposta satisfatória para esses resultados, são necessários trabalhos futuros que avaliem o efeito das propriedades superficiais na colonização de microrganismos em resinas acrílicas.

Webb et al.<sup>28</sup> relataram que a irradiação por microondas a seco por 6 minutos inativou o crescimento de *C. albicans* e de *S. gordonii* presentes em próteses totais, mas não removeu os microrganismos não-viáveis de suas superfícies. Por outro lado, as fotomicrografias do 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 (Figura 2). Após 1,5 minuto de irradiação, a água do béquer contendo cada corpo-de-prova atingia o estado de ebulição, o que resultava em uma movimentação da mesma. Com isso, células não viáveis podem ter sido removidas da superfície do material. A análise em MEV também indicou alteração na morfologia das células após a irradiação. Rosaspina et al.<sup>29</sup> demonstraram que as microondas produziram 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 W inativou os microrganismos avaliados (*Pa*, *Sa*, *Ca* e *Bs*). As fotomicrografias dos corpos-de-prova após 7 dias da irradiação apresentaram-se similares às aquelas 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.

Estudos prévios avaliaram o efeito do ciclo de desinfecção por microondas (650 W/6 minutos) utilizado nesta pesquisa sobre algumas propriedades das resinas acrílicas<sup>30,31</sup> e dos dentes artificiais<sup>32</sup>. Foi observado que o ciclo de desinfecção adotado não promoveu efeitos deletérios na resistência à flexão de quatro materiais para reembasamento definitivo e uma resina para base de prótese<sup>30</sup>, na dureza Vickers de cinco marcas de dentes artificiais de resina acrílica<sup>32</sup> e na porosidade superficial de três materiais para reembasamento imediato e uma resina para base de prótese<sup>31</sup>. No entanto, para avaliar de forma segura esse procedimento de

desinfecção em pesquisas in vitro, são necessários estudos futuros com o objetivo de verificar o efeito de sucessivos ciclos de desinfecção por microondas (650 W / 6 minutos) na resistência de união entre resinas acrílicas e dentes artificiais e na estabilidade dimensional de bases de próteses intactas e reembasadas. Além disso, é necessário avaliar as alterações provocadas pelas microondas em microrganismos, incluindo os aderidos às próteses.

## Conclusão

- Todos os corpos-de-prova imersos em água foram esterilizados pela irradiação em microondas após 6 minutos de exposição a 650 W;
- a esterilização pela irradiação por microondas foi considerada efetiva a longo prazo (7 dias);
- a análise em MEV dos corpos-de-prova irradiados revelou alterações na morfologia das colônias e/ou nos microrganismos.

## Agradecimento

Este estudo foi desenvolvido com apoio financeiro da FAPESP (processo 02/02358-5).

## Referências

1. McGivney G, Castleberry D. Reembasamento da prótese parcial removível. In: McGivney G, Castleberry D. Prótese parcial removível de McCracken. São Paulo: Artes Médicas; 1994. p.288-92.
2. Arima T, Murata H, Hamada T. Properties of highly cross-linked autopolymerizing reline acrylic resins. J Prosthet Dent. 1995;73:55-9.
3. Bunch J, Johnson GH, Brudvik JS. Evaluation of hard direct reline resins. J Prosthet Dent. 1987;57:512-9.
4. Chau VB, Saunders TR, Pimslar M, Elfring DR. In-depth disinfection of acrylic resins. J Prosthet Dent. 1995;74:309-13.
5. Powell GL, Runnells RD, Saxon BA, Whisenant BK. The presence and identification of organisms transmitted to dental laboratories. J Prosthet Dent. 1990;64:235-7.
6. Connor C. Cross-contamination control in prosthodontic practice. Int J Prosthodont. 1991;4:337-44.
7. American Dental Association. Council on Scientific Affairs and ADA Council on Dental Practice. Infection control recommendations for the dental office and the dental laboratory. J Am Dent Assoc. 1996;127:672-80.
8. Carrol DE, Lopez A. Lethality of radio-frequency energy upon microorganisms in liquid, buffered, and alcoholic food systems. J Food Sci. 1969;34:320-4.
9. Culkin KA, Fung DYC. Destruction of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* in microwave-cooked soups. J Milk Food Technol. 1975;38:8-15.

