

THAÍS THOMÉ

**ANÁLISE *IN VITRO* DO EFEITO INIBITÓRIO DE RESTAURAÇÕES
CONTENDO O MONÔMERO ANTIBACTERIANO MDPB NA
PROGRESSÃO DE CÁRIES SECUNDÁRIAS EM RAÍZES DENTÁRIAS**

São Paulo

2009

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Thaís Thomé

Análise *in vitro* do efeito inibitório de restaurações contendo o monômero antibacteriano MDPB na progressão de cáries secundárias em raízes dentárias

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, para obter o título de Doutor, pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia.

Área de Concentração: Dentística

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Márcia Martins Marques
Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. Márcia Pinto Alves Mayer

São Paulo

2009

Catálogo-na-Publicação
Serviço de Documentação Odontológica
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Thomé, Thaís

Análise *in vitro* do efeito inibitório de restaurações contendo o monômero antibacteriano MDPB na progressão de cáries secundárias em raízes dentárias/ Thaís Thomé; orientador Márcia Martins Marques. -- São Paulo, 2009.

111p. : fig., tab., graf.; 30 cm.

Tese (Doutorado - Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Área de Concentração: Dentística) -- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

1. Cárie dentária – Materiais restauradores – Efeitos 2. Resina composta – Monômero antibacteriano 3. Dentística

CDD 617.675
BLACK D2

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE E COMUNICADA AO AUTOR A REFERÊNCIA DA CITAÇÃO.

São Paulo, ____/____/____

Assinatura:

E-mail:

FOLHA DE APROVAÇÃO

Thomé T. Análise *in vitro* do efeito inibitório de restaurações contendo o monômero antibacteriano MDPB na progressão de cáries secundárias em raízes dentárias. [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2009.

São Paulo, __/__/2009

Banca Examinadora

1) Prof(a). Dr(a). _____
Titulação: _____
Julgamento: _____ Assinatura: _____

2) Prof(a). Dr(a). _____
Titulação: _____
Julgamento: _____ Assinatura: _____

3) Prof(a). Dr(a). _____
Titulação: _____
Julgamento: _____ Assinatura: _____

4) Prof(a). Dr(a). _____
Titulação: _____
Julgamento: _____ Assinatura: _____

5) Prof(a). Dr(a). _____
Titulação: _____
Julgamento: _____ Assinatura: _____

Para Otavio,
com todo meu amor.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao meu marido **Otávio**, sempre ao meu lado. Teu amor, amizade, compreensão e dedicação são fundamentais para minha felicidade.

Aos meus pais **Gilberto** e **Neca**, e a meus irmãos **Thêmis** e **Thales** por todo amor e apoio.

Aos meus padrinhos **Sérgio** e **Diana**, e minha afilhada **Benirá**, pelo carinho e incentivo.

À minha orientadora **Profª Drª Márcia Martins Marques**, pelo exemplo de ética, talento e dedicação, e pela sensibilidade de sempre identificar os momentos em que eu precisava de uma atenção especial; e à minha co-orientadora **Profª Drª Márcia Pinto Alves Mayer**, pela constante ajuda, amizade e orientação. Contar com a orientação de profissionais tão diferenciadas e dedicadas como vocês foi um privilégio e uma honra. Conto com sua amizade sempre.

AGRADECIMENTOS

À **FAPESP**, pela concessão da bolsa de Doutorado (Processo 05/56158-5) concedida para o desenvolvimento desta pesquisa e demais trabalhos durante o curso e pela concessão de Auxílio à Pesquisa (Protocolo nº 04/10377-5) concedido para o compra de equipamento necessário ao desenvolvimento desta pesquisa.

À **CAPES**, pela concessão da bolsa de Estágio de Doutorado no exterior (Processo BEX 3707/06-7) possibilitando enriquecer o meu conhecimento através do contato com diferentes filosofias e métodos de estudo.

Ao **Programa de Apoio à Pós-Graduação**, pela concessão de auxílio para a participação de eventos científicos no Brasil.

À **Universidade de São Paulo**, representada pela Magnífica Reitora **Prof^a. Dr^a. Suely Vilela**.

À **Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo**, representada por seu Diretor, **Prof. Dr. Carlos de Paula Eduardo**.

