

INFLUÊNCIA DE PROTETORES DE SUPERFÍCIE PARA CIMENTO DE IONÔMERO DE VIDRO, EM BIOFILMES FORMADOS *IN VITRO* COM *Streptococcus mutans*

Bianca Royo de Siqueira Salomão¹, Edson Komiyama², Cristiane Yumi Koga-Ito², Juliana Campos Junqueira², Vanessa Cavalli¹, Priscila Christiane Suzy Liporoni¹, Antonio Olavo Cardoso Jorge², Marcos Augusto do Rego¹.

¹Universidade de Taubaté/UNITAU, Departamento de Odontologia, Rua José Pereira dos Santos, 233, Urbanova, São José dos Campos, SP, marcosreg@uol.com.br.

²Universidade Estadual Paulista/UNESP, Faculdade de Odontologia São José dos Campos.

Resumo- O cimento de ionômero de vidro (CIV) é passível de sinérese e embebição, e deve ser protegido após sua inserção. O objetivo do trabalho foi avaliar a formação de biofilme com *Streptococcus mutans*, em CIV, após diferentes proteções de superfície. Foram utilizados 60 espécimes de CIV, divididos em 4 grupos (n=15), de acordo com o tratamento de superfície: a) controle; b) glazer do CIV; c) adesivo Magic Bond; e, d) esmalte incolor para unhas. Os espécimes, armazenados em saliva artificial, foram esterilizados por radiação gama e colocados em poços de placas para cultura de células contendo suspensão de *S. mutans* (10⁶ células/mL), e Tryptic Soy Broth (TSB). Após incubação (37°C/24 h/ 5% CO₂), os espécimes foram lavados, sonificados (30s/50w), centrifugados, ressuspensos em PBS e as unidades formadoras de colônias foram quantificadas (log UFC/mL) em TSB (37°C/24 h/ 5% CO₂). Os dados foram avaliados por ANOVA, teste de Tukey (p≤0,05). Ocorreu diferença significativa no biofilme de *S. mutans* entre controle (média: 4,84±0,55 log UFC/mL) e adesivo (4,25±0,73). O adesivo demonstrou menor aderência de *S. mutans* na superfície do cimento de ionômero de vidro, quando utilizado como agente de proteção de superfície.

Palavras-chave: cimento de ionômero de vidro, *Streptococcus mutans*, biofilme, agentes proteção.

Área do Conhecimento: Odontologia

Introdução

Os cimentos de ionomero de vidro (CIV) representam importante opção de material restaurador em Odontologia, devido sua adesão à estrutura dental e a sua capacidade de liberação de flúor, com isso há uma diminuição da infiltração marginal, inibindo o metabolismo de microrganismos acidogênicos, favorecendo a remineralização dentária, podendo diminuir a ocorrência de carie secundária (PEDRINI et al., 2001; BERG, 2002; CROLL, 2002).

O CIV foi inicialmente utilizado como material restaurador em cavidades pequenas, sendo posteriormente utilizado como material de cimentação de peças protéticas, núcleo de preenchimento, material para base e forramento de cavidades dentárias e selamento de fôssulas e fissuras (PARADELLA et al., 2004). Atualmente, tem sido utilizado na técnica restauradora atraumática, ART (YIP & SMALES, 2002; TRUSHKOWSKY, 2005), realizada inicialmente em locais com pouco acesso aos serviços dentários, na qual realiza-se a remoção do tecido cariado com instrumentos manuais e restauração da cavidade com cimento de ionomero de vidro (FERREIRA & REGO, 2006).

O CIV apresenta como principais propriedades, a liberação de flúor, adesividade e compatibilidade biológica. Como desvantagens

podemos citar a solubilidade, estética desfavorável e pobre polimento superficial (PARADELLA et al. 2004).

Por ser um material que sofre sinérese e embebição, é indicado o uso de protetor de superfície ao final das restaurações com o cimento ionomérico. Com a finalidade de proteger estes cimentos, são utilizados vernizes, agentes adesivos e esmalte incolor para unhas (SERRA et al., 1994; LIMA et al., 2002).

