

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**  
**MESTRADO EM CLÍNICA ODONTOLÓGICA**

**BRUNA MARJORIE DIAS FROTA**

**TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA APLICADA EM ESPÉCIMES DE  
RESINA ACRÍLICA CONFECCIONADOS EM DIFERENTES LABORATÓRIOS DE  
PRÓTESE DENTÁRIA.**

**FORTALEZA**

**2012**

**BRUNA MARJORIE DIAS FROTA**

**TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA APLICADA EM ESPÉCIMES DE  
RESINA ACRÍLICA CONFECCIONADOS EM DIFERENTES LABORATÓRIOS DE  
PRÓTESE DENTÁRIA.**

Trabalho apresentado à comissão examinadora aprovada pela coordenação do Programa de Pós-graduação em Odontologia, como pré-requisito para obtenção do título de Mestre em Clínica Odontológica.

Orientadora: Profa. Dra. Karina Matthes de Freitas Pontes.

**FORTALEZA**

**2012**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca de Ciências da Saúde

---

F961t      Frota, Bruna Marjorie Dias.

Terapia fotodinâmica antimicrobiana aplicada em espécimes de resina acrílica confeccionados em diferentes laboratórios de prótese dentária / Bruna Marjorie Dias Frota. – 2012.

71 f. : il. color., enc. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará; Centro de Ciências da Saúde; Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem; Programa de Pós-Graduação em Tecnologia; Fortaleza, 2012.

Área de Concentração: Clínica Odontológica.

Orientação: Profa. Dra. Karina Matthes de Freitas.

1. Materiais Dentários. 2. Fotoquimioterapia. 3. Contaminação. 4. Desinfecção. 5. Esterilização. I. Título.

CDD 617.695

---

BRUNA MARJORIE DIAS FROTA

“TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA APLICADA EM ESPÉCIMES DE RESINA ACRÍLICA CONFECCIONADOS EM DIFERENTES LABORATÓRIOS DE PRÓTESE DENTÁRIA.”

Dissertação de Mestrado a ser apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Clínica Odontológica.

DATA DE APROVAÇÃO \_\_\_\_\_.\_\_\_\_\_.\_\_\_\_\_.

KARINA MATTHES DE FREITAS PONTES (orientadora)  
Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem – UFC

---

MÁRCIA ROSA ALENCAR SOBREIRA  
Curso de Odontologia - UNIFOR

---

ANTÔNIO MATERSON DA SILVA  
Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem -- UFC

---

## AGRADECIMENTOS

À DEUS, pelas imensas bênçãos derramadas sobre a minha vida. Tu tens sido comigo em todos os meus caminhos, não me deixando desamparada.

Agradeço pela força que me faz seguir sempre em frente.

Aos meus pais, JAIME e VALDEREZ, por todo carinho, amor, companheirismo, apoio, palavras de consolo, amizade e principalmente por serem exemplos de caráter, de humildade e por terem me ensinado tudo.

Dedico não apenas esse trabalho, mas dedico minha vida a vocês dois que souberam dar atenção quando precisei, pois deram não só o que eu queria, mas o que realmente necessitava, mesmo que muitas vezes eu não compreendesse. Quero sempre ser motivo de alegrias e de muito orgulho para vocês. Amo demais e mais uma vez muito obrigada!!

Ao meu noivo, FERNANDO, que é um grande presente de Deus em minha vida. Que sempre me incentivou a lutar pelos meus objetivos, que durante sua trajetória de vida demonstrou superação, sabedoria e muito amor pela linda profissão que escolheu, incentivando-me na carreira da pesquisa como ajudante de laboratório no início do namoro, e agora sigo esta carreira apresentada por ele a mim. Com todo meu amor, eu agradeço pela sua companhia, paciência e carinho nos momentos mais difíceis.

Amo-te muito e tenho muito orgulho de ser sua futura esposa.

Aos meus irmãos, ERICA e FILIPE, que são bênçãos na minha vida.

Agradeço por serem exemplos para mim pois são pessoas honestas, trabalhadoras, cheias de bondade e amor. Pessoas que vi crescer e que hoje me enchem de orgulho. Amo muito vocês!!!

## **AGRADECIMENTOS ESPECIAIS**

À minha orientadora, Prof(a) DRA. KARINA MATTHES DE FREITAS PONTES, pela imensa atenção para comigo, pelo exemplo de honestidade, de ética, de comprometimento, de responsabilidade e por acreditar no meu trabalho. Sinto-me orgulhosa de ser sua orientanda. Obrigada por todos os momentos de conversa, de conselhos e de apoio. MUITO OBRIGADA POR TUDO!!

Aos amigos do nosso grupo de pesquisa, RAFAEL DE CARVALHO, DANIELLE DOURADO, GUILHERME DE ALENCAR, XIMENA PRADO, CARLOS EDUARDO, CARLOS JEAN HERCULANO, BRUNA ALBUQUERQUE, por toda colaboração e paciência. Desejo que vocês consigam alcançar todos os sonhos dentro de suas profissões, pois ao longo desses anos pude conviver com cada um de vocês e ter a certeza da grande capacidade e responsabilidade que demonstram ter em suas vidas.

À coordenadora do Programa de Pós-graduação em Odontologia da UFC, Prof(a). Dr(a) LIDIANY KARLA AZEVEDO RODRIGUES, pela atenção dada a todos os alunos e ao programa. Parabéns pelo trabalho realizado.

Aos PROFESSORES do Programa de Pós-graduação em Odontologia da UFC, que muito me ensinaram. A garra e a capacidade demonstrada por todos foi um grande incentivo em minha carreira, servindo de exemplo em minha vida.

Aos TITULARES e SUPLENTES da banca de defesa, por suas disponibilidade e apoio.

Às instituições de fomento CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e FUNCAP (Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico), pelos recursos financeiros que propiciaram o nosso estudo.

À instituição de fomento REUNI PROPAG (Programa de Pós-graduação) UFC, pela bolsa de estudo que me proporcionaram durante o programa de Mestrado.

## RESUMO

Infecção cruzada entre consultório odontológico e laboratório de prótese pode ocorrer quando procedimentos de biossegurança não são executados adequadamente. A desinfecção dos trabalhos protéticos é uma etapa importante para prevenir a contaminação cruzada entre pacientes, dentistas e técnicos de laboratório. Este estudo avaliou a eficácia da terapia fotodinâmica (TFD) sobre espécimes de resina acrílica confeccionados em seis diferentes laboratórios de prótese dentária. Os laboratórios, cadastrados no Conselho Regional de Odontologia do Ceará, foram selecionados por sorteio e não foram identificados ao operador dos experimentos. A terapia teve como fotossensibilizador a eritrosina 22  $\mu\text{M}$  (P), associada à irradiação com LED de 520 nm, a 38  $\text{J}/\text{cm}^2$  (L). Cinquenta espécimes de cada laboratório foram distribuídos em 5 grupos (n:10): controle positivo (padrão ouro), estéril em óxido de etileno (EO); controle negativo (P-L-), sem tratamento; controle (P+L-) apenas corado com eritrosina; controle (P-L+) apenas irradiado com LED 520 nm; experimental (P+L+). Os espécimes foram colocados em tubos individuais contendo solução salina e agitados para desprendimento microbiano. A suspensão obtida foi diluída e plaqueada em Ágar Sangue, Sabouraud Dextrose e CHROMagar Orientation®, para incubação em 48 horas a 37°C. O número de unidades formadoras de colônias (UFC) bacterianas e fúngicas viáveis foi obtido, para comparações entre os grupos. Foram realizados os testes estatísticos de Kruskal-Wallis e Dunn, que determinaram diferença significativa entre os grupos (P-L-) e (P+L+) ( $p < 0,0001$ ). Foi identificada contaminação inicial com diversos micro-organismos nos seis laboratórios, como *Enterococcus spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus saprophyticus*. As leveduras viáveis foram eliminadas totalmente após a TFD para os laboratórios L1, L2, L4 e L5. No laboratório L3, a contagem de leveduras viáveis foi reduzida, em 97% após a TFD, enquanto que no L6, a redução foi de 94%. As bactérias viáveis foram eliminadas em 100% nos laboratórios L1, L2, L4 e L5. Nos laboratórios L3 e L6, a eliminação das bactérias viáveis foi de 99%. A TFD foi bastante eficaz na eliminação microbiana das superfícies dos espécimes de resina acrílica.

**Palavras-chave:** materiais dentários, fotoquimioterapia, contaminação, desinfecção, esterilização

## ABSTRACT

Cross infection between dental office and the dental lab can occur when biosafety procedures are not performed properly. Disinfection of prosthetic work is an important step to prevent cross-contamination between patients, dentists and laboratory technicians. This study evaluated the effect of photodynamic therapy on acrylic resin specimens made in different dental prosthetic laboratories. Six laboratories (L), registered in the Regional Council of Dentistry of Ceará, were randomly selected and were not identified to the operator of the experiments. The therapy used erythrosine 22  $\mu\text{M}$  as photosensitizer (P) associated with irradiation with LED of 520 nm, at 38  $\text{J}/\text{cm}^2$  (L). Fifty specimens of each laboratory were divided into 5 groups (n: 10): sterile positive control in Ethylene Oxide (EO); negative control (P-L-), untreated; control (P+L-) only stained with erythrosine; control (P-L+) only irradiated with 520 nm LED; experimental (P+L+). The specimens were placed in individual tubes containing saline solution and the obtained suspension was diluted and plated on Blood Agar, Sabouraud Dextrose and CHROMagar Orientation®, for incubation within 48 hours at 37°C. The number of colony-forming-units of viable bacteria and yeasts was obtained. The statistical tests of Kruskal-Wallis and Dunn were carried out, which showed a significant difference between the groups (P-L-) and (P+L+) ( $p < 0.0001$ ), identifying contamination with different microorganisms in the six laboratories, such as *Enterococcus spp*, *Pseudomonas spp*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus saprophyticus*. Viable bacteria were eliminated by 100% in laboratories L1, L2, L4 and L5. In laboratories L3 and L6 elimination of viable bacteria was 99%. The viable yeasts were completely eliminated after PDT for laboratories L1, L2, L4 and L5. In the laboratory L3, viable yeast count was reduced by 97% after PDT, whereas in the L6, the reduction was 94%. It was concluded that PDT was effective in microbial removal from the surfaces of the acrylic resin specimens.

**Key Words:** dental materials, photochemotherapy, contamination, disinfection, sterilization.



## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

%	Porcentagem
®	Marca Registrada
EUA	Estados Unidos da América
n	Número
mL	Mililitros
°C	Graus Celsius
μM	Micromolar
μL	Microlitros
min	Minuto
s	Segundos
±	Mais ou Menos
p	Significância
>	Maior que
<	Menor que
Ltda	Limitada
nm	Nanometro
J/cm <sup>2</sup>	Joules por centímetro quadrado (fluência de energia)
J	Joules (energia)
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
μm	Micrometro
mW	Miliwatts
spp	Subespécie

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>11</b>
<b>2. PROPOSIÇÃO</b> .....	<b>15</b>
<b>3. CAPÍTULOS – Artigo para publicação</b> .....	<b>17</b>
CAPÍTULO 1 - “ANTIMICROBIAL PHOTODYNAMIC THERAPY APPLIED ON ACRYLIC RESIN SPECIMENS MADE IN DIFFERENT DENTAL PROSTHETIC LABORATORIES.”	
<b>4. DISCUSSÃO</b> .....	<b>49</b>
<b>5. CONCLUSÕES</b> .....	<b>55</b>
<b>6. REFERÊNCIAS</b> .....	<b>57</b>
<b>7. ANEXOS</b>	
ANEXO 1 .....	<b>62</b>
<b>8. APENDICE</b>	
APENDICE A.....	<b>63</b>
APENDICE B.....	<b>66</b>

## *1 Introdução*

---

## 1 INTRODUÇÃO

O risco potencial de dentistas adquirirem ou transmitirem doenças infecciosas durante os procedimentos clínicos tem sido uma grande preocupação na prática odontológica. O estudo de Powell *et al.* (1990) demonstrou que todos os materiais enviados de consultórios odontológicos para os laboratórios de prótese dentária, incluindo próteses, estavam contaminados com diferentes espécies de micro-organismos. Assim, os pacientes com necessidades de próteses, os auxiliares de consultório dentário e técnicos em prótese dentária, podem ser considerados grupos de alto risco de transmissão de doenças infecciosas, bem como susceptíveis à aquisição das mesmas.