Ao **Prof. Dr. Reinaldo Brito e Dias**, Presidente da Comissão de Pós-Graduação da FOU SP.

À **Prof^a. Dr^a. Miriam Lacalle Turbino**, Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Dentística.

Ao **Prof. Dr. Antônio Carlos Bombana**, Chefe do Departamento de Dentística da FO-USP.

Aos Professores do Departamento de Dentística da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, pela amizade e convivência científica compartilhada.

À **Soninha** pela ajuda em diversos momentos da execução deste trabalho, sempre com muito carinho e alegria.

Aos funcionários do Departamento de Dentística **David, Ana, Leandro e Aldo** pela compreensão, ajuda e atenção sempre demonstradas.

À **Kátia, Alessandra e Nair**, da Secretaria de Pós-Graduação, pela paciência, ajuda e palavras de conforto diante de todas as dificuldades e conquistas desse período.

Aos funcionários da Biblioteca da Faculdade de Odontologia da USP, em especial à bibliotecária **Cláudia**, pela revisão desta tese.

Ao **Prof. Dr. Satoshi Imazato** pelo envio do material restaurador testado.

Aos amigos do Departamento de Dentística da USP **Alessandra, Angela, Archilla, Arlene, Ana del Carmen, Camilla, Carol, Ciça, Cidão, Clarissa, Beto, Bia, Bruno,**

Dai, João Paulo, Kátia, Leila, Luciana, Márcio, Ninoshka (*in memorian*), Patrícia Freitas, Patrícia Lloret, Robles, Sérgio, Sheila, Simone, Stellinha, Valéria, Vinícius, Washington, Yuri pela amizade e incentivo.

Aos colegas do laboratório de Microbiologia Oral do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo pela forma carinhosa com que me acolheram, pela ajuda e paciência.

Ao **Sr. João Paulo**, técnico do laboratório de Microbiologia Oral, pela ajuda no preparo dos meios de cultura.

Ao **Prof. Dr John Featherstone** e sua equipe do *Department of Preventive and Restorative Dental Sciences* da UCSF, **Prof. Dr. Peter Rechman, Beate Reachmann, Marcia Rapozo Hilo, Charles Le, Prof. Dr. Charles Hoover** e **Prof^a. Ling Zang** pelos conhecimentos compartilhados, amizade e carinho com que me receberam.

Thomé T. Análise *in vitro* do efeito inibitório de restaurações contendo o monômero antibacteriano MDPB na progressão de cáries secundárias em raízes dentárias [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2009.

RESUMO

Este estudo teve por objetivo analisar *in vitro* o efeito inibitório de materiais restauradores contendo o monômero antibacteriano brometo de metacrilóiloxidodecilpiridínio (MDPB) no desenvolvimento de lesões de cárie secundária em raízes dentárias submetidas a um desafio cariogênico. Cavidades com características de cavidades classe V (2 mm x 2mm) foram preparadas em setenta e cinco fragmentos de raízes dentárias humanas. As amostras foram divididas aleatoriamente em 5 grupos (n=15 amostras/grupo) e restauradas como segue: (I) sistema adesivo sem MDPB + resina composta sem MDPB (controle negativo); (II) cimento de ionômero de vidro resino-modificado (CIV-RM, controle positivo); (III) sistema adesivo sem MDPB e resina composta com MDPB (2,83% MDPB); (IV) sistema adesivo contendo MDPB e resina composta sem MDPB; e (V) sistema adesivo contendo MDPB e resina composta contendo MDPB. Lesões de cárie secundária radicular foram produzidas utilizando-se um modelo bacteriológico de indução de cáries artificiais. As amostras restauradas foram imersas em um meio de cultura contendo *Streptococcus mutans* e sacarose por 15 dias. Fatias (80 ± 20 µm) das amostras foram utilizadas para a mensuração da média das profundidades das lesões formadas adjacentes à ambas as margens das restaurações através de microscopia de luz polarizada. Os resultados foram expressos em porcentagem

relativa à média de profundidade encontrada no grupo controle negativo (GI), que foi considerado 100%. Os dados foram comparados por ANOVA complementada pelo teste de Tukey ($p \leq 0.05$).