Os estreptococos do grupo mutans, especialmente as espécies *Streptococcus mutans* e *S. sobrinus*, constituem-se os principais agentes etiológicos de lesões de cárie de superfícies lisas, sendo sua aderência e formação de biofilme importantes etapas na formação das lesões de cárie. As características da superfície dos materiais restauradores influenciam na aderência e consequente formação de biofilme por *S. mutans* (SATO, 1998; PEDRINI et al., 2001; BRAMBILLA et al., 2005). Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência de protetores de superfície para cimento de ionômero de vidro em biofilmes formados *in vitro* com *Streptococcus mutans*.

Metodologia

Foram confeccionados 60 corpos-de-prova com CIV (Vitremer, 3M do Brasil) com 3 mm de

espessura e 6 mm de diâmetro. Para confecção dos mesmos, o CIV foi inserido na matriz de teflon e a seguir, foi colocado uma tira de matriz de poliéster (Odhacma) e uma placa de vidro sobre a superfície. Cada espécime foi fotopolimerizado por 40 segundos, a placa de vidro foi removida e a fotopolimerização realizada mais uma vez, sobre a matriz de teflon, por 40 segundos. Para uma terceira fotoativação, a matriz de teflon foi invertida, para fotopolimerização da base do cimento. Os espécimes foram divididos em 4 grupos, com 15 espécimes cada um, de acordo com o protetor de superfície utilizado: a) controle, sem proteção; b) glazer do CIV (Vitremex); c) adesivo Magic Bond (Vigodente); e, d) esmalte incolor para unhas (Risqué).

Em seguida, os espécimes foram armazenados separadamente, em recipientes identificados, imersos em saliva artificial (Salivan) e foram esterilizados com cobalto 60, utilizando-se dose de 20 Kgy de radiação gamma (Emprese Brasileira de Radiação, Embrarad).

A seguir, os espécimes foram colocados em placa para cultura de células de 24 poços (Costar), os quais foram preenchidos com 0,1 mL de suspensão contendo 10^6 células de *Streptococcus mutans* (ATCC 35688) e 1,5mL de Tryptic Soy Broth (TSB). As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas, com 5%CO₂. Após incubação, os espécimes foram lavados com 1 mL de PBS, foram transferidos para tubos falcon contendo 40 mL de PBS e foram submetidos ao homogeneizador ultra-sônico (Sonoplus HD 2200) a 50 w durante 30 segundos. A seguir, os espécimes foram retirados e os tubos falcon foram levados a centrifuga refrigerada a 4°C por 6000 Xg durante 8 minutos. O sobrenadante foi descartado e o material foi ressuscitado em 3 mL de PBS e submetido a agitador Vortex por 30 segundos. Foram obtidas diluições decimais em solução de NaCl a 0,9%, das quais alíquotas de 0,1 mL foram plaqueadas, em duplicata, em TSB e foram incubadas a 37° C por 24 horas, com 5% de CO₂. Após incubação, foi realizada a contagem de UFC/mL, em placas que continham de 30 a 300 colônias. Os dados obtidos foram avaliados estatisticamente por ANOVA, teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Resultados

Os resultados obtidos para quantificação de *S. mutans* no biofilme formado *in vitro*, nos espécimes confeccionados com CIV que foram submetidos aos diferentes tratamentos de superfície podem ser observados na Tabela 1.

Os dados, avaliados por ANOVA, teste de Tukey ($p \leq 0,05$) encontram-se na Tabela 2. Pode-se verificar nesta tabela, que ocorreu diferença significativa na aderência de *S. mutans* entre

controle (média: $4,84 \pm 0,55$ log UFC/mL) e adesivo ($4,25 \pm 0,73$). Nos demais grupos, não houve diferença significativa (glaze: $4,61 \pm 0,55$ e esmalte de unhas: $4,31 \pm 0,39$ log UFC/mL). Menor quantidade de *S. mutans* foi observado no biofilme formado na superfície do cimento de ionômero de vidro, quando foi utilizado como agente de proteção de superfície o adesivo (Magic-Bond).

