

MODELO DE INDUÇÃO DE CÁRIE PARA POSTERIOR ANÁLISE DO DESEMPENHO DE SISTEMAS AUTOCONDICIONANTES EXPERIMENTAIS

HARTMANN, Andressa Raquel¹; BERGMANN, Veridiana Fisher²; ROSSATO, Tharsis Christine²; ARDUIM, Andressa Silva²; PERALTA, Sonia Luque³; LUND, Rafael Guerra⁴; SILVA, Adriana Fernandes⁵.

¹Graduação, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, hartmannandressa@gmail.com; ²Graduação, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas; ³Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal de Pelotas; ⁴Professor Adjunto, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, Departamento de Odontologia Restauradora; ⁵Professora Adjunta, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, Departamento de Odontologia Restauradora adrisilvapiva@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

Cárie dentária é a doença mais comum da cavidade oral e representa um problema de saúde pública devido a sua larga prevalência em todo o mundo. Afeta principalmente crianças, mas pode persistir durante muito tempo. É considerada a principal causa da perda dentária na infância, e em outras as idades. (Preisser, Stamm et al. 2012).

A cárie ocorre principalmente devido ao desequilíbrio da homeostase entre o meio oral e a microbiota, que é causado por ácidos orgânicos provenientes da fermentação de carboidratos da dieta. É considerada uma doença multifatorial, pois envolve fatores biológicos, socioeconômicos, culturais, entre outros (Hunter 1988; Anderson 2002; Law, Seow et al. 2007; Mobley, Marshall et al. 2009), que interagem direta ou indiretamente na colonização ou permanência dos microrganismos na comunidade microbiológica, o biofilme.

A superfície dos dentes é envolvida por uma película adquirida que ativa a ligação das bactérias orais nesta superfície, iniciando assim, a formação do biofilme dentário. A placa dentária, ou biofilme, é composta por uma complexa comunidade microbiológica (Seneviratne, Zhang et al. 2011) que, ao se acumular na superfície dentária, provoca pequenas desmineralizações nos dentes. Esta é a primeira interação que ocorre no processo cariogênico, entre o biofilme cariogênico e os cristais de esmalte e dentina.

De acordo com Hashizume (2002), o *Streptococcus mutans* é implicado como um potente condutor cariogênico de microrganismos no homem. Por causa disso, os mecanismos pelos quais o *S. mutans* se adere nas superfícies dentárias são muito estudados e são considerados potencialmente importantes no alcance de intervenções anti-cariogênicas.

Estudos experimentais de indução de cárie têm sido publicados, entre eles Silverstone (1967; 1968) demonstrou desmineralização de cárie *in vitro* em esmalte, com lesões causadas por vários agentes desmineralizadores, assim como em dentina (Nakajima, Kitasako et al. 2005; Sattabanasuk, Shimada et al. 2005; Choi, Oshida et al. 2006). Alguns autores têm feito o mesmo processo que Silverstone com ácidos orgânicos produzidos *in situ* por bactérias em modelos microbianos (Dummer, Edmunds et al. 1982; Clarkson, Wefel et al. 1984; Fontana, Dunipace et al. 1996). Nagaoka et al. (2001) utilizou em sua indução de cárie as

bactérias *Lactobacillus casei* PSR 3002, *Streptococcus sobrinus* 6715, *Actinomyces viscosus* and, *Streptococcus salivarius* HHT 19, 246.

Hashizume et al. (2002) utilizou saliva humana de um doador adulto, não fumante e saudável para induzir lesões iniciais de cárie no esmalte em seus estudos. Em outro estudo, com a produção de lesões de cárie na superfície da dentina, foi utilizado o *Streptococcus mutans* UA159. (Zanchi, Lund et al. 2010).

O presente estudo avaliou a formação artificial de cárie em um modelo microbiológico *in vitro*, com a contaminação por cultura de *Streptococcus mutans* AU159, na superfície de esmalte dentário.

2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

Setenta molares permanentes hígidos, extraídos por motivos de doença periodontal ou por necessidades ortodônticas, foram doados à pesquisa pelo Banco de Dentes da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas – FOUFPel, de acordo com o Comitê de Ética da FOUFPel (146/2010). Estes foram submetidos a cavidades Classe I (4x4x2mm) com uma caneta de alta rotação com pontas diamantadas ou brocas carbides, que eram trocadas a cada cinco dentes. Também foram submetidos à secção corono-radicular, devido à utilização apenas de coroas neste experimento. As cavidades foram condicionadas em EDTA 10% durante um minuto.

Os dentes foram estocados em uma solução salina a 4°C contendo azida sódica 0,2% durante duas semanas para que não perdessem suas propriedades naturais, como hidratação e mineralização. Posteriormente, foram imersos individualmente em poços (placas de 24 poços) contendo BHI (*brain–heart infusion*) estéril.

Foi manipulada uma suspensão de *Streptococcus mutans*: uma seleção das bactérias mais virulentas, utilizando uma rod metálica. A rod era imersa em um meio contaminado por *Streptococcus mutans*, e, após 24 horas, eram raspadas as bactérias que ficaram aderidas à superfície da própria rod. Então, ela era imersa novamente em um meio estéril. Este processo foi feito durante 7 dias para a confirmação de utilização das bactérias de *S. mutans* mais potentes na realização deste estudo.

