

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
DOUTORADO EM ODONTOLOGIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO CLÍNICA ODONTOLÓGICA
MATERIAIS DENTÁRIOS**

Produção de água eletrolisada ácida para uso em Odontologia

Ulisses Bastos Campregher

Tese apresentada como requisito obrigatório para a obtenção do título de **Doutor em Odontologia** na área de concentração em Clínica Odontológica.

Susana Maria Werner Samuel

Orientadora

Porto Alegre, 2011

“Non nobis Domine, non nobis sed Nomini Tuo da gloriam”

Psalmus

AGRADECIMENTOS

À minha querida esposa **Melissa** pelo grande carinho e paciência durante todo esse tempo,

Aos meus pais, **Ulysses e Cleusa** pelo exemplo de amor, dedicação e apoio na minha formação. Às minhas irmãs **Raquel e Naila** pela amizade sempre presente. Ao meu cunhado **Júnior** pelo apoio tão importante quando iniciei meus estudos em Porto Alegre,

À querida **Profa. Dra. Susana Maria Werner Samuel**, pela grande amizade, pela seriedade e dedicação na minha orientação, por ter me ensinado a trilhar os caminhos da ciência e a gostar tanto de pesquisa, pelo incentivo e pela confiança. Sou realmente muito grato por tudo que você já fez por mim,

À **Profa. Dra. Carmen Beatriz Borges Fortes** pela sincera amizade e por ter me dado a primeira oportunidade de me envolver com pesquisa ainda no início da minha graduação,

Aos chegados amigos, doutorando **Vicente Castelo Branco Leitune** e **Prof. Dr. Fabrício Mezzomo Collares** pelo enorme apoio em todas as fases desse trabalho, pelo bom humor e pela constante disposição em ajudar,

À **Profa. Dra. Lina Naomi Hashizume** pela ajuda na realização dos ensaios microbiológicos,

Ao colega do laboratório de Materiais Dentários (LAMAD) **Diether Felix Marmitt** pela grande ajuda na realização dos ensaios mecânicos,

À **Profa. Dra. Andrea Moura Bernardes** por contribuir no desenvolvimento do equipamento para produção da AEA no Laboratório de Engenharia de Materiais,

Ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, na pessoa do coordenador, professor Manoel Sant'Ana Filho.

RESUMO

O objetivo desse trabalho foi desenvolver um aparelho experimental de baixo custo para produção de água eletrolisada ácida (AEA) e verificar sua eficácia na desinfecção de resina acrílica termo polimerizável (RA). Além disso, verificou-se a influência da AEA nas seguintes propriedades da RA. Sorção, Solubilidade, Resistência Flexural, Microdureza Knoop e Rugosidade Superficial. A AEA foi produzida através do processo de eletrólise de uma solução de NaCl a 5% numa célula eletrolítica de dois compartimentos separados por uma membrana semipermeável. Foram utilizados eletrodos de grafite e a diferença de potencial aplicada entre eles foi de 30 V, gerada por um alimentador com capacidade máxima de corrente de 2 A. Após 20 minutos de eletrólise a solução anódica (AEA) apresentou os seguintes parâmetros: pH 3,0 e potencial de óxi-redução de 1150 mV. O tempo de imersão na solução para o ensaios de desinfecção bem como os de propriedades características da RA foi de 10 minutos. A AEA foi eficaz na desinfecção da RA pois os corpos desinfectados não provocaram a turvação dos meios de cultura. A imersão em AEA aumentou estatisticamente ($p < 0,05$) a sorção e a solubilidade da resina acrílica, porém os valores permaneceram dentro dos parâmetros estabelecidos pela ISO 1567. As demais propriedades da resina ficaram inalteradas ($p > 0,05$).

Palavras-chave: Água eletrolisada; desinfecção; resina acrílica

ABSTRACT

The aim of this research was to develop a low cost experimental apparatus able to produce Electrolyzed Acidic Water (EAW) and verify its efficacy for disinfection of a denture base acrylic resin (AR). It was also verified the influence of EAW on the following properties of AR: Sorption, Solubility, Flexural Strength, Knoop Hardness and Superficial Rugosity. EAW was produced through an electrolysis process of an aqueous NaCl solution (5%) in an electrolytic two chambers cell with a separation membrane between the chambers. Graphite electrodes were used and the potential difference between them was 30 V, provided by a power supply with maximum amperage capacity of 2 A. 20 minutes after the beginning of the electrolysis process the anodic solution (EAW) showed the following parameters: pH 3.0 and oxidation-reduction potential (ORP) of 1150 mV. The immersion time in the solution for the disinfection test and also for the evaluation of AR properties was 10 min. EAW was able to disinfect AR as the infected specimens did not cause turbidity of the culture medium. Immersion in EAW increased the sorption and decreased the solubility of the AR in a statistically significant way ($p < 0.05$) but it was within the range required by ISO 1567. All the other AR properties suffered no changes ($p < 0.05$)

Key words: Electrolyzed water; Disinfection; Acrylic resin

SUMÁRIO

1 Antecedentes e Justificativa	08
2 Manuscrito I	17
2.1 Resumo	18
2.2 Introdução	19
2.3 Materiais e Métodos	21
2.4 Resultados	24
2.5 Discussão	25
2.6 Conclusão	28
2.7 Referências	29
3 Manuscrito II	34
3.1 Resumo	35
3.2 Introdução	36
3.3 Materiais e Métodos	37
3.4 Resultados	42
3.5 Discussão	43
3.6 Conclusão	47
3.7 Referências	48
4 Considerações Finais	52
5 Referências	54

ANTECEDENTES E JUSTIFICATIVA

A estomatite protética (EP) ou candidíase atrófica crônica é a forma mais comum de candidíase oral e apresenta uma alta prevalência entre os portadores de próteses totais (Sullivan *et al.*, 2004). Apesar de ser uma doença multifatorial, um de seus principais fatores etiológicos é a colonização da superfície interna da prótese por *Candida Albicans*. A prótese contaminada serve como reservatório da *Candida* e passa a atuar como agente de manutenção, progressão e reincidência da doença.

Higiene oral deficitária e infecções por *Candida* são muito comuns entre idosos portadores de prótese total. Estudos têm mostrado que mesmo quando a terapia antifúngica é adotada, em muitos casos, a reinfecção ocorre pouco tempo após o fim do tratamento. Portanto, o tratamento da EP deve, obrigatoriamente, envolver uma cuidadosa desinfecção das peças protéticas (Blomgren *et al.*, 1998; Webb *et al.*, 1998; Banting *et al.*, 2001; Koray *et al.*, 2005).

A natureza porosa da base protética feita de resina acrílica impede que a limpeza mecânica isolada seja eficaz no controle de infecção da prótese. Além disso, pacientes idosos, muitas vezes apresentam limitações motoras que dificultam a realização de simples procedimentos de higiene oral. Apesar da grande variedade de métodos disponíveis de desinfecção, aquela por imersão em soluções químicas continua sendo a mais amplamente utilizada para limpeza e descontaminação de próteses totais (Abelson, 1985; Crawford *et al.*, 1986; Shen *et al.*, 1989; Asad *et al.*, 1993).

Um desinfetante ideal deveria apresentar atividade antimicrobiana de amplo espectro, ser capaz de agir rapidamente mesmo em presença de matéria orgânica, não ser tóxico nem irritante. Além disso, deveria ser de fácil preparo e uso, estável, compatível com os materiais a serem desinfetados, sem odor desagradável e sem riscos de contaminação do meio ambiente. Os produtos comumente utilizados na desinfecção química são o glutaraldeído, hipoclorito de sódio, clorexidina, iodofórmio, soluções enzimáticas e álcool entre outros, sendo os principais o glutaraldeído e o hipoclorito. Apesar de eficazes na ação antimicrobiana, essas soluções requerem prolongado tempo de imersão, e apresentam diversas limitações quanto à toxicidade, alteração das propriedades da base protética, odor e cheiro desagradáveis e contaminação do meio ambiente.

Os aldeídos são tóxicos e causam irritações na pele, olhos e trato respiratório. Além disso, o glutaraldeído é apenas levemente eficaz contra mycobactérias e esporos (Morita *et al.*). O hipoclorito de sódio é altamente irritante e também citotóxico (Horiba *et al.*, 1999). Nos últimos anos diversos tipos e protocolos de tratamentos têm surgido como possíveis alternativas aos convencionais para desinfecção de próteses totais. Dentre eles estão o ácido peracético, a água ozonada, o gás ozônio e mais recentemente a energia de microondas e a água eletrolisada ácida (AEA).

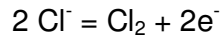
A irradiação das próteses com energia de microondas tem sido apresentada como uma alternativa aos processos convencionais de desinfecção, pois aparenta ser um processo simples, efetivo e barato, porém, parece ser pouco provável que esse processo pode ser utilizado rotineiramente no dia a dia do portador de prótese.

Água eletrolisada ou oxidada são termos comumente usados como nome genérico para uma gama de diferentes soluções salinas eletrolisadas e que apresentam atividade microbocida de amplo espectro. A AEA é um dos tipos de água eletrolisada e também pode receber diferentes nomes como, água eletrolisada acídica, água eletrolítica acídica, água superoxidada, água eletrolisada oxidante, entre outros.

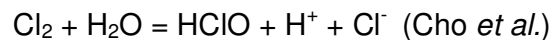
A produção da AEA se dá através de um processo de eletrodecomposição de uma solução eletrolítica (eletrólito) provocada pela circulação de uma corrente elétrica na solução. A circulação da corrente ocorre através da aplicação de uma diferença de potencial entre dois eletrodos imersos na solução, e o fenômeno da decomposição química ocorre na superfície dos eletrodos. O eletrodo que recebe o potencial positivo é chamado de ânodo e o que recebe o potencial negativo de cátodo. Para a produção de AEA os eletrodos e o eletrólito ficam separados entre si por uma membrana semipermeável que permite a passagem apenas de íons positivos de um lado para o outro da membrana. (Fenner *et al.*, 2006).

De um modo geral, o eletrólito mais comumente utilizado na produção da AEA é a solução de cloreto de sódio (NaCl). A composição química e as propriedades físicas da AEA dependem principalmente da concentração de NaCl na solução, da diferença de potencial aplicada, da intensidade da corrente elétrica, e do tempo de eletrólise. (Kiura *et al.*, 2002; Nakajima *et al.*, 2004; Fenner *et al.*, 2006). A água potável é considerada um meio não condutor de corrente elétrica, pois, apesar de sofrer auto-ionização, a quantidade de íons formados é extremamente baixa. Inicialmente, quando o NaCl é dissolvido na água ocorre a dissociação iônica do sal com formação dos íons Na^+ e Cl^- o que torna a solução capaz de conduzir corrente elétrica entre os eletrodos. Com o início da eletrólise, os íons negativos Cl^- migram

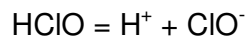
em direção ao pólo positivo (ânodo) e os íons positivos Na^+ são atraídos em direção ao pólo negativo (cátodo). No ânodo, os íons Cl^- sofrem oxidação através da transferência de elétrons para o eletrodo e retornam ao seu estado elementar Cl_0 , que por não ser o estado estável desse elemento, logo se combina com outro Cl_0 formando Cl_2 .