Tabela 1 – Log UFC/mL de *Streptococcus mutans* aderidos em cimento de ionômero de vidro

Espécimes	Controle	Gloss	Adesivo	Esmalte unhas
1	5,17	4,94	4,59	4,17
2	4,59	5,28	5,18	3,50
3	5,50	5,25	4,81	4,14
4	5,43	4,79	4,21	4,10
5	4,83	3,95	5,11	4,77
6	4,59	5,10	5,34	4,58
7	4,88	4,21	4,06	4,72
8	4,64	5,09	4,15	4,49
9	4,34	5,25	3,04	5,00
10	5,28	4,14	3,69	4,16
11	5,19	4,18	3,86	4,15
12	4,50	5,00	3,56	4,19
13	5,65	4,06	3,84	4,72
14	3,50	4,60	3,26	4,16
15	4,53	3,61	5,08	3,79

protegidos com diferentes tratamentos

Tabela 2 – Análise estatística descritiva do Log UFC/ml

Grupos	Média	Desvio padrão	Mediana	Diferença Estatística*
Controle	4,841	0,553	4,830	A
Gloss	4,610	0,550	4,640	AB
Adesivo	4,252	0,733	4,150	B
Esmalte unhas	4,309	0,399	4,170	AB

*Letras diferentes: estatisticamente significante ($p \leq 0,05$), ANOVA, teste de Tukey

Discussão

Na superfície dos materiais restauradores, quando os mesmos estão presentes na cavidade bucal, é formado biofilme por membros da microbiota bucal. O biofilme caracteriza-se por uma população de microrganismos, altamente dinâmica, que se instala na superfície de estruturas sólidas, quando imersas em um líquido. Assim, os materiais dentários instalados na cavidade bucal, são imersos pela saliva, possibilitando a formação do biofilme (SHAHAL et al. 1998).

De acordo com as características da superfície das estruturas sólidas que estão presentes na boca, diferentes tipos de biofilme podem ser formados, pois a constituição da

superfície, assim como sua rugosidade, interferem na aderência inicial dos microrganismos, os quais após várias sucessões microbianas vão determinar o tipo de comunidade clímax presente no biofilme (PEDRINI et al. 2001).

Os estreptococos do grupo mutans, principalmente a espécie *S. mutans* são os principais agentes etiológicos da cárie dentária de superfícies lisas, pois são capazes de produzir biofilme nestas superfícies, passando a produzir ácidos que alteram o pH da superfície do esmalte, podendo produzir desmineralização. O CIV, por suas características, apresenta maior efeito protetor na formação de lesões de cárie secundária, quando comparados com as resinas compostas (PARADELLA et al, 2008).

Por outro lado, o CIV caracteriza-se pelas suas propriedades de liberação de flúor, adesividade aos tecidos dentários e compatibilidade biológica. Por ser um material que sofre sinérese e embebição, é indicado o uso de protetor de superfície ao final das restaurações com o cimento ionomérico. São utilizados para esta finalidade vernizes, agentes adesivos e esmalte incolor para unhas. Esses agentes de proteção são de constituições diferentes, originando, portanto, superfícies com características próprias na cavidade bucal, o que poderia interferir com a aderência e formação de biofilme por *S. mutans*. Pode-se verificar nos dados deste trabalho, que ocorreu menor formação de biofilme *in vitro* por *S. mutans* nos espécimes de CIV que foram protegidos pelo adesivo dentinário Magic Bond (Vigodente). Nos demais materiais protetores utilizados (glazer do CIV Vitremer e esmalte para unhas Risqué), não ocorreu diferenças na quantidade de *S. mutans* no biofilme formado, apesar de todos os agentes protetores terem apresentado menor número de *S. mutans* no biofilme formado, indicando que do ponto de vista microbiológico todos os agentes protetores poderiam ser indicados.

