

ADERÊNCIA MICROBIANA E RUGOSIDADE SUPERFICIAL DE RESINA ACRÍLICA APÓS CICLAGEM COM DIFERENTES SOLUÇÕES DESINFETANTES

**Thaís Cachuté Paradella¹, Jane Rezende Oliveira², Marcos Augusto do Rego²,
Cristiane Yumi Koga-Ito¹, Antonio Olavo Cardoso Jorge¹**

¹Faculdade de Odontologia de São José dos Campos - UNESP/Departamento Biotecnologia e Diagnóstico Bucal, Av. Eng. Francisco José Longo, 777 - SJC-SP, fosjc@fosjc.unesp.br

²Faculdade de Ciências da Saúde - UNIVAP, Av. Shishima Hifumi, 2911 - SJC-SP, univap@univap.br

Resumo - Com o objetivo de analisar a rugosidade superficial e a aderência de *S. aureus* e *C. albicans* em RAAQ antes e após ciclagem com diferentes soluções desinfetantes, foram confeccionados 40 corpos-de-prova, que tiveram a rugosidade superficial mensurada e a seguir foram imersos em caldo com suspensão de 10^6 células/mL de cada microrganismo. Após 24h/37°C, os microrganismos aderidos foram dispersos, diluídos e semeados em meio de cultura para determinar o UFC/mL. Em seguida, cada corpo-de-prova foi ciclado nas seguintes soluções por 28 dias: água destilada, gluconato de clorexidina a 0,12%, vinagre e cloreto de cetilpiridínio. Após ciclagem, os testes de aderência e de rugosidade foram repetidos. Os resultados foram analisados pelo teste t de Student ($\alpha=5\%$) e somente a clorexidina apresentou diferença estatística significativa, com a diminuição nos valores de aderência em relação aos demais grupos. Em relação à rugosidade, nenhum grupo apresentou alteração significativa. Concluiu-se que a clorexidina alterou a aderência de *S. aureus* e *C. albicans* à RAAQ, porém sem afetar sua rugosidade superficial.

Palavras-chave: Resina acrílica, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, rugosidade superficial

Área do Conhecimento: IV Ciências da Saúde

Introdução

A odontologia contemporânea se depara com o aumento de pacientes cada vez mais jovens, a procura de correções ortodônticas. No caso de dentição decídua, o aparelho mais indicado é o removível, porém devido à sua facilidade de colocação e remoção, muitas vezes este aparelho pode ser armazenado sem os devidos cuidados, podendo causar danos à saúde bucal do indivíduo. Com o aumento global na incidência de doenças infecto-contagiosas das mais variadas etiologias, sugere-se a necessidade de adotar mecanismos de controle de microrganismos tanto para o profissional e sua equipe, quanto para o paciente (GONÇALVES et al., 1996; BUFFARA; PORTELLA, 2000).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a aderência de *C. albicans* e *S. aureus* à resina acrílica quimicamente ativada, bem como a rugosidade superficial após a ciclagem com diferentes soluções antimicrobianas, no intuito de avaliar a ação dos métodos sobre as propriedades físicas do material e sobre a aderência de microrganismos.

Material e Métodos

Quarenta corpos-de-prova de resina acrílica quimicamente ativada foram confeccionados com resina incolor quimicamente polimerizável (Clássico, Produtos Odontológicos) com 4 mm de diâmetro, utilizando-se matriz metálica. A seguir,

foi realizado polimento químico por meio do dispositivo PQ Termotron 9000 (Termotron do Brasil, Piracicaba), que consiste no aquecimento automático do fluido para polimento químico à base de metil-metacrilato (Poliquim Artigos Odontológicos Clássico). A seguir, os corpos-de-prova foram imersos durante 10 segundos, secos e lavados em água corrente durante 20 segundos (REGO et al., 2005; GOIATO et al., 2006).

