



## *Inhibitory Activity of Restorative Materials and Sealants* **Atividade Antimicrobiana de Materiais Restauradores e Selantes**

### **INTRODUÇÃO**

A cárie dental<sup>18,24</sup> merece destaque pela sua elevada prevalência e pelos danos causados ao aparelho estomatognático, resultando na perda precoce de elementos dentais e, conseqüentemente, na diminuição da capacidade mastigatória, além de alterações estéticas e fonéticas<sup>1,21</sup>. A restauração de elementos dentais acometidos por cárie ou outras patologias pode criar condições favoráveis à proliferação de patógenos na interface dente/restauração, formando biofilmes<sup>27</sup> capazes de tornar o ambiente propício para o estabelecimento de cárie secundária, particularmente no interior da fenda dente/material restaurador, cujo diâmetro varia, em média, de 10 a 20  $\mu\text{m}$ <sup>1,3,22,26</sup>.

Outro aspecto importante é a contração de polimerização dos materiais resinosos, o que pode levar à separação do material restaurador em relação ao elemento dental, diminuindo a adaptação marginal e ampliando a fenda da interface dente/restauração<sup>4,6</sup>.

Em virtude da contínua modificação dos diferentes materiais restauradores disponíveis no comércio, a atividade antimicrobiana dos diferentes produtos poderia vir a retardar ou prevenir a instalação de microrganismos cariogênicos<sup>14,23</sup>.

### **MATERIAL E MÉTODO**

#### **Atividade Antimicrobiana dos Materiais Testados**

##### **1. Cepas bacterianas**

Foram empregadas 16 cepas de *S. mutans*<sup>13</sup> isoladas de crianças com idade de 4 a 12 anos e que não fizeram uso de drogas antimicrobianas nos seis meses que precederam a coleta dos espécimes clínicos, bem como a cepa de referência *S. mutans* ATCC 25175. (Fig 1)

A coleta dos espécimes foi realizada pela técnica da saliva estimulada pela mastigação de base de goma de mascar. As amostras de saliva coletadas foram transportadas, individualizadas, para o laboratório de Microbiologia e Imunologia do Departamento de Patologia e Propedêutica Clínica da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, em tubos contendo 2,0 ml de solução Ringer-PRAS. O isolamento dos microrganismos foi realizado em agar Mitis Salivarius Bacitracina, após incubação a 37 °C, em microaerofilia, por 48 horas. A identificação dos isolados foi realizada através de testes bioquímicos-fisiológicos descritos por HARDIE<sup>11</sup> (1986).

Os diferentes materiais também foram testados frente a uma cultura mista de microorganismo salivares, para se verificar se o efeito dos mesmos era restrito às cepas de *S. Mutans* testadas.

##### **2. Método e inóculo**

Empregou-se o método de difusão em ágar<sup>25</sup> utilizando-se o meio de cultura Mueller-Hinton acrescido de 5% de sangue desfibrinado de carneiro. Foi utilizado um inóculo final de 10 células, determinado por comparação com a escala de McFarland. O inóculo bacteriano foi depositado sobre as placas através de pipetas sorológicas e distribuído sobre a superfície do meio com o auxílio de bastões Drigalsky, 30 minutos antes da colocação dos materiais restauradores e selantes.

- Samira Ambar Lins

- Helena Bianchi

Mestrandas em Dentística pelo CPO São Leopoldo Mandic-Campinas/SP

- Halim Nagem Filho

- Paulo Amarante de Araújo

- Rubens Carneiro Valera

Professores Doutores do Programa de Mestrado em Dentística pelo CPO São Leopoldo Mandic-Campinas/SP

Os AA avaliam a atividade inibitória de materiais restauradores e selantes, frente aos microrganismos cariogênicos.