Serra et al. (1994) avaliaram a efetividade de diferentes tratamentos de superfícies do cimento de ionomero de vidro, utilizando-se de corantes e determinando-se a quantidade do mesmo em espectrofotometro. Utilizaram 16 corpos de prova de 4,5 mm de diâmetro e 2 mm de espessura, os quais foram divididos em 10 grupos: a) controle positivo; b) controle negativo; c) resina quimicamente ativada; d) resina fotoativada (Durafill Bond); e) resina fotoativada (Bondlite); f) esmalte de unha (Colorama); g) verniz (Shofu); h) verniz para resina (Copalite); i) vaselina; j) verniz a base de copal (Copalite). Após os tratamentos de superfícies, cada corpo de prova foi imerso separadamente em 1 mL de 0,05% de solução de azul de metileno, com exceção do controle negativo. Após 24 horas, os corpos de prova foram enxaguados com água deionizada e foram

imersos separadamente em tubos contendo 1mL de 65% de ácido nítrico para remoção do corante. As soluções foram filtradas, centrifugadas e a absorbância determinada em espectrofotometro (590nm). Os resultados mostraram que o verniz de unha Colorama foi o melhor agente protetor de superfície para o cimento de ionomero de vidro, não havendo diferenças significativas do grupo controle positivo para o negativo. Os dados obtidos no presente estudo diferiram do trabalho dos autores, pois não houve diferença entre o grupo controle e aquele que foi utilizado o esmalte para unhas na aderência de *S. mutans*. Deve-se salientar entretanto, a diferença entre as metodologias. Serra et al (1994) não utilizaram o adesivo dentinário, não podendo portanto comparar com os dados do presente estudo, onde o adesivo dentinário demonstrou resultados mais satisfatórios.

Valera et al. (1997) avaliaram a efetividade de diferentes marcas de esmalte de unhas, sozinhos e associados com vaselina, como protetores de superfícies para o cimento de ionômero de vidro. Utilizaram 336 corpos-de-prova, com 3 mm de diâmetro e 1 mm de espessura, feitos com Chelon-Fill e ChemFill II que foram divididos em 14 grupos para cada material. Os corpos de prova para controle positivo e negativo não foram protegidos, enquanto os corpos de provas experimentais foram protegidos com 6 diferentes marcas de esmalte de unha usando e não usando a vaselina. Os corpos de prova foram imersos em solução de azul de metileno (0,05%), com exceção do grupo de controle negativo que foram imersos em água destilada. Os autores concluíram que os esmaltes de unhas foram eficazes na proteção do cimento de ionômero de vidro, resultados também que não concordaram com os obtidos no presente estudo.

Diversos autores (BOECKH et al., 2002; BRAMBILLA et al., 2005; EICK et al., 2004; MONTANARO 2004; MATALON et al., 2005) realizaram ensaios para observar a formação de biofilme por *S. mutans*, comparando o CIV com diferentes materiais restauradores, entretanto, não foram citados nesses trabalhos, qual o tipo de proteção que foi utilizado no CIV, o que impossibilitou a comparação com os dados do presente trabalho.

Outro aspecto importante que deve-se realçar, é que os ensaios realizados no presente estudo foram realizados *in vitro*, com apenas um microrganismo (*S. mutans*), com quantidade controlada, diferentemente do que ocorre na cavidade bucal. Deve-se levar em consideração, que na boca, a superfície do material protetor deverá sofrer ação de forças mastigatórias e da deposição de glicoprotínas salivares, que interferem na aderência de *S. mutans*. Para melhor compreensão da formação de biofilme nos

diferentes agentes de proteção que podem ser utilizados para o CIV, trabalhos realizados *in situ* e *in vivo*, deveriam ser realizados.

Tendo em vista as limitações da metodologia do presente estudo, pode-se verificar que utilização de um sistema de adesivo dentinário como agente de proteção do CIV, produziu menor formação de biofilme *in vitro* por *S. mutans*.

