

## **AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTICARIOGENICO DE SISTEMAS ADESIVOS COM UM MODELO DE BIOFILME DE MICROCOSMOS**

**BORGES, Fernanda Blos<sup>1</sup>**  
**VAN DE SANDE, Françoise Hélène**<sup>2</sup>  
**AZEVEDO, Marina Sousa**<sup>3</sup>  
**LUND, Rafael Guerra**<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Acadêmica de Odontologia, Faculdade de Odontologia - FO, UFPel. nandablosb@gmail.com

<sup>2</sup> Doutoranda em Dentística, FO, UFPel. fvandesande@gmail.com

<sup>3</sup> Doutoranda em Odontopediatria, FO, UFPel. marinasazevedo@hotmail.com

<sup>4</sup> FO, UFPel, Departamento de Odontologia Restauradora. rafael.lund@gmail.com

**CENCI, Maximiliano Sérgio**<sup>5</sup>

<sup>5</sup> FO, UFPEL, Departamento de Odontologia Restauradora. cencims@gmail.com

### **1 INTRODUÇÃO**

O desenvolvimento de lesão de cárie adjacente a restaurações, cárie secundária ou recorrente, é a razão mais freqüente para a substituição de restaurações (MJOR, 2005) e persiste como um desafio clínico (SARRET, 2005). Vários fatores podem estar envolvidos no desenvolvimento destas lesões, no entanto, o fator etiológico local é o biofilme cariogênico, pois lesões de cárie - primária ou secundária, são o resultado de um desequilíbrio mediado por um biofilme (MARSH, 2006).

A incorporação de componentes dotados de propriedades antimicrobianas em materiais restauradores é uma estratégia utilizada com intuito de modificar a cariogenicidade do biofilme e inibir o desenvolvimento das lesões (SARRET, 2005). Além disso, a formação de *microgap* na interface entre o dente/material restaurador tem sido relatada como uma forma de invasão bacteriana (IMAZATO et al., 2003), o que justificaria a necessidade de proteção antibacteriana nesta interface.

Um monômero antibacteriano - MDPB (*12-methacryloyloxydodecylpyridinium bromide*) está presente em um sistema adesivo comercial. Sua capacidade em inibir a adesão bacteriana e a formação de biofilme foi previamente demonstrada em vários estudos *in vitro*. No entanto, os modelos utilizados para testar as propriedades foram suspensões de poucas espécies bacterianas, método de difusão em Agar, ou biofilme de uma única espécie em contato com toda a superfície adesiva (IMAZATO, 2003; LI et al, 2009).

Desta forma, avaliações adicionais devem ser realizadas com modelos mais complexos, que possuam maior proximidade com a situação clínica. Este estudo teve como objetivo avaliar sistemas adesivos com e sem monômero antimicrobiano em relação ao potencial anticariogênico no esmalte adjacente.

### **2 METODOLOGIA**

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia (UFPel) sob parecer N° 076/2009. O voluntário doador de saliva assinou um termo de consentimento livre e esclarecido.

Discos de esmalte bovino (n=24) foram restaurados de forma padronizada

com resina composta (Z 250, 3M ESPE, St Paul, MN, EUA) utilizando três sistemas adesivos diferentes (Tab. 1). Como controle positivo, 8 discos foram restaurados com cimento de ionômero de vidro modificado por resina. Os espécimes restaurados foram submetidos a um modelo de biofilme de microcosmos previamente desenvolvido. Para formação dos biofilmes, saliva humana recém coletada foi utilizada como inóculo, e dispensada em volumes de 0,4 mL sobre cada espécime individualmente, em placas de 24 poços. Após uma hora, a saliva foi aspirada e um meio de cultivo análogo a saliva (DMM – meio definido enriquecido com mucina) foi utilizado em volumes de 1,8 mL por poço. Foram realizados desafios cariogênicos intermitentes (6 h por dia), adicionando sacarose a 1% ao meio. O meio de cultivo foi renovado diariamente. As placas foram incubadas em jarras com geradores de anaerobiose (5-10% CO<sub>2</sub>, menos de 1% O<sub>2</sub>; Anaerobac - Probac do Brasil produtos Bacteriológicos Ltda., Santa Cecília, SP, Brazil) a 37° C, e os biofilmes foram cultivados durante 5 dias.

Foram realizadas avaliações da acidogenicidade dos biofilmes (pH), da porcentagem de perda de dureza de superfície do esmalte (%PDS) e da composição e quantificação microbiológica do biofilme (unidades formadoras de colônias - UFC). As análises foram realizadas com ANOVA de uma entrada (%PDS e pH) ou Kruskal Wallis (UFC) e teste Tukey (p=0.05).