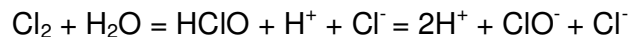
O Cl_2 é uma “molécula” altamente reativa que em contato com a água se hidrolisa rapidamente dando origem a um composto neutro e covalente que é o ácido hipocloroso (HClO) conforme reação a seguir:



Por sua vez, o HClO , por ser instável, se ioniza, formando íons os H^+ e OCl^- (íon hipoclorito) conforme mostrado abaixo:



Sendo a equação geral:



A formação do Cl_2 próximo ao ânodo diminui o pH da água pela liberação de íon H^+ , tornando o meio ácido e o pH do meio passa a exercer papel importante no equilíbrio das reações e concentrações de Cl_2 , HClO e ClO^- . A concentração da mistura não reagida de Cl_2 , HClO e ClO^- forma o chamado cloro livre, cloro reativo ou cloro disponível (CD), sendo esses termos usados para descrever a quantidade de cloro em qualquer forma disponível para reações oxidativas e de desinfecção.

A concentração de cloro disponível de uma solução é normalmente medido em partes por milhão (ppm) e pode ser usado como um dos parâmetro de indicativos da capacidade antimicrobiana da solução. Quanto menor for o pH, mais o equilíbrio das reações estará deslocado para a esquerda, favorecendo a formação de cloro livre nas formas de HClO e Cl₂. Por outro lado, quanto maior for o pH, mais o equilíbrio das reações estará deslocado para a direita, favorecendo a formação de ClO⁻. Em pH próximo a 1 a espécie dominante de cloro disponível é o Cl₂, para valores de pH entre 2 e 6 o cloro disponível é formado quase que totalmente por HClO (OCI⁻ representa menos de 1% do total de CD em pH 5) e apenas ClO⁻ em pH próximo a 10 (Nakagawara *et al.*, 1998). Além da diminuição do pH, a formação de Cl₂, e conseqüentemente de HClO, leva ao aumento do potencial de oxi-redução (ORP) da solução anódica.

O ORP de uma solução é medido em mV, podendo ser negativo ou positivo, e indica o potencial da solução em oxidar (valor positivo) ou reduzir (valor negativo) qualquer elemento presente na solução. O potencial redox de uma solução tem sido cada vez mais adotado como o principal indicador do potencial antimicrobiano de uma solução, pois mostra a “atividade” eletro-química da solução. Quanto maior o valor do ORP da solução maior será sua atividade antimicrobiana através da remoção de elétrons dos microorganismos em contato com a solução.

Apesar de não haver uma definição precisa de valores dos parâmetros que caracterizam a água eletrolisada ácida, os valores aproximados, comumente encontrados na literatura são: pH próximo a 3,0, concentração de cloro disponível na faixa de 10-80 ppm e potencial de oxi-redução superior a 1000 mV. A AEA já tem sido utilizada em aplicações médicas, veterinária, agricultura e processamento de alimentos e sua eficácia antimicrobiana tem sido mostrada contra os diversos

patógenos conhecidos como *Estafilococos aureus* resistente a metacilina, *Campylobacter jejuni* e *Escherichia coli* (Lin *et al.*, 1999; Koseki *et al.*, 2001; Koseki *et al.*, 2002; Sharma *et al.*, 2003; Koseki *et al.*, 2004; Park *et al.*, 2004). Apesar do mecanismo de ação antimicrobiano da AEA ainda não estar totalmente esclarecido, os trabalhos têm mostrado que esse efeito está relacionado à possível combinação de três fatores principais: presença de cloro livre na forma de ácido hipocloroso e $\text{Cl}_{2(\text{aq})}$, baixo pH ($\leq 3,0$) e elevado potencial de óxirredução (> 1000 mV). (Horiba *et al.*, 1999; Len *et al.*, 2000; Park *et al.*, 2004) .

A AEA apresenta um alto poder oxidativo e tem excesso de íon H^+ , Cl_2 e HClO , sendo todos esses potentes fatores de desinfecção (Tsuji *et al.*, 1999). De acordo com Venkitanarayanan e col. (Venkitanarayanan *et al.*, 1999; Fabrizio *et al.*, 2003), a membrana externa dos microorganismos pode ser alterada pelo baixo pH da AEA ou se tornar instável pela exposição aos valores extremamente altos de ORP, o que em última análise, facilita a penetração do agente antimicrobiano. Kim e col. em 2000 (Kim *et al.*, 2000), mostraram através da redução apenas do ORP da AEA sem alteração da concentração de cloro livre e do pH que seu efeito antimicrobiano contra a *E. coli* O157:H7 estava relacionado ao seu ORP. Os resultados mostraram que quanto maior o valor do ORP da água eletrolisada ácida, maior a eficiência de inativação da *E. coli*. (Long *et al.*, 2007). Já Kiura e col. (Kiura *et al.*, 2002) mostraram que o efeito letal da AEA contra os microorganismos é atribuído à oxidação da membrana externa das células e que o grau de destruição estava proporcionalmente correlacionado ao aumento da concentração de cloro disponível na solução (Tsuji *et al.*, 1999).

Uma característica bastante interessante da AEA é que seu efeito antimicrobiano ocorre em concentrações, de cloro livre, muito inferiores às do

hipoclorito de sódio. Em uma solução de AE com pH próximo a 10 o hipoclorito é a forma predominante de cloro disponível (CD). Porém, na mesma concentração, e dependendo dos microorganismos, o HClO é até 80 vezes mais eficaz do que o ClO⁻ (Tsuji *et al.*, 1999).

Em 2007, Udombijitkul e cols. (Udombijitkul *et al.*, 2007) mostraram que a AEA tem atividade antimicrobiana contra *L. monocytogenes* e *E. coli* O157:H7 equivalente a uma solução de hipoclorito de sódio com concentração de CD 4 vezes maior na desinfecção de morangos frescos que são vegetais de difícil desinfecção pela natureza porosa de sua superfície (Tsuji *et al.*, 1999). Shimizu e Sugawara (Shimizu e Sugawara, 1996) mostraram que a mínima concentração microbicida do Cl_{2(aq)} para o Herpes simplex, vírus da pólio e Enterococcus faecalis foi inferior a concentração necessária do HClO. Além de menor eficácia, as soluções mais básicas de AE (CD na forma ClO⁻) deixam cloro residual nas superfícies o que não acontece com as solução mais ácidas de AE, mesmo em concentração de 120 ppm (Guentzel *et al.*, 2008).

Ao contrário do hipoclorito, a AEA é muito mais segura como desinfetante, não produz respostas alérgicas em seres humanos e não oferece riscos de contaminação ambiental quando de seu descarte. No Japão, desde de 2002, a AEA é considerada pelo Ministério da Saúde como sendo aditivo alimentar (Asad *et al.*, 1993). Em 2011, Morita e col. (Morita *et al.*) verificaram os efeitos sistêmicos e gastrointestinais da AEA em ratos que tiveram em sua dieta a substituição da água potável por AEA durante 8 semanas. Os volumes de água potável (controle) e teste (AEA) ingeridos foram semelhantes. Nesse trabalhado, os autores não encontraram nenhuma alteração visual ou histológica em todo o trato gastrointestinal daqueles animais (Morita *et al.*). Nobuo, Masahiko e Kazuhiro mostraram em 2003 que a AEA

pode ser usada com segurança em lavagem de repolhos frescos logo antes do consumo (Nobuo *et al.*, 2003).

Até o presente momento poucos trabalhos investigaram as possíveis aplicações de AEA na Odontologia, além disso, nos trabalhos publicados, as soluções utilizadas foram sempre produzidas a partir de equipamentos comerciais, de custo elevado e não disponíveis no Brasil (Tanaka *et al.*, 1996; Tsuji *et al.*, 1999; Park *et al.*, 2004). Sendo assim, considerando as vantagens da AEA e a potencialidade de aplicação que apresenta para a Odontologia, justifica-se o estudo do seu desenvolvimento, eficácia e efeito sobre os materiais odontológicos.

OBJETIVOS

A proposta dessa investigação foi:

1. Desenvolver um protótipo de equipamento portátil de baixo custo para produção de AEA
2. Avaliar a eficácia microbicida da solução produzida na desinfecção de resina acrílica contaminada com microorganismos orais.
3. Avaliar os efeitos da desinfecção em AEA sobre as propriedades de sorção, solubilidade, resistência à flexão, microdureza e rugosidade e da resina acrílica

MANUSCRITO I

Produção de água eletrolisada ácida em laboratório e sua eficácia microbiocida

Ulisses Bastos Campregher ¹

Vicente Castelo Branco Leitune ¹

Susana Maria Werner Samuel ¹

¹ Laboratório de Materiais Dentários, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Autor para correspondência

Susana Maria Werner Samuel

Laboratório de Materiais Dentários

Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Rua Ramiro Barcelos, 2492/ 4º andar

Tel: +55 51 33085197

samuelsp@adufrgs.ufrgs.br

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia da água eletrolisada ácida (AEA) produzida experimentalmente, como desinfetante de resina acrílica termopolimerizável. A partir do protótipo desenvolvido em laboratório obteve-se a solução com pH = 3,0 e potencial de óxirredução de 1150 mV. Foram utilizados 20 corpos de prova de resina termopolimerizável (5x5x2 mm) divididos em 4 grupos para o ensaio microbiológico de turbidez: G_C – controle negativo, G_{AD} – água destilada, G_{GL}- glutaraldeído 2% e G_{AEA} – AEA. O tempo de imersão dos corpos de prova nas soluções dos respectivos grupos, foi de 10 min. Os resultados mostraram que os corpos de prova dos grupos G_{GL} e G_{AEA} não provocaram a turvação dos meios de cultura, mostrando a eficácia antimicrobiana da solução produzida (AEA). A água eletrolisada ácida parece ser um desinfetante eficaz e de fácil produção para uso em odontologia.