Próteses dentárias podem agir como uma fonte potencial de infecção por micro-organismos patogênicos capazes de aderir e sobreviver em superfícies de resina acrílica, promovendo a formação de biofilme, que são estruturas complexas semelhantes às encontradas na placa dental (Nikawa *et al.*, 1998). Diferentes espécies de agentes patogênicos orais e não orais estão associados com a placa da dentadura, incluindo *Candida spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Enterobacter spp.* e *Actinomyces spp.* (Glass *et al.*, 2001). A presença desta microflora tem sido implicada em patologias locais e sistêmicas, tais como cárie, doença periodontal, inflamação da mucosa, infecções do trato urinário, conjuntivite, pneumonia, meningite, abscesso, septicemia e endocardite (Zarb & Mackay, 1980).

A provável transmissão de agentes infecciosos entre pacientes e profissionais tem levado a um esforço para se encontrar métodos de descontaminação, tendo como objetivo a redução da ocorrência de contaminação cruzada na prática protética. Desinfecção é um procedimento importante que deve ser realizado antes das entregas aos laboratórios e antes do contato com os pacientes. Agentes químicos têm sido amplamente aplicados para reduzir a contaminação microbiana das próteses (Mennel *et al.*, 2007). No entanto, alguns dos recomendados têm alterado a estrutura física (Shen *et al.*, 1989) e as propriedades mecânicas (Asad *et al.*, 1992) das resinas acrílicas. Outra alternativa para a desinfecção da prótese pode ser irradiação de micro-ondas, apesar de sua eficácia contra micro-organismos (Ribeiro *et al.*, 2007),

muitos tipos de próteses ainda não podem ser desinfetados, por exemplo, próteses parciais removíveis, por serem construídas com uma estrutura metálica.

Tendo em mente que os materiais dentários não devem ser afetados pelo processo de desinfecção, muitos investigadores têm conduzido estudos a procurar terapias alternativas para a descontaminação de dispositivos protéticos.

A terapia fotodinâmica (TFD) é uma modalidade terapêutica que tem se mostrado promissora na inativação de micro-organismos patogênicos, podendo também ser chamada de inativação fotodinâmica ou quimioterapia fotodinâmica antimicrobiana (Wilson & Dobson, 1993; Wainwright, 1998; Teichert *et al.*, 2002; Bliss *et al.*, 2004; Perussi, 2007; Donnelly *et al.*, 2007; Dovigo, 2007).

Há relatos datando mais de cem anos sobre efeitos fotodinâmicos de compostos químicos contra micro-organismos, que foram suprimidos pela popularização das sulfonamidas e da penicilina. Esta técnica também é utilizada na oncologia, tratando eficazmente lesões cancerosas, por meio da indução de danos irreversíveis nas células de tecidos neoplásicos (Dougherty *et al.*, 1975; Woodburn *et al.*, 1996; Sibata *et al.*, 2000; Machado, 2000; Tardivo *et al.*, 2006). Diante das dificuldades impostas pelo surgimento da resistência microbiana, muitas pesquisas vêm sendo realizadas buscando soluções alternativas para o tratamento das infecções orais. Alguns estudos têm demonstrado o potencial da TFD na inativação de micro-organismos, incluindo alguns tipos de vírus, bactérias e fungos (Machado, 2000; Dovigo, 2007; Miyabe *et al.*, 2011; Costa *et al.*, 2011).

A TFD consiste na associação da ação de um agente corante (fotossensibilizador) a uma fonte de luz, no intuito de provocar necrose celular e morte microbiana. A ação se dá quando a substância fotossensibilizadora absorve os fótons da fonte de luz e seus elétrons passam a um estado excitado, ocorrendo uma primeira reação com produção de superperóxido, radicais hidroxila e radicais livres. Na presença de oxigênio molecular, ocorre uma segunda reação, em que o fotossensibilizador transfere energia ao mesmo quando retorna ao seu estado natural, formando moléculas de vida curta e altamente reativas, como o oxigênio singlete ( $^1O_2$ ). Todos estes produtos oxidam moléculas biológicas, como proteínas mitocondriais, alterando sua estrutura e atividade, desnaturam proteínas e lipídios da membrana e modificam a estrutura do DNA celular (Yamada, 2004). Devido a este

mecanismo de ação, é muito improvável que um micro-organismo desenvolva resistência a este tipo de terapia (Machado, 2000; Wood *et al.*, 2006; Perussi, 2007).

Outras vantagens também podem ser observadas com o uso da inativação fotodinâmica: seletividade do fotossensibilizador, focalização da luz apenas na região de interesse, possibilidade de repetição da terapia sem efeitos tóxicos cumulativos, não invasivos e de baixo risco (Teichert *et al.*, 2002; Dovigo, 2007; Perussi, 2007). A TFD tem sido aplicada em Odontologia, nas áreas de Cariologia, periodontia, endodontia e patologia oral, com bastante eficácia (Giusti, 2005; Aghahosseini *et al.*, 2006; Foschi *et al.*, 2007; Oliveira *et al.*, 2007; Garcez *et al.*, 2008; Qin *et al.*, 2008; Mima *et al.*, 2011; Parker, 2011).

Na área de reabilitação oral, a redução do número de micro-organismos favorece o controle da infecção cruzada entre consultório e laboratório de prótese, na necessidade de esterilização de próteses imediatas e guias cirúrgicos para implantodontia, que devem ser utilizados em ambiente cirúrgico asséptico. Há um interesse clínico na procura de um método alternativo que seja simples e eficaz na desinfecção ou, até mesmo, esterilização de dispositivos confeccionados em resina acrílica, uma vez que problemas como infecções cruzadas entre laboratório e consultório e o uso de próteses imediatas e guias cirúrgicos não estéreis em cirurgias orais, têm sido recorrentes na odontologia.

## *2 Proposição*

---

## 2 PROPOSIÇÃO

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar a eficácia da técnica de TFD no combate a micro-organismos presentes em superfície de resina acrílica de espécimes confeccionados em diferentes laboratórios de prótese dentária da cidade de Fortaleza-CE, utilizando eritrosina 22  $\mu\text{M}$  associada a um LED de 520 nm, com densidade de energia de 38  $\text{J}/\text{cm}^2$ .

Os objetivos específicos foram:

- verificar o nível de contaminação dos espécimes acrílicos confeccionados e recém recebidos de diferentes laboratórios de prótese dentária da cidade de Fortaleza-CE, identificando os principais micro-organismos presentes;
- analisar o nível de redução na contagem de colônias de bactérias e leveduras viáveis promovida pela técnica de TFD nos espécimes de resina acrílica.



## *3 Capítulo*

---

### 3 CAPÍTULO

Esta dissertação baseia-se no Artigo 46 do Regimento Interno do Programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará, que regulamenta o formato alternativo para dissertações de mestrado e teses de doutorado e permite a inserção de artigos científicos de autoria e co-autoria do candidato. Assim sendo, essa dissertação é composta por um capítulo, contendo um artigo submetido à publicação ou em fase de redação, conforme descrito na sequência:

- CAPÍTULO 1

“Antimicrobial photodynamic therapy applied on acrylic resin specimens made in different dental prosthetic laboratories.”

Frota, Bruna Marjorie Dias

Garcia, Bruna Albuquerque

Alcantara, Danielle Dourado

Pontes, Karina Matthes de Freitas

Este artigo será submetido à publicação no periódico “**The Journal of Prosthetic Dentistry**”.

Antimicrobial photodynamic therapy on acrylic resin specimens made in different dental prosthetic laboratories.

Bruna Marjorie Dias Frota<sup>a</sup>, Danielle Dourado Alcantara<sup>a</sup>, Bruna Albuquerque Garcia<sup>a</sup>, Karina Matthes de Freitas Pontes<sup>b</sup>

\*DDS, graduate student, Faculty of Pharmacy, Dentistry and Nursing, Federal University of Ceará.

\*\* PhD, associate professor, Faculty of Pharmacy, Dentistry and Nursing, Federal University of Ceará.

**Corresponding author:**

Karina Matthes de Freitas Pontes

Rua Monsenhor Furtado S/N, Rodolfo Teófilo, CEP: 60430-350, Fortaleza, CE, Brazil.

E-mail: [kamatthes@yahoo.com.br](mailto:kamatthes@yahoo.com.br)

**ABSTRACT**

This study evaluated the effect of photodynamic therapy on acrylic resin specimens made in different dental prosthetic laboratories. Six laboratories (L), registered in the Regional Council of Dentistry of Ceará, were randomly selected and were not identified to the operator of the experiments. The therapy used erythrosine 22  $\mu\text{M}$  as photosensitizer (P) associated with irradiation with LED of 520 nm, at 38  $\text{J}/\text{cm}^2$  (L). Fifty specimens of each laboratory were divided into 5 groups (n: 10): sterile positive control in Ethylene Oxide (EO); negative control (P-L-), untreated; control (P+L-) only stained with erythrosine; control (P-L+) only irradiated with 520 nm LED; experimental (P+L+). The specimens were placed in individual tubes containing saline solution and the obtained suspension was diluted and plated on Blood Agar, Sabouraud Dextrose and CHROMagar Orientation®, for incubation within 48 hours at 37°C. The number of colony-forming-units of viable bacteria and yeasts was obtained. The statistical tests of Kruskal-Wallis and Dunn were carried out, which showed a significant difference between the groups (P-L-) and (P+L+) ( $p < 0.0001$ ), identifying contamination with different microorganisms in the six laboratories, such as *Enterococcus spp*, *Pseudomonas spp*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus saprophyticus*. Viable bacteria were eliminated by 100% in laboratories L1, L2, L4 and L5. In laboratories L3 and L6 elimination of viable bacteria was 99%. The viable yeasts were completely eliminated after PDT for laboratories L1, L2, L4 and L5. In the laboratory L3, viable yeast count was reduced by 97% after PDT, whereas in the L6, the reduction was 94%. It was concluded that PDT was effective in microbial removal from the surfaces of the acrylic resin specimens.

**Key Words:** acrylic resins, photochemotherapy, contamination, disinfection, sterilization.

## INTRODUCTION

Photodynamic therapy (PDT) is a therapeutic modality that has shown promise in the inactivation of pathogenic microorganisms.<sup>1,2,3</sup> It has been applied in dentistry in the areas of cariology, periodontics, endodontics and oral pathology, with quite effectiveness.<sup>4-7</sup> In the dental prosthesis area, this technique has been reported in the control of *Candida albicans*, in complete dentures users with chronic atrophic candidiasis.<sup>3</sup> However, there is also interest in the control of other microorganisms in order to avoid cross-infection between dental office and dental prosthesis laboratory, and the need to sterilize immediate dentures and surgical guides for implantology, which should be used in an aseptic environment.<sup>8</sup>

PDT involves the application and retention of a photosensitizing agent in the microbial cells, under irradiation with a light source of compatible wavelength with its absorption band. The irradiated photosensitizer undergoes a transition from a low power state to a state of higher energy or triplet. At this stage, the photosensitizer reacts with biomolecules, producing free radicals and radical ions, and besides it also reacts with molecular oxygen to produce singlet oxygen ( $^1O_2$ ), which is highly cytotoxic, since it causes oxidation of cellular constituents, like the plasma membrane and DNA, resulting in death of stained microbial cell.<sup>9,10</sup>

The removable dentures or surgical guides are composed primarily of acrylic resins. This material can be sterilized by ethylene oxide gas, gamma ray, hydrogen peroxide plasma or microwave irradiation. The first three methods are used in hospitals at high cost, the fourth method, while promising, has not provided high effectiveness in microbial elimination, besides there are controversies regarding their effect on the dimensional stability and hardness of the involved materials.<sup>11,12</sup> For disinfection of acrylic resins it is common to use substances such as 1% sodium hypochlorite, peracetic acid, chlorhexidine digluconate and 70% alcohol, which,

although reducing the amount of microorganisms, have disadvantages, such as changes in surface roughness and color of acrylic resins, corrosion and irritant effects on skin.

The concern with the issue of cross-infection in dental offices and dental laboratories has been increasing in recent years, especially after studies showing that contamination to technicians of prosthetic laboratory is mainly caused by contaminated impressions or mishandling of items from the clinic after arrival at the laboratory. Research reported that more than 60% of prosthesis delivered to the laboratories from dental clinics were contaminated with pathogenic microorganisms from the oral cavity of patients.<sup>14-16</sup> One study reported that 39.5% of technicians of prosthetic laboratory never wore gloves when working.<sup>17</sup> Furthermore, the lathes used for polishing and finishing acrylic prosthesis have been described as a major source of contamination.<sup>18</sup> Kugel *et al.* (2000) concluded that no prosthetic laboratory is immune to the presence of potentially pathogenic microorganisms.<sup>19</sup>

Given this, the search for an alternative method of simple and effective disinfection or even sterilization of these acrylic devices is of great clinical interest.<sup>8,20,21</sup> Photodynamic therapy in the inactivation of microorganisms can be a solution, because of its proven effectiveness in other areas, combined with the simplicity of the technique and the possibility of using low cost materials. The aim of this study was to evaluate the effect of PDT technique in combating microorganisms present on the surface of acrylic resin specimens made in different dental laboratories from the city of Fortaleza - CE - Brazil, using 22  $\mu\text{M}$  erythrosine associated with a 520 nm LED with energy density of 38  $\text{J}/\text{cm}^2$ . Therefore, the null hypothesis tested in this study was that the combination of a photosensitizer with LED could have no antimicrobial effect on acrylic resin substrates.