Os corpos-de-prova tiveram a rugosidade superficial inicial medida no Laboratório de medição de superfícies ópticas do Instituto de Estudos Avançados do Centro Técnico Aeroespacial (IEAv-CTA), utilizando-se Rugosímetro Mahr-Perthen, modelo S8P (Germany), com ponteira óptica Focodyn, com comprimento total (LT) igual a 1,750 mm e desgaste de flanco (VB) igual a 250 μ m. Foram feitas três mensurações de rugosidade por corpo-de-prova, obtendo-se a média de rugosidade (Ra) para cada corpo-de-prova. Após a medida da rugosidade inicial, os corpos-de-prova foram colocados em recipientes de vidro contendo solução fisiológica e esterilizados em autoclave (121°C/20min) e submetidos ao teste de aderência inicial.

Para o teste de aderência inicial, foram utilizadas amostras-padrão de *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) e *Candida albicans* (F-72). A amostra de *S. aureus* foi mantida em ágar infusão cérebro coração (BHI – Acumedia Manufacturers, Michigan, USA) inclinado, sendo semeada em placas de ágar infusão cérebro e coração (BHI) e

incubadas a 37°C por 24 hs. A amostra de *C. albicans* foi mantida em ágar-Sabouraud dextrose (Difco – Becton Dickinson and Company, USA) inclinado e repicada em placas com ágar Sabouraud dextrose, sendo incubada a 37°C por 24 horas.

Para realização dos testes, foram preparadas suspensões de *S. aureus* e de *C. albicans* contendo 10⁶ células/mL cada uma. As suspensões foram padronizadas por análise em espectrofotômetro (Shimadzu modelo UV-1203, Kyoto, Japão), considerando-se comprimento de onda de 490 nm para *S. aureus* e 530 nm para *C. albicans*.

O teste de aderência foi realizado em ambiente estéril (câmara de fluxo laminar), utilizando-se placas de cultura de células de 24 poços (Costar, Cambridge, Massachusetts, USA). Para avaliação da aderência de *S. aureus* foram colocados em cada poço: um corpo-de-prova, 1,5 mL de caldo infusão cérebro e coração (BHI), 0,1 mL da suspensão padronizada de *S. aureus*. Para avaliação da aderência de *C. albicans* foram colocados em cada poço: um corpo-de-prova, 1,5 mL de caldo Sabouraud e 0,1 mL da suspensão padronizada de *C. albicans*. As placas foram tampadas e incubadas a 37°C por 24 horas.

A seguir, os corpos-de-prova foram removidos, lavados com 1 mL de água destilada estéril e colocados em tubos de ensaio contendo 1 mL de solução fisiológica (NaCl 0,85%) e pérolas de vidro, sendo o conjunto agitado em um agitador de tubos (Vortex) por 60 segundos. Microrganismos que aderiram aos corpos-de-prova foram dispersos, diluídos 10 e 100 vezes e transferidos, em duplicata, para placas com ágar infusão cérebro e coração (BHI) para *S. aureus* ou placas de ágar Sabouraud dextrose para *C. albicans*. Após 24 horas, o número de unidades formadoras de colônias (UFC/mL) foi determinado para cada espécime. As placas escolhidas para contagem foram aquelas que apresentavam entre 30 e 300 colônias.

Em seguida, os corpos-de-prova foram divididos em grupos (n=10), conforme a solução utilizada para ciclagem: Grupo Controle (água destilada), Grupo Vinagre (Vinagre Agrin Claro Fermentado acético de álcool 100% - Galo de Barcelos, Brasil), Grupo Clorexidina (Gluconato de clorexidina a 0,12% - Colgate Palmolive Ltda., Brasil) e Grupo Cloreto (Cloreto de cetilpiridínio a 0,05%, Sanofi-Aventis Ltda., Brasil). A ciclagem consistiu de imersão do corpo-de-prova em 10 mL da solução por 10 minutos três vezes ao dia e em seguida sendo mantido em recipiente fechado. Este ciclo foi realizado durante 28 dias, tomando-se o cuidado de trocar as soluções a cada procedimento executado.

Após a ciclagem, os corpos-de-prova foram novamente submetidos à mensuração da

rugosidade superficial e ao teste de aderência, conforme descrito anteriormente. O número de UFC/mL inicial e final foi transformado em logaritmo de base 10 e analisados estatisticamente pelo teste t de Student ao nível de 5% de significância, assim como as médias de rugosidade (Ra) inicial e de cada grupo.