Palavras-chave: Água eletrolisada ácida; desinfecção

INTRODUÇÃO

Biossegurança em Odontologia é um assunto de extrema importância já que o contato com fluidos, substâncias, e objetos contaminados faz parte da rotina diária dos profissionais da área (Cleveland *et al.*, 2003). Procedimentos de desinfecção e/ou esterilização de objetos portanto são essenciais para a prática odontológica segura (Molinari, 2003)^{1ª}. De modo mais particular, a desinfecção de bases protéticas de resina acrílica tem um papel chave tanto no controle de infecção cruzada como no tratamento da candidíase oral (Glass *et al.*, 2004; Arai *et al.*, 2009).

Agentes químicos como o hipoclorito de sódio e o glutaraldeído tem sido amplamente utilizados na desinfecção de peças protéticas (Shen *et al.*, 1989; Dikbas *et al.*, 2006). Apesar de eficazes para a descontaminação, são produtos tóxicos, irritantes para a pele e mucosas, e contaminam o meio ambiente, requerendo assim cuidados especiais tanto na manipulação como no descarte. Além disso, interferem nas propriedades físicas e mecânicas das resinas acrílicas.

Nos últimos anos, novas tecnologias e produtos têm sido apresentados como alternativas aos produtos convencionais, buscando-se principalmente a redução na toxicidade, maior rapidez no tempo de ação, baixo custo e ausência do risco de contaminação ambiental, além é claro do amplo espectro de ação microbicida (Silva *et al.*, 2006). Um produto de destaque é a água eletrolisada ácida (AEA) que, apesar de pouco conhecida na Odontologia, têm sido utilizada com sucesso em processos de desinfecção diversos que vão desde a desinfecção de endoscópios

em hospitais até a redução da contaminação microbiana de frutas e vegetais frescos na indústria de alimentos (Tsuji *et al.*, 1999; Abadias *et al.*, 2008; Guentzel *et al.*, 2008).

A água eletrolisada ácida é uma das variações da água eletrolisada e possui amplo espectro antimicrobiano, ação rápida, não é tóxica e não oferece riscos de contaminação ambiental (Tanaka *et al.*, 1996; Shimmura *et al.*, 2000; Lee *et al.*, 2004) além de poder ser produzida através do processo de eletrólise de uma solução de cloreto de sódio com o uso de uma membrana de separação de íons. Acredita-se que seu potencial antimicrobiano esteja diretamente relacionado a três parâmetros principais: baixo pH ($\leq 3,0$), elevado potencial de oxirredução (ORP) (≥ 1000 mV) e presença de cloro livre nas formas de ácido hipocloroso (HClO) e cloro molecular (Cl_2) (Kim *et al.*, 2000a; b; Len *et al.*, 2000; Koseki *et al.*, 2001; Koseki *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2003; Sharma *et al.*, 2003; Koseki *et al.*, 2004; Park *et al.*, 2004).

A literatura revisada mostra que trabalhos que utilizam a água eletrolisada em suas metodologias utilizam aparelhos comerciais para a produção das soluções, sendo que, além do alto custo, esses aparelhos não estão disponíveis no mercado nacional. Assim, o objetivo desse trabalho foi desenvolver um protótipo de um aparelho de baixo custo para produzir AEA e testar a eficácia da solução produzida na desinfecção de resina acrílica utilizada em bases protéticas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Produção da AEA

Para a produção da AEA foi construída uma célula eletrolítica a partir de dois béqueres de vidro de 250 ml cada, unidos entre si através de um tubo comunicante de vidro com 10 mm de diâmetro e 40 mm de comprimento. No meio do tubo comunicante foi fixada uma membrana sólida de eletrólito, feita a partir de partículas de vidro moído e parcialmente fundido com a função de permitir a passagem de íons Na^+ em direção ao cátodo durante a eletrólise.

Os eletrodos de 2 mm de diâmetro e 180 mm de comprimento foram fixados verticalmente no interior de cada célula (catódica e anódica), próximos ao tubo de vidro comunicante de maneira que a distância total entre os eletrodos fosse de 60 mm. O comprimento da porção submersa de cada eletrodo foi de 80 mm (Figura 1).

A solução salina utilizada foi preparada a partir da dissolução de 20 g de NaCl (F.maia, Cotia, SP) em 400 ml de água destilada, resultando numa solução de concentração 5%. A água destilada foi preparada 1 hora antes do preparo da solução e foi mantida em temperatura ambiente (23 ± 1 °C) até o início do experimento.

Como fonte de energia para eletrólise foi utilizada uma fonte de tensão contínua de 30 V e capacidade de corrente máxima de 2 A. O monitoramento do processo foi feito através de medições de pH e potencial de oxi-redução (ORP)

(Digimed, São Paulo, SP, Brasil) ambos na célula anódica, correspondente ao pólo positivo da fonte de energia.

O processo de eletrólise foi mantido até que fossem alcançados os valores referência de $\text{pH} \leq 3,0$ e $\text{ORP} \geq 1000$ mV ou o limite máximo de tempo, estabelecido em 60 minutos. As leituras de ambos os parâmetro foram feitas em intervalos de 5 minutos. Uma vez alcançados os parâmetros desejados a solução foi utilizada dentro de 30 minutos para o ensaio de desinfecção de resina acrílica.

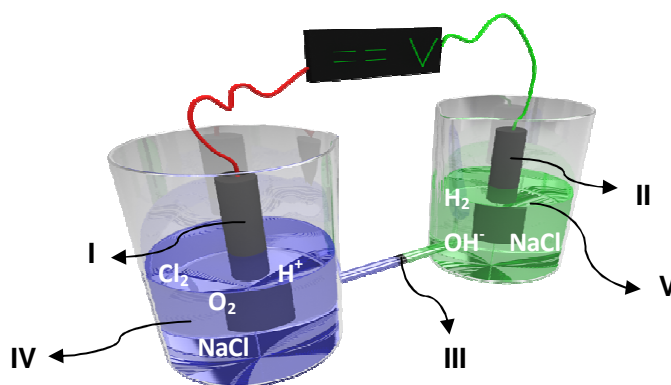


Figura 1 – Protótipo desenvolvido para a produção de AEA composto por: I – Ânodo; II – Cátodo; III – Membrana de troca iônica; IV – Compartimento com solução ácida de NaCl; V – Compartimento com solução alcalina de NaCl.

Ensaio de Desinfecção de Resina Acrílica

Foram confeccionados 20 corpos de prova de resina acrílica polymerizada por energia de microondas (Vipi Wave, VIPI, Pirassununga, São Paulo, Brasil), de dimensões 5x5x2 mm. Tanto a proporção quanto o ciclo de polymerização, utilizados, foram os recomendados pelo fabricante. O acabamento foi realizado com lixas d'água com granulações decrescentes (120, 400, 600 e 1200) e o polimento,

com escovas e discos de feltro utilizando-se pastas de pedra pomes e de óxido de zinco.

Inicialmente, os corpos de prova de resina acrílica foram autoclavados para, em seguida, serem divididos aleatoriamente em quatro grupos (n=5): G_C – controle (sem contaminação), G_{AD} – contaminado e após, imerso em água destilada estéril por 10 minutos, G_{GL} – contaminado e após, imersos em glutaraldeído (2%), por 10 minutos e G_{AEA} – contaminado e após, imerso em AEA, por 10 minutos.

A contaminação dos corpos de prova se deu pela imersão em saliva humana coletada sem estimulação. Os corpos de prova ficaram imersos por 1 minuto em saliva, lavados por 30 segundos em água destilada estéril, com fluxo constante e então imersos por 10 minutos, na solução correspondente a cada grupo. Os corpos de prova do grupo G_C não foram contaminados, nem imersos em qualquer solução, utilizados como controle da esterilidade dos corpos antes dos tratamentos.

Após a contaminação e imersão, cada corpo de prova foi lavado em água destilada estéril por 30 segundos e colocado em um tubo de ensaio com 5 mL de meio de cultura (BHI) estéril e mantido a 37°C, por 24 horas. Passado o período de incubação foi avaliada a turbidez do meio de cultura por um operador treinado.

RESULTADOS

Produção da AEA

A combinação dos valores de $\text{pH} \leq 3,0$ e $\text{ORP} \geq 1000$ mV foi obtida após vários ensaios piloto utilizando-se diversas combinações de concentração da solução, valores de tensão e corrente, e tempo de eletrólise. A combinação que levou aos parâmetros buscados foi a de uma solução salina a 5% que apresentou, logo após a sua preparação, um $\text{pH} = 6,2$ e $\text{ORP} = 434$ mV. Os valores de $\text{pH} = 3,0$ e $\text{ORP} = 1150$ mV, para a solução teste, foram alcançados 20 minutos após o início da eletrólise (Tabela 1), com uma fonte de tensão contínua de 30 V e capacidade de corrente máxima de 2 A.

Tabela 1. Valores de pH e ORP da solução durante o processo de eletrólise.

Tempo (minutos)	pH	ORP (mV)
00	6,20	434,0
05	4,97	990,0
10	3,63	1010,2
15	3,35	1173,2
20	3,00	1191,5

Desinfecção de Resina Acrílica

A análise da turbidez dos meios de cultura dos tubos de ensaio dos diferentes grupos mostrou que 100% dos corpos de prova do grupo G_{AD} , mantidos apenas em água destilada, estavam contaminados, pois levaram à turbidez dos meios de

cultura. Já os corpos de prova do grupo G_C, apenas autoclavados não provocaram turbidez do meio de cultura mostrando que os corpos de prova, bem como o meio de cultura, não estavam contaminados antes dos tratamentos de cada grupo. Também os corpos de prova, tanto do grupo G_{GL} como do G_{AEA}, não provocaram turbidez dos meios de cultura, mostrando que a solução de glutaraldeído (2%) e a AEA experimental, foram eficazes em 100% dos casos na desinfecção dos corpos de prova previamente contaminados.

DISCUSSÃO

O glutaraldeído 2% e o hipoclorito 1% continuam sendo os principais agentes utilizados para a desinfecção de próteses acrílicas (Ribeiro *et al.*, ; Lin *et al.*, 1999). Apesar de eficazes, esses agentes apresentam importantes limitações quanto à toxicidade, alteração de propriedades da resina e contaminação do meio ambiente (Lin *et al.*, 1999; Glass *et al.*, 2004; Paranhos Hde *et al.*, 2009). Uma alternativa ainda pouco conhecida ou explorada na Odontologia ocidental é a água eletrolisada ácida (AEA).

A AEA apresenta excelentes propriedades antimicrobianas, não oferece riscos de intoxicação e pode ser descartada na rede de esgoto sem contaminar o meio ambiente (Morita *et al.*). Além disso, o presente estudo mostrou que a AEA pode ser produzida localmente a partir da eletrodecomposição e separação química de uma solução de cloreto de sódio (NaCl) através do processo de eletrólise.