## MATERIAL AND METHODS

### Preparation of samples

It was selected an autopolymerizing, pink médium color acrylic resin (Classico,Articles Dental Classic Ltda. São Paulo, SP,Brazil) for the preparation of specimens. Fifty specimens were ordered in each of the six selected dental prosthetic laboratories from Fortaleza - CE- Brazil, according to the manufacturer's specifications, following the model of matrices provided by the main investigator.

The matrices provided to the laboratories were fabricated in vinyl polysiloxane (Adsil, Vigodent, São Paulo, SP, Brazil) measuring 1 cm in diameter and 2 mm in thickness, packed in surgical paper and sterilized by autoclaving. In dental prosthetic laboratories, they were included in flasks so they could be reproduced with the indicated pressing of acrylic resin. The finishing and polishing of the specimens were also conducted by the laboratories, indicating the use of grit sand papers numbers 220, 400 and 600, followed by polishing around with a felt cone and canvas polishing discs, with pumice stone and spanish white powder.

#### Selection of laboratories

This selection was performed by raffle, randomly via computer program (Microsoft Office Excel 2007), from a list provided by the Regional Council of Dentistry of Ceará (CRO-CE).

The dental prosthetic laboratories drawn were called L1, L2, L3, L4, L5 and L6 and received no information about the survey, only the order of service, the requirement on the trademark of resin, the finishing system and the matrices for preparation of the specimens. The operator of the experiments also had no knowledge about which laboratories were being tested, making this a blinded study.

The prepared specimens were transported in sterile metal box, from the dental laboratory to the microbiology laboratory at the Faculty of Pharmacy, Dentistry and Nursing, in Federal University of Ceará (FFOE -UFC). The shipping box was opened inside a laminar flow for removal of specimens and beginning of experimental phase.

### Selection of photosensitizer and light source

Erythrosine (Vetec, Rio de Janeiro, RJ, Brazil) was used for the sensitization at the concentration of 0.22  $\mu\text{M}$ .<sup>9</sup> Erythrosine solution was prepared by dissolving the powdered dye in phosphate-buffered saline (PBS, pH 7.4) and sterilized by filtration through 0.22  $\mu\text{m}$  pore diameter membranes (Merck Millipore, Billerica, Ma, USA). After filtration, the dye solution was stored in the dark. The absorption spectrum (400-800 nm) of the Erythrosine solution was verified in a spectrophotometer (Cary 50 Bio, Varian Inc., Palo Alto, Ca, USA). A green light-emitting diode, LED (DMC, São Carlos, SP, Brazil) was used as the light source, with a wavelength of 520 nm, an output power of 90 mW, an energy of 30 J, a fluence of 38  $\text{J}/\text{cm}^2$  and irradiation time of 5 min and 33 seconds.

### Experimental groups

For each of the six selected laboratories, the specimens were randomly divided into 5 groups (n = 10):

- Positive control (EO) - sterilized with ethylene oxide gas;
- Negative control (P-L) - no treatment;
- Control of the photosensitizer (P+L-) - stained with erythrosine and unirradiated;
- Control of the green LED (P-L+) - irradiated with green LED and unstained;
- Experimental (P+L+) - stained with erythrosine and irradiated with the green LED.

The EO group was positive control, because after the arrival from the lab, their specimens were individually wrapped in surgical paper and subjected to ethylene oxide sterilization, considered the gold standard. The negative control group received no treatment, in order to permit verification of actual contamination of the specimens after arrival from the laboratories.



The group (P+L-) aimed to search a possible antimicrobial effect of the erythrosine alone, at 22  $\mu$ M. The specimens of this group, after the arrival from the laboratory, were immersed in 2 mL of the dye solution, ensuring contact in all their surfaces, for 5 minutes in glass containers.

The group (P-L+) aimed to check possible antimicrobial effect of irradiation with 520 nm LED alone. The active tip of the LED device was fixed in an universal stem and positioned perpendicularly to the surface to be irradiated, from a distance as close as possible (0.8 cm) so the entire specimen would be covered with light. Irradiation was performed on all surfaces of each specimen as soon as they came from the laboratory, at 38 J/cm<sup>2</sup>.

The experimental group (P+L+) tested the effect of the PDT, consisted by combination of the photosensitizer with the LED, in reducing or eliminating microbial in acrylic resin specimens made in dental prosthetic laboratories from the city of Fortaleza- CE - Brazil. The procedures of staining and irradiation were performed as described above.

#### Microbiological procedures

After treatments, the specimens were placed in individual tubes containing 1 mL of 0.9% sterile saline solution. Each tube was shaken by an agitator (MPL – Materiais para Laboratório, MPL QL-901, Piracicaba, SP, Brazil) for 1 minute.

The suspension went through a process of dilution 1:10, 1:100, 1:1000 and the neat and diluted forms were plated (10  $\mu$ L) in petri plates containing the culture media Blood Agar, Sabouraud Dextrose (Eximlab LTDA, São Paulo, SP, Brazil), and CHROMagar Orientation® (Probac, São Paulo, SP, Brazil). The plates were incubated for 48 hours at 37 °C for subsequent counting of colony-forming-units (CFU).

The Blood Agar culture medium allows the growth of viable bacteria, whereas Sabouraud Dextrose Agar allows the growth of viable yeasts and fungi.

CHROMagar Orientation® is a non-selective chromogenic medium that allows identification of specific colonies through differences in their shades.

#### Statistical analysis

The CFU were counted for each group from each laboratory. Adherence to the assumptions of normality was verified using the Cochran tests ( $\alpha = 0.05$ ). The data did not conform to the requirements of a normal distribution, so Kruskal-Wallis and Dunn's multiple comparison tests were performed, at 95% confidence interval ( $\alpha = 0.05$ ).

#### RESULTS

The results of CFU counts of viable bacteria in different groups for different laboratories are shown in figures 1 to 6, while the results of CFU counts of viable yeast in different groups, for the analyzed laboratories are shown in figures 7 to 12.

The antimicrobial activity of PDT against viable bacteria was statistically significant, according to results from (P+L+) groups compared to (P-L-), (P-L+) and (P+L-) groups (p values  $< 0.0001$ ).

For viable yeasts, it was observed that PDT was also effective, but the irradiation with the light source alone showed significant reduction in CFU counts in almost all laboratories tested, except for L6. Erythrosine alone also played a role in reducing viable yeasts for L3 and L4.

The comparison among laboratories as the initial contamination of specimens by viable bacteria and viable yeasts are shown in figures 13 and 14, respectively. The microorganisms *Enterococcus spp*, *Pseudomonas spp*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus saprophyticus* were detected on specimens from all laboratories analyzed.

## DISCUSSION

The risks of cross infection in dental offices are established and well known. The same can not be said of the dental prosthetic laboratories, because they generally do not have direct contact with the patient and thus believe they are not exposed to biological material.<sup>22</sup>

Prosthesis, molds, models or other objects that had contact with the patient's saliva or blood can serve as an indirect transmission of microorganisms to personnel involved in the handling of the prosthesis in the laboratory, including laboratory technicians, via direct contact or by aerosols produced during abrasion procedures and polishing. Due to the high degree of contamination of the prosthesis, if appropriate disinfection procedures are not implemented also in laboratories, microorganisms may be transferred from the laboratory to the patient, triggering a crossed infection.<sup>23</sup>

In addition to concerns related to molds, studies have shown that the compartment that holds the pumice stone and felt cones for polishing can spread diseases.<sup>15,24</sup> In this study it was found that although there was no contact with the oral cavity of patients, specimens were contaminated with different types of microorganisms, including many species of bacteria, as well as yeasts.

Witt & Hart (1990) reported that all samples of felt disks with pumice stone and water, in three dental prosthetic laboratories, were contaminated with microorganisms like aerobic positive Gram-bacilli, including *B. cereus*, *B. brevis*, *B. licheniformis* and members of the group *coli*. In this study, microorganisms such as *Enterococcus spp*, *Pseudomonas spp*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus saprophyticus* were identified.

The use of PDT in this study consisted of an alternative for disinfection or sterilization of acrylic resin based materials, which proved to be quite effective, showing statistically significant difference between the group that received therapy and the negative control group,

without any form of treatment, resembling the gold standard, sterilized in ethylene oxide. In all laboratories, there were different levels of contamination, but in all, the therapy has proven to be a safe and efficient alternative for the control of infections caused by pathogenic microorganisms.

As well as the work of Deminova & Hamblin (2005), Dovigo (2007) and Wood *et al.* (2006) when associating a photosensitizer with a compatible light emitting device, it was observed that there was a significant decrease in the quantity of microorganisms evaluated. As in this work, the sterilization of some specimens occurred when subjected to PDT in question, which means a reduction that reached zero CFU.

Wood *et al.* (2006) realized PDT in biofilms formed by *S. mutans* using erythrosine 22  $\mu\text{M}$  and light (500–650 nm and 400 W of power for 15 min) and obtained a reduction of  $2.2 \pm 0.2 \log_{10}$  for biofilms of 48 hours and  $3.0 \pm 0.3 \log_{10}$  for biofilms of 28 hours; they concluded that erythrosine can be an excellent photosensitizer for the treatment of buccal biofilms. Metcalf *et al.* (2006) also tested erythrosine in PDT on *S. mutans*. Those authors verified a bacterial reduction of  $2 \log_{10}$  after 5 minutes of continuous irradiation and a reduction of  $3.7 \log_{10}$  when the light was fractionated into time intervals of 10–30 seconds. This concentration of erythrosine is considered minimal, making it easy to remove from the acrylic resin sample surface and consequent removal in dental prosthesis, not causing therefore stains on such devices.

In their work, Rolim *et al.* (2012) evaluated the PDT with different photosensitizers at the same concentration against *Streptococcus mutans* planctonic cultures. In addition, the  $^1\text{O}_2$  production of each photosensitizer was determined. The photosensitizers (163.5  $\mu\text{M}$ ) methylene blue (MB), toluidine blue ortho (TBO) and malachite green (MG) were activated with a light-emitting diode (636 nm), while eosin (EOS), erythrosine (ERI) and rose bengal (RB) were irradiated with a curing light (570 nm). Light sources were operated at  $24 \text{ J/cm}^2$ . In

vitro *S. mutans* experiments demonstrated TBO as the only photosensitizer that effectively reduced 99.9% of this microorganism.

Xanthene dyes, such as erythrosine and rose bengal show strong absorption of light in the spectral range of 460–560 nm, with an absorbance maximum at approximately 530 nm, a range corresponding to that emitted by blue and green light-emitting diodes.<sup>28</sup> Corroborating with the choice in this study, because the 520 nm LED associated with erythrosine showed known antimicrobial properties that led to a decrease in the amount of microorganism when inserted in a real contamination provided by the laboratory, unlike most of the work using defined concentrations of specific microorganisms or biofilms.

Peloi *et al.* (2008), testing with red light-emitting diode and methylene blue, achieved microbial reductions of 93.05%, 93.7% and 93.33% for *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans*, respectively. Soares *et al.* (2009) inhibited adhesion in 55% of *C. albicans* on buccal epithelial cells, with a reduction of  $3.41\log_{10}$  using a light-emitting (630 nm) diode and toluidine blue. Zanin *et al.* (2006) sensitized biofilms in vitro with a light-emitting diode (638 nm) and toluidine blue and reached a reduction of 95% in viability of *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* and *Streptococcus sanguinis*.

As for action of only LED on the inactivation of microorganisms a decrease was obtained, though not statistically significant. This result is also identified in the study of Maclean *et al.* (2009) who demonstrated the susceptibility of resistant bacteria to antimicrobials and blue light (405 nm) without the application of photosensitizer. Gram-positive and Gram-negative species were completely inactivated, with reductions reaching  $9\log_{10}$  for these species, including methicillin-resistant *S. aureus*.

PDT mediated by erythrosine and green LED significantly reduced plactonics cultures and biofilms of *C. albicans* and *C. dubliniensis*, according to the work of Costa *et al.* (2011). Similar results were obtained in this study - there was a significant decrease, reaching zero, in many cases, in the growth of yeasts in acquired specimens.

