ESTERILIZAÇÃO DE DISPOSITIVOS PALATAIS EM RESINA ACRÍLICA TERMOPOLIMERIZÁVEL PARA UTILIZAÇÃO EM MODELOS ANIMAIS

Mariana Gomes Kopacheski (PIBIC/CNPq), Isabella Esser Ramos, Gustavo Simão Moraes, Karin Hermana Neppelenbroek, Vanessa Migliorini Urban (Orientadora), e-mail: vanurban@yahoo.com

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Odontologia

4.02.00.00-0 Odontologia
4.02.09.00-8 Materiais Odontológicos

Palavras-chave: esterilização, resinas acrílicas, ratos Wistar

Resumo

Este estudo avaliou qual método promoveria esterilização de dispositivos palatais acrílicos para uso em modelo animal. Foram feitas moldagens dos palatos de ratos machos Wistar (n=5) com moldeiras individuais e poliéter para confecção de dispositivos (n=5) em resina acrílica termopolimerizável. Os grupos foram: controle negativo (CN) = nenhum procedimento; ultrassom (US) por 20 min; micro-ondas (MO) a 650 W/3 min e luz ultravioleta (UV) por 20 min. Apenas os dispositivos do grupo MO não resultaram em crescimento microbiano visível nas placas de cultura. O grupo MO promoveu a esterilização dos dispositivos, visto que apenas este grupo não apresentou diferença significante (p=1,000) do controle positivo (caldo estéril). Os grupos US e CN apresentaram os maiores valores de contaminação (p<0,05). A irradiação por micro-ondas a 650 W por 3 minutos promoveu a esterilização dos dispositivos palatais e este protocolo pode ser utilizado em modelos animais de indução de candidose bucal.

Introdução

A candidose bucal é considerada a infecção fúngica mais frequente entre humanos e quando associada à utilização de próteses removíveis é denominada estomatite protética. Apesar de sua etiologia ser considerada multifatorial, a infecção por *Candida* spp., especialmente *Candida albicans*, é considerada o principal fator etiológico (BANTING & HILL, 2001).
Uma vez que a *C. albicans* patogênica tem sido encontrada no biofilme formado na superfície palatal de próteses dentárias acrílicas, a teoria de que a prótese maxilar atua como um reservatório permitindo que o fungo reinfecte continuamente a superfície da mucosa e contribua para a patogênese da estomatite protética pode ser reafirmada (SATO et al., 1997).
Diversos estudos têm sido conduzidos com o intuito de desenvolver e testar dispositivos intra-orais adaptáveis à mucosa palatina de ratos com diferentes finalidades, dentre as quais a indução e o tratamento da candidose bucal (JOHNSON et al., 2012; TOBOUTI et al., 2016). Para a realização destes estudos, é necessário que, inicialmente, tanto os animais selecionados não apresentem espécies de *Candida* em suas cavidades bucais assim como os dispositivos palatais sejam esterilizados após sua confecção. Isto porque, na sequência, os dispositivos

serão contaminados com biofilme padronizado de *C. albicans* visando a indução da lesão no animal.
Na literatura, têm sido encontrados métodos químicos e físicos de desinfecção/esterilização de corpos de prova e próteses acrílicas, dentre eles podem ser citadas a irradiação utilizando energia de micro-ondas (RIBEIRO et al., 2009), a radiação com luz ultravioleta e a imersão em banho de ultrassom. O método selecionado deveria tanto ser capaz de esterilizar o dispositivo assim como não afetar negativamente as propriedades físicas e mecânicas da resina acrílica termopolimerizável. O objetivo deste estudo foi avaliar qual(is) método(s) promoveria(am) esterilização de dispositivos palatais acrílicos para uso em modelo animal de indução de candidose bucal.

Materiais e Métodos

Animais de experimentação
Foram utilizados 5 ratos machos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), com idade entre 60 e 90 dias e peso entre 250 g e 300 g. Os animais foram obtidos do Núcleo Avançado de Estudos da Vida da Universidade Estadual de Ponta Grossa (NAEVI/UEPG) (processo 048/2016 - CEUA).

Obtenção dos dispositivos palatais
Os palatos dos animais foram moldados utilizando uma moldeira individual e poliéter (Impregum F; 3M do Brasil, Campinas, SP) e os modelos de trabalho obtidos foram vazados com gesso pedra especial tipo IV (HOTTA et al., 2016). A extensão do dispositivo foi delimitada no modelo e o enceramento foi deixado liso e plano com 3 mm de espessura na região do palato e na superfície oclusal dos molares e com 2 mm nas suas faces vestibulares.
Os modelos de trabalho encerados foram incluídos convencionalmente com gesso pedra tipo III em mufla metálica nº 6.
Após a eliminação da cera, a resina acrílica termopolimerizável transparente para base de prótese Vipi Cril® (Vipi® Ltda.) foi proporcionada e manipulada de acordo com as instruções do fabricante e inserida na fase plástica nos moldes de silicone no interior da mufla. A resina foi polimerizada em banho de água em termopolimerizadora de acordo com as recomendações do fabricante.
Após demuflagem, foi feito acabamento com broca de tungstênio cilíndrica do tipo mini-cutt e, em seguida, o polimento da superfície externa foi feito com disco de feltro e escova de algodão contendo pasta polidora universal (Universal Polishing Paste for Resins and Metals; Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein).
Os dispositivos acrílicos (n=5) foram mantidos em água destilada a 37°C em estufa (MA 033; Marconi Equipamentos Laboratoriais Ltda., Piracicaba, SP) por 48 h (ISO, 1998) e, então, submetidos a um dos grupos experimentais a seguir.