CONTATO C/AUTORES:

Fax: (19) 3237-6868

MÊS DO RECEBIMENTO: julho./2004

MÊS DA APROVAÇÃO FINAL: setembro/2004

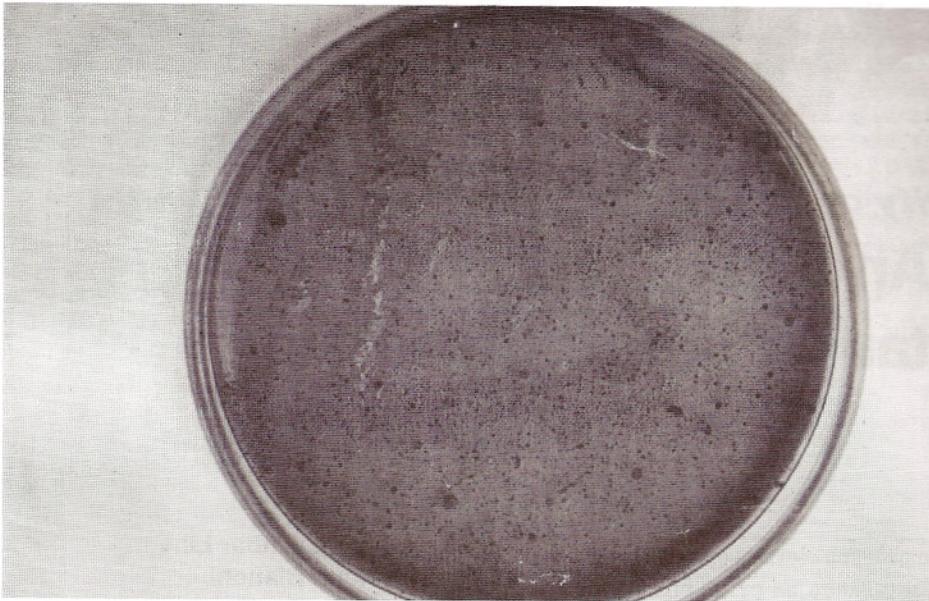


Fig. 1 - Cepas de *S mutans* isoladas de crianças com idade de 4 a 12 anos.

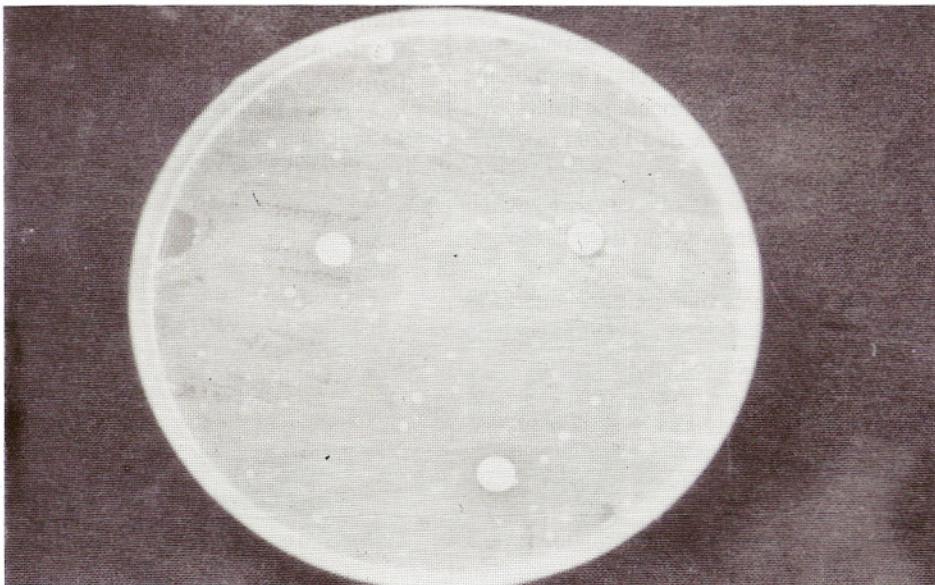


Fig. 2 - Placas inoculadas onde realizou-se a medição dos halos de inibição de crescimento bacteriano.

### 3. Produtos comerciais testados

Entre os materiais restauradores, foram estudadas as resinas TPH (Dentsply Ind. Com. LTDA), Herculite XR (Kerr), Z 100 (3M do Brasil LTDA), Dyract (Dentsply Ind. Com. LTDA) e Heliomolar (Vivadent S.A. Ind. Com.). Foram avaliados os cimentos ionoméricos restauradores Glaslonomer Cement Type II (Shofu Inc.), Vidrion R (SS White Artigos Dentários LTDA) e Vitremer (3M Dental Products). Entre os selantes de fósulas e fissuras, foram estudados o Fluroshield (Dentsply Ind. Com. LTDA) e Delton (Johnson & Johnson).