Resultados

Os resultados da rugosidade superficial (Ra) antes e após a ciclagem dos grupos experimentais estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1 - Média e desvio padrão da rugosidade superficial (Ra) inicial e final dos corpos-de-prova antes e após ciclagem com diferentes desinfetantes (µm).

Solução Desinfetante	Ra Inicial	Ra Final	t*
Controle	3,01 (±2,26)	3,22 (±2,02)	-1,35
Vinagre	3,26 (±2,21)	3,33 (±2,09)	-0,23
Clorexidina	2,63 (±2,00)	2,71 (±1,70)	-0,27
Cloreto	3,33 (±2,09)	3,44 (±3,40)	-0,80

* t crítico ≥ 2,26

A análise dos dados por meio do teste t de Student comparou os valores de rugosidade e UFC/mL antes e após a ciclagem com as diferentes soluções. Os valores de t calculados por grupo foram comparados com o valor de t crítico (2,26). Valores iguais ou superiores ao t crítico indicariam diferenças estatísticas significantes. Em relação à rugosidade, não houve diferenças estatísticas significantes entre os grupos. Também foi realizada a análise individual em cada grupo, comparando-se os valores de rugosidade antes e depois da ciclagem. Não houve diferença estatística significativa nos valores de Ra antes e após a ciclagem.

Os resultados de aderência de *S. aureus* por grupo estão descritos na Tabela 2.

Em relação à aderência de *S. aureus*, somente o grupo Clorexidina apresentou diferença estatística significativa, com menor número de UFC/mL após a ciclagem com o produto, pois o valor de t para o grupo Clorexidina (11,49) foi maior que o valor de t crítico (2,26). Todos os demais grupos não apresentaram diferenças estatísticas significantes, comparando-se os valores de t obtidos por grupo com o valor de t crítico. Na análise individual por grupo, não houve diferença nos valores de aderência antes e após a ciclagem, em todos os grupos, exceto no grupo

Clorexidina. Os resultados de aderência de *C. albicans* por grupo estão descritos na Tabela 3.

Tabela 2 - Média e desvio padrão dos valores de aderência inicial e final de *S. aureus* nos corpos-de-prova antes e após ciclagem com diferentes desinfetantes (UFC/mL transformados em logaritmo de base 10).

Solução Desinfetante	Aderência Inicial	Aderência Final	t*
Controle	6,51 (±0,31)	6,53 (±0,27)	-0,65
Vinagre	6,69 (±0,33)	6,41 (±0,51)	1,88
Clorexidina	6,58 (±0,23)	5,01 (±0,42)	11,49
Cloreto	6,56 (±0,26)	6,22 (±0,48)	1,89

* t crítico ≥ 2,26

Tabela 3 - Média e desvio padrão dos valores de aderência inicial e final de *C. albicans* nos corpos-de-prova antes e após ciclagem com diferentes desinfetantes (UFC/mL transformados em logaritmo de base 10).

Solução Desinfetante	Aderência Inicial	Aderência Final	t*
Controle	4,68 (±0,27)	4,65 (±0,30)	1,57
Vinagre	4,13 (±0,52)	4,24 (±0,54)	-1,12
Clorexidina	4,86 (±0,70)	4,16 (±0,59)	5,33
Cloreto	4,43 (±0,40)	4,31 (±0,57)	1,08

* t crítico ≥ 2,26

Em relação à aderência de *C. albicans*, somente o grupo Clorexidina apresentou diferença estatística significativa, pois o valor de t no grupo Clorexidina (5,33) foi maior do que o valor de t crítico (2,26) e na análise individual por grupo, não houve diferença nos valores de aderência antes e depois da ciclagem, em todos os grupos, com exceção do grupo Clorexidina.