Apesar de não totalmente esclarecidas, as propriedades microbicidas da AEA estão relacionadas ao baixo pH, elevado potencial de oxi-redução (ORP) e presença de cloro disponível, principalmente na forma do ácido hipocloroso (HClO). O ácido hipocloroso é um potente agente oxidante que se forma rapidamente pela hidrólise do cloro molecular, gerado durante o processo de eletrólise.

Em função da inexistência de equipamentos comerciais para a produção de AEA no Brasil, optou-se pelo desenvolvimento em laboratório de uma célula eletrolítica de baixo custo para produção local da AEA e testar a eficácia da solução na desinfecção de resina acrílica. Os resultados desse trabalho mostraram que a partir da eletrólise de uma solução de cloreto de sódio a 5%, obtida através da célula eletrolítica desenvolvida, foi possível obter em 20 minutos uma solução com características físico-químicas bastante semelhantes às aquelas citadas na literatura para a AEA (Inoue *et al.*, 1997; Shimmura *et al.*, 2000).

A AEA foi produzida experimentalmente controlando-se os parâmetro de pH e potencial de oxi-redução a cada 5 minutos. A partir de 20 minutos a solução de água destilada e cloreto de sódio atingiu os parâmetros mínimos, previamente estabelecidos (pH<3,0 e ORP >1150 mV). Após esse período, o fornecimento de energia para a célula foi suspensa e o pH e o ORP foram medidos a cada minuto durante 60 minutos para verificação da estabilidade da solução. Os dois parâmetros mantiveram-se estáveis durante todo o período. O procedimento de desinfecção foi realizado em até 30 minutos após a produção da AEA para garantir a manutenção dos parâmetros atingidos durante a imersão. Após a remoção dos corpos de prova, os parâmetros foram novamente verificados e em todos os grupos os parâmetros mantiveram-se inalterados.

Diferentemente do hipoclorito ou do glutaraldeído que podem ser usados durante semanas, a AEA deve ser produzida logo antes do uso devido a sua instabilidade química e conseqüente diminuição do poder microbicida com o tempo. Um frasco aberto contendo AEA em temperatura controlada de 25 ± 2 °C, pode perder totalmente o cloro disponível nela contida em aproximadamente 4 dias. Quanto mais baixo for o pH mais instável será a solução em função do deslocamento do equilíbrio químico em direção à decomposição do ácido hipocloroso e à conseqüente liberação de cloro livre (Len *et al.*, 2002). O presente trabalho mostrou que durante pelo menos uma hora a solução produzida manteve-se estável quanto ao pH e ORP, que além de ter sido tempo suficiente para a realização de todo o experimento é um tempo aceitável para um procedimento de desinfecção qualquer. Além disso, considerando-se que a AEA pode ser produzida localmente, sua instabilidade química, que normalmente poderia ser considerada como uma desvantagem, parece ser uma vantagem, pois sua decomposição leva à formação de uma solução salina diluída que não oferece riscos de contaminação ambiental e não requer cuidados especiais de manipulação.

Comparada às principais soluções desinfetantes utilizadas na Odontologia como o glutaraldeído e o hipoclorito, a AEA possui baixo custo de produção, pois além de ser produzida localmente e de não ser tóxica, o único composto químico necessário para sua produção é o NaCl que é um insumo barato e sem restrições quanto ao transporte, manuseio e armazenagem.

A célula eletrolítica montada em laboratório foi construída com materiais de baixo custo e de fácil aquisição. A solução recém produzida apresentou pH = 3,0 e potencial de oxirredução de 1150 mV e sua eficácia foi confirmada através do ensaio de desinfecção de resina acrílica contaminada. A imersão da resina acrílica

durante 10 min na AEA produzida neste experimento foi suficiente para promover a desinfecção de 100% dos corpos de prova. Portanto, foi possível mostrar a viabilidade técnica de se produzir AEA em laboratório e utilizar essa solução para desinfecção de resina acrílica. Devido às vantagens apresentadas em relação a produtos como o Glutaraldeído e Hipoclorito, a AEA já tem sido usada em diversas aplicações médicas, veterinárias e na indústria de alimentos. Para a Odontologia, os resultados deste trabalho mostraram que a AEA também é uma promissora alternativa às soluções convencionais usadas para desinfecção de resina acrílica.

Considerando-se que as limitações das soluções convencionais também se aplicam à outros objetos e materiais de uso corriqueiro na prática clínica diária como moldagens de alginato, modelos de gesso, implantes, etc, o alcance desse trabalho por ser ampliado com novas pesquisas envolvendo a desinfecção de tais objetos em AEA.

CONCLUSÃO

- É possível contruir uma célula eletrolítica de baixo custo e com materiais de fácil aquisição para a produção de AEA com propriedades físico-químicas semelhantes às descritas na literatura para soluções obtidas em equipamentos comerciais.
- A AEA produzida foi eficaz na desinfecção de resina acrílica contaminada através da imersão na solução por 10 min.

REFERÊNCIAS

Abadias, M., J. Usall, *et al.* Efficacy of neutral electrolyzed water (NEW) for reducing microbial contamination on minimally-processed vegetables. **Int J Food Microbiol**, v.123, n.1-2, Mar 31, p.151-8. 2008.

Arai, T., T. Ueda, *et al.* Inhibiting microbial adhesion to denture base acrylic resin by titanium dioxide coating. **J Oral Rehabil**, v.36, n.12, Dec, p.902-8. 2009.

Cleveland, J. L. e D. M. Cardo. Occupational exposures to human immunodeficiency virus, hepatitis B virus, and hepatitis C virus: risk, prevention, and management. **Dent Clin North Am**, v.47, n.4, Oct, p.681-96. 2003.

Dikbas, I., T. Koksal, *et al.* Investigation of the cleanliness of dentures in a university hospital. **Int J Prosthodont**, v.19, n.3, May-Jun, p.294-8. 2006.

Glass, R. T., J. W. Bullard, *et al.* Evaluation of the sanitization effectiveness of a denture-cleaning product on dentures contaminated with known microbial flora. An in vitro study. **Quintessence Int**, v.35, n.3, Mar, p.194-9. 2004.

Guentzel, J. L., K. Liang Lam, *et al.* Reduction of bacteria on spinach, lettuce, and surfaces in food service areas using neutral electrolyzed oxidizing water. **Food Microbiol**, v.25, n.1, Feb, p.36-41. 2008.

Inoue, Y., S. Endo, *et al.* Trial of electrolyzed strong acid aqueous solution lavage in the treatment of peritonitis and intraperitoneal abscess. **Artif Organs**, v.21, n.1, Jan, p.28-31. 1997.

Kim, C., Y. C. Hung, *et al.* Efficacy of electrolyzed oxidizing (EO) and chemically modified water on different types of foodborne pathogens. **Int J Food Microbiol**, v.61, n.2-3, Nov 1, p.199-207. 2000a.

_____. Roles of oxidation-reduction potential in electrolyzed oxidizing and chemically modified water for the inactivation of food-related pathogens. **J Food Prot**, v.63, n.1, Jan, p.19-24. 2000b.

_____. Efficacy of electrolyzed oxidizing water in inactivating Salmonella on alfalfa seeds and sprouts. **J Food Prot**, v.66, n.2, Feb, p.208-14. 2003.

Koseki, S., K. Fujiwara, *et al.* Decontaminative effect of frozen acidic electrolyzed water on lettuce. **J Food Prot**, v.65, n.2, Feb, p.411-4. 2002.

Koseki, S., K. Yoshida, *et al.* Decontamination of lettuce using acidic electrolyzed water. **J Food Prot**, v.64, n.5, May, p.652-8. 2001.

_____. Efficacy of acidic electrolyzed water for microbial decontamination of cucumbers and strawberries. **J Food Prot**, v.67, n.6, Jun, p.1247-51. 2004.

Lee, J. H., P. L. Rhee, *et al.* Efficacy of electrolyzed acid water in reprocessing patient-used flexible upper endoscopes: Comparison with 2% alkaline glutaraldehyde. **J Gastroenterol Hepatol**, v.19, n.8, Aug, p.897-903. 2004.

Len, S. V., Y. C. Hung, *et al.* Effects of storage conditions and pH on chlorine loss in electrolyzed oxidizing (EO) water. **J Agric Food Chem**, v.50, n.1, Jan 2, p.209-12. 2002.

_____. Ultraviolet spectrophotometric characterization and bactericidal properties of electrolyzed oxidizing water as influenced by amperage and pH. **J Food Prot**, v.63, n.11, Nov, p.1534-7. 2000.

Lin, J. J., S. M. Cameron, *et al.* Disinfection of denture base acrylic resin. **J Prosthet Dent**, v.81, n.2, Feb, p.202-6. 1999.

Molinari, J. A. Infection control: its evolution to the current standard precautions. **J Am Dent Assoc**, v.134, n.5, May, p.569-74; quiz 631-2. 2003.

Morita, C., T. Nishida, *et al.* Biological toxicity of acid electrolyzed functional water: Effect of oral administration on mouse digestive tract and changes in body weight. **Arch Oral Biol**, v.56, n.4, Apr, p.359-66.

Paranhos Hde, F., L. R. Davi, *et al.* Comparison of physical and mechanical properties of microwave-polymerized acrylic resin after disinfection in sodium hypochlorite solutions. **Braz Dent J**, v.20, n.4, p.331-5. 2009.

Park, H., Y. C. Hung, *et al.* Effects of chlorine and pH on efficacy of electrolyzed water for inactivating *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*. **Int J Food Microbiol**, v.91, n.1, Feb 15, p.13-8. 2004.

Ribeiro, D. G., A. C. Pavarina, *et al.* Photodynamic inactivation of microorganisms present on complete dentures. A clinical investigation : Photodynamic disinfection of complete dentures. **Lasers Med Sci**, Apr 12.

Sharma, R. R. e A. Demirci. Treatment of *Escherichia coli* O157:H7 inoculated alfalfa seeds and sprouts with electrolyzed oxidizing water. **Int J Food Microbiol**, v.86, n.3, Sep 15, p.231-7. 2003.

Shen, C., N. S. Javid, *et al.* The effect of glutaraldehyde base disinfectants on denture base resins. **J Prosthet Dent**, v.61, n.5, May, p.583-9. 1989.

Shimmura, S., K. Matsumoto, *et al.* Acidic electrolysed water in the disinfection of the ocular surface. **Exp Eye Res**, v.70, n.1, Jan, p.1-6. 2000.

Silva, M. M., C. E. Vergani, *et al.* Effectiveness of microwave irradiation on the disinfection of complete dentures. **Int J Prosthodont**, v.19, n.3, May-Jun, p.288-93. 2006.