As profundidades das lesões adjacentes às cavidades preenchidas com CIV-RM (GII; $85,17 \pm 15,2\%$) foram significativamente ($p < 0.01$) menores que as profundidades das cavidades adjacentes às restaurações realizadas com resina composta sem MDPB (GI; $100,00 \pm 10,04\%$). As profundidades das lesões adjacentes às cavidades restauradas com resina contendo MDPB (GIII; $82,68 \pm 12,81\%$ e GV; $85,65 \pm 15,42\%$), independentemente do sistema adesivo utilizado, foram similares àquelas do CIV-RM (GII). A média das profundidades das lesões nestes grupos diminuiu 13% (GV) e 17% (GIII) em relação ao controle negativo (GI). Portanto, nas condições deste estudo, sugerimos que a resina composta contendo o monômero antibacteriano MDPB é capaz de inibir o avanço de lesões de cárie secundária em raízes dentárias.

Palavras-Chave: MDPB – Antibacteriano – Resina Composta – Sistema Adesivo – Cárie Secundária – Cárie Radicular – Cárie Artificial – *Streptococcus mutans*

Thomé T. *in vitro* analysis of inhibitory effects of the antibacterial monomer MDPB-containing restorations on the formation of secondary root caries [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2009.

ABSTRACT

This *in vitro* study aimed to analyze the potential of restorative materials containing the antibacterial monomer 12-methacryloyloxydodecylpyridinium bromide (MDPB) for controlling the advance of bacterial induced secondary root caries-like lesions. Class V cavities (2 mm x2 mm) were prepared in seventy-five human root fragments. Specimens were randomly divided in 5 groups (n=15 fragments per group) and restored as follows: (I) MDPB-free adhesive system + MDPB-free composite (negative control); (II) resin modified glass ionomer (RM-GIC; positive control); (III) MDPB-free adhesive system + MDPB-containing composite (2.83% MDPB); (IV) MDPB-containing adhesive system + MDPB-free composite; (V) MDPB-containing adhesive system + MDPB-containing composite. Artificial secondary root caries lesions were produced by a biological artificial caries challenge. The restored specimens were immersed into a culture medium containing *Streptococcus mutans* and sucrose for 15 days. Histological slices ($80 \pm 20 \mu\text{m}$) of the specimens were used for measuring the mean depths of the artificial lesions produced in both margins of the restorations using polarized light microscopy. Results were expressed in percentage related to the mean depth of the negative control, considered 100%. Data were compared by ANOVA followed by the Tukey's test ($p \leq 0.05$). The depths of lesions adjacent to cavities filled with RM-GIC (GII; $85.17 \pm 15.2\%$) were significantly

($p < 0.01$) shallower than those adjacent to restorations with MDPB-free composite (GI; $100.00 \pm 10.04\%$), despite the presence of MDPB in the adhesive system (GIV; $101.95 \pm 21.32\%$). The depths of lesions adjacent to cavities restored with MDPB-containing 3 composite (GIII; $82.68 \pm 12.81\%$ and GV; $85.65 \pm 15.42\%$), despite the adhesive system used, were similar to those of RM-GIC (GII). Mean lesions depths in these groups decreased 13% (GV) to 17% (GIII) in relation to the negative control (GI). Concluding, MDPB-containing composite inhibits the progression of artificial secondary root caries lesions regardless of adhesive systems.

Keywords: MDPB – Antibacterial – Composite resin – Adhesive System – Secondary Caries – Root Caries - Artificial Caries – *Streptococcus mutans*

