

DETECÇÃO DE PCA APÓS A DESINFECÇÃO DE RESINAS ACRÍLICAS COM CLOREXIDINA

JÚLIA GUEDES ALVES¹; MARIANA SILVEIRA ECHEVERRIA²; PEDRO JOSÉ SANCHES FILHO³; GUILHERME BRIÃO CAMACHO⁴; EDUARDO LUIZ BARBIN⁵; RENATO FABRÍCIO DE ANDRADE WALDEMARIN⁶

¹Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas – juliaguedesa@outlook.com

²Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas – mari_echeverria@hotmail.com

³Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul-Rio-Grandense - pjsans@ibest.com.br

⁴Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas – guilhermecamacho@gmail.com

⁵Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas – barbinel@gmail.com

⁶Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas – waldemarin@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A limpeza das próteses é importante para prevenir a formação de biofilme e adesão de *Candida Albicans* nas superfícies da resina acrílica, que é pré-requisito para a ocorrência da estomatite protética (ULUDAMAR et al, 2010; DA SILVA et al, 2011; PELLIZZARO et al, 2012; KULAK et al, 1997; MONTAGNER et al, 2009). Protocolos de limpeza são recomendados e devem ser respeitados, a fim de manter um ambiente bucal livre de doença (SRINIVASAN e GULABANI, 2010)

Os métodos disponíveis para limpeza incluem a escovação mecânica, limpeza química ou uma combinação destes (PAVARINA et al, 2003; FELTON et al, 2011; PELIZZARO et al, 2012; CORTELLI et al, 2014). Caso uma infecção fúngica se instale, a clorexidina (CHX) é considerado um agente eficiente para antissepsia e desinfecção química, sendo amplamente recomendado no mundo todo. As concentrações utilizadas para desinfecção podem ser de 0,12%, 2,0% ou 4,0%. Estudos prévios demonstram que a imersão em CHX 2,0% durante 90 segundos, mostrou que a *Candida Albicans* presente no biofilme foi completamente desativada, mesmo sem realizar a escovação (DALWAI et al, 2014; MATTHES et al, 2015; RODRIGUEZ ACOSTA et al, 2015; AOUN, 2015).

Embora a CHX seja muito utilizada, existe a preocupação com seus produtos de degradação, tendo-se encontrado os seguintes componentes: para-cloroanilina (PCA), orto-cloroanilina, meta-cloroanilina, espécies reativas de hidrogênio e organoclorados (CAMARA DE BEM et al, 2014). Existe preocupação científica pois a PCA pertence ao grupo 2B (possível agente carcinogênico em humanos) da International Agency for Research on Cancer (IARC).

A literatura odontológica tem estudado a formação de PCA no interior dos canais radiculares devido ao uso da CHX como agente auxiliar do preparo biomecânico (BARBIN et al, 2013; KOLOSOWSKI, 2014). Entretanto, não há estudos que avaliem a ocorrência de liberação de PCA a partir de bases protéticas que tenham sido submetidas à desinfecção com clorexidina. O objetivo do presente trabalho é avaliar *in vitro* a presença de PCA na resina acrílica das bases protéticas após protocolos de desinfecção por imersão em CHX a 0,2%, 2% e a 4%.

2. METODOLOGIA

Foram confeccionados 15 discos de resina acrílica de 13x3 mm. Após acrilização, os discos foram demuflados, lixados com lixas de granulação decrescente até a granulação 1200 e mantidos em água destilada por 48 horas a 37°C para eliminação dos monômeros residuais. Foram então divididos em cinco

grupos (n=3) para simulação dos seguintes protocolos de desinfecção das próteses: **G1**: Controle negativo: Imersão em água destilada; **G2**: Imersão por 10 minutos em CHX 0,2% ; **G3**: Imersão por 10 minutos em CHX 2%; **G4**: Imersão por 10 minutos em CHX 4%; **G5**: Controle positivo: Imersão por 10 minutos em CHX 4% seguida por imersão por 10 minutos em NaClO 1%. A CHX foi adquirido da Sigma-Aldrich St. Louis, Missouri, EUA, enquanto o NaClO da Asfer Indústria Química Ltda, São Caetano do Sul, São Paulo, Brasil.