The divergences found in this study, in relation to the literature, are due to the absence of pre-defined parameters for using PDT, which make a reliable comparison of the results among the different papers difficult to obtain. Moreover, the concentration of the photosensitizer, photosensitizer type, incubation time, the physiological condition of the microorganisms and exposure period of the LED, may also influence the results of the PDT technique.

Certain limitations were identified at this work, as sample size, with smaller dimensions than those of the dental prosthesis, beyond the use of a single type of photosensitizer, on a single concentration and fluency. More research is needed, with different dyes and equipment, to find options more viable and equally effective for PDT.

Application of antimicrobial photodynamic therapy is promising because the development of resistance after multiple treatments is unlikely, due to the interaction of singlet oxygen and free radicals with various cellular and metabolic structures, being equally effective against bacteria resistant to antibiotics.<sup>35</sup> Also does not have toxic, corrosive or allergens effects as certain disinfectants.

Through this study it was possible to demonstrate the effectiveness of PDT in combating cross-contamination between dental prosthetic laboratories and dental offices, in addition to being a simple, rapid and low-cost alternative for sterilization of acrylics devices that are used in surgical field, as surgical guides and immediate removable dentures and, without apparent harm to the properties of the acrylic resin.

## CONCLUSION

Within the limitations of this study, it was concluded that PDT mediated by erythrosine 22  $\mu\text{M}$  and 520 nm LED exercised antimicrobial activity in acrylic resin specimens provided from different dental prosthetic laboratories from Fortaleza-CE - Brazil.

## REFERENCES

1. Perussi JR. Inativação fotodinâmica de microrganismos. *Quim Nova* 2007;30(4): 988-994.
2. Donnelly RF, Mccarron PA, Tunney MM, David Woolfson A. Potential of photodynamic therapy in treatment of fungal infections of the mouth. Design and characterisation of a mucoadhesive patch containing toluidine blue O. *J Photochem Photobiol B* 2007;86(1):59-69.
3. Dovigo LN. Efetividade da terapia fotodinâmica na inativação de *Candida* spp. Dissertação de mestrado – Universidade Estadual Paulista Faculdade de Odontologia. Araraquara, 2007.
4. Foschi F, Fontana CR, Ruggiero K, Riahi R, Vera A, Doukas AG *et al.* Photodynamic inactivation of *Enterococcus faecalis* in dental root canals in vitro. *Lasers Surg Med* 2007; 39(10):782-7.
5. Oliveira RR, Schwartz-Filho HO, Novaes AB Jr, Taba M Jr. Antimicrobial photodynamic therapy in the non-surgical treatment of aggressive periodontitis: a preliminary randomized controlled clinical study. *J Periodontol* 2007;78(6):965-73.
6. Qin YL, Luan XL, Bi LJ, Sheng YQ, Zhou CN, Zhang ZG. Comparison of toluidine blue-mediated photodynamic therapy and conventional scaling treatment for periodontitis in rats. *J Periodontal Res* 2008;43(2):162-7.
7. Garcez AS, Nuñez SC, Hamblin MR, Ribeiro MS. Antimicrobial effects of photodynamic therapy on patients with necrotic pulps and periapical lesion. *J Endod* 2008 Feb;34(2):138-42.
8. Kugel G, Perry RD, Ferrar M, Lalicata P. Disinfection and communication practices: a survey of U.S. dental laboratories. *J Am Dent Assoc* 2000;131(6):786-92.

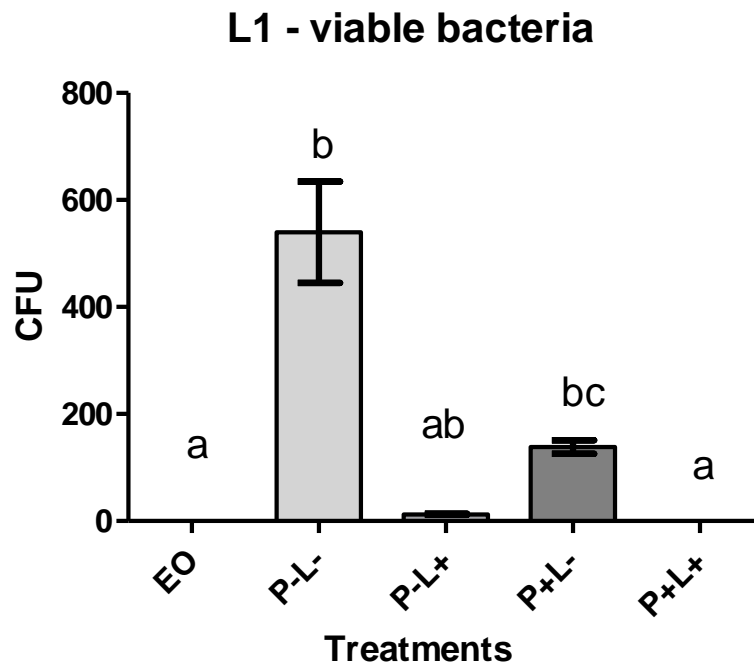
9. Wood S, Metcalf D, Devine D, Robinson C. Erythrosine is a potential photosensitizer for the photodynamic therapy of oral plaque biofilms. *J Antimicrob Chemother* 2006;57(4):680-4.
10. Machado AEH. Terapia fotodinâmica: princípios, potencial de aplicação e perspectivas. *Quim Nova* 2000;23(2):237-243.
11. Campanha N, Pavarina AC, Vergani C, Machado A. Effect of microwave sterilization and water storage on the Vickers hardness of acrylic resin denture teeth. *J Prosthet Dent* 2005; 93(5):483-87.
12. Seo RS, Vergani CE, Pavarina AC, Compagnoni MA, Machado AL. Influence of microwave disinfection on the dimensional stability of intact and relined acrylic resin denture bases. *J Prosthet Dent* 2007; 98(3):216-23.
13. Da Silva FC, Kimpara ET, Mancini MNG, Balducci I, Jorge AOC, Koga-Ito CY. Effectiveness of six different disinfectants on removing five microbial species and effects on the topographic characteristics of acrylic resin. *J of Prosthodontics* 2008; 17: 627-633.
14. Verran J, Kossar S, McCord JF. Microbiological study of selected risk areas in dental technology laboratories. *J Dent* 1996;24:77-80.
15. Witt S, Hart P. Cross-infection hazards associated with the use of pumice in dental laboratories. *J Dent* 1990;18:281-3.
16. Sofou A, Larser T, Fiehn NE, Owell B. Contamination level of alginate impressions arriving at a dental laboratory. *Clin Oral Investig* 2002;6:161-5.
17. Akeredolu PA, Sofola OO, Jokomba O. Assessment of knowledge and practice of cross infection control among Nigerian dental technologists. *Niger Postgrad Med J* 2006;13(3):167-71.



18. Silva MCV, Cartaxo JUQ, Arioli Filho JN, Batista AUL. Evaluation of the Biosecurity Measures Adopted in Dental Prosthesis Laboratories of the City of João Pessoa, PB, Brazil. *Pesq Bras Odontoped Clin Integr* 2010;10(1):101-106.
19. Kugel G, Perry RD, Ferrar M, Lalicata P. Disinfection and communication practices: a survey of U.S. dental laboratories. *J Am Dent Assoc* 2000;131(6):786-92.
20. Al-Omari MA, Al-Dwairi ZN. Compliance with infection control programs in private dental clinics in Jordan. *J Dent Educ* 2005;69(6):693-8.
21. Akeredolu PA, Sofola OO, Jokomba O. Assessment of knowledge and practice of cross infection control among Nigerian dental technologists. *Niger Postgrad Med J* 2006;13(3):167-71.
22. Pavarina AC, Machado AL, Giampaolo ET, Vergani CE. Infecção cruzada entre o consultório odontológico e o laboratório via próteses contaminadas. *Rev Bras Prot Clin Lab* 1999; 1(1):74-8.
23. Cotrim LEF, Santos EM, Jorge AOC. Procedimentos de biossegurança realizados por cirurgiões-dentistas e laboratórios durante a confecção de próteses dentárias. *Rev Odontol UNESP* 2001; 30(2):233-44.
24. Williams HN, Falkler WA, Hasler JF. Acinetobacter contamination of laboratory dental pumice. *J Dent Res* 1983; 62(10):1073-5.
25. Deminova TN, Hamblin MR. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. *J Dent Res* 2005; 49(6): 2329-2335.
26. Metcalf D, Robinson C, Devine D, Wood S. Enhancement of erythrosin-mediated photodynamic therapy of *Streptococcus mutans* biofilms by light fractionation. *J Antimicrob Chemother* 2006;58:190-192.
27. Rolim JPML, de-Melo MAS, Guedes SF, Albuquerque-Filho FB, de Souza JR, Nogueira NAP, Zanin ICJ, Rodrigues LKA The antimicrobial activity of photodynamic

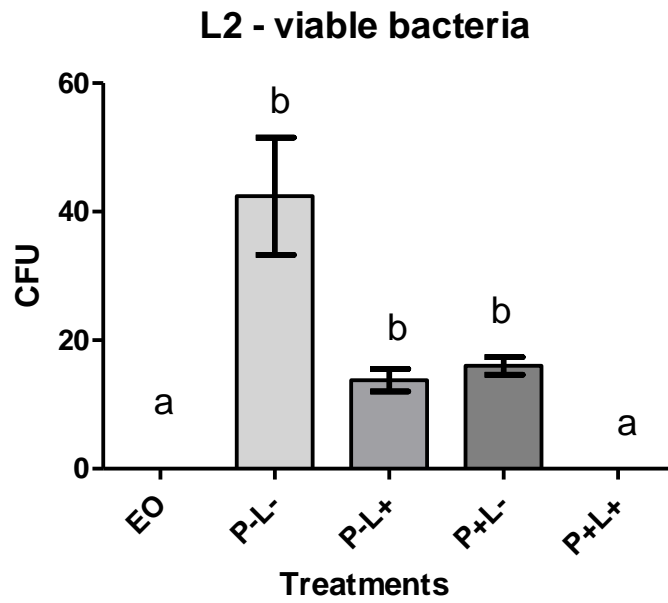
- therapy against *Streptococcus mutans* using different photosensitizers. *J of Photoche and Photob B: Biology* 2012;106:40-46.
28. Meléndez-Martínez AJ, Britton G, Vicario IM, Heredia FJ. Relationship Between The Colour And The Chemical Structure Of Carotenoid Pigments. *Food Chem* 2007;101(3):1145-1150.
29. Konopka K, Goslinski T. Photodynamic therapy in dentistry. *J Dent Res* 2007;86:694-707.
30. Peloi LS, Soares RR, Biondo CE, Souza VR, Hioka N, Kimura E. Photodynamic effect of light-emitting diode light on cell growth inhibition induced by methylene blue. *J Biosci* 2008;33:231-237.
31. Soares BM, da Silva DL, Sousa GR, Amorim JC, de Resende MA, Pinotti M, Cisalpino OS. In vitro photodynamic inactivation of *Candida* spp. growth and adhesion to buccal epithelial cells. *Photochem Photobiol B* 2009;94:65-70.
32. Zanin IC, Lobo MM, Rodrigues LK, Pimenta LA, Höfling JF, Gonçalves RB. Photosensitization of in vitro biofilms by toluidine blue O combined with a light-emitting diode. *Eur J Oral Sci* 2006;115:64-69.
33. Maclean M, MacGregor SJ, Anderson JG, Woolsey G. Inactivation of bacterial pathogens following exposure to light from a 405nm light-emitting diode array. *Appl Environ Microbiol* 2009;75:1932–1937.
34. Costa ACBP, Rasteiro VMC, Pereira CA, Hashimoto ESHS, Junior MB, Junqueira JC, Jorge AOC. Susceptibility of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* to erythrosine- and LED-mediated photodynamic therapy. *Archives of Oral Biology* 2011:1010-1016.
35. Wainwright M. Photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT). *J Antimicrob Chemother* 1998;42:13-28.

Figure 1. The results of CFU counts of viable bacteria in different groups for Laboratory1 (L1).