10. Hume WR, Makinson OF. Sterilizing dental instruments: evaluation of lubricating oils and microwave irradiation. *Oper Dent.* 1978;3:93-6.
11. Hiti K, Walochnik J, Faschinger C, Haller-Schober EM, Aspöck H. Microwave treatment of contact lens cases contaminated with *Acanthamoeba*. *Cornea.* 2001;20:467-70.
12. Rohrer MD, Terry MA, Bulard RA, Graves DC, Taylor EM. Microwave sterilization of hydrophilic contact lenses. *Am J Ophthalmol.* 1986;15:49-57.
13. Ikawa JY, Rossen JS. Reducing bacteria in household sponges. *J Environ Health.* 1999;62:1-5.
14. Friedrich EG Jr, Phillips LE. Microwave sterilization of *Candida* on underwear fabric. A preliminary report. *J Reprod Med.* 1988;33:421-2.
15. Border BG, Rice-Spearman L. Microwaves in the laboratory: effective decontamination. *Clin Lab Sci.* 1999;12:156-60.
16. Fitzpatrick JA, Kwao-Paul J, Massey J. Sterilization of bacteria by means of microwave heating. *J Clin Eng.* 1978;3:44-7.
17. Najdovski L, Dragas AZ, Kotnik V. The killing activity of microwaves on some non-sporogenic and sporogenic medically important bacterial strains. *J Hosp Infect.* 1991;19:239-47.
18. Watanabe K, Kakita Y, Kashige N, Miake F, Tsukiji T. Effect of ionic strength on the inactivation of microorganisms by microwave irradiation. *Lett Appl Microbiol.* 2000;31:52-6.
19. Neppelenbroek KH, Pavarina AC, Spolidorio DM, Vergani CE, Mima EG, Machado AL. Effectiveness of microwave sterilization on three hard chairside relines. *Int J Prosthodont.* 2003;16:616-20.
20. Cole EC, Robison R. Test methodology for evaluation of germicides. In: Ascenzi JM. *Handbook of disinfectants and antiseptics.* New York: Marcel Dekker; 1996. p.1-13.
21. Dixon DL, Breeding LC, Faler TA. Microwave disinfection of denture base materials colonized with *Candida albicans*. *J Prosthet Dent.* 1999;81:207-14.
22. Yeo CB, Watson IA, Stewart-Tull DE, Koh VH. Heat transfer analysis of *Staphylococcus aureus* on stainless steel with microwave radiation. *J Appl Microbiol.* 1999;87:396-401.
23. Verran J, Maryan CJ. Retention of *Candida albicans* on acrylic resin and silicone of different surface topography. *J Prosthet Dent.* 1997;77:535-9.
24. Hauser PM, Errington J. Characterization of cell cycle events during the onset of sporulation in *Bacillus subtilis*. *J Bacteriol.* 1995;177:3923-31.
25. Zissis AJ, Polyzois GL, Yannikakis SA, Harrison A. Roughness of denture materials: a comparative study. *Int J Prosthodont.* 2000;13:136-40.
26. Radford DR, Challacombe SJ, Walter JD. Adherence of phenotypically switched *Candida albicans* to denture base materials. *Int J Prosthodont.* 1998;11:75-81.
27. 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.* 1998;80:592-7.
28. Webb BC, Thomas CJ, Harty DW, Willcox MD. Effectiveness of two methods of denture sterilization. *J Oral Rehabil.* 1998;25:416-23.
29. Rosaspina S, Salvatorelli G, Anzanel D, Bovolenta R. Effect of microwave radiation on *Candida albicans*. *Microbios.* 1994;78(314):55-9.
30. Pavarina AC, Neppelenbroek KH, Guinesi AS, Vergani CE, Machado AL, Giampaolo ET. Effect of microwave disinfection on the flexural strength of hard chairside relines. *J Dent.* 2005;33:741-8.
31. Novais PMR. Análise da porosidade superficial em materiais reembasadores rígidos. Efeitos de sucessivas irradiações por energia de microondas [Tese de Doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2005.
32. Campanha NH, Pavarina AC, Vergani CE, Machado AL. Effect of microwave sterilization and water storage on the Vickers hardness of acrylic resin denture teeth. *J Prosthet Dent.* 2005;93:483-7.