Os materiais foram manipulados de acordo com as instruções de seus respectivos fabricantes de forma a adquirir a forma de corpos-de-prova com 6mm de diâmetro e 1mm de espessura, o que se obteve com a inserção dos diferentes materiais em matrizes metálicas. Os corpos-de-prova foram posicionados, em número de três por placa de Petri, equidistantes na superfície do meio de cultura. Os testes foram realizados em decuplicata para garantir a observância dos requisitos de elasticidade.

Para verificar a manutenção da atividade antimicrobiana dos diferentes materiais, os testes foram realizados com os materiais logo após sua manipulação inicial e após 24 horas de armazenagem em água destilada a 37°C.

### 4. Incubação e leitura dos resultados

As placas inoculadas e com os cilindros de materiais restauradores ou selantes de fósulas e fissuras foram incubadas em microaerofilia, a 37°C, por 48 horas, após o que realizava-se a leitura dos resultados através da medição do diâmetro dos halos de inibição de crescimento bacteriano por meio de um paquímetro. Os diâmetros médios desses halos foram expressos em milímetros (Fig 2).

## RESULTADOS

A tabela 1 traz os resultados da atividade antimicrobiana de materiais restauradores e selantes de fósulas e fissuras. A maioria dos materiais testados apresentou alguma atividade inibitória frente aos microrganismos isolados logo após sua mani-

Tabela 1

Atividade antimicrobiana de materiais restauradores e selantes de fôssulas e fissuras sobre 16 isolados clínicos de *S. mutans* e sobre a cepa de referência *S. mutans* ATCC 25175.

Produtos Comerciais	Diâmetro médio dos halos de inibição do crescimento bacteriano (mm)	
	TO	T 24h
Delton	1,0	0,0
Fluroshield	1,1	0,0
Vitremer	1,9	1,4
Shofu II	1,0	0,0
Vidrion R	1,0	0,0
Dyract	0,9	0,0
Herculite XR	0,0	0,0
TPH	0,0	0,0
Z 100	0,0	0,0
Heliomolar	0,0	0,0

pulação inicial, sendo que após 24 horas, apenas o Vitremer mostrou atividade residual. Os materiais essencialmente resinosos, à exceção do Dyract e selantes de fôssulas e fissuras, ou não evidenciaram atividade antimicrobiana ou a mesma foi pouco significativa, segundo a metodologia empregada. No teste de inibição envolvendo microorganismos salivares, evidenciou-se a ausência de atividade inibitória sobre tais microorganismos.

## DISCUSSÃO

A colonização da superfície de materiais restauradores e das margens das restaurações por microrganismos cariogênicos pode propiciar as condições para o estabelecimento de cárie secundária, condenando a restauração ao fracasso, levando a novas injúrias sobre o elemento denta<sup>15,17</sup>. A atividade antimicrobiana dos materiais restauradores poderia minimizar a colonização da interface dente/restauração<sup>14</sup>, diminuindo a possibilidade de instalação de uma recidiva de cárie. Se esta atividade viesse a se manter por alguns dias, poderia inclusive condicionar o desenvolvimento de uma microbiota menos cariogênica na superfície do material restaurador<sup>26</sup> e dificultar a penetração de microrganismos na interface dente/restauração.

Na tabela 1, verifica-se que o material com maior atividade antimicrobiana frente às cepas bacterianas testadas foi o cimento ionomérico Vitremer, que se mostra capaz de liberar níveis significativos de flúor<sup>21</sup>, o qual provavelmente deve ser o responsável por essa atividade inibitória, visto que esses 90 cocos cariogênicos possuem tolerância elevada ao pH ácido presente nos cimentos ionoméricos logo após o endurecimento dos mesmos. Esse material também foi o único que manteve a atividade inibitória quando os corpos-de-prova eram armazenados por 24 horas. Os demais cimentos ionoméricos e os selantes encontram-se em posição intermediária, enquanto as resinas não apresentaram atividade mensurável, excetuando-se o Dyract, o qual constitui uma resina poliácido-modificada e se mostra apta a liberar, mesmo que apenas nos seus períodos iniciais, flúor.