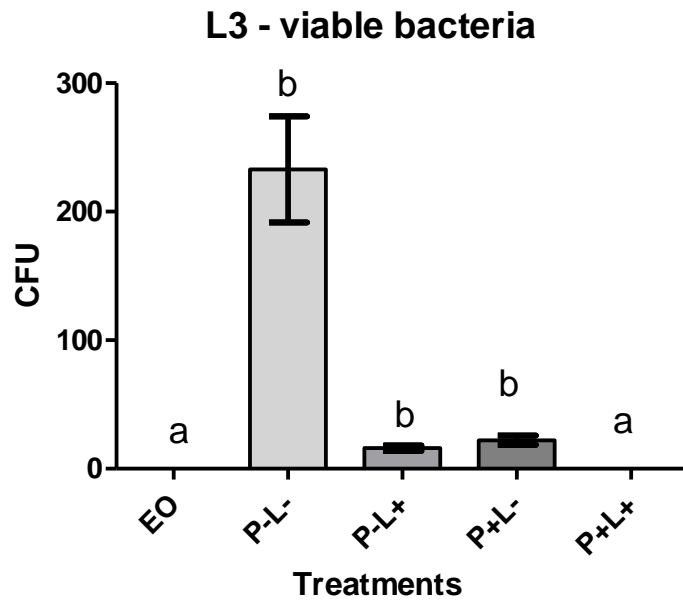
Different lowercase letters indicate  $p < 0.0001$ .

Figure 2. The results of CFU counts of viable bacteria in different groups for Laboratory 2 (L2).



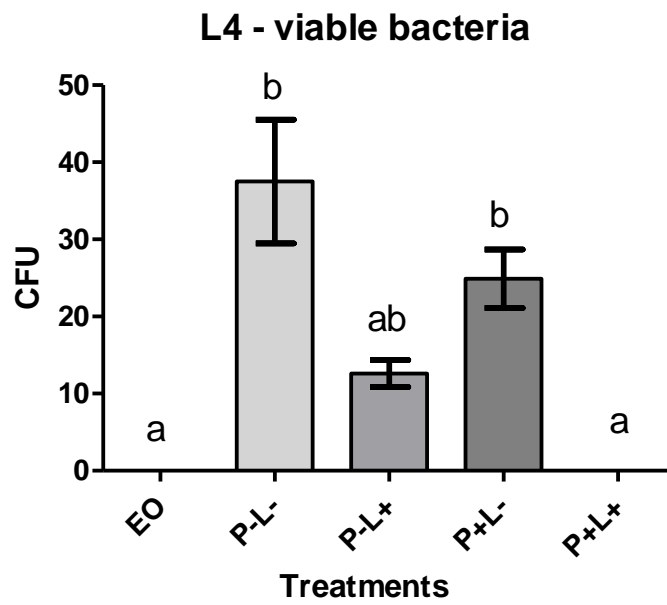
Different letter lowercase letters indicate  $p < 0.0001$ .

Figure 3. The results of CFU counts of viable bacteria in different groups for Laboratory 3 (L3).



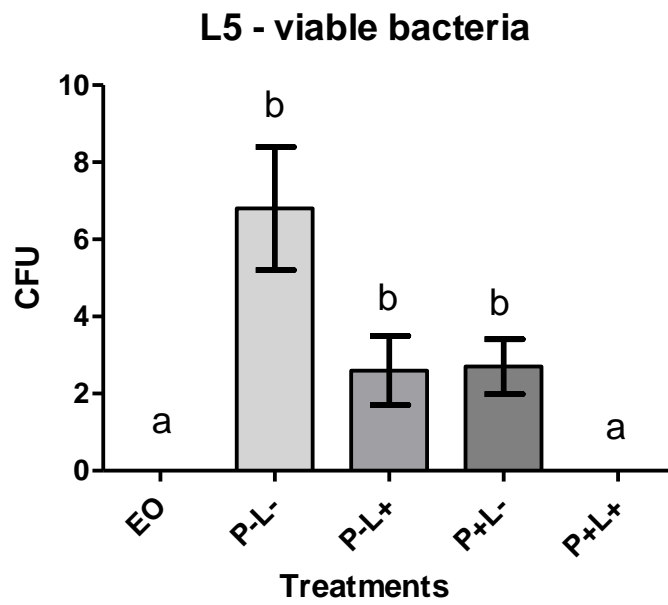
Different lowercase letters indicate  $p < 0.0001$ .

Figure 4. The results of CFU counts of viable bacteria in different groups for Laboratory 4 (L4).



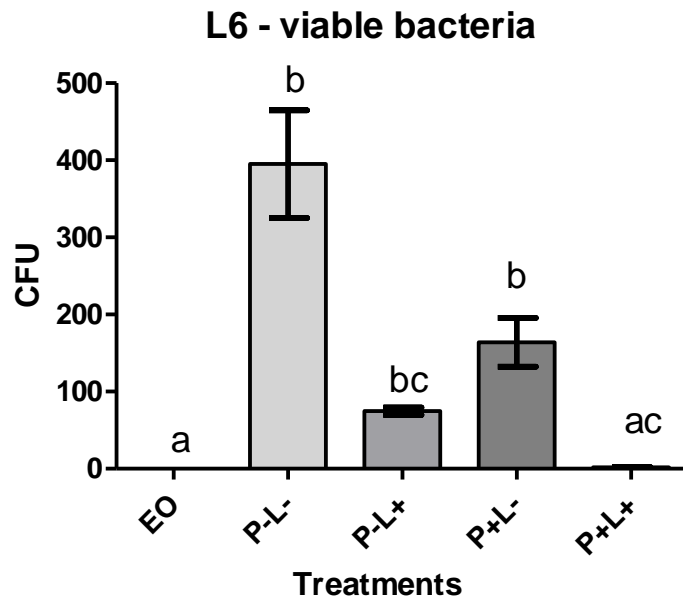
Different lowercase letters indicate  $p < 0.0001$ .

Figure 5. The results of CFU counts of viable bacteria in different groups for Laboratory 5 (L5).



Different lowercase letters indicate  $p < 0.0001$ .

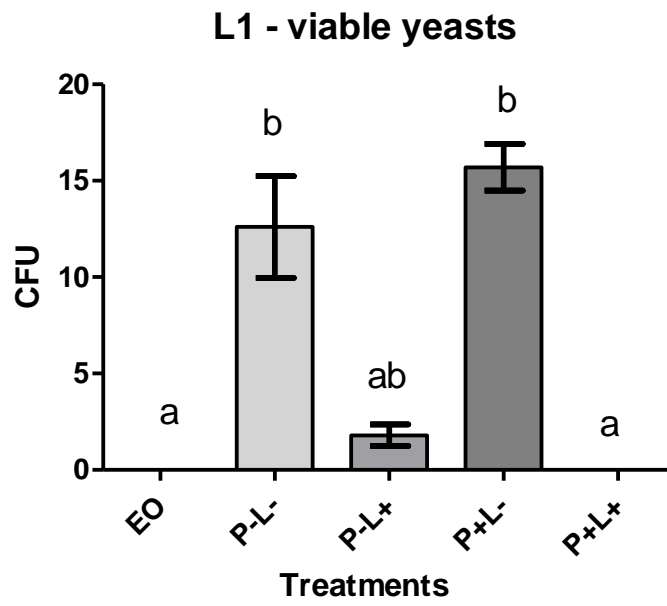
Figure 6. The results of CFU counts of viable bacteria in different groups for Laboratory 6 (L6).



Different lowercase letters indicate  $p < 0.0001$ .

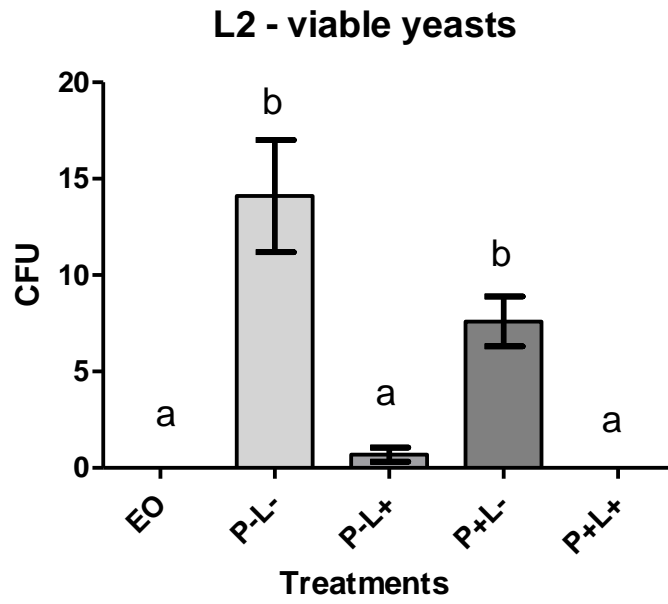


Figure 7. The results of CFU counts of viable yeasts in different groups for Laboratory 1 (L1).



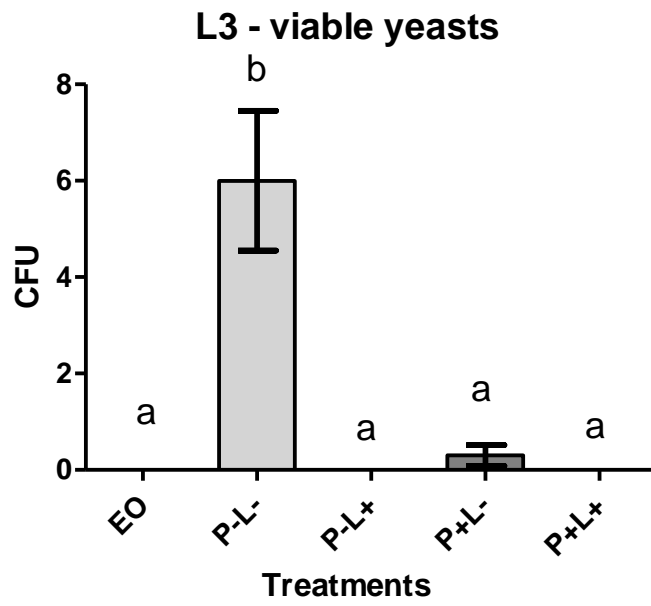
Different lowercase letters indicate  $p < 0.0001$ .

Figure 8. The results of CFU counts of viable yeasts in different groups for Laboratory 2 (L2).



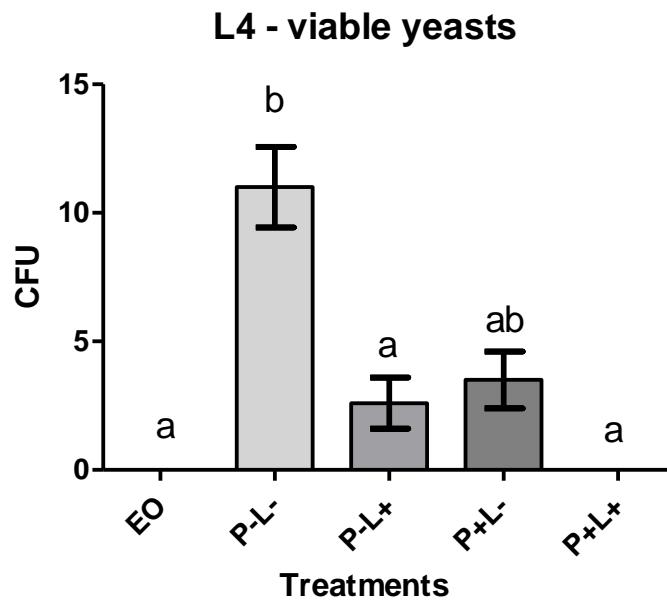
Different lowercase letters indicate  $p < 0.0001$ .

Figure 9. The results of CFU counts of viable yeasts in different groups for Laboratory 3 (L3).



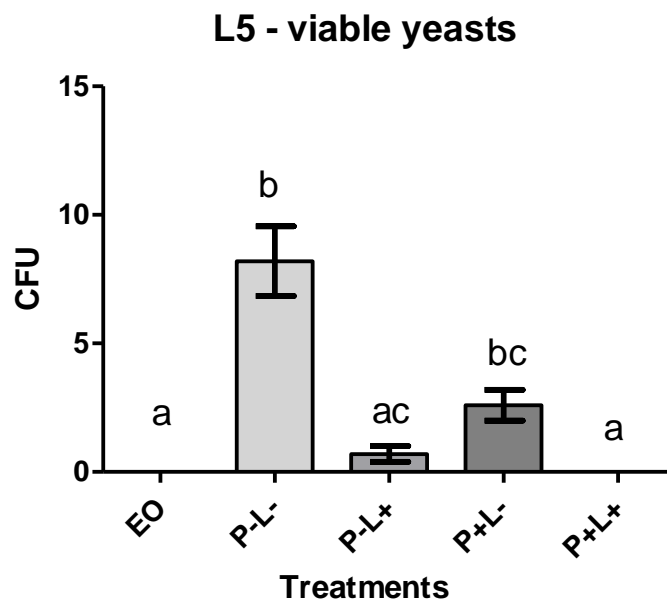
Different lowercase letters indicate  $p < 0.0001$ .

Figure 10. The results of CFU counts of viable yeasts in different groups for Laboratory 4 (L4).