Após as imersões os corpos de prova foram armazenados a 37°C em 10ml de água destilada durante 24 horas.

Em seguida, o líquido onde os corpos de prova foram armazenados foi analisado em Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massa pelos métodos SCAN e SIM (Single Ion Monitoration). Todos os grupos foram estudados em triplicata. Para controle foram utilizados padrões de PCA 99% (purificada por sublimação até pureza $\geq 99\%$ - Sigma-Aldrich St. Louis, Missouri, EUA) nas análises. Os resultados de Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massa (tempo de retenção e relação massa / carga (m/z)) obtidos a partir das soluções-padrão foram comparados com os das soluções de teste a fim de indicar a presença ou ausência de PCA.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tempo de retenção do padrão PCA foi 12,88 segundos. A Espectrometria de Massa do padrão mostrou um pico em 127m/z. Os resultados da verificação no modo SCAN mostraram que, após 24 horas, a solução CHX a 0,2% não apresentou formação de PCA em qualquer uma das amostras. Foi detectada a formação de PCA nos grupos G3 e G4 (uma amostra em cada grupo) evidenciado pela igualdade dos picos em da Cromatografia gasosa e pela espectrometria de massa. Todas as amostras no grupo G5 mostraram a presença de PCA pelos mesmos parâmetros.

O modo SCAN mostrou a PCA apenas em concentrações superiores a 2500 µg/L. Dada a dificuldade em identificar a PCA pelo método SCAN, o método SIM foi realizado para o íon 127 m/z. Estes resultados mostraram a presença de PCA em todas as amostras, exatamente nos mesmos tempos de retenção encontrados para o padrão, e semelhança de 88% na espectrometria de massas.

Na literatura as concentrações para desinfecção vão desde 0,12% a 4,0% e os protocolos variam de imersões únicas de 90 segundos a imersões diárias de 10 minutos ou mais, com ou sem repetições. (PELLIZZARO et al, 2012; PAVARINA et al, 2003; CORTELLI et al, 2014; AOUN, SAADEH e BERBERI, 20015; MIMA et al, 2010; CARVALHO et al, 2012; ALTIERI et al, 2013; PERO et al, 2015; MATOS et al, 2016). Neste estudo optou-se por realizar apenas uma imersão de 10 minutos por ser um protocolo menos agressivo.

De acordo com este estudo, a desinfecção com solução 0,2% apresentou menor formação de PCA em todos espécimes testados. No entanto, é a concentração menos eficaz em estudos microbiológicos no que diz respeito à recorrência de formação de colônias de *Cândida Albicans* (MIMA et al, 2010)

O coeficiente de Pearson mostrou uma relação positiva entre a concentração CHX e a concentração PCA encontrada no armazenamento. Isso significa que o risco de ingestão PCA aumenta à medida que a concentração CHX aumenta. No entanto, a própria concentração é apenas um parâmetro de comparação entre os processos, uma vez que há diferenças nas condições bucais e as do presente trabalho.