Nesses testes, o diâmetro do halo de inibição do crescimento bacteriano é diretamente relacionado com a atividade antimicrobiana do princípio ativo, e a solubilização desse último em água e difusão no meio de cultura. Dessa forma, os resultados desse ensaio devem ser considerados mais como um "screening" dos diferentes materiais do que como um estudo eminentemente quantitativo.

A atividade antimicrobiana dos cimentos ionoméricos, como relatada na literatura<sup>2,8</sup>, está associada à liberação de flúor por esses materiais e, também, ao pH ácido que se estabelece logo após a geleificação dos mesmos. O pH ácido facilitaria a penetração do flúor nas bactérias e potencializaria seus efeitos sobre o metabolismo celular. Contudo, *S. mutans* apresenta significativa aciduridade de forma que apenas o pH ácido desses materiais, logo após o endurecimento, não seria capaz de explicar a atividade antimicrobiana na ausência de flúor.

Embora o flúor represente importante fator na atividade antimicrobiana de cimentos ionoméricos, GARIB et al.<sup>9</sup> (1993) não observaram correlação entre os níveis de liberação de flúor e o diâmetro dos halos de inibição do crescimento da cepa de *Streptococcus mutans* GS-5, utilizada nos testes. Contudo, esses autores utilizaram uma única cepa bacteriana nos testes, o que limita o alcance dos seus resultados.

O flúor liberado pelos materiais restauradores pode afetar de diferentes formas o metabolismo bacteriano, deprimindo a formação de polissacarídeos intracelulares<sup>29</sup> e extracelulares<sup>14</sup> em estreptococos do grupo mutans, inibindo vias metabólicas, especialmente a glicólise, reduzindo a adsorção desses microrganismos à hidroxiapatita recoberta por saliva, inibindo a colonização dos tecidos dentais<sup>16,19</sup>, afetando a atividade da membrana citoplasmática bacteriana<sup>10</sup>.

A extrapolação de resultados de testes de atividade antimicrobiana com fluoreto de sódio e outras modalidades de fluoretos e compostos liberadores de flúor, para situações clínicas, é problemática, visto que os níveis de resistência da microbiota a esses elementos ultrapassam as concentrações dos mesmos na placa bacteriana<sup>15</sup>. Porém, os níveis de flúor na placa bacteriana adjacente a restaurações de cimentos de ionômero de vidro são muito superiores aos observados em outros sítios devido à constante dissolução da superfície do material restaurador<sup>20</sup>.

Desde que os níveis de liberação de flúor por cimentos ionoméricos decresce substancialmente com o tempo<sup>8,28</sup>, o efeito desses materiais sobre a microbiota varia de intensidade ao longo do tempo. Os dados da tabela sugerem, inclusive, que a atividade inibitória residual de diferentes materiais de uma mesma categoria pode ser muito diferente. A manutenção de atividade inibitória no cimento ionomérico Vitremer sugere que o conteúdo resinoso de ionômeros fotopolimerizáveis não interfere sobremaneira na liberação desses íons, o que está de acordo com a literatura<sup>7,27</sup>. No entanto, mesmo em concentrações pequenas, o flúor é capaz de exercer notáveis efeitos sobre a acidogenicidade de *Streptococcus mutans*, deprimindo-a<sup>15</sup>, o que pode ser clinicamente significativo, como coloca BERG et al.<sup>2</sup> (1990).

De acordo com a tabela 1, as resinas compostas não apresentaram atividade antibacteriana significativa. Segundo IMAZATO et al.<sup>12</sup> (1994), as resinas compostas não apresentam atividade antimicrobiana após serem polimerizadas, o que está de acordo com os resultados do presente estudo.