Tanaka, H., Y. Hirakata, *et al.* Antimicrobial activity of superoxidized water. **J Hosp Infect**, v.34, n.1, Sep, p.43-9. 1996.

Tsuji, S., S. Kawano, *et al.* Endoscope disinfection using acidic electrolytic water.

Endoscopy, v.31, n.7, Sep, p.528-35. 1999.

MANUSCRITO II

Efeito da desinfecção com água eletrolisada ácida nas propriedades de uma resina acrílica

Ulisses Bastos Campregher ¹

Vicente Castelo Branco Leitune ¹

Susana Maria Werner Samuel ¹

¹ Laboratório de Materiais Dentários, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Autor para correspondência

Susana Maria Werner Samuel

Laboratório de Materiais Dentários

Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Rua Ramiro Barcelos, 2492/ 4º andar

Tel: +55 51 33085197

samuelsp@adufrgs.ufrgs.br

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da imersão em água eletrolisada ácida sobre as propriedades e características de sorção, solubilidade, resistência à flexão, dureza e rugosidade de uma resina acrílica polimerizada em forno de microondas. Foi produzida a água eletrolisada ácida (AEA) e metade dos corpos de prova foram imersos durante 10 minutos. Como controle, metade dos corpos de prova foram imersos por 10 minutos em água destilada. Foram realizados os ensaios de sorção, solubilidade, resistência à flexão, microdureza Knoop e rugosidade superficial. Para comparar os grupos teste e controle foi utilizado o teste t de Student não pareado, para um nível de significância de 5%. A imersão em AEA aumentou a sorção e diminuiu a solubilidade da resina acrílica de maneira estatisticamente significativa ($p < 0,05$), porém os valores permaneceram dentro dos parâmetros estabelecidos pela ISO 1567. As demais propriedades avaliadas permaneceram inalteradas ($p > 0,05$). A AEA parece ser uma solução desinfetante promissora para a desinfecção de resina acrílica de uso odontológico.

Palavras-chave: Água eletrolisada ácida; Desinfecção; Resina acrílica

INTRODUÇÃO

A biossegurança é um tema de crescente importância na Odontologia, uma vez que o contato freqüente com sangue e saliva representa um risco contínuo de contaminação cruzada tanto para os profissionais de saúde como para os pacientes (Cleveland *et al.*, 2003). Um dos vetores de contaminação na prática odontológica são as peças protéticas, como as próteses totais e parciais removíveis já que os microorganismos presentes no meio bucal são capazes de aderir e colonizar a superfície da resina acrílica, levando à formação de um biofilme (Ribeiro *et al.*, ; Powell *et al.*, 1990; Taylor *et al.*, 1998).

Durante os procedimentos de ajuste, reparo e polimento as peças tornam-se potenciais veículos de contaminação cruzada seja em consultórios ou em laboratórios. Portanto, desinfecção de próteses deve ser uma prática constante a ser realizada pelos profissionais de saúde antes e depois da manipulação de tais objetos (Ribeiro *et al.*, ; Powell *et al.*, 1990).

Um desinfetante ideal seria aquele que eliminasse todos os microorganismos presentes em um material, sendo de rápida ação, solúvel em água, atóxico, de uso fácil e econômico, além de não agredir o meio ambiente quando feito o seu descarte. Atualmente, os produtos mais utilizados para desinfecção são as soluções de hipoclorito de sódio 1% e de glutaraldeído 2%, que são conhecidas pela eficácia microbiológica (Shen *et al.*, 1989). Entretanto, são desinfetantes que interferem nas propriedades da resina acrílica, apresentam elevada toxicidade e requerem cuidados especiais no manuseio, uma vez que causam reação com tecidos vivos (Matyas *et al.*, 1990; Takigawa *et al.*, 2006).

Métodos alternativos de desinfecção têm sido estudados para avaliar substâncias que não sejam tóxicas e que não agridam o meio ambiente, tal como a água eletrolisada ácida (AEA), que é uma solução com fortes propriedades oxidantes, com alto poder viricida e microbicida, além de ser um método seguro (Nagamatsu *et al.*, 2001). A AEA é produzida através da eletrólise de uma solução de NaCl e suas principais características físico-químicas são: líquido incolor e transparente, apresenta elevado potencial de oxi-redução (≥ 1000 mV), baixo pH ($\leq 3,0$) e presença de cloro ativo livre na forma de ácido hipocloroso. Além disso, pode ser descartada sem oferecer riscos de contaminação ambiental. Entretanto pouco se sabe sobre a interferência da água eletrolisada ácida nas propriedades e características da resina acrílica.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da imersão em água eletrolisada ácida sobre as propriedades e características de sorção, solubilidade, resistência à flexão, dureza e rugosidade de uma resina acrílica polimerizada em forno de microondas.

MATERIAIS E MÉTODOS

O material utilizado para a confecção dos corpos de prova (CP) foi a resina acrílica incolor polimerizada por energia de microondas (Vipi Wave, VIPI, Pirassununga, São Paulo, Brasil). A especificação nº 1567/99 da International Organization for Standardization (ISO, 1999) foi utilizada para a análise das propriedades de resistência à flexão, sorção e solubilidade, à exceção do número de corpos de prova para sorção e solubilidade cuja amostra foi aumentada. Foram

avaliadas também a microdureza Knoop e a rugosidade superficial.

Produção da Água Eletrolisada Ácida

Para o preparo da água eletrolisada ácida (AEA), foi montada uma célula eletrolítica em laboratório utilizando-se dois recipientes de vidro de 250 ml, conectados entre si por um tubo comunicante de vidro, contendo uma membrana semipermeável feita de vidro moído, localizada no meio do tubo (Figura 01). Em ambos os recipientes foi colocada uma solução aquosa de cloreto de sódio (NaCl) a 5% (200 ml em cada recipiente). Dois eletrodos de grafite foram imersos em cada recipiente e conectados a uma fonte elétrica de tensão contínua de 30 V com capacidade de até 2 A. A fonte permaneceu ligada até que se atingiu o pH de 3,0 e o potencial redox de 1150 mV, em aproximadamente 20 minutos.

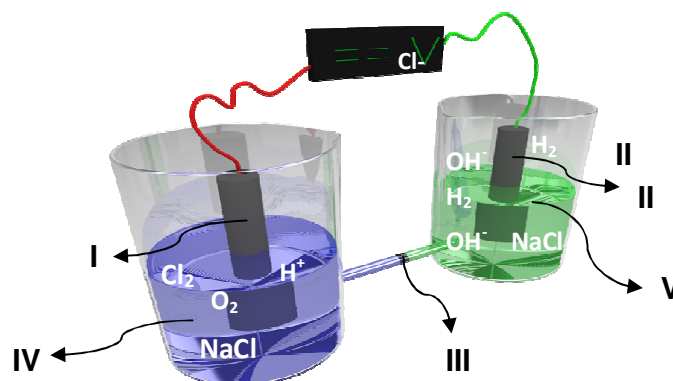


Figura 01 – Protótipo desenvolvido para a produção de AEA composto por: I – Ânodo; II – Cátodo; III – Membrana de troca iônica; IV – Compartimento com solução ácida de NaCl; V – Compartimento com solução alcalina de NaCl.

Tratamento dos Corpos de Prova

Após a produção da AEA, os corpos de prova (CP) do grupo teste foram imersos em frasco contendo 100 mL da solução por 10 min, enquanto os CP do grupo controle foram imersos em 100 mL de água destilada pelo mesmo tempo. A seguir os CP do grupo teste e do controle foram lavados em água corrente por um minuto e secos ao ar antes de serem submetidos aos ensaios propostos.

Sorção e Solubilidade

A confecção dos corpos de prova (CPs) e a realização dos ensaios de sorção e solubilidade foram feitos de acordo com a norma ISO 1567/99, com exceção do número amostral ($n=5$). Os CPs foram aleatoriamente distribuídos, sendo que metade foi imersa em AEA (G_{AEA}) e o restante em água destilada (G_C).

Os valores da sorção e da solubilidade foram calculados através das equações 1 e 2:

$$WS = \frac{(M_2 - M_3)}{V} \quad (1)$$

Onde: WS é a sorção de água, M_2 é a massa do corpo de prova inchado (μg), M_3 é a massa recondicionada do corpo de prova (μg), V é o volume do disco (mm^3).

$$SL = \frac{(M_1 - M_3)}{V} \quad (2)$$

onde: SL é a solubilidade, M1 é a massa antes da imersão em água (μg), M3 é a massa recondicionada (μg), V é o volume do disco (mm^3)

Resistência à Flexão

Para o ensaio de resistência à flexão foram confeccionados corpos de prova segundo a ISO 1567. Metade dos CPs ($n=10$) foi imersa em AEA (G_{AEA}) e o restante em água destilada (G_{C}). O ensaio foi realizado em uma máquina de ensaios mecânicos universal (DL-2000, EMIC, São José dos Pinhais, PR, Brasil), e os valores de resistência à flexão (σ) foram obtidos através da equação 3:

$$\sigma = [(3Fl) / (2bh^2)] / (2bh^2) \quad (3)$$

onde:

σ é a carga máxima aplicada no corpo de prova (Newtons)

l é a distância entre os suportes do corpo de prova (mm)

b é a largura do corpo de prova (mm)

h é a altura do corpo de prova (mm)

Rugosidade Superficial

Para o ensaio de rugosidade superficial, foram confeccionados 10 CP (10x10x3 mm) da mesma maneira como para o ensaio de resistência à flexão, sendo posteriormente incluídos em resina quimicamente ativada de cor rosa. Antes do ensaio de rugosidade os CP foram imersos em água destilada ou AEA conforme

o grupo e em seguida secos, com jato de ar por 5 minutos. Foram realizadas três leituras por CP, em locais distintos dentro de uma área predeterminada e semelhante para todos os CP com um rugosímetro SJ-201 (Mitutoyo, Japão). O valor de rugosidade, utilizando-se o parâmetro Ra, foi a média aritmética destas três leituras.

Dureza Knoop

Para determinar a dureza, foram utilizados os mesmos CP confeccionados para o ensaio de rugosidade superficial. Os valores atribuídos para a microdureza Knoop foram obtidos através da média aritmética de cinco medidas realizadas na superfície de cada um dos corpos de prova, uma no centro e as outras distantes 100µm do centro.