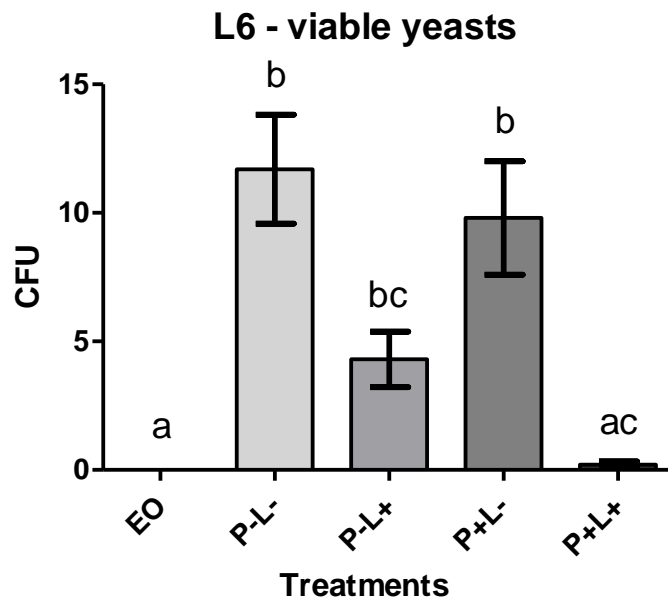
Different lowercase letters indicate  $p < 0.0001$ .

Figure 11. The results of CFU counts of viable yeasts in different groups for Laboratory 5 (L5).



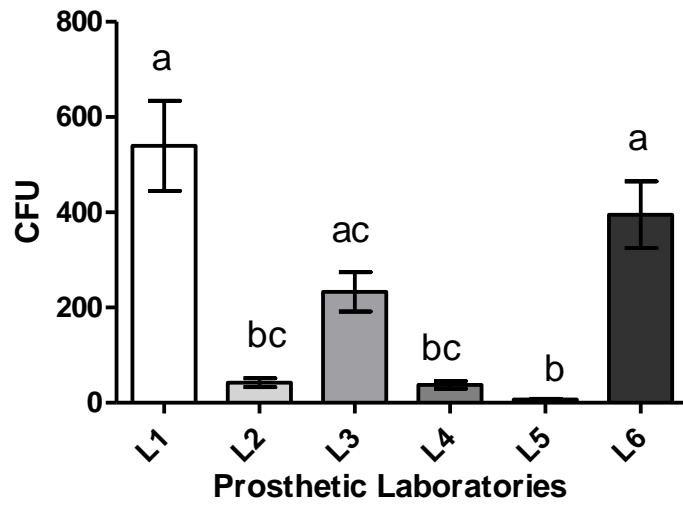
Different lowercase letters indicate  $p < 0.0001$ .

Figure 12. The results of CFU counts of viable yeasts in different groups for Laboratory 6 (L6).



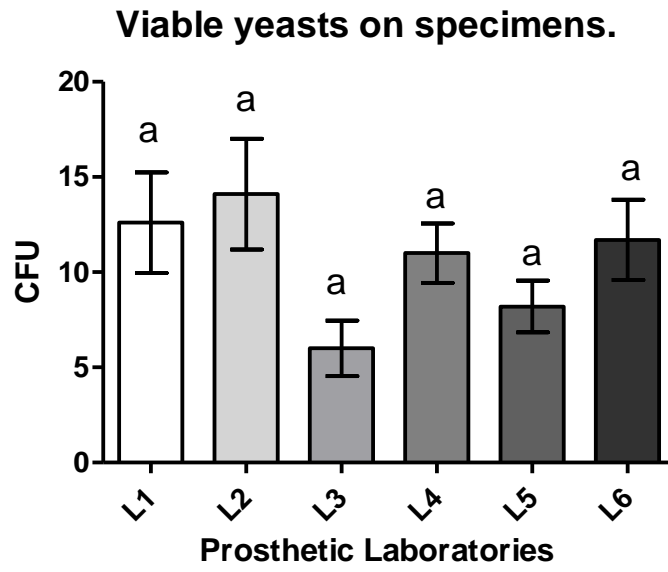
Different lowercase letters indicate  $p < 0.0001$ .

Figure 13. The comparison among laboratories contamination of specimens by viable bacteria.

**Viable bacteria on specimens.**

Different lowercase letters indicate  $p < 0.0001$ .

Figure 14. The comparison among laboratories contamination of specimens by viable yeasts. (p=0,1241)





## *4 Discussão*

---

## 4 DISCUSSÃO

As próteses dentárias provenientes dos consultórios odontológicos para consertos, ou montagens e ajustes, podem estar contaminadas por uma série de vírus, bactérias ou fungos provenientes da cavidade oral dos pacientes (Assery *et al.* 1992, Brace & Plummer, 1993). Segundo Yassuda (2007), a percepção do risco e o medo de aquisição de doenças são importantes motivadores para a adoção de medidas de proteção. Nesse sentido, o Técnico em Prótese Dentária (TPD) sabe que pode contrair doenças durante a execução de suas atividades laboratoriais, porém parece haver uma lacuna entre a percepção de risco e a adoção de medidas de proteção (Neves *et al.*, 2001). A consciência do risco está intimamente ligada à percepção palpável e visível do perigo, o TPD não tem contato direto com o paciente. Neves *et al.* (2001) observaram que 95% (n=60) dos técnicos entrevistados na cidade de Belo Horizonte-MG relataram ter recebido molde e modelo de gesso com sangue e saliva visíveis.

Villas Boas e Quirino (2006) observaram que apenas 30% dos TPDs tinham conhecimento sobre o risco de aquisição de infecção cruzada e 15% não sabiam quais doenças poderiam adquirir. O controle de infecção cruzada entre consultórios e laboratórios dentários é importante, pois na confecção das próteses, uma série de instrumentos e materiais utilizados usualmente não são esterilizados. Próteses provadas em pacientes, moldagens e modelos de gesso também constituem potenciais fontes de infecção (Miller, 1996). A contaminação de modelos de gesso por micro-organismos provenientes de moldes não desinfetados também foi comprovada por Leung & Schonfeld em 1990. Powell *et al.* (1990) observaram que, em 100 diferentes tipos de trabalhos protéticos, 67% apresentavam contaminação por bactérias patogênicas, incluindo: *Esterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca* e *Pseudomonas aeruginosa*. Mais de vinte anos depois, foram encontrados no presente trabalho resultados semelhantes de contaminação ainda muito presente em dispositivos de resina acrílica. Quanto à quantidade de leveduras viáveis, foi verificado no laboratório 1 (L1) uma média de 12,6 UFC, no laboratório 2 (L2), 14,1 UFC, no laboratório 3 (L3) 6 UFC, no laboratório 4 (L4) 11 UFC, no laboratório 5 (L5) 8,2 UFC e no laboratório 6 (L6) 11,7 UFC. Quanto às bactérias viáveis encontradas

nas superfícies dos espécimes deste estudo, as médias foram no L1 539,6 UFC, no L2 42,4 UFC, no L3 232,9 UFC, no L4 37,5 UFC, no L5 6,8 UFC e no L6 395,1UFC.

Todos os laboratórios de prótese participantes deste trabalho apresentaram contaminação por bactérias do tipo *Enterococcus spp*, *Pseudomonas spp*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* e *Staphylococcus saprophyticus*. Está clara a necessidade de cuidados com o ambiente de trabalho dos profissionais de prótese dentária, seja o dentista ou o técnico dos laboratórios, bem como que a manipulação de moldes, modelos e trabalhos protéticos, que necessitam ser desinfetados (Cavalcante & Pereira, 2000).

Agostinho *et al.* (2004) encontraram um alto índice de contaminação nas próteses totais provenientes de seus usuários (UFC>300), representando um alto risco de contaminação para os profissionais do laboratório e fonte de contaminação cruzada, uma vez que os equipamentos e materiais no ambiente de trabalho, conseqüentemente, contaminarão novas próteses. No presente estudo, foi demonstrado que peças de resina acrílica podem configurar risco ao paciente por serem capazes de reter vários micro-organismos patogênicos viáveis.

Alguns agentes químicos podem ser utilizados para desinfetar dispositivos protéticos acrílicos, como o hipoclorito de sódio, o glutaraldeído, a clorexidina e o álcool 70%. Apesar da sua eficiência como um desinfetante, o hipoclorito de sódio 1% tem algumas desvantagens, incluindo a sua atividade corrosiva nas superfícies metálicas, o efeito irritante sobre a pele e outras células, destruição de tecidos, incluindo *cotton*, e alteração de cor de resinas (Bell *et al.*, 1989). O glutaraldeído 2% é frequentemente utilizado em odontologia (Cardoso *et al.*, 2000). A principal vantagem desse produto é que ele não é inativado quando em contato com materiais orgânicos, não é corrosivo e não degrada plásticos ou borracha (Silva *et al.*, 2004), no entanto, devido à sua potencial toxicidade, eles devem ser manipulados com cuidado e, de acordo com a Resolução RDC 15 de 03/2012 ficou proibida a utilização do glutaraldeído na esterilização em consultório odontológico e a desinfecção em alto nível com esta substância segue normas específicas regulamentadas por esta Resolução (ANVISA, 2012). A clorexidina tem sido uma das mais estudadas substâncias antimicrobianas. Ela é considerada a melhor escolha entre os antissépticos para o controle de biofilme dental, eficaz para a prevenção da cárie dentária, gengivite e estomatite. Sua atividade antimicrobiana tem sido descrita,

principalmente, em bactérias Gram-positivas (Guimarães, 2001). Pavarina *et al.*, (2003) observaram alteração na rugosidade superficial de resina acrílica após imersão em digluconato de clorexidina e em hipoclorito de sódio.

Em situações em que é necessária a esterilização dos dispositivos de resina acrílica, como guias cirúrgicos na implantodontia e próteses removíveis imediatas à exodontia, poucas são as opções. Existem estudos demonstrando os efeitos antimicrobianos do uso do forno de micro-ondas, em que ocorrem alterações em algumas propriedades do material acrílico (Hamouda & Ahmed, 2010). Outras possibilidades são o uso de radiação gama, plasma de peróxido de hidrogênio e gás de óxido de etileno, que são meios eficazes de esterilização fria, sem danos ao acrílico, porém de alto custo, devido à necessidade de equipamentos específicos.

Na busca por métodos mais seguros e eficientes na desinfecção e esterilização de dispositivos protéticos, surgiu a proposição de utilizar uma técnica que nos dias atuais já demonstrou bastante eficácia no controle de micro-organismos em doenças periodontais e na desinfecção de canais endodônticos, além de ser utilizada na área de patologia oral e oncologia. A chamada terapia fotodinâmica consiste na associação de um corante fotossensibilizador a uma fonte de luz, como o LED ou *laser*.

A hipótese de que a terapia fotodinâmica com a utilização da eritrosina associada a um diodo emissor de luz de 520nm seria eficaz contra os prováveis micro-organismos encontrados nos dispositivos providos dos laboratórios de prótese dentária da cidade de Fortaleza, Ceará, foi confirmada. Tal eficácia foi demonstrada em pequenos espécimes de resina acrílica nos grupos irradiados com fluência de energia de 38 J/cm<sup>2</sup>. Foi alcançada a esterilização de quase todos os espécimes, resultados estes promissores quanto à desinfecção e esterilização, não descartando a possibilidade de que futuros estudos possam levar ao mesmo resultado em próteses advindas ou entregues a pacientes no consultório.

Referindo-se aos controles, para todos os laboratórios, os grupos não tratados (P-L-), apenas irradiados (P-L+) e apenas corados (P+L-) apresentaram grande número de UFC de bactérias viáveis, enquanto o grupo esterilizado com óxido de etileno (EO) não apresentou nenhum crescimento microbiano. Isto comprovou que houve verdadeira contaminação advinda dos laboratórios nos espécimes de resina acrílica e que a esterilização em óxido de etileno foi realmente eficaz, enquanto a

ação isolada da fonte de luz e dos fotossensibilizantes causou menor redução na contagem dos micro-organismos.

Quando avaliada a ação isolada da eritrosina neste trabalho, foi verificado que ela ocasionou a redução, e em muitas vezes a eliminação, dos micro-organismos do gênero *Klebsiella*, em todos os laboratórios, nos quais estava presente. Já quando utilizado somente o LED (P-L+) de 520 nm, obtivemos uma redução de UFC dos micro-organismos *Escherichia coli*, *Klebsiella* e *Staphylococcus saprophyticus* nos espécimes por estes contaminadas. As leveduras viáveis presentes nos grupos (P-L+) também se mostraram sensíveis à irradiação com o LED de 520 nm. O único micro-organismo que se mostrou um pouco resistente à terapia (P+L+) foi a *Pseudomonas spp.*

No estudo de Gomes (2012), a TFD utilizando 0,05% de azul de metileno como fotossensibilizador, associado ao LED vermelho (630nm), causou inibição do crescimento de *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* em biofilmes formados em espécimes de resina acrílica, enquanto o *Streptococcus mutans* não se mostrou sensível a esta associação. Também ocorreu diferença quanto à dose de irradiação, sendo a de 30 J/cm<sup>2</sup> mais eficaz.