A atividade antimicrobiana dos selantes de fôssulas e fissuras (tabela 1) pode refletir a liberação de flúor pelo Fluroshield ou uma maior difusibilidade dos componentes da resina fluida no meio de cultura, como poderia ocorrer com os dois materiais testados, o que pode não acontecer com os demais materiais resinosos. Entretanto esse último aspecto somente

se faria presente em selantes testados logo após a confecção dos corpos-de-prova, o que está de acordo com a tabela 1, que não evidencia atividade inibitória residual para esses materiais.

## CONCLUSÃO

1- O cimento ionomérico Vitremer evidenciou a maior atividade inibitória ou, pelo menos, a maior difusibilidade dos princípios ativos com atividade antimicrobiana no meio de cultura e foi o único material que manteve sua atividade por 24 horas;

2- Os demais cimentos de ionômero de vidro, os selantes de fôssulas e fissuras, resina composta poliácido modificada Dyract evidenciaram atividade inibitória intermediária;

3- As resinas compostas testadas não mostraram atividade antimicrobiana mensurável.

## RESUMO

Avaliou-se a atividade inibitória de diferentes materiais restauradores e selantes de fôssulas e fissuras sobre microrganismos cariogênicos através do método de difusão em ágar, empregando-se o ágar Mueller-Hinton acrescido de 5% de sangue desfibrinado de carneiro. Verificou-se que a maioria dos materiais testados apresentou alguma atividade inibitória frente aos microrganismos isolados, particularmente os cimentos ionoméricos. As resinas compostas, à exceção do Dyract, não evidenciaram atividade antimicrobiana.

**Palavras-chave:** materiais restauradores, selantes, atividade antibacteriana.

## SUMMARY

It was evaluated the inhibitory activity of restorative materials and pit and fissure sealants on cariogenic cocci through an agar diffusion test, by using agar Mueller-Hinton supplemented with 5% of defibrinated sheep blood. It was verified that most of tested materials revealed inhibitory activity in some extension on cariogenic cocci, particularly glass ionomer cements. The composite resins, excepting Dyract, did not evidenced any inhibitory activity.