Análise dos resultados

Os resultados obtidos nos ensaios de sorção e solubilidade, resistência à flexão, microdureza Knoop e rugosidade superficial foram submetidos à análise estatística utilizando teste t de Student não pareado para cada ensaio para um nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Os resultados de sorção, solubilidade e resistência à flexão são apresentados na Tabela 1. Os valores de sorção foram significativamente ($p=0,002$) maiores para o grupo que foi imerso em AEA. Os valores de solubilidade do grupo teste foram estatisticamente menores ($p<0,001$) do que do grupo controle. Entretanto, ambos os grupos apresentaram valores tanto de sorção quanto de solubilidade dentro do limite estabelecido pela ISO 1567:1999 ($WS \leq 32 \mu\text{g}/\text{mm}^3$ e $SL \leq 1,6 \mu\text{g}/\text{mm}^3$). Não houve diferença estatisticamente significativa ($p=0,254$) entre os valores de resistência à flexão dos grupos controle e teste e ambos apresentaram valores superiores ao mínimo exigido pela ISO 1567 ($\sigma \geq 65 \text{ MPa}$)

Tabela 1 – Média e desvio padrão dos resultados de sorção (WS), solubilidade (SL) e resistência à flexão (σ) dos grupos controle e teste e os valores de referência da ISO 1567/99:

Grupo	WS ($\mu\text{g}/\text{mm}^3$)	SL ($\mu\text{g}/\text{mm}^3$)	σ (MPa)
G _C	19,83 ($\pm 0,82$) ^B	1,40 ($\pm 0,11$) ^A	104,37 ($\pm 5,43$) ^A
G _{AEA}	22,34 ($\pm 0,87$) ^A	0,43 ($\pm 0,35$) ^B	98,17 ($\pm 9,90$) ^A
ISO 1567	$\leq 32 \mu\text{g}/\text{mm}^3$	$\leq 1,6 \mu\text{g}/\text{mm}^3$	≥ 65

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatisticamente significativa na mesma coluna ($p<0,05$).

Os valores de dureza Knoop e rugosidade superficial são apresentados na Tabela 2. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos controle e teste para dureza Knoop ($p=0,089$) e rugosidade ($p=0,616$).

Tabela 2 – Média, desvio padrão dos resultados dureza Knoop (KHN) e rugosidade superficial (Ra) dos grupos controle e teste:

Grupo	KHN	Ra (μm)
G _C	21,30 ($\pm 0,96$)	0,045 ($\pm 0,022$)
G _{AEA}	22,04 ($\pm 0,84$)	0,038 ($\pm 0,018$)
p	0,089	0,616

DISCUSSÃO

Mesmo sendo o método mais utilizado, a desinfecção química de peças protéticas com soluções convencionais como hipoclorito, glutaraldeído e iodofórmio apresentam diversas limitações e desvantagens como manchamento e descoloração das próteses, irritação dos tecidos orais e requerem cuidados especiais na manipulação e no descarte. O presente estudo avaliou uma solução desinfetante alternativa ainda pouco conhecida na Odontologia chamada de água eletrolisada ácida (AEA).

A AEA é uma solução que contém uma mistura de radicais com fortes

propriedades oxidantes, com alto poder viricida e microbicida, além de ser um método seguro (Tanaka *et al.*, 1996; Shimmura *et al.*, 2000). Neste trabalho, verificou-se que a AEA não influencia as propriedades de resistência à flexão, dureza Knoop e rugosidade superficial da resina acrílica, quando comparadas ao grupo controle (G_C).

A sorção representa a absorção de água para o interior do material, e a adsorção na superfície do mesmo (Lin *et al.*, 1999). Os dois fenômenos estão freqüentemente relacionados e o termo sorção é usado para designar ambos. De acordo com a especificação nº 1567/99 da ISO, de cada quatro corpos de prova testados, três devem ser aprovados nos ensaios de sorção e solubilidade, ou seja, apresentar sorção de no máximo $32 \mu\text{g}/\text{mm}^3$ e a solubilidade de no máximo $1,6 \mu\text{g}/\text{mm}^3$. No presente estudo foram confeccionados cinco corpos de prova para cada grupo. Houve diferença significativa entre os grupos G_C e G_{AEA} , mostrando que a AEA influencia as propriedades de sorção e solubilidade. Entretanto, há estudos que constataram diferença também nos resultados entre grupos controle e teste em sorção e solubilidade quando outros métodos de desinfecção foram avaliados, como a desinfecção por micro-ondas (Banting *et al.*, 2001) e por ácido peracético (Glass *et al.*, 2004), e mesmo havendo uma diferença estatisticamente significativa de sorção e solubilidade, a AEA apresentou valores de acordo com a Especificação nº 1567/99 da ISO.

Na avaliação de resistência à flexão, o corpo de prova recebe uma carga transversal no seu longo eixo, e isso ocasiona uma tensão de compressão na superfície superior da amostra e tensão de tração na camada inferior, onde se inicia a fratura. É uma propriedade de extrema importância da resina acrílica, que diz

respeito à resistência do material diante de situações de fraturas por queda do aparelho ou por fadiga do material durante o uso (Abelson, 1985). Valores compatíveis com os padrões estabelecidos pelas normas garantem uma maior longevidade do aparelho protético. Neste trabalho, os valores encontrados de resistência flexão foram todos superiores a 65 MPa que é o valor mínimo aceitável de acordo com a ISO 1567/99. Assim como quando a utilização de hipoclorito de sódio para desinfecção foi avaliada (Paranhos Hde *et al.*, 2009), não houve diferença significativa entre G_C e G_{AEA} , mostrando que a AEA não altera a resistência à flexão da resina acrílica termo-polimerizada.

O termo dureza relaciona-se à resistência do material à penetração (Neppelenbroek *et al.*, 2005). A dureza de um material é determinada pela realização de testes padronizados que promovem a penetração de uma ponta no interior desse material, a partir de aparelhos chamados durômetros. Neste ensaio, foi utilizada a escala Knoop, na qual o penetrador de diamante apresenta formato piramidal. A microdureza Knoop das resinas acrílicas termopolimerizáveis varia de 16 a 22 (Consani *et al.*, 2009). Os valores encontrados no presente trabalho, 21,30 para o G_C e 22,04 para o G_{AEA} , foram compatíveis com os valores normalmente relatados na literatura. A microdureza entre os corpos de prova dos grupos controle não apresentou diferença estatística significativa, demonstrando assim que a AEA não altera a dureza Knoop da resina acrílica termo-polimerizada.

A resina acrílica deve ser perfeitamente polida antes que seja colocada na cavidade bucal. Uma superfície rugosa facilita a aderência de alimentos, de biofilme dental e de *C. Albicans* (Shay *et al.*, 1997). A Candida é o gênero mais comum de fungo encontrado, apresentando elevada prevalência entre os portadores de

próteses totais e elevada aderência à resina acrílica, conseguindo colonizar com facilidade os defeitos da superfície da resina acrílica (Webb *et al.*, 1998). Sendo assim, o método utilizado para a desinfecção de dispositivos de resina acrílica não devem aumentar a rugosidade superficial do material, pois ao mesmo tempo em que eliminaria os microorganismos durante a desinfecção, facilitaria a recolonização. Os resultados de rugosidade média (Ra) entre os CP dos grupos não tiveram diferença estatística significativa entre eles, que foram de 0,045 μm (G_C) e de 0,038 μm (G_{AEA}). Esses valores estão muito abaixo do limiar máximo que é de 0,2 μm (Bollen *et al.*, 1997), demonstrando assim que a AEA não altera a rugosidade superficial dos CP de resina acrílica termo polimerizada.

A água eletrolisada é caracterizada pelo excelente poder bactericida, baixo custo para produção e de não ser tóxico ao meio ambiente quando feito o descarte (Bollen *et al.*, 1997). A atividade antimicrobiana dessa solução deriva da ação combinada da concentração de íons hidrogênio, elevado potencial de oxirredução e do cloro livre na forma de ácido hipocloroso (Dong *et al.*, 2003). Ela já é utilizada em aplicações médicas, como desinfecção de endoscópios e anti-sepsia das mãos, e é eficaz também na esterilização de impressões de alginato e de modelos de gesso (Nelson, 2000). Entretanto, essa substância desinfetante possui como desvantagem sua baixa estabilidade (Nagamatsu *et al.*, 2002), pois sofre redução importante de sua atividade bactericida após alguns dias se armazenada em recipiente aberto à temperatura ambiente. Ainda assim, diversos desinfetantes já foram testados para desinfecção de dispositivos de resina acrílica, e nenhum apresentou características totalmente satisfatórias para essa finalidade. O hipoclorito de sódio pode provocar a alteração de cor da resina acrílica (Nagamatsu *et al.*, 2002) e com isso antecipar a

necessidade da confecção de uma nova prótese por motivos estéticos. O glutaraldeído é tóxico ao meio ambiente e resíduos que ficam aderidos à peça protética após a desinfecção podem causar danos à mucosa (Takigawa *et al.*, 2006). A AEA, por sua vez, não apresenta toxicidade aos tecidos vivos, além de ser um método seguro, de fácil produção e de fácil descarte no meio ambiente (Len *et al.*, 2002), dessa forma questionando se sua principal desvantagem não seria uma vantagem.

Tendo em vista que o tratamento proposto, a desinfecção com água AEA por dez minutos não interferiu significativamente nas propriedades da resina acrílica pode-se esperar que tal procedimento não deverá interferir no desempenho clínico dos aparatos confeccionados com esse material quando consideradas as propriedades avaliadas, podendo ser um procedimento recomendável.

CONCLUSÕES

Avaliando-se os resultados da resina acrílica polimerizada com energia de microondas, submetidos à imersão com água eletrolisada ácida, pode-se concluir que:

1. A imersão em AEA por 10 min não interfere nas propriedades de dureza, rugosidade e resistência à flexão;
2. A imersão em AEA por 10 min interfere nas propriedades de sorção e solubilidade, mas ainda assim os resultados apresentam valores de acordo com a especificação nº 1567/99 da ISO;

REFERÊNCIAS

Abelson, D. C. Denture plaque and denture cleansers: review of the literature.

Gerodontics, v.1, n.5, Oct, p.202-6. 1985.

Banting, D. W. e S. A. Hill. Microwave disinfection of dentures for the treatment of oral candidiasis. **Spec Care Dentist**, v.21, n.1, p.4-8. 2001.

Bollen, C. M., P. Lambrechts, *et al.* Comparison of surface roughness of oral hard materials to the threshold surface roughness for bacterial plaque retention: a review of the literature. **Dent Mater**, v.13, n.4, Jul, p.258-69. 1997.

Cleveland, J. L. e D. M. Cardo. Occupational exposures to human immunodeficiency virus, hepatitis B virus, and hepatitis C virus: risk, prevention, and management. **Dent Clin North Am**, v.47, n.4, Oct, p.681-96. 2003.