Então, os setenta dentes foram imersos individualmente nos poços em uma cultura contendo esta suspensão de *S. mutans* UA 159, sacarose e BHI estéril. Essa cultura foi substituída a cada 24 horas durante 28 dias. Os dentes foram mantidos em CO₂ a 37 ° C.

O teste de microscopia eletrônica de varredura foi realizado para provar a existência das bactérias na superfície de esmalte, e o teste de luz polarizada foi realizado para comprovar a presença de lesão de cárie ativa no esmalte dentário.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em todos os dentes do estudo foram encontradas clinicamente manchas brancas (Fig. 1), que caracterizam lesões de cárie ativas.

Figura 1: Manchas brancas no dente após 28 dias de imersão



Foi realizada análise dos espécimes por microscopia eletrônica de varredura (MEV [Shimadzu, modelo SSX 550]) nos dentes utilizados no estudo (Fig. 3), as quais foram comparada à MEV de um dente hígido (Fig. 2), podendo assim ser observada a presença das bactérias cocos.

Figura 2: Esmalte dentário infectado.

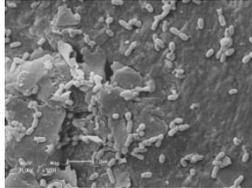
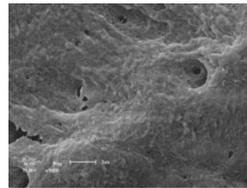


Figura 3: Esmalte dentário sadio.



O teste de luz polarizada foi realizado com o objetivo de evidenciar a presença de lesões cariosas na superfície do esmalte, tendo resultados positivos, uma vez que foi observada uma zona escura nesta região (Fig. 4).

Figura 4: Teste de luz polarizada do esmalte infectado pela cárie. Zona escura e camada externa inalterada.



Alguns modelos químicos relatam que exposições cíclicas a ácido para produzir desmineralização superficial de dentina (Nakajima, Kitasako et al. 2005; Sattabanasuk, Shimada et al. 2005; Choi, Oshida et al. 2006) e esmalte (Silverstone 1967; Silverstone 1968). Estes modelos foram desenvolvidos para o melhor entendimento do processo de desmineralização. Ao contrário destes, utilizamos neste estudo um modelo de cárie empregando uma monocultura bacteriana de *Streptococcus mutans* UA159. Segundo Hashizume et al. (2002), o *S. mutans* é um importante organismo no biofilme cariogênico, e também uma bactéria muito potente na contaminação cariiosa.

No presente estudo foi induzida a cárie em espécimes de dentina (Zanchi, Lund et al. 2010) nem em espécimes de esmalte separados, pois para a continuação do estudo será necessária toda a coroa do dente, com esmalte e dentina infectados por cárie.

Em um futuro próximo, o modelo de indução de cárie aqui apresentado será aplicado para uma avaliação da resistência de novos sistemas adesivos frente à agressão de cárie, e analisar o potencial desses sistemas experimentais autocondicionantes em resistir à degradação advinda do processo carioso. Podendo, assim, proporcionar uma melhora na qualidade dos materiais utilizados na prática de clínica odontológica, e também, melhorar o atendimento à população.

4 CONCLUSÃO

Este método pode se tornar eficiente em pesquisa de indução de cárie utilizando uma condição confiavelmente relacionada ao corrente método, bem como testar esta nova metodologia sobre sistemas adesivos autocondicionantes experimentais.

5 REFERÊNCIAS

Anderson, M. **Pediatr Dent**. "Risk assessment and epidemiology of dental caries: review of the literature." 24(5): 377-385, 2002.

Choi, K., Y. Oshida, et al. **Oper Dent**. "Microtensile bond strength of glass ionomer cements to artificially created carious dentin." 31(5): 590-597, 2006.

Clarkson, B. H., J. S. Wefel, et al. **J Dent Res**. "A model for producing caries-like lesions in enamel and dentin using oral bacteria in vitro." 63(10): 1186-1189, 1984.

Fontana, M., A. J. Dunipace, et al. **Caries Res**. "An in vitro microbial model for studying secondary caries formation." 30(2): 112-118, 1996.

Hashizume, L. N., K. Shinada, et al. **J Med Dent Sci** "Sequence of ultrastructural changes of enamel crystals and Streptococcus mutans biofilm in early enamel caries in vitro." 49(2): 67-75, 2002.

Hunter, P. B. **Int Dent J**. "Risk factors in dental caries." 38(4): 211-217, 1988.

Law, V., W. K. Seow, et al. **Aust Dent J**. "Factors influencing oral colonization of mutans streptococci in young children." 52(2): 93-100; quiz 159, 2007.

Mobley, C., T. A. Marshall, et al. **Acad Pediatr**. "The contribution of dietary factors to dental caries and disparities in caries." 9(6): 410-414, 2009.

Nakajima, M., Y. Kitasako, et al. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater**. "Elemental distributions and microtensile bond strength of the adhesive interface to normal and caries-affected dentin." 72(2): 268-275, 2005.

Preisser, J. S., J. W. Stamm, et al. **Caries Res**. "Review and recommendations for zero-inflated count regression modeling of dental caries indices in epidemiological studies." 46(4): 413-423, 2002.

Sattabanasuk, V., Y. Shimada, et al. **J Adhes Dent**. "Bonding of resin to artificially carious dentin." 7(3): 183-192, 2005.

Zanchi, C. H., R. G. Lund, et al. **Am J Dent**. "Microtensile bond strength of two-step etch-and-rinse adhesive systems on sound and artificial caries-affected dentin." 23(3): 152-156, 2010.