4. CONCLUSÕES

Respeitadas as condições deste estudo conclui-se que há formação de PCA na desinfecção com CHX e que, entre as soluções estudadas, a desinfecção com solução CHX 0,2% parece ser a mais segura com relação à formação desta.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALTIERI, K.T et al. Eradication of a mature methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) biofilm from acrylic surfaces. **Brazilian Dental Journal**, v.24, p.487-91, 2013.
- AOUN, G.; SAADEH, M.; BERBERI, A. Effectiveness of Hexetidine 0.1% Compared to Chlorhexidine Digluconate 0.12% in Eliminating *Candida Albicans* Colonizing Dentures: A Randomized Clinical In Vivo Study. **Journal of International Oral Health**, v.7, n.8, p.5-8, 2015.
- BARBIN, L.E. et al. Detection of Para-Chloroaniline, Reactive Oxygen Species, and 1-Chloro-4-Nitrobenzene in High Concentrations of Chlorhexidine and in a Mixture of Chlorhexidine and Calcium Hydroxide. **Journal of Endodontics**, v.39, n.5, p.664–668, 2013
- CARVALHO, C.F. et al. Effect of disinfectant solutions on a denture base acrylic resin. **Acta Odontologica Latinoamericana**. 2012; 25:255-260
- CAMARA DE BEM, S. H.; et al. Determination of chemical components derived from 2% chlorhexidine gel degradation using gas chromatography-mass spectrometry. **Acta Odontologica Scandinavica**, v.72, n.8, p. 630-8, 2014.
- CORTELLI, S. C et al. Mouthrinse recommendation for prosthodontic patients. **Brazilian Oral Research**, v. 28 Spec, 2014.
- DA SILVA, P. M. et al. Microscopical analysis of *Candida albicans* biofilms on heat-polymerised acrylic resin after chlorhexidine gluconate and sodium hypochlorite treatments. **Mycoses**, v. 54, n. 6, p. e712-7, Nov 2011.
- DALWAI S. et al. Comparative evaluation of antifungal action of tea tree oil, chlorhexidine gluconate and fluconazole on heat polymerized acrylic denture base resin - an in vitro study. **Gerodontology**. Dec 2014.
- FELTON, D. et al. Qualitative analysis of precipitate formation on the surface and in the tubules of dentin irrigated with sodium hypochlorite and a final rinse of chlorhexidine or QMiX. **Journal of Endodontics**, v.40, n.12, p.2036-40, 2014.
- KOLOSOWSKI, K.P. et al. Qualitative analysis of precipitate formation on the surface and in the tubules of dentin irrigated with sodium hypochlorite and a final rinse of chlorhexidine or QMiX. **Journal of Endodontics**, v.40, n.12, p.2036-40, 2014.
- KULAK, Y. et al. Scanning electron microscopic examination of different cleaners: surface contaminant removal from dentures. **Journal of Oral Rehabilitation**, v. 24, n. 3, p. 209-15, 1997.

MATOS, A.O et al. Effect of Disinfection on the Bond Strength between Denture Teeth and Microwave-Cured Acrylic Resin Denture Base. **Journal of Prosthodontics**, 2016, doi: 10.1111/jopr.12468.

MATTHES, R. et al. In vitro treatment of Candida albicans biofilms on denture base material with volume dielectric barrier discharge plasma (VDBD) compared with common chemical antiseptics. **Clinical Oral Investigations**, v. 19, n.9, p.2319-26, 2015.

MIMA, E.G.O. et al. Effectiveness of chlorhexidine on the disinfection of complete dentures colonised with fluconazole-resistant Candida albicans: in vitro study. **Mycoses**, v.54, p.e506–e512, 2010.

MONTAGNER, H. et al. In vitro antifungal action of different substances over microwaved-cured acrylic resins. **Journal of Applied Oral Science**, v. 17, n. 5, p. 432-5, 2009.

PAVARINA, A. C. PIZZOLITTO, A.C.; MACHADO, A.L. ; VERGANI, C.E.; GIAMPAOLO, E.T. An infection control protocol: effectiveness of immersion solutions to reduce the microbial growth on dental prostheses. **Journal of Oral Rehabilitation**, v. 30, n. 5, p. 532-6, 2003.

PELLIZZARO, D et al. Effectiveness of mechanical brushing with different denture cleansing agents in reducing in vitro Candida albicans biofilm viability. **Brazilian Dental Journal**, v. 23, n. 5, p. 547-54, 2012.

PERO, A.C. et al. Bond Strength of Artificial Teeth Attached to a Microwave-Polymerized Denture Base Resin after Immersion in Disinfectant Solutions. **Journal of Prosthodontics**, 2015, doi: 10.1111/jopr.12354.

RODRÍGUEZ ACOSTA, E. J et al.; Candida albicans Adherence to Denture Base Material: Chemical Disinfection and the Effect of Acquired Salivary Pellicle Formation. **Journal of Prosthodontics**, v. 24, n. 3, p.200-6, 2015.

SRINIVASAN, M.; GULABANI, M. A microbiological evaluation of the use of denture cleansers in combination with an oral rinse in complete denture patients. **Indian Journal of Dental Research**, v. 21, n. 3, p. 353-6, 2010.

ULUDAMAR, A. et al. In vivo efficacy of alkaline peroxide tablets and mouthwashes on Candida albicans in patients with denture stomatitis. **Journal of Applied Oral Science**, v. 18, n. 3, p. 291-6, 2010.