Tabela 1. Descrição detalhada dos materiais utilizados.

Grupos	Controle negativo N=8	Controle positivo N=8	Com monômero antibacteriano (PB) N=8	Sem monômero antibacteriano (SE) N=8
<b>Material e lote</b>	Scotch bond multipurpose/ 7PY, 7BP (3M ESPE, St Paul, MN, EUA)	Vitremer 7BN, 7NL, 7GC/ (3M ESPE)	Clearfil Protect Bond/ 00074a, 00047b (Kuraray Medical Inc., Okayama, Japão)	Clearfil SE Bond/ 00956a, 00727a (Kuraray Medical Inc.)
<b>Composição</b>	Adesivo: BIS-GMA, HEMA, foto-iniciadores. Primer: HEMA, ácido copolímero de ácido polialquenóico, água.	Primer: copolímero de ácido polialquenóico, HEMA, etanol, foto-iniciadores. Pó: fluoroalumino silicato, persulfato de potássio microencapsulado, ácido ascórbico. Líquido: ácido policarboxílico modificado por metacrilatos, água, HEMA.	Adesivo: MDP, HEMA, Bis-GMA, foto-iniciadores, micro-partículas tratadas com NaF. Primer: MDPB, MDP, HEMA, Bis-GMA, foto-iniciadores, água.	Adesivo: MDP, HEMA, Bis-GMA, foto-iniciadores, micro-partículas. Primer: MDP, HEMA, Bis-GMA, água, foto-iniciadores.
<b>Instruções de uso</b>	Aplicar ácido 15s (esmalte e dentina), lavar por 15s, secar levemente com ar; Primer: única camada, secar levemente com ar (10s); Adesivo: aplicar e fotoiniciar por 10s.	Primer: aplicar por 30s, secar com ar, fotoiniciar por 20s; Misturar pó e líquido (1:1) durante 45s.	Primer: aplicar por 20s, secar com ar (suave); Adesivo: aplicar e incidir leve jato de ar, fotoiniciar por 10s.	Primer: aplicar por 20s, secar com ar (suave); Adesivo: aplicar e incidir leve jato de ar, fotoiniciar por 10s.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através da avaliação dos dados de pH, foi observado que a acidogenicidade do meio não foi influenciada pelos grupos (Fig. 1). Em relação à %PDS do esmalte, três distâncias das margens da restauração foram avaliadas, e o grupo controle foi significativamente diferente dos demais, apresentando a menor perda mineral ( $p < 0,05$ ; Fig. 2). Conforme pode ser visto na Tab. 2, para microorganismos totais e *Streptococcus mutans* não houve diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ( $p = 0,078$  e  $p = 0,177$ , respectivamente). Em relação às contagens de *Lactobacillus*, embora os menores valores tenham sido observados para o grupo com o monômero antimicrobiano (PB), esta diferença não foi estatisticamente significativa em relação aos grupos SE e controle positivo ( $p < 0,05$ ).

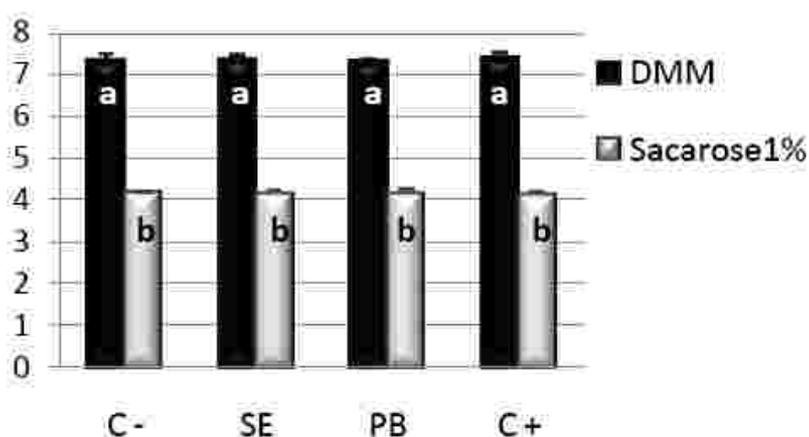


Figura 1. Representação gráfica do pH nos grupos, após períodos com (sacarose 1%) e sem desafio cariogênico (DMM). As barras representam as médias e respectivos desvio-padrão. Letras iguais indicam que não houve diferenças significativas entre os grupos ( $p > 0,05$ ).