**Key Words:** Restorative materials, sealants, antibacterial activity.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BAUER, J. G.; HENSON, J. L. Microleakage: a measure of the performance of direct filling materials. *Oper. Dent.*, Seattle, v. 9, n.1, p. 2-9, Winter 1984.
2. BERG, J. H.; FARREL, J. E.; BROWN, L. R. Class II glass ionomer/silver cermet restorations and their effect on interproximal grow of mutans streptococci. *Pediatr. Dent.*, Chicago, v. 12, n. 1, p. 20-3, Feb. 1990.
3. BERGENHOLTZ, G. et al. Bacterial leakage around dental restorations: its effect on the dental pulp. *J. Oral Pathol.*, Copenhagen, v. 11, n. 6, p. 439-50, Dec. 1982.
4. BOWEN, R. L.; NEMOTO, K.; RAPSON, J. E. Adhesive bonding of various materials to hard tooth tissues: forces developing in composite materials during hardening. *J. Am. Dent. Assoc.*, Chicago, v. 106, n. 4, p.475-7, April 1983.
5. BROWNE, R. M.; TOBIAS, R. S. Microbial microleakage and pulpal inflammation: a review. *Endod. Dent. Traumatol.*, Copenhagen, v. 2, n. 5, p. 177-83, Oct. 1986.
6. DAVIDSON, C. L.; DE GEE, A. J. Relaxation of polymerization contraction stresses by flow in dental composites. *J. Dent. Res.*, Washington, v. 63, n. 2, p. 146-8, Feb. 1984.
7. DUNNE, S. M. et al. Caries inhibition by a resin-modified and a conventional glass ionomer cement, in vivo. *J. Dent.*, Oxford, v. 24, n. 1-2, p. 91-4, Jan./Mar. 1996.
8. FORSTEN, L. Short-and long-term fluoride release from glass ionomer and other fluoride containing filling materials in vitro. *Scand. J. Dent. Res.*, Coenhagen, v. 99, n. 4, p. 179-85, Aug. 1991.
9. GARIB, T. M.; ROSA, O. P. S.; ROCHA, R. S. S. Ação antimicrobiana de cimentos de ionômero de vidro restauradores. *Rev. Fac. Odontol. Bauru, Bauru*, v. 1, n. 1, p. 1-5, 1993.
10. HAMILTON, I. R. Biochemical effects of fluoride on oral bacteria. *J. Dent. Res.*, Washington, v. 69, n. spec., p. 660-7, Feb. 1990.
11. HARDIE, J. M. Oral Streptococci. In: SNEATH, P. H. A. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1986. p.1054-1063.
12. IMAZATO, S. et al. Incorporation of bacterial inhibitor into resin composite. *J. Dent. Res.*, Washington, v. 73, n. 8, p.1437-1443, Aug. 1994.
13. IZAGUIRRE-FERNANDEZ, E. J., EISENBERG, A. D. Interation of zinc with fluoride on growth, glycolysis and survival of *Streptococcus mutans* GS-5. *Caries Res.*, Basel, v. 23, n. 1, p. 18-25, 1989.
14. KAWAI, K.; TAKAOKA, T. Inhibition of bacterial and glucan adherence to various light-cured fluoride-releasing restorative materials. *J. Dent.*, Oxford, v. 29, n. 2, p. 119-22, Feb. 2001.
15. KILIAN, M. et al. Effects of fluoride on the initial colonization of teeth in vivo. *Caries Res.*, Basel, v. 13, n. 6, p. 319-29, 1979.
16. KUFMAN, M.; BARTHOLMES, P. Purification, characterization and inhibition by fluoride of enolase from *Streptococcus mutans* DSM 320523. *Caries Res.*, Basel, v. 26, n. 2, p. 110-6, 1992.
17. LEINFELDER, K. F. Glass ionomers are still necessary. *Esth. Dent. Update*, Philadelphia, v. 5, n. 6, p. 151, 1994.
18. LOESCHE, W. J. Cárie dental: uma infecção tratável. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 1993. 349 p.
19. MEURMAN, J. M. Ultrastructure, growth and adherence of *Streptococcus mutans* after treatment with clorehexidine and fluoride. *Caries Res.*, Basel, v. 22, p. 228-87, 1988.
20. MOUNT, G. J. Glass ionomer cements: clinical considerations. *J. Clin. Dent.*, Yardley, v. 4, p. 24-7, 1984.
21. OLIVEIRA, C. M. et al. Liberação de flúor de três cimentos de ionômero de vidro. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PESQUISA ODONTOLÓGICA, 11.,1994, Águas de São Pedro. Anais... Bauru: SBPqO, 1994. p.21.
22. PASHLEY, D. H. Clinical correlations of dentin structure and function. *J. Prosthet. Dent.*, Saint Louis, v. 66, N. 6, p. 777-81, Dec. 1991.
23. STEINBERG, D.; EYAL, S. Early formation of *Streptococcus sobrinus* biofilm on various dental restorative materials. *J. Dent.*, Oxford, v. 30, n. 1, p. 47-51, Jan. 2002.
24. THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. Tratado de cariologia. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 1988. 388 p.
25. TOBIAS, R. S. A further study of the antibacterial properties of dental restorative materials. *Int. Endod. J.*, Oxford, v. 21, n. 6, p. 381-92, Nov. 1988.
26. TOBIAS, R. S., BROWNE, R. M., WILSON, C. A. Antibacterial activity of dental restorative materials. *Int. Endod. J.*, Oxford, v. 18, n. 3, p. 161-71, Jul. 1985.
27. TORABZADEH, H.; ABOUSH, Y. E. Y.; LEE, A. R. Comparative assessment of long-term fluoride release from lightcuring glass-ionomer cements. *J. Dent. Res.*, Washington, v. 73, p. 853, 1994.
28. TVEIT, A. B.; GJERDET, N. R. Fluoride release from a fluoride-containing amalgam, a glass ionomer cement and a silicate cement in artificial saliva. *J. Oral Rehab.*, Oxford, v. 8, n. 3, p. 237-41, May 1981.
29. ZAMECK, R. L.; TINANOFF, N. Effects of NaF and SnF2 on growth, acid and glucan production of several oral streptococci. *Arch. Oral Biol.*, v.32, n.11, p.807-10, 1987.