LISTA DE FIGURAS

- Figura 2.1 – Ilustração da imobilização de um componente antibacteriano em uma matriz polimérica pela co-polimerização de um monômero antibacteriano (adaptado de Imazato, 2003)..... 40
- Figura 2.2 – Fórmula estrutural do brometo de metacrilóiloxidodecilverdínio (MDPB)..... 44
- Figura 2.3 – Ilustração da utilização do monômero antibacteriano MDPB no preparo de uma carga resinosa pré-polimerizada (PPRF) para obter uma resina composta antibacteriana (adaptado de Imazato, 2003).50
- Figura 4.1 – Obtenção dos fragmentos de raiz. (A) Ilustração referente à secção do dente abaixo da junção cimento–esmalte (JAC), separando-se coroa de raiz. (B) Ilustração da secção realizada com intenção de obter-se um fragmento correspondente à porção cervical. (C) Ilustração do corte realizado para obtenção de dois fragmentos radiculares, um mesial (M) e um distal (D)..... 61
- Figura 4.2 – Fotos ilustrativas da inclusão dos fragmentos de raiz. (A) Fragmento de raiz com marca feita com esmalte de unhas na cor vermelha sinalizando a porção correspondente à cervical. (B) Fragmento de raiz posicionado mantendo-se a superfície de teste voltada para a cera. (C) Tubo plástico acoplado à tampa. (D) Fragmento de raiz incluído em resina poliéster. (E) Acabamento da resina de inclusão das amostras em Politriz..... 63
- Figura 4.3 – Distribuição das amostras nas placas de cultivo..... 69
- Figura 4.4 – Placas de cultivo embaladas com amostras esterilizadas..... 70
- Figura 4.5 – Fotografia de colônias de *Streptococcus mutans* reativadas pela técnica do esgotamento em placa de Petri contendo meio de cultura BHI ágar com sacarose..... 72
- Figura 4.6 – Fotografia mostrando a aderência bacteriana das culturas diluídas às paredes dos tubos de ensaio. De cima para baixo: 1:10, 1:100, 1:1000, 1:10000 e 1:100000..... 74

Figura 4.7 – Fotos ilustrativas do preparo para análise em microscopia de luz polarizada. (A) Cortes da amostra na região da lesão de cárie. (B) Fatias obtidas com o corte das amostras. (C) Fatia sendo lixada manualmente. (D) Recobrimento da fatia com quinolina sobre lâmina de vidro. (E) Posicionamento da lamínula e aplicação do esmalte de unhas para vedar o conjunto. (F) Lâmina pronta e identificada..... 78

Figura 5.1 – Fotomicrografias de polarização (aumento original 40X)..... 82

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1 –	Lista dos materiais restauradores utilizados.....	65
Tabela 5.1 –	Estatística descritiva das profundidades de lesões de cárie artificial em milímetros.....	83
Tabela 5.2 –	Estatística descritiva das profundidades de lesões de cárie artificial em porcentagem, A média aritmética calculada para os valores do grupo Controle Negativo foi considerada 100%.....	83
Tabela 5.3 –	Teste de Normalidade de Lilliefors.....	84
Tabela 5.4 –	Análise estatística: Testes ANOVA e Tukey.....	85
Tabela 5.5 –	Resultados expressos em porcentagem relativa à média da profundidade das lesões de cárie artificial desenvolvidas nas amostras do grupo controle negativo, que foi considerado 100%.....	86

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

pH	Potencial Hidrogeniônico
EGM	Estreptococos do grupo mutans
PEC	Polissacarídeos Extracelulares
PIC	Polissacarídeos Intracelulares
S.	<i>Streptococcus</i>
H ⁺	Hidrogênio
CIV	Cimento de Ionômero de Vidro
CIV-RM	Cimento de Ionômero de Vidro Resino-Modificado
HEMA	2-hidroxietil metacrilato
BisGMA	Bis-fenol A-polietileno glicol dieter dimetacrilato
TEGDMA	Trietileno-glicol-dimetacrilato
UDMA	Dimetacrilato uretano
MDPB	Brometo de metacriloiloxidodecilpiridínio
MIC	Mínima Concentração Inibitória
MDP	10-metacriloiloxidecil dihidrogênio fosfato
PPRF	Resina Pré-Polimerizada de Preenchimento
JAC	Junção Cimento-Esmalte
IAD	Instrumento Abrasivo Diamantado
NaF	Fluoreto de Sódio
BHI	<i>Brain Heart Infusion</i> / Infuso Cérebro Coração
CO ₂	Dióxido de Carbono
UFC	Unidades Formadoras de Colônia

LISTA DE SÍMBOLOS

°C	Graus Celsius
nm	Nanômetro
mm	Milímetro
µm	Micrometro
%	Porcentagem
mL	Mililitro
mW/cm ²	Mili Watts por Centímetro Quadrado
µl	Micro Litro
µg/ml	Micro-grama por Microlitro
A ₅₅₀	Densidade Óptica no comprimento de onda de 550
nm	nanômetros
>	Maior que
<	Menor que
≤	Menor ou igual que
±	Mais ou menos
UFC/mL	Unidades Formadoras de Colônia por mililitro