Consani, R. L., D. D. Azevedo, *et al.* Effect of repeated disinfections by microwave energy on the physical and mechanical properties of denture base acrylic resins. **Braz Dent J**, v.20, n.2, p.132-7. 2009.

Dong, H., Y. Nagamatsu, *et al.* Corrosion behavior of dental alloys in various types of electrolyzed water. **Dent Mater J**, v.22, n.4, Dec, p.482-93. 2003.

Glass, R. T., J. W. Bullard, *et al.* Evaluation of the sanitization effectiveness of a

denture-cleaning product on dentures contaminated with known microbial flora. An in vitro study. **Quintessence Int**, v.35, n.3, Mar, p.194-9. 2004.

ISO 1567. Dentistry: Denture base polymers. 1999.

Len, S. V., Y. C. Hung, *et al.* Effects of storage conditions and pH on chlorine loss in electrolyzed oxidizing (EO) water. **J Agric Food Chem**, v.50, n.1, Jan 2, p.209-12. 2002.

Lin, J. J., S. M. Cameron, *et al.* Disinfection of denture base acrylic resin. **J Prosthet Dent**, v.81, n.2, Feb, p.202-6. 1999.

Matyas, J., N. Dao, *et al.* Effects of disinfectants on dimensional accuracy of impression materials. **J Prosthet Dent**, v.64, n.1, Jul, p.25-31. 1990.

Nagamatsu, Y., K. K. Chen, *et al.* Durability of bactericidal activity in electrolyzed neutral water by storage. **Dent Mater J**, v.21, n.2, Jun, p.93-104. 2002.

Nagamatsu, Y., K. Tajima, *et al.* Application of electrolyzed acid water to sterilization of denture base part 1. Examination of sterilization effects on resin plate. **Dent Mater J**, v.20, n.2, Jun, p.148-55. 2001.

Nelson, D. Newer technologies for endoscope disinfection: electrolyzed acid water and disposable-component endoscope systems. **Gastrointest Endosc Clin N Am**,

v.10, n.2, Apr, p.319-28. 2000.

Neppelenbroek, K. H., A. C. Pavarina, *et al.* Hardness of heat-polymerized acrylic resins after disinfection and long-term water immersion. **J Prosthet Dent**, v.93, n.2, Feb, p.171-6. 2005.

Paranhos Hde, F., L. R. Davi, *et al.* Comparison of physical and mechanical properties of microwave-polymerized acrylic resin after disinfection in sodium hypochlorite solutions. **Braz Dent J**, v.20, n.4, p.331-5. 2009.

Powell, G. L., R. D. Runnells, *et al.* The presence and identification of organisms transmitted to dental laboratories. **J Prosthet Dent**, v.64, n.2, Aug, p.235-7. 1990.

Ribeiro, D. G., A. C. Pavarina, *et al.* Photodynamic inactivation of microorganisms present on complete dentures. A clinical investigation : Photodynamic disinfection of complete dentures. **Lasers Med Sci**, Apr 12.

Shay, K., M. R. Truhlar, *et al.* Oropharyngeal candidosis in the older patient. **J Am Geriatr Soc**, v.45, n.7, Jul, p.863-70. 1997.

Shen, C., N. S. Javid, *et al.* The effect of glutaraldehyde base disinfectants on denture base resins. **J Prosthet Dent**, v.61, n.5, May, p.583-9. 1989.

Shimmura, S., K. Matsumoto, *et al.* Acidic electrolysed water in the disinfection of the

ocular surface. **Exp Eye Res**, v.70, n.1, Jan, p.1-6. 2000.

Takigawa, T. e Y. Endo. Effects of glutaraldehyde exposure on human health. **J Occup Health**, v.48, n.2, Mar, p.75-87. 2006.

Tanaka, H., Y. Hirakata, *et al.* Antimicrobial activity of superoxidized water. **J Hosp Infect**, v.34, n.1, Sep, p.43-9. 1996.

Taylor, R., C. Maryan, *et al.* Retention of oral microorganisms on cobalt-chromium alloy and dental acrylic resin with different surface finishes. **J Prosthet Dent**, v.80, n.5, Nov, p.592-7. 1998.

Webb, B. C., C. J. Thomas, *et al.* Candida-associated denture stomatitis. Aetiology and management: a review. Part 1. Factors influencing distribution of Candida species in the oral cavity. **Aust Dent J**, v.43, n.1, Feb, p.45-50. 1998.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente estudo conseguiu-se o desenvolvimento de um equipamento para a produção da Água Eletrolisada Ácida (AEA) com parâmetros físico-químicos semelhantes aos citados na literatura e que se mostrou eficaz na desinfecção de resinas acrílicas. Em diversos estudos a água eletrolisada tem sido usada com sucesso na desinfecção de equipamentos médico-hospitalares (Tsuji *et al.*, 1999, Sakurai *et al.*, 2004), alimentos (Len *et al.*, 2000) e materiais de uso odontológico (Dong *et al.*, 2003). Entretanto, nesses estudos foram utilizados equipamentos comerciais para a produção da AEA. Esses equipamentos são caros e, com exceção de alguns modelos de grande porte usados para desinfecção de endoscópios, não estão disponíveis no Brasil, dificultando o acesso do clínico a essa promissora tecnologia.

O glutaraldeído e o hipoclorito ainda são amplamente utilizados no Brasil. Apesar de eficazes, apresentam diversas limitações quanto à toxicidade, odor forte, alteração das propriedades dos materiais, longo tempo de contato necessário, formação de sub-produtos tóxicos, necessidade de cuidados especiais na manipulação e contaminação do meio ambiente. (Jagger *et al.*, 1995, Rueggeberg *et al.*, 1992).

Os efeitos nocivos desses desinfetantes para o paciente e a equipe de saúde tornam a busca por soluções desinfetantes alternativas uma necessidade. Os resultados do presente estudo indicam que a AEA pode ser uma alternativa. A AEA pode ser facilmente produzida no próprio local de aplicação pelo método da eletrólise, não requer cuidados especiais para manipulação e não apresenta

restrições para o seu descarte. A matéria prima utilizada (NaCl) para a produção da solução é de baixo custo e fácil aquisição.

A AEA deve ainda ser testada em outros materiais que necessitam de desinfecção durante a prática clínica, como o alginato, os elastômeros, resinas compostas de uso indireto, metais e cerâmicas.

Os diversos produtos resultantes do processo de eletrólise de uma solução de NaCl são formados por reações químicas reversíveis cujos equilíbrios são dependentes de fatores como pH, temperatura, concentração de reagentes, contato com o ar, entre outros. A AEA, formada no lado do ânodo da célula eletrolítica, parece manter suas propriedades durante algumas horas o que além de ser tempo suficiente para os processos de desinfecção, também possibilita seu descarte sem oferecer riscos para o meio ambiente. A estabilidade da solução produzida em um equipamento comercial foi avaliada e concluiu-se que após 4 horas a AEA voltou a ser água e cloreto de sódio (Fabrizio *et al.*, 2003). No presente estudo essa estabilidade foi avaliada durante uma hora e a AEA mostrou-se estável durante esse período, possibilitando o seu uso, com a garantia de que estaria com todos os parâmetros mantidos durante o processo de desinfecção.

O equipamento desenvolvido para produção da AEA pode ser utilizado em consultórios particulares, laboratórios de prótese, postos de saúde, asilos, entre outros. O baixo custo e a fácil operação viabilizam o emprego dessa tecnologia em diversos ambientes. Sendo assim, a partir do presente estudo pode-se concluir que essa é uma tecnologia acessível e promissora para o uso em Odontologia.

REFERÊNCIAS

Abadias, M., J. Usall, *et al.* Efficacy of neutral electrolyzed water (NEW) for reducing microbial contamination on minimally-processed vegetables. **Int J Food Microbiol**, v.123, n.1-2, Mar 31, p.151-8. 2008.

Abelson, D. C. Denture plaque and denture cleansers: review of the literature. **Gerodontology**, v.1, n.5, Oct, p.202-6. 1985.

Arai, T., T. Ueda, *et al.* Inhibiting microbial adhesion to denture base acrylic resin by titanium dioxide coating. **J Oral Rehabil**, v.36, n.12, Dec, p.902-8. 2009.

Asad, T., A. C. Watkinson, *et al.* The effects of various disinfectant solutions on the surface hardness of an acrylic resin denture base material. **Int J Prosthodont**, v.6, n.1, Jan-Feb, p.9-12. 1993.

Banting, D. W. e S. A. Hill. Microwave disinfection of dentures for the treatment of oral candidiasis. **Spec Care Dentist**, v.21, n.1, p.4-8. 2001.

Blomgren, J., U. Berggren, *et al.* Fluconazole versus nystatin in the treatment of oral candidosis. **Acta Odontol Scand**, v.56, n.4, Aug, p.202-5. 1998.

Bollen, C. M., P. Lambrechts, *et al.* Comparison of surface roughness of oral hard materials to the threshold surface roughness for bacterial plaque retention: a review of the literature. **Dent Mater**, v.13, n.4, Jul, p.258-69. 1997.

Cho, J. H., J. E. Lee, *et al.* Effects of electric voltage and sodium chloride level on electrolysis of swine wastewater. **J Hazard Mater**, v.180, n.1-3, Aug 15, p.535-41.

Cleveland, J. L. e D. M. Cardo. Occupational exposures to human immunodeficiency virus, hepatitis B virus, and hepatitis C virus: risk, prevention, and management. **Dent Clin North Am**, v.47, n.4, Oct, p.681-96. 2003.

Consani, R. L., D. D. Azevedo, *et al.* Effect of repeated disinfections by microwave energy on the physical and mechanical properties of denture base acrylic resins. **Braz Dent J**, v.20, n.2, p.132-7. 2009.

Crawford, C. A., C. H. Lloyd, *et al.* Denture bleaching: a laboratory simulation of patients' cleaning procedures. **J Dent**, v.14, n.6, Dec, p.258-61. 1986.

Dikbas, I., T. Koksall, *et al.* Investigation of the cleanliness of dentures in a university hospital. **Int J Prosthodont**, v.19, n.3, May-Jun, p.294-8. 2006.

Dong, H., Y. Nagamatsu, *et al.* Corrosion behavior of dental alloys in various types of electrolyzed water. **Dent Mater J**, v.22, n.4, Dec, p.482-93. 2003.

Fabrizio, K. A. e C. N. Cutter. Stability of electrolyzed oxidizing water and its efficacy against cell suspensions of *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes*. **J Food Prot**, v.66, n.8, Aug, p.1379-84. 2003.

Fenner, D. C., B. Burge, *et al.* The anti-microbial activity of electrolysed oxidizing water against microorganisms relevant in veterinary medicine. **J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health**, v.53, n.3, Apr, p.133-7. 2006.