Discussão

A prática odontológica envolve alto risco de contaminação microbiana devido ao freqüente contato com sangue e saliva. Desta forma, a aplicação de medidas universais de biossegurança, como a utilização de medidas criteriosas de desinfecção, é de importância fundamental para prevenir a contaminação cruzada entre pacientes e profissionais do consultório e laboratórios. Todas as moldagens,

modelos de gesso, próteses e aparelhos devem ser adequadamente desinfetados antes de serem entregues ao paciente ou a protéticos. Materiais de moldagem são invariavelmente contaminados por saliva, biofilme dentário e ocasionalmente sangue e modelos de gesso obtidos destes materiais podem também ser contaminados. Uma vez que aparelhos ortodônticos são confeccionados sobre modelos de gesso, espera-se que os mesmos estejam contaminados. Itens de resina acrílica são considerados artigos semi-críticos uma vez que entram em contato com mucosa e assim, devem ser submetidos a esterilização ou desinfecção de alto grau. No entanto, a resina acrílica é um material termosensível e não pode ser submetida a nenhum processo de desinfecção envolvendo altas temperaturas, sendo portanto necessário o uso de soluções desinfetantes. Além disso, a resina acrílica tem capacidade de absorção de líquidos e devido a esta propriedade, aparelhos ortodônticos removíveis colocados na boca do paciente absorvem saliva, o qual é um fluido contaminado. Assim, desinfetantes químicos utilizados em aparelhos ortodônticos removíveis devem ser seguramente atóxicos devido ao risco de resíduos do produto serem liberados na cavidade bucal (CHASSOT et al., 2006).

Aparelhos ortodônticos removíveis confeccionados em resina acrílica podem transformar-se em nichos microbianos, se uma correta desinfecção destes aparelhos não for realizada. No entanto, a utilização contínua de soluções desinfetantes pode alterar a topografia destes aparelhos, modificando sua rugosidade superficial. Desta forma, pretendeu-se neste estudo estudar o efeito da utilização prolongada de soluções desinfetantes na aderência e rugosidade de *S. aureus* e *C. albicans* em resina acrílica quimicamente ativada. A utilização prolongada foi simulada por meio da ciclagem com diferentes soluções desinfetantes, sendo o grupo controle composto por ciclagem em água destilada.

A Sociedade Alemã para Higiene e Microbiologia (*German Society for Hygiene and Microbiology*) recomenda que em testes microbiológicos para estudos de desinfecção sejam utilizados *S. aureus* e *C. albicans*. *S. aureus* é microrganismo com alto número de fatores de virulência e resistente a muitas soluções desinfetantes. *C. albicans* mostra-se capaz de aderir fortemente ao polimetilmetacrilato, que compões a resina acrílica. A adesão ao acrílico é provavelmente mediada por uma adesina protéica multifuncional, que tem sido identificada na superfície de hifas de *C. albicans*. Esta adesão específica ao acrílico confere uma vantagem ecológica à *C. albicans* nos usuários de aparelhos ortodônticos removíveis pois a espécie pode

permanecer na boca independente da mucosa bucal (MCCULLOUGH et al., 1996; WICHELHAUS et al., 2006).

Os resultados deste estudo demonstram que somente a ciclagem com gluconato de clorexidina (grupo Clorexidina) diminuiu a aderência de *S. aureus* e *C. albicans* à superfície de resina acrílica quimicamente ativada, porém sem alterar sua rugosidade. Isto pode se dar ao fato desta solução apresentar uma propriedade chamada substantividade, que permite sua lenta liberação em períodos de até 12 horas (VIANNA et al., 2004). Todas as demais soluções desinfetantes não diminuíram a aderência dos microrganismos testados à resina acrílica.

Em relação à rugosidade, não houve diferença entre os grupos, bem como entre os valores de Ra inicial e Ra após ciclagem. Estes resultados corroboram os obtidos por Moura et al. (2006), no qual afirmam que a rugosidade não interfere na aderência de *C. albicans* à superfície da resina acrílica. Os autores afirmaram que somente a saliva interfere na aderência de *C. albicans* à superfície de resina acrílica, mas a rugosidade superficial e a energia de superfície não têm influência na aderência deste microrganismo ao material. Em um outro estudo, Spiechowicz et al. (1990), afirmaram que a clorexidina foi totalmente eficaz em inibir a aderência de *C. albicans* à superfície de resina acrílica por um período de até 8 dias.