Miyabe *et al.* (2011) relataram que apenas a irradiação a *laser* ou a concentração 3 mM de azul de metileno, separadamente, não reduziram significativamente a contagem de *Staphylococcus spp.* Costa *et al.* (2011) encontraram resultados iguais, usando eritrosina 0,39 – 200 µM e *laser* de 532 nm. No entanto, Lovato-Silva *et al.* (2002) avaliaram vários agentes evidenciadores de biofilme, incluindo eritrosina a 5% e azul de metileno a 0,05%, e encontraram atividade antimicrobiana neles. A concentração do fotossensibilizador e as espécies de micro-organismos envolvidos nos diferentes estudos podem promover variação nos resultados.

Como pode ser visto através dos resultados deste estudo, todos os grupos experimentais, de todos os laboratórios, mostraram uma redução nas contagens microbianas em relação aos grupos controle, chegando a anular esse crescimento, em concordância com os resultados encontrados por outros autores (Wood *et al.*, 2006; Dovigo, 2007; Miyabe *et al.*, 2011; Costa *et al.*, 2011).

Como limitações do estudo, alguns aspectos foram observados: os espécimes possuíam pequenas dimensões, em comparação às dimensões de uma prótese

dentária, não se sabendo se em próteses totais, por exemplo, seria obtido o mesmo resultado, sendo necessários ensaios clínicos randomizados. O levantamento da contaminação advinda dos laboratórios de prótese dentária foi feito em um número reduzido de laboratórios. Uma futura análise de uma quantidade maior de laboratórios poderá trazer conclusões mais embasadas sobre a contaminação cruzada real. Mais estudos ainda são necessários para o estabelecimento de um protocolo de esterilização de espécimes de resina acrílica com a técnica da terapia fotodinâmica, verificando-se dosagens maiores de energia em diferentes comprimentos de onda de fontes de luz, além de diferentes fotossensibilizadores em concentrações mínimas, aumentando-se o número de opções para facilitar o acesso e a implantação da esterilização de acrílico na rotina profissional de cirurgiões dentistas e técnicos em prótese dentária.

## *5 Conclusões*

---

## 5 CONCLUSÕES

A caracterização dos diferentes tipos de próteses acrílicas como possíveis agentes de infecção cruzada é relevante, diante da contaminação observada nos espécimes confeccionados nos diferentes laboratórios de prótese analisados. A consequência desejável desse conhecimento é uma conduta mais rigorosa por parte do cirurgião dentista, no que diz respeito aos procedimentos de desinfecção e esterilização destes dispositivos, previamente ao posicionamento na cavidade oral do paciente. Por meio dos resultados obtidos, e diante das limitações deste estudo, foi concluído que a terapia fotodinâmica apresentou aplicabilidade na área da prótese dentária, pois ela propõe a descoberta de novos protocolos e meios de desinfecção e esterilização para dispositivos acrílicos utilizados rotineiramente nos consultórios odontológicos. A utilização do fotossensibilizador eritrosina 22  $\mu\text{M}$  associado a um LED 520 nm a 38  $\text{J}/\text{cm}^2$  foi bastante eficaz na redução dos micro-organismos encontrados nos espécimes de resina acrílica, provindos dos laboratórios de prótese dentária do município de Fortaleza-CE.



## *6 Referências*

---

## 6 REFERÊNCIAS

AGHAHOSSEINI F, ARBABI-KALATI F, FASHTAMI LA, FATEH M, DJAVID GE. Treatment of oral lichen planus with photodynamic therapy mediated methylene blue: a case report. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal**. 2006;11(2):126-129.

AGOSTINHO AM, MIYOSHI PR, GNOATTO N, APARANHOS HF, FIGUEIREDO LC, SALVADOR SL. Cross-contamination in the dental laboratory thought the polishing procedure of complete dentures. **Braz Dent J**. 2004;15(2):138-143.

ANVISA (Agência de Vigilância Sanitária). RDC 15 03/2012. [www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br) acessado em 25/11/2012.

ASAD T, WATKINSON AC, HUGGETT R. The effect of disinfection procedures on flexural properties of denture base acrylic resins. **J Prosthet Dent**. 1992;68:191–195.

ASSERY M, GRASER GN, EISENBERG AD. Control of microbial contamination with commercially available cleaning solutions. **J. Prosthet Dent**. 1992 Feb;67(2):275-7.

BELL JA, BROCKMANN MS, FEIL P. The effectiveness of two disinfectants on denture base acrylic resin with an organic load. **J Prosthet Dent**. 1989;61:581-589.

BLISS JM, BIGELOW CE, FOSTER TH, HAIDARIS CG. Susceptibility of *Candida* species to photodynamic effects of photofrin. **Antimicrob Agents Chemother**. 2004;48(6):2000-2006.

BRACE ML, PLUMER KD. Practical denture disinfection. **J Prosthet Dent**. 1993 Dec;70(6):538-40.

CAMPANHA N, PAVARINA AC, VERGANI C, MACHADO A. Effect of microwave sterilization and water storage on the Vickers hardness of acrylic resin denture teeth. **J Prosthet Dent**. 2005; 93(5):483–487.

CARDOSO CL, REDMERSKI R, BITTENCOURT NLR. Effectiveness of different chemical agents in rapid decontamination of gutta-percha cones. **Braz J Microbiol**. 2000;31:72-75

CONNOR C. Cross-contamination control in prosthodontic practice. **Int J Prosthodont**. 1991 Jul-Aug;4(4):337-44.

COSTA ACBP, RASTEIRO VMC, PEREIRA CA, HASHIMOTO ESHS, BELTRAME JR. M, JUNQUEIRA JC, JORGE AOC. Susceptibility of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* to erythrosine and LED mediated photodynamic therapy. **Arch Oral Biol**. 2011; 56:1299-1305.

COTRIM LEF, SANTOS EM, JORGE AOC. Procedimentos de biossegurança realizados por cirurgiões-dentistas e laboratórios durante a confecção de próteses dentárias. **Rev Odontol UNESP** 2001; 30(2):233-44.

DIXON DL, BREEDING LC, FALER TA. Microwave disinfection of denture base materials colonized with *Candida albicans*. **J Prosthet Dent.** 1999; 81(2):207-214.

DONNELLY RF, MCCARRON PA, TUNNEY MM, DAVID WOOLFSON A. Potential of photodynamic therapy in treatment of fungal infections of the mouth. Design and characterisation of a mucoadhesive patch containing toluidine blue. **J Photochem Photobiol B.** 2007;86(1):59-69.

DOUGHERTY TJ, GRINDEY GB, FIEL R, WEISHAUP T KR, BOYLE DG. Photo radiation therapy II. Cure of animal tumors with hematoporphyrin and light. **J Natl Cancer Inst.** 1975;55(1):115-119.

DOVIGO LN. Efetividade da terapia fotodinâmica na inativação de *Candida* spp. Dissertação de mestrado – Universidade Estadual Paulista Faculdade de Odontologia. **Araraquara**, 2007.

FOSCHI F, FONTANA CR, RUGGIERO K, RIAHI R, VERA A, DOUKAS AG, PAGONIS TC, KENT R, STASHENKO PP, SOUKOS NS. Photodynamic inactivation of *Enterococcus faecalis* in dental root canals in vitro. **Lasers Surg Med.** 2007; 39(10):782-787.

GARCEZ AS, NUÑEZ SC, HAMBLIN MR, RIBEIRO MS. Antimicrobial effects of photodynamic therapy on patients with necrotic pulps and periapical lesion. **J Endod.** 2008;34(2):138-142.

GIUSTI JSM. Avaliação da terapia fotodinâmica utilizando diodo emissor de luz (led) na descontaminação de dentina bovina artificialmente cariada. Tese de Doutorado, **UNESP Araraquara**. 2005.

GLASS RT, BULLARD JW, HADLEY CS, MIX EW, CONRAD RS. Partial spectrum of microorganisms found in dentures and possible disease implications. **J Am Osteopath Assoc.** 2001;101:92–94.

GOMES CEA. Fotossensibilização de biofilmes formados em resinas para base de prótese – *in vitro*. Dissertação de Mestrado, **UFC Fortaleza**. 2012.

GUIMARÃES JUNIOR L. Biossegurança e Controle de Infecção Cruzada em Consultórios Odontológicos (ed 1). São Paulo, Brazil, **Santos**. 2001

HAMOUDA IM, AHMED SA. Effect of microwave disinfection on mechanical properties of denture base acrylic resin. **J Mec Behav Biomed Mater.** 2012; 3(7):480-487.

MACHADO AEH. Terapia fotodinâmica: princípios, potencial de aplicação e perspectivas. **Quim Nova.** 2000;23(2):237-243.

MENNEL S, BARBAZETTO I, MEYER CH, PETER S, STUR M. Ocular photodynamic therapy-standard applications and new indications (part 1). Review of the literature and personal experience. **Ophthalmologica.** 2007;221:216–226.

MILLER CH. Infection Control. **Dent Clin North Am.** 1996;40:437-56.

MIMA EGO, PAVARINA AC, SILVA MM, RIBEIRO DG, VERGANI CE, KURACHI C, BAGNATO VS. Denture stomatitis treated with photodynamic therapy – Five cases. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2011;112:602-608.

MIYABE M, JUNQUEIRA JC, COSTA ACBP, JORGE AOC, RIBEIRO MS, FEIST IS. Effect of photodynamic therapy on clinical isolates of *Staphylococcus* spp. **Braz Oral Res.** 2011;25(3): 230-234.

NIKAWA H, HAMADA T, YAMAMOTO T. Denture plaque-past and recent concerns. **J Dent.** 1998;26:299–304.

OLIVEIRA RR, SCHWARTZ-FILHO HO, NOVAES AB JR, TABA M JR. Antimicrobial photodynamic therapy in the non-surgical treatment of aggressive periodontitis: a preliminary randomized controlled clinical study. **J Periodontol.** 2007;78(6):965-973.

PARANHOS HFO, SILVA-LOVATO CH, SOUZA RF, CRUZ PC, FREITAS-PONTES KM, WATANABE E, ITO IY. Effect of three methods for cleaning dentures on biofilms formed in vitro on acrylic resin. **J Prosthodont.** 2009;18:427-431.

PARKER S. Photodynamic antimicrobial chemotherapy in dental practice. **Dental Nursing.** 2011;7(7):380-385.

PAVARINA AC, PIZZOLITTO AC, MACHADO AL. An infection control protocol: effectiveness of immersion solutions to reduce the microbial growth on dental prostheses. **J Oral Rehabil.** 2003;30:532-536.

PERUSSI JR. Inativação fotodinâmica de microrganismos. **Quim Nova.** 2007;30(4): 988-994.

POWELL GL, RUNNELLS RD, SAXON BA, WHISENANT BK. The presence and identification of organisms transmitted to dental laboratories. **J Prosthet Dent.** 1990; 64:235–237.

QIN YL, LUAN XL, BI LJ, SHENG YQ, ZHOU CN, ZHANG ZG. Comparison of toluidine blue-mediated photodynamic therapy and conventional scaling treatment for periodontitis in rats. **J Periodontal Res.** 2008;43(2):162-167.

RIBEIRO DG, PAVARINA AC, DOVIGO LN, SPOLIDORIO DM, GIAMPAOLO ET, VERGANI CE. Denture disinfection by microwave irradiation: a randomized clinical study. **J Dent.** 2009;37:666–672.

SEO RS, VERGANI CE, PAVARINA AC, COMPAGNONI MA, MACHADO AL. Influence of microwave disinfection on the dimensional stability of intact and relined acrylic resin denture bases. **J Prosthet Dent.** 2007; 98(3):216-223.

SHEN C, JAVID NS, COLAIZZI FA. The effect of glutaraldehyde base disinfectants on denture base resins. **J Prosthet Dent.** 1989;61:583–589.

SIBATA H, COLUSSI VC, OLEINICK NL, KINSELLA TJ. Photodynamic therapy: a new concept in medical treatment. **Braz J Med Biol Res.** 2000;33(8):869-880.