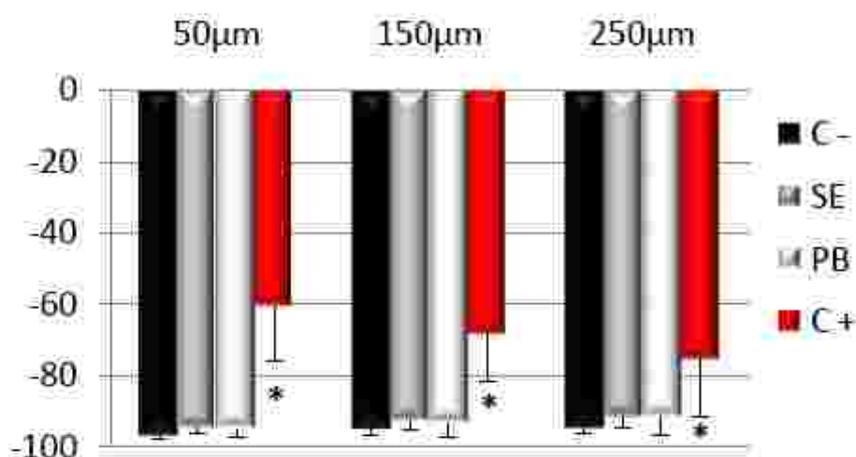


Figura 2. Representação gráfica da %PDS nos grupos em distâncias de 50, 150 e 250 µm da margem da restauração. As barras representam as médias e respectivos desvio-padrão. O controle positivo foi o grupo com menor perda mineral nas 3 distâncias avaliadas, sendo significativamente diferente dos demais grupos (\* $p < 0,05$ ).

Com base nos resultados observados, as propriedades antimicrobianas do sistema adesivo PB não são suficientes para alterar a acidogenicidade do biofilme

cariogênico ou a diminuir a perda mineral em esmalte em espécimes restaurados. Assim, a utilização de sistemas adesivos com monômeros antimicrobianos pode ser eficiente para desinfecção de cavidades contaminadas (Imazato et al. 2006), mas não parece inibir o desenvolvimento de lesões adjacentes a restauração.

Tabela 2. Perfil microbiano dos biofilmes crescidos sobre os espécimes restaurados

	C-	SE	PB	C+
total ( $\times 10^8$ )	3,30 $\pm$ 0,49	2,01 $\pm$ 0,26	2,91 $\pm$ 0,38	0,46 $\pm$ 0,06
S mutans ( $\times 10^5$ )	2,61 $\pm$ 0,28	1,16 $\pm$ 0,24	1,15 $\pm$ 0,14	1,94 $\pm$ 0,48
lactobacillus ( $\times 10^6$ )	10,82 $\pm$ 0,08	2,86 $\pm$ 0,92	0,35 $\pm$ 0,06	3,49 $\pm$ 0,55

Médias  $\pm$  erro padrão de UFC em cada grupo. Em cada linha as comparações são apresentadas entre os grupos, onde símbolos iguais representam semelhança estatística ( $p > 0,05$ ).

#### 4 CONCLUSÃO

Como conclusão, os sistemas adesivos testados não apresentaram diferenças na proteção do esmalte adjacente contra a perda mineral quando avaliados com um modelo *in vitro* de biofilme de microcosmos.

#### 5 REFERÊNCIAS

SARRETT, David C. Clinical challenges and the relevance of materials testing for posterior composite restorations. **Dent Mater**, Oxford, UK, v.21, n.1, p.9-20, 2005.

LI, Fang; CHAI, Zhi-Guo; SUN, Ming Na; WANG, Fuchun; MA, Sai; ZHANG, Lirong; FANG, Ming; CHEN, Ji-Hua. Anti-biofilm effect of dental adhesive with cationic monomer. **J Dent Res**, Chicago, USA, v.88, n.4, p.372-376, 2009.

MARSH, Philip D. Dental plaque as a biofilm and a microbial community - implications for health and disease. **BMC Oral Health**, London, UK, v.6 Suppl 1, p.S14. 2006.

MJOR, Ivar A. Clinical diagnosis of recurrent caries. **J Am Dent Assoc**, Chicago, USA, v.136, n.10, p.1426-33, 2005.

IMAZATO, Satoshi; KURAMOTO, Akiko; TAKAHASHI, Yusuke; EBISU, Shigeyuki; PETERS, Mathilde C. In vitro antibacterial effects of the dentin primer of Clearfil Protect Bond. **Dent Mater**, Oxford, UK, v.22, n.6, p.527-32, 2006.

IMAZATO, Satoshi. Antibacterial properties of resin composites and dentin bonding systems. **Dent Mater**, Oxford, UK, v.19, n.6, p.449-57, 2003.