No entanto, no estudo de Tawara et al. (1996), o uso de soluções desinfetantes durante 15 dias não alterou a aderência de *S. aureus* e *C. albicans* à superfície de resina acrílica. Os autores afirmaram que a saliva tem um papel importante no aumento da aderência destes microrganismos à resina acrílica, resultados estes corroborados por Moura et al. (2006). No presente estudo, a saliva não foi utilizada como controle, mas sim a água destilada. Desta forma, mais estudos devem ser realizados sobre a influência da saliva na aderência destes microrganismos à resina acrílica.

Conclusão

Com as limitações deste estudo, foi possível concluir que não houve diferença na rugosidade superficial de resina acrílica antes e depois da ciclagem com diferentes soluções desinfetantes e somente a ciclagem com gluconato de clorexidina a 0,12% alterou a aderência de *S. aureus* e *C. albicans* à superfície de resina acrílica.

Referências

- BUFFARA, W. M.; PORTELLA, M. Q. Controle de infecção em ortodontia. *Ortodontia*, v. 33, n. 2, p. 77-85, 2000.

- CHASSOT, A. L. C.; POISL, M. I. P.; SAMUEL S. M. W. *In Vivo* and *In Vitro* evaluation of the efficacy of a peracetic acid-based disinfectant for decontamination of acrylic resins. *Braz Dent J*, v. 17, n. 2, p. 117-21, 2006.

- GONÇALVES, A. C. S.; TRAVASSOS, D. V.; SILVA, M. Biossegurança do exercício da odontologia. *Rev Pos-Grad Fac Odontol Univ São Paul*, v. 3, n. 3, p. 242-5, 1996.

- GOIATO, M. C.; VEDOVATTO, E.; AMANTÉIA, D. C. Z.; GENNARI FILHO, H.; MARINHO, M. L. V. D. Análise da movimentação dos dentes artificiais em próteses totais superiores. Influência do tipo de polimento. *Cienc Odontol Bras*, v. 9, n. 1, p. 6-16, 2006.

- MCCULLOUGH, M. J.; ROSS, B. C.; READE, P. C. *Candida albicans*: a review of its history, taxonomy, epidemiology virulence attributes and methods of strain differentiation. *Int J Oral Maxillofac Surg*, v. 25, n. 2, p. 136-44, 1996.

- MOURA, J. S.; DA SILVA, W. J.; PEREIRA, T.; DEL BEL CURY, A. A.; RODRIGUES GARCIA, R. C. Influence of acrylic resin polymerization methods and saliva on the adherence of four *Candida* species. *J Prosthet Dent*, v. 96, n. 3, p. 205-11, 2006.

- REGO, M. R. M.; KITAHARA, F. M. F.; SANTIAGO, L. C. Resina acrílica: relação entre tratamento superficial e retenção de placa bacteriana. *Cienc Odontol Bras*, v. 8, n. 3, p. 92-8, 2005.

- SPIECHOWICZ, E.; SANTARPIA, R. P.; POLLOCK, J. J.; RENNER, R. P. In vitro study on the inhibiting effect of different agents on the growth of *Candida albicans* on acrylic resin surfaces. *Quintessence Int*, v. 21, n. 1, p.35-40, 1990.

- TAWARA, Y.; HONMA, K.; NAITO, Y. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* on denture surfaces. *Bull Tokyo Dent Coll*, v. 37, n. 3, p. 119-28, 1996.

- VIANNA, M. E., GOMES, B. P., BERBER, V. B.; ZAIA, A. A.; FERRAZ, C. C.; DE SOUZA-FILHO, F. J. *In vitro* evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, v. 97, n. 1, p. 79-84, 2004.

- WICHELHAUS, A.; BADER, F.; SANDER, F. G.; KRIEGER, D., MERTENS, T. Effective disinfection of orthodontic pliers. *J Orofac Orthop*, v. 67, n. 5, p. 316-36, 2006.