SUMÁRIO

	p.
1	
INTRODUÇÃO	19
2	
REVISÃO DA LITERATURA	21
2.1	
Cárie Dentária	21
2.2.1	
Cárie Radicular	26
2.2	
Cimento de ionômero de vidro resino-modificado	31
2.3	
Resinas compostas com atividade antibacteriana	36
2.4	
Sistemas adesivos com atividade antibacteriana	41
2.5	
MDPB	43
2.5.1	
Incorporação de MDPB às resinas compostas	46
2.5.2	
Incorporação de MDPB a sistemas adesivos dentinários	51
2.6	
Indução de cárie in vitro pelo modelo bacteriano	56
3	
PROPOSIÇÃO	59
4	
MATERIAL E MÉTODOS	60
4.1	
Grupo amostral	60
4.2	
Preparo das amostras	60
4.3	
Preparo das cavidades	63
4.4	
Materiais restauradores	64

4.4.1	Preparo da resina e do adesivo experimentais.....	66
4.5	Grupos experimentais.....	66
4.6	Ciclagem térmica.....	68
4.7	Desafio cariogênico.....	69
4.8	Mensuração da profundidade das lesões.....	76
4.9	Análise estatística.....	80
5	RESULTADOS.....	81
6	DISCUSSÃO.....	87
7	CONCLUSÕES.....	97
	REFERÊNCIAS.....	98
	ANEXOS.....	110

1 INTRODUÇÃO

O aumento da expectativa de vida e do tempo de manutenção dos dentes em boca tornou necessária atenção especial ao aumento da incidência e da prevalência de cárie de raiz, já que o risco de desenvolvimento deste tipo de lesão aumenta com a exposição radicular. Devido aos desafios que tratamentos restauradores de lesões radiculares apresentam – como dificuldade de acesso, proximidade da polpa e da margem gengival, controle de umidade e o alto conteúdo orgânico da dentina – o fracasso destes procedimentos frequentemente leva à formação de cáries secundárias.

É importante, para manutenção da saúde bucal, prover materiais restauradores dentais com atividade antibacteriana e, assim, prevenir os efeitos nocivos causados pelas bactérias bucais. Por este ponto de vista, numerosas tentativas de produzir sistemas adesivos dentinários e materiais restauradores que apresentem atividade antibacteriana têm sido realizadas.

Agentes antibacterianos solúveis acrescentados à matriz resinosa exposta a um ambiente úmido têm a tendência de serem liberados pelo material restaurador. Comumente, uma grande quantidade destes agentes é liberada em poucos dias, seguindo-se uma dramática diminuição de sua concentração. Portanto, a imobilização do agente antimicrobiano na matriz resinosa tem sido um desafio na modificação dos materiais restauradores. Com este propósito, Imazato et al. (1994) apresentaram o monômero brometo de metacrilóiloxidodecílpiridínio (MDPB), com efeito antibacteriano e capacidade de co-polimerizar com outros monômeros. Acrescentado a materiais resinosos – resinas compostas e sistemas adesivos – o

MDPB demonstrou significativa atividade na inibição do crescimento bacteriano e do acúmulo de biofilme formado por *Streptococcus mutans* em sua superfície.

O efeito do MDPB sobre o *S. mutans* está estabelecido. Na sequência da análise deste monômero antibacteriano, este estudo *in vitro* visa analisar a ação de um sistema adesivo – *primer* e adesivo – e de uma resina composta, ambos contendo MDPB, na prevenção da formação de cárie secundária em raízes dentais humanas restauradas.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Cárie Dentária

A cárie dentária é uma doença oportunista, de caráter multifatorial, fortemente influenciada pelos carboidratos da dieta e pela ação dos componentes salivares. O aparecimento das lesões de cárie é o sinal patognomônico da atividade desta doença, que é medida pela presença de biofilme bacteriano. Para que o biofilme comporte-se de maneira cariogênica, é preciso que ocorra durante determinado período a interação em condições críticas de diversos fatores normalmente presentes nesse ecossistema. O evento mais crucial para desencadear o processo cariioso é a seleção e dominância de certos grupos de micro-organismos específicos, ácidos tolerantes. Nessas condições, pode ocorrer queda substancial no pH do biofilme, agregando-lhe, desta forma, forte potencial desmineralizador.