SILVA FC, ROSA LP, KOGA-ITO CY, et al. Desinfecção de placas acrílicas ortodônticas com hipoclorito de sódio e glutaraldeído: estudo in vitro. **Rev Odontol UNICID**. 2004;16:35-40

SILVA-LOVATO CH, PARANHOS HFO, ITO IY. Evidenciadores de biofilme em prótese total: avaliação clínica e antimicrobiana. **Pesqui Odontol Bras**. 2002;16(3):270-275.

TARDIVO JP, DEL GIGLIO A, PASCHOAL LH, BAPTISTA MS. New photodynamic therapy protocol to treat AIDS-related Kaposi's sarcoma. **Photomed Laser Surg**. 2006;24(4):528-531.

TEICHERT MC, JONES JW, USACHEVA MN, BIEL MA. Treatment of oral candidiasis with methylene blue-mediated photodynamic therapy in an immunodeficient murine model. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**. 2002; 93(2):155-160.

VILLAS BOAS M, QUIRINO MRS. Controle de infecção cruzada: laboratório de prótese versus consultório odontológico. **Rev. biociênc., Taubaté**. 2002;8(1):103-108.

WAINWRIGHT M. Photodynamic antimicrobial chemotherapy. **J Antimicrobial Chemother**. 1998. 42: 13-28.

WILSON M, DOBSON J. Lethal photosensitization of oral anaerobic bacteria. **Clin Infect Dis**. 1993;16(4):414-415.

WOOD S, METCALF D, DEVINE D, ROBINSON C. Erythrosine is a potential photosensitizer for the photodynamic therapy of oral plaque biofilms. **J Antimicrob Chemother**. 2006;57(4):680-684.

WOODBURN KW, FAN Q, KESSEL, D.; WRIGHT M, MODY TD, HEMMI G, MAGDA D, SESSLER JL, DOW WC, MILLER RA, YOUNG SW. Phototherapy of cancer and atheromatous plaque with texaphyrins. **J Clin Laser Med Surg**. 1996; 14(5):343-348.

YAMADA JR AM, HAYEK RRA, RIBEIRO MS. O emprego da terapia fotodinâmica na redução bacteriana em periodontia e implantodontia. **RGO**. 2004; 52(3):207-210.

YASSUDA YY. Avaliação da adesão às normas de biossegurança com ênfase aos riscos biológicos pelos técnicos de prótese dentária no Município de São Paulo. Dissertação. **PPG-CCD da Secretaria de Estado da Saúde - São Paulo**. 2007.

ZARB GA, MACKAY HF. The partially edentulous patient. I. The biologic price of prosthodontic intervention. **Aust Dent J**. 1980;25:63-68.

**ANEXO 1**

TABELA 01. Identificação dos microorganismos através do meio de cultura Chromagar Orientation® (PROBAC, Brasil).

<b>Cor Típica da Colônia</b>	<b>Microorganismo pré-identificado</b>
Vermelho *	<i>Escherichia coli</i>
Azul Turquesa	<i>Enterococcus spp</i>
Azul Metálico	<i>Klebsiella ssp, Enterobacter spp,</i> <i>Citrobacter spp</i>
Halo marrom *	<i>Proteus spp</i>
Creme, translúcida	<i>Pseudomonas spp</i>
Dourada, opaca, pequena	<i>Staphylococcus aureus</i>
Rosa opaca, pequena	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>

\*A sensibilidade para *E. coli* é 99,3%. O meio permite os testes de indol para confirmação da *E. coli* e da fenilalanina ( com Cloreto Férrico) para confirmação de *Proteus ssp*. A identificação definitiva requer testes adicionais.

## APENDICE A

TABELA 2. Avaliação do crescimento microbiano específico, no CHROMagar Orientation®, de acordo com as terapias utilizadas, no laboratório 01.

	EO	P-L-	P+L-	P-L+	P+L+
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-
<i>Enterococcus spp</i>	-	+	+	+	-
<i>Proteus</i>	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas spp</i>	-	+	+	+	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	+	+	-
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella</i>	-	+	-	-	-
<i>Citrobacter</i>	-	-	-	-	-

TABELA 3. Avaliação do crescimento microbiano específico, no CHROMagar Orientation®, de acordo com as terapias utilizadas, no laboratório 02.

	EO	P-L-	P+L-	P-L+	P+L+
<i>Escherichia coli</i>	-	+	+	-	-
<i>Enterococcus spp</i>	-	+	+	-	-
<i>Proteus</i>	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas spp</i>	-	+	+	+	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	-	+	+	+	-
<i>Klebsiella</i>	-	+	-	-	-
<i>Citrobacter</i>	-	-	-	-	-

TABELA 4. Avaliação do crescimento microbiano específico, no CHROMagar Orientation®, de acordo com as terapias utilizadas, no laboratório 03.

	EO	P-L-	P+L-	P-L+	P+L+
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-
<i>Enterococcus spp</i>	-	+	+	+	-
<i>Proteus</i>	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas spp</i>	-	+	+	+	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	+	+	-	-
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	-	+	-	-	-
<i>Klebsiella</i>	-	+	+	-	-
<i>Citrobacter</i>	-	-	-	-	-

TABELA 5. Avaliação do crescimento microbiano específico, no CHROMagar Orientation®, de acordo com as terapias utilizadas, no laboratório 04

	EO	P-L-	P+L-	P-L+	P+L+
<i>Escherichia coli</i>	-	+	+	-	-
<i>Enterococcus spp</i>	-	+	+	+	-
<i>Proteus</i>	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas spp</i>	-	+	+	+	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	+	+	-
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	-	+	+	-	-
<i>Klebsiella</i>	-	+	-	-	-
<i>Citrobacter</i>	-	-	-	-	-



TABELA 6. Avaliação do crescimento microbiano específico, no CHROMagar Orientation®, de acordo com as terapias utilizadas, no laboratório 05.

	EO	P-L-	P+L-	P-L+	P+L+
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-
<i>Enterococcus spp</i>	-	+	+	+	-
<i>Proteus</i>	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas spp</i>	-	+	+	+	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	+	+	+	-
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella</i>	-	-	-	-	-
<i>Citrobacter</i>	-	-	-	-	-

TABELA 7. Avaliação do crescimento microbiano específico, no CHROMagar Orientation®, de acordo com as terapias utilizadas, no laboratório 06.

	EO	P-L-	P+L-	P-L+	P+L+
<i>Escherichia coli</i>	-	+	+	-	-
<i>Enterococcus spp</i>	-	+	+	+	-
<i>Proteus</i>	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas spp</i>	-	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	-	+	+	+	-
<i>Klebsiella</i>	-	-	-	-	-
<i>Citrobacter</i>	-	-	-	-	-

**APENDICE B**

FIGURA 1. Exemplo do crescimento bacteriano quanto ao controle negativo (P-L-) no meio de cultura Ágar Sangue (L1).



FIGURA 2. Exemplo do crescimento bacteriano quanto ao controle negativo (P-L-) no meio de cultura CHROMagar Orientation® (L1).



FIGURA 3. Exemplo do crescimento bacteriano quanto ao Controle negativo (P-L) no meio de cultura CHROMagar Orientation® (L3).



FIGURA 4. Exemplo do crescimento de fungos quanto ao controle negativo (P-L) no meio de cultura Sabouraud Dextrose Ágar – com 7 dias de cultivo. (L3).

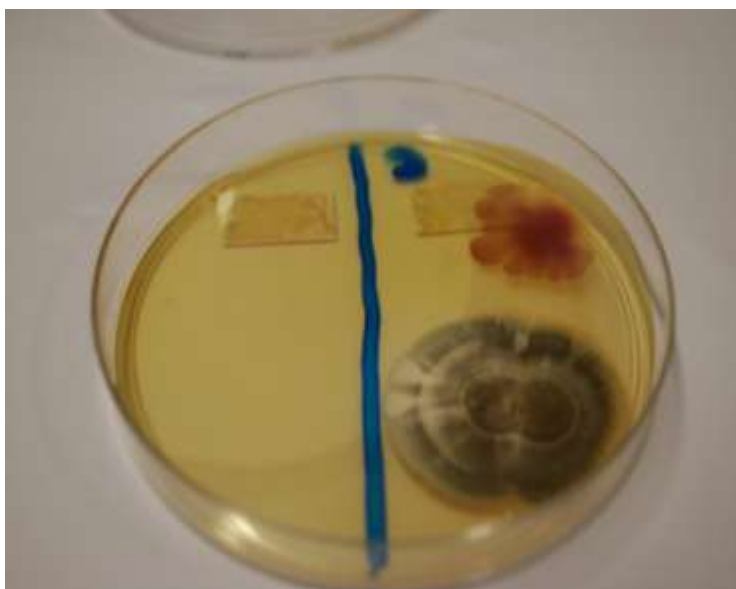


FIGURA 5. Exemplo do crescimento de leveduras quanto ao controle negativo (P-L-) no meio de cultura Sabouraud Dextrose Ágar (L6).

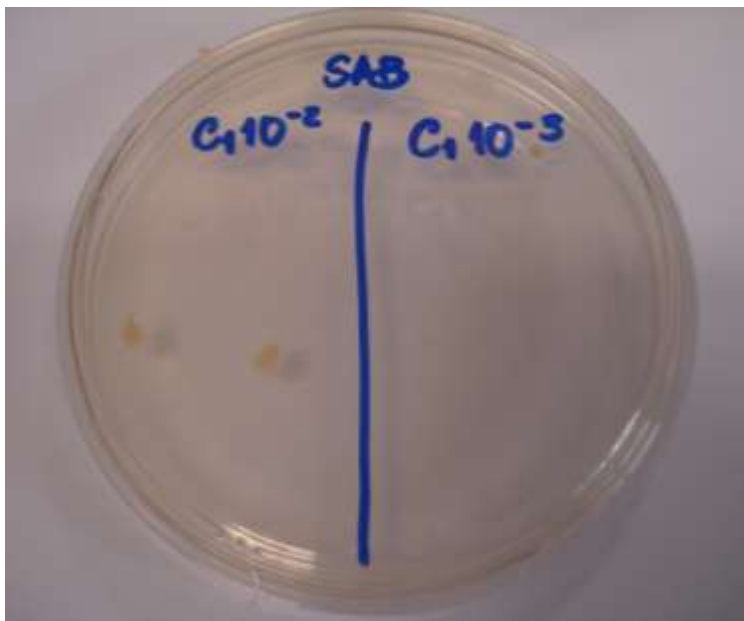


FIGURA 6. Exemplo do crescimento de bactérias viáveis quanto ao controle da eritrosina (P+L-) no meio de cultura Ágar Sangue (L6).



FIGURA 7. Exemplo da ausência de crescimento de fungos e leveduras frente à Terapia Fotodinâmica (P+L+) no meio de cultura Sabouraud Dextrose Ágar (L6).

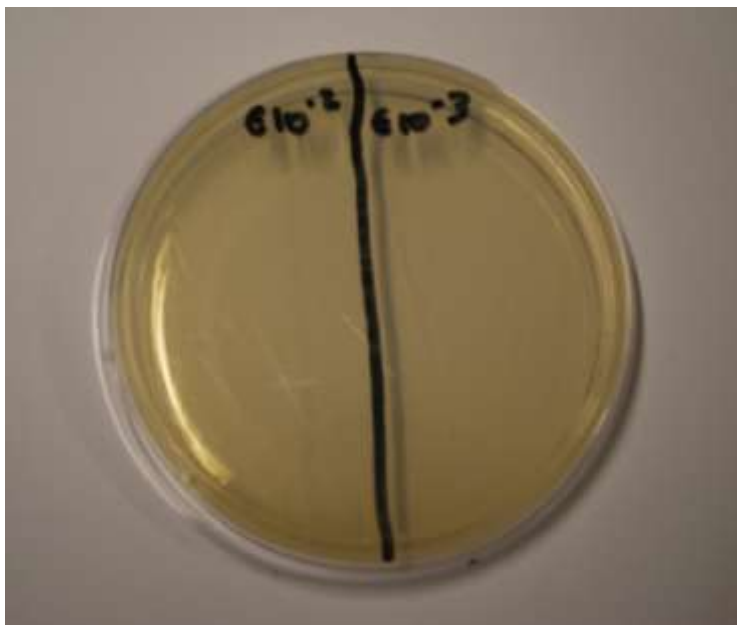


FIGURA 8. Exemplo da ausência de crescimento de bactérias viáveis frente à Terapia Fotodinâmica (P+L+) no meio de cultura Ágar Sangue(L1).



FIGURA 9. Exemplo da Terapia Fotodinâmica (LED) aplicada no espécime de resina acrílica.



FIGURA 10. Exemplo da utilização do fotossensibilizador eritrosina no espécime de resina acrílica.