Grupos experimentais
1.Micro-ondas (MO): irradiação com energia de micro-ondas (MEF 41; Electrolux, Manaus, AM) a 650 W por 3 min, estando o dispositivo imerso em 200 mL de água destilada estéril;
2.Luz ultravioleta (UV): exposição à luz ultravioleta durante 20 min em cada face do dispositivo, interna ou superfície polida;

3.Ultrassom (US): imersão em água destilada estéril em banho de ultrassom (Ultrasonic Cleaner 1440D, Odontobrás, Ribeirão Preto, SP) por 20 minutos.
4.Controle negativo (CN): nenhum procedimento testado.

Confirmação da esterilização dos dispositivos
Foram feitas coletas das superfícies dos dispositivos utilizando *swabs* estéreis. Os *swabs* foram imersos em tubos de ensaio contendo solução tampão fosfatada (PBS; Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EUA) e, então, agitados em vórtex (QL-901 Biomixer; Curitiba, PR) para homogeneização. Uma alíquota de 100 µL foi removida dessa solução e semeada em placas de Petri em triplicata contendo meio de cultura ágar Mueller Hinton (Difco®, Detroit, Michigan, EUA). Os dispositivos foram, então, imersos em tubos de Falcon contendo meio de cultura caldo BHI (Difco®). As placas de Petri e os tubos de Falcon foram armazenados em estufa microbiológica a 37ºC por 48 h. Após esse período, as placas de Petri foram avaliadas visualmente e os caldos transferidos para placas de 96 poços (TPP®; Techno Plastic Prod., Trasadingen, SH, Suíça) para análise em espectrofotômetro (mod. Ultrospec 1000a; Amersham Pharmacia Biotech Inc. - Molecular Dynamics Div., Piscataway, NJ, EUA) a 450 nm com e sem a presença do corante cloreto de 2,3,5-trifenil tetrazólio para a verificação da viabilidade microbiana.

Análise estatística
Os resultados das leituras dos caldos em espectrofotômetro (mAbs) foram submetidos à análise estatística (IBM SPSS 19; SPSS Inc., IBM Company, Armonk, NY, EUA) utilizando ANOVA de fator único e teste de Tukey HSD (α=0,05). Análises do poder da amostra foram realizadas utilizando o *software* GPower 3.1 (G*Power, Universität Düsseldorf, Düsseldorf, North Rhine-Westphalia, Alemanha).

Resultados e Discussão

Análise visual das placas de cultura
Apenas as coletas dos dispositivos do grupo MO não resultaram em crescimento microbiano visível nas placas de cultura.

Análise em espectrofotômetro
Para o número de dispositivos confeccionados (n=5) para a avaliação em espectrofotômetro, este estudo apresentou poder adequado de 96% (α=0,05).
A Figura 1 apresenta os resultados das leituras em espectrofotômetro com e sem a adição do corante.

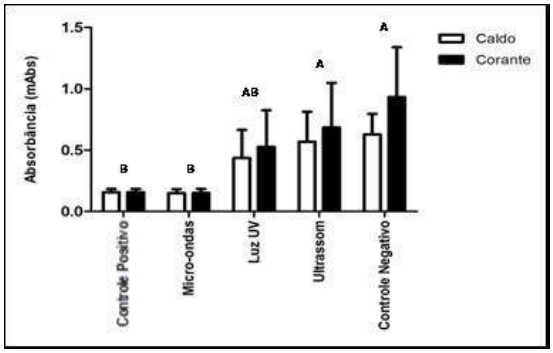


Figura 1 - Resultados das leituras em espectrofotômetro (mAbs) dos caldos das imersões dos dispositivos

Foi possível observar que o grupo MO esterilizou os dispositivos palatais para uso em modelo animal, uma vez que apenas este grupo não apresentou diferença estatisticamente significante (p=1,000) do controle positivo da esterilização (caldo BHI estéril) com ou sem a adição do corante para verificação da viabilidade microbiana. O grupo UV apresentou valores intermediários sem diferença estatisticamente significativa (p>0.05) de todos os grupos. Os grupos US e controle negativo da esterilização (CN) apresentaram os maiores valores de contaminação (p<0,05).

Conclusões

A irradiação por energia de micro-ondas a 650 W por 3 minutos promoveu a esterilização dos dispositivos palatais e este protocolo pode ser utilizado em modelos animais de indução de candidose bucal.

Agradecimentos

Agradeço ao CNPq pela bolsa de iniciação concedida.

Referências

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.
HOTTA, J. et al. Intraoral Device for Optimal Antifungal Delivery in a Rat Model. **Curr Drug Deliv**, 2016. *In Press*
ISO. **International Organization for Standardization: Specification 1567: denture base polymers.** Switzerland: ISO, 1998.
JOHNSON, C. C. et al. Development of a contemporary animal model of Candida albicans-associated denture stomatitis using a novel intraoral denture system. **Infect Immun**, v. 80, n. 5, p. 1736-1743, 2012.
RIBEIRO, D. G. et al. Denture disinfection by microwave irradiation: a randomized clinical study. **J Dent**, v. 37, n. 9, p. 666-672, 2009.
SATO, M. et al. Growth inhibition of oral bacteria related to denture stomatitis by anti-candidal chalcones. **Aust Dent J**, Sydney, v. 42, n. 5, p. 343-346, Oct. 1997.
TOBOUTI, P. L. et al. Expression of Secreted Aspartyl Proteinases in an Experimental Model of Candida albicans-Associated Denture Stomatitis. **J Prosthodont**, v. 25, n. 2, p. 127-134, 2016.