Featherstone (2000) exemplificou o mecanismo da cárie dental da seguinte forma: (1) Bactérias acidogênicas do biofilme bucal fermentam carboidratos da alimentação produzindo ácidos orgânicos, inclusive lático, fórmico, acético e propiônico. (2) Estes ácidos difundem através do esmalte, dentina ou cemento, dissolvendo parcialmente os cristais minerais compostos de hidroxiapatita carbonada. (3) Minerais (cálcio e fosfato) difundem para fora do dente levando eventualmente à cavitação se o processo continuar. (4) A desmineralização pode ser

revertida com cálcio e fosfato associados ao flúor, que se depositam sobre os cristais remanescentes em lesões não cavidadas. (5) A nova superfície mineral é muito mais resistente ao ácido quando comparada à superfície original de hidroxiapatita carbonada. (6) O processo de desmineralização e remineralização ocorre geralmente várias vezes ao dia, levando à cavitação, reparo e reversão ou manutenção do *status quo*.

A cárie dental é a doença infecciosa que mais comumente afeta os humanos. As evidências de experiências com animais e de estudos epidemiológicos com humanos indicam que os estreptococos do grupo mutans (EGM) são os principais agentes etiológicos de cáries de esmalte e cáries de raiz (GIBBONS; COHEN; HAY, 1986; LOESCHE, 1986; van HOUTE, 1980). São conhecidas sete espécies de EGM com heterogeneidade genética. Dentre os EGM, *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus* são principais os principais agentes causadores de cárie em humanos (BALAKRISHNAN; SIMMONDS; TAGG, 2000).

Segundo van Houte (1980), a cárie induzida pelo *Streptococcus mutans* é mais severa que a causada por outras espécies de estreptococos. Estudos epidemiológicos demonstraram que populações com alta incidência de cárie têm índices de *Streptococcus mutans* relativamente mais altos do que populações com baixa incidência de cárie.

Os EGM são encontrados principalmente no biofilme dental. Os dentes molares são mais colonizados que os dentes anteriores e as fissuras destes dentes são mais suscetíveis à colonização do que as faces proximais, vestibular e lingual. Também, com exceção das faces oclusais, dentes com restaurações abrigam mais EGM que aqueles com esmalte intacto (BALAKRISHNAN; SIMMONDS; TAGG, 2000). Lesões de cárie se desenvolvem em locais em que exista a possibilidade de

o biofilme amadurecer e permanecer por períodos prolongados, portanto lesões cárias ocorrem preferencialmente em superfícies oclusais, faces interproximais abaixo do ponto de contato, junto à margem gengival e, quando exposta, na junção cimento–esmalte (FEJERSKOV, 2004).

A presença de EGM, açúcares (especialmente sacarose) e a susceptibilidade da superfície dental são fatores importantes no desenvolvimento de cáries. Os EGM possuem propriedades que os permite serem predominantes no biofilme dental e induzir o desenvolvimento da cárie. Estas características são: síntese de polissacarídeos extracelulares, acidogenicidade (produção de ácidos), aciduricidade (habilidade de sobreviver em meios ácidos), síntese de polissacarídeos intracelulares e produção de endodextranase (BALAKRISHNAN; SIMMONDS; TAGG, 2000). EGM podem fermentar vários açúcares para produzir ácido láctico. O ácido láctico é o mais importante ácido envolvido na etiologia da cárie dental (BECKER et al., 2002), já que é o ácido mais forte produzido em altas quantidades pelos EGM. A ação do ácido láctico sobre o cálcio presente nos cristais de hidroxiapatita na superfície do dente pode causar a desmineralização. Valores de pH abaixo de 5 são considerados críticos para a desmineralização do esmalte. Se a exposição ao açúcar for frequente, o índice de desmineralização do dente irá exceder o índice de remineralização e a cárie irá ocorrer. Se a exposição ao açúcar é limitada, o índice de remineralização do dente irá superar o índice de desmineralização e o desenvolvimento da cárie será contido (BALAKRISHNAN; SIMMONDS; TAGG, 2000). Outros ácidos orgânicos não agem sobre