Conclusão

Ocorreu diferença significativa na quantidade de *S. mutans* presente no biofilme formado nos espécimes, entre controle e adesivo. Nos demais grupos, não houve diferença significativa, sugerindo que estes agentes de proteção também podem ser utilizados. O adesivo (Magic-Bond) demonstrou menor quantidade de *S. mutans* no biofilme formado na superfície do cimento de ionômero de vidro, quando utilizado como agente de proteção de superfície.

Referências

- BERG, H.J. Glass ionomer cements. **Pediatric Dentistry** v.24, n.5, p.430-438, 2002.
- BOECKH, C. et al. Antibacterial activity os restorative dental biomaterials *in vitro*. **Caries Res.** v.36, p.101-107, 2002.
- BRAMBILLA, E. et al. Influence of different adhesive restorative materials on mutans streptococci colonization. **American J. Dent.** v.18, n.3, p.173-176, 2005.
- CROLL, N. Glass ionomer cements in pediatric dentistry: review of the literature. **Pediatric Dentistry**, v.25, n.5,p.423-429, 2002.
- EICK, S. et al. Adherence of *Streptococcus mutans* to various restorative materials in a continuous flow system. **J. Oral Rehabil.** v.31, p.278-285, 2004.
- FERREIRA, H.C.; REGO, M.A. Avaliação *in vitro* de propriedades físico-químicas de cimentos de ionômero de vidro convencionais, após adição de própolis e antibióticos. **Ciê. Odontol. Bras.** v.9, n.2, p.38-46, 2006.
- LIMA, F.A.P. et al. Avaliação da deposição superficial de corante evidenciador de placa bacteriana em materiais híbridos de ionômero de vidro. **Rev. Assoc. Bras. Odontol. Nac.** v.10, n.1, p.23-29, 2002.
- MATALON, S. et al. Antibacterial properties of 4 orthodontic cements. **Am. J. Orthod. Dento. Orthop.** v.127, n.1, p.56-63, 2005.
- MONTANARO, L. et al. Evaluation of bacterial adhesion of *Streptococcus mutans* on dental restorative materials. **Biomaterials**, v.25, n.18, p.4457-4463, 2004.
- PARADELLA, T.C. et al. Cimentos de ionômero de vidro na Odontologia Moderna. **Rev. Odontol. UNESP**, v.33, n.4, p.157-162, 2004.
- PARADELLA, T.C. et al. Ability of different restorative materials to prevent *in situ* secondary caries: analysis by polarized light-microscopy and energy-dispersive X-ray. **Eur. J. Oral Sci.** v.116, p.375-380, 2008.
- PEDRINI, D. et al. Retention of oral microorganisms on conventional and resin-modified glass-ionomer cements. **Braz. Oral Res.** v.15, n.3, p.196-200, 2001.
- PEDRINI, D. et al. Influência da aplicação de flúor sobre a rugosidade superficial do ionômero de vidro Vitremer e adesão microbiana a este material. **Braz. Oral Res.** v.15, n.1, p.70-76, 2001.
- SATOU, J. et al. Streptococcal adherence on various restorative materials. **J. Dent. Res.** v.67, n.3, p.588-591, 1988.
- SERRA, M. et al. Glass ionomer cement surface protection. **Amer. J. Dent.** v.7, n.4, p.203-206, 1994.
- SHAHAL, Y. et al. In vitro bacterial adherence onto pellicle-coated aesthetic restorative materials. **J. Oral Rehabil.** v.25, n.1, p.52-58, 1998.
- TRUSHKOWSKY, R. The role of glass ionomers in minimally invasive restorative dentistry. **Dent. Today**, v.24, n.4, p.72-74,76-77, 2005.
- VALERA, V.C. et al. Effect of nail varnishes and petroleum jelly combinations on glass ionomer dye uptake. **Am. J. Dent.** v.10, n.5, p.251-253, 1997.
- YIP, H.K.; SMALES, R.J. Glass ionomer cements used as fissure sealants with the atraumatic restorative treatment (ART) approach: review of literature. **Int. Dent J.** v.52, n.2, p.67-70, 2002.