Glass, R. T., J. W. Bullard, *et al.* Evaluation of the sanitization effectiveness of a denture-cleaning product on dentures contaminated with known microbial flora. An in vitro study. **Quintessence Int**, v.35, n.3, Mar, p.194-9. 2004.

Guentzel, J. L., K. Liang Lam, *et al.* Reduction of bacteria on spinach, lettuce, and surfaces in food service areas using neutral electrolyzed oxidizing water. **Food Microbiol**, v.25, n.1, Feb, p.36-41. 2008.

Horiba, N., K. Hiratsuka, *et al.* Bactericidal effect of electrolyzed neutral water on bacteria isolated from infected root canals. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.87, n.1, Jan, p.83-7. 1999.

Inoue, Y., S. Endo, *et al.* Trial of electrolyzed strong acid aqueous solution lavage in the treatment of peritonitis and intraperitoneal abscess. **Artif Organs**, v.21, n.1, Jan, p.28-31. 1997.

ISO 1567. Dentistry: Denture base polymers. 1999.

Jagger, D. C., R. Huggett, *et al.* Cross-infection control in dental laboratories. **Br Dent J**, v.179, n.3, Aug 5, p.93-6. 1995.

Kim, C., Y. C. Hung, *et al.* Efficacy of electrolyzed oxidizing (EO) and chemically modified water on different types of foodborne pathogens. **Int J Food Microbiol**, v.61, n.2-3, Nov 1, p.199-207. 2000.

Kiura, H., K. Sano, *et al.* Bactericidal activity of electrolyzed acid water from solution containing sodium chloride at low concentration, in comparison with that at high concentration. **J Microbiol Methods**, v.49, n.3, May, p.285-93. 2002.

Koray, M., G. Ak, *et al.* Fluconazole and/or hexetidine for management of oral candidiasis associated with denture-induced stomatitis. **Oral Dis**, v.11, n.5, Sep, p.309-13. 2005.

Koseki, S., K. Fujiwara, *et al.* Decontaminative effect of frozen acidic electrolyzed water on lettuce. **J Food Prot**, v.65, n.2, Feb, p.411-4. 2002.

Koseki, S., K. Yoshida, *et al.* Decontamination of lettuce using acidic electrolyzed water. **J Food Prot**, v.64, n.5, May, p.652-8. 2001.

_____. Efficacy of acidic electrolyzed water for microbial decontamination of cucumbers and strawberries. **J Food Prot**, v.67, n.6, Jun, p.1247-51. 2004.

_____. Roles of oxidation-reduction potential in electrolyzed oxidizing and chemically modified water for the inactivation of food-related pathogens. **J Food Prot**, v.63, n.1, Jan, p.19-24. 2000b.

_____. Efficacy of electrolyzed oxidizing water in inactivating Salmonella on alfalfa seeds and sprouts. **J Food Prot**, v.66, n.2, Feb, p.208-14. 2003.

Lee, J. H., P. L. Rhee, *et al.* Efficacy of electrolyzed acid water in reprocessing patient-used flexible upper endoscopes: Comparison with 2% alkaline glutaraldehyde. **J Gastroenterol Hepatol**, v.19, n.8, Aug, p.897-903. 2004.

Len, S. V., Y. C. Hung, *et al.* Ultraviolet spectrophotometric characterization and bactericidal properties of electrolyzed oxidizing water as influenced by amperage and pH. **J Food Prot**, v.63, n.11, Nov, p.1534-7. 2000.

_____. Ultraviolet spectrophotometric characterization and bactericidal properties of electrolyzed oxidizing water as influenced by amperage and pH. **J Food Prot**, v.63, n.11, Nov, p.1534-7. 2000.

Lin, J. J., S. M. Cameron, *et al.* Disinfection of denture base acrylic resin. **J Prosthet Dent**, v.81, n.2, Feb, p.202-6. 1999.

Long B. Liao., *et al.* The generation and inactivation mechanism of oxidation–reduction potential of electrolyzed oxidizing water. **Journal of Food Engineering**, v. 78 p. 1326–1332. 2007.

Matyas, J., N. Dao, *et al.* Effects of disinfectants on dimensional accuracy of impression materials. **J Prosthet Dent**, v.64, n.1, Jul, p.25-31. 1990.

Molinari, J. A. Infection control: its evolution to the current standard precautions. **J Am Dent Assoc**, v.134, n.5, May, p.569-74; quiz 631-2. 2003.

Morita, C., T. Nishida, *et al.* Biological toxicity of acid electrolyzed functional water: effect of oral administration on mouse digestive tract and changes in body weight. **Arch Oral Biol**, v.56, n.4, Apr, p.359-66.

Nagamatsu, Y., K. K. Chen, *et al.* Durability of bactericidal activity in electrolyzed neutral water by storage. **Dent Mater J**, v.21, n.2, Jun, p.93-104. 2002.

Nagamatsu, Y., K. Tajima, *et al.* Application of electrolyzed acid water to sterilization of denture base part 1. Examination of sterilization effects on resin plate. **Dent Mater J**, v.20, n.2, Jun, p.148-55. 2001

Nakagawara, S., Goto, T., *et al.* Spectroscopic characterization and the pH dependence of bactericidal activity of the aqueous chlorine solution. **Analytical Sciences**, v. 14, p. 691–698. 1998.

Nakajima, N., T. Nakano, *et al.* Evaluation of disinfective potential of reactivated free chlorine in pooled tap water by electrolysis. **J Microbiol Methods**, v.57, n.2, May, p.163-73. 2004.

Nelson, D. Newer technologies for endoscope disinfection: electrolyzed acid water and disposable-component endoscope systems. **Gastrointest Endosc Clin N Am**, v.10, n.2, Apr, p.319-28. 2000.

Neppelenbroek, K. H., A. C. Pavarina, *et al.* Hardness of heat-polymerized acrylic resins after disinfection and long-term water immersion. **J Prosthet Dent**, v.93, n.2, Feb, p.171-6. 2005.

Nobuo A., Masahiko, K. e Kazuhiro, A. Efficacy of Electrolyzed Acidic water for disinfection and quality maintenance of fresh-cut cabbage. **Food Preservation Science**, v.29, n.6. 2003.

Paranhos Hde, F., L. R. Davi, *et al.* Comparison of physical and mechanical properties of microwave-polymerized acrylic resin after disinfection in sodium hypochlorite solutions. **Braz Dent J**, v.20, n.4, p.331-5. 2009.

Park, H., Y. C. Hung, *et al.* Effects of chlorine and pH on efficacy of electrolyzed water for inactivating *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*. **Int J Food Microbiol**, v.91, n.1, Feb 15, p.13-8. 2004.

Powell, G. L., R. D. Runnells, *et al.* The presence and identification of organisms transmitted to dental laboratories. **J Prosthet Dent**, v.64, n.2, Aug, p.235-7. 1990.

Ribeiro, D. G., A. C. Pavarina, *et al.* Photodynamic inactivation of microorganisms present on complete dentures. A clinical investigation : Photodynamic disinfection of complete dentures. **Lasers Med Sci**, Apr 12.

Rueggeberg, F. A., F. E. Beall, *et al.* Sodium hypochlorite disinfection of irreversible hydrocolloid impression material. **J Prosthet Dent**, v.67, n.5, May, p.628-31. 1992.

Sakurai, Y. *et al.* Endoscope contamination from HBV- and HCV-positive patients and evaluation of a cleaning/disinfecting method using a strongly acid electrolyzed water. **Digestive Endoscopy**, v.15, n.1, Jan, p.19-24. 2003.

Sharma, R. R. e A. Demirci. Treatment of Escherichia coli O157:H7 inoculated alfalfa seeds and sprouts with electrolyzed oxidizing water. **Int J Food Microbiol**, v.86, n.3, Sep 15, p.231-7. 2003.

Shay, K., M. R. Truhlar, *et al.* Oropharyngeal candidosis in the older patient. **J Am Geriatr Soc**, v.45, n.7, Jul, p.863-70. 1997.

Shen, C., N. S. Javid, *et al.* The effect of glutaraldehyde base disinfectants on denture base resins. **J Prosthet Dent**, v.61, n.5, May, p.583-9. 1989.

Shimizu, Y e Sugawara, H. Virucidal and bactericidal effects of electrolyzed oxidizing water: Comparison of disinfectant effect with electrolyzed oxidizing water and hypochlorous acid. **J. Oral Biol.**, v.38, p.564-571. 1996.

Shimmura, S., K. Matsumoto, *et al.* Acidic electrolysed water in the disinfection of the ocular surface. **Exp Eye Res**, v.70, n.1, Jan, p.1-6. 2000.

Silva, M. M., C. E. Vergani, *et al.* Effectiveness of microwave irradiation on the disinfection of complete dentures. **Int J Prosthodont**, v.19, n.3, May-Jun, p.288-93. 2006.

Sullivan, D. J., G. P. Moran, *et al.* Comparison of the epidemiology, drug resistance mechanisms, and virulence of *Candida dubliniensis* and *Candida albicans*. **FEMS Yeast Res**, v.4, n.4-5, Jan, p.369-76. 2004.

Takigawa, T. e Y. Endo. Effects of glutaraldehyde exposure on human health. **J Occup Health**, v.48, n.2, Mar, p.75-87. 2006.

Tanaka, H., Y. Hirakata, *et al.* Antimicrobial activity of superoxidized water. **J Hosp Infect**, v.34, n.1, Sep, p.43-9. 1996.

Taylor, R., C. Maryan, *et al.* Retention of oral microorganisms on cobalt-chromium alloy and dental acrylic resin with different surface finishes. **J Prosthet Dent**, v.80, n.5, Nov, p.592-7. 1998.

Tsuji, S., S. Kawano, *et al.* Endoscope disinfection using acidic electrolytic water. **Endoscopy**, v.31, n.7, Sep, p.528-35. 1999.

Udompijitkul, P., M. A. Daeschel, *et al.* Antimicrobial effect of electrolyzed oxidizing water against *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* on fresh strawberries (*Fragaria x ananassa*). **J Food Sci**, v.72, n.9, Nov, p.M397-406. 2007.

Venkitanarayanan, K. S., G. O. Ezeike, *et al.* Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* on plastic kitchen cutting boards by electrolyzed oxidizing water. **J Food Prot**, v.62, n.8, Aug, p.857-60. 1999.

Webb, B. C., C. J. Thomas, *et al.* Candida-associated denture stomatitis. Aetiology and management: a review. Part 1. Factors influencing distribution of Candida species in the oral cavity. **Aust Dent J**, v.43, n.1, Feb, p.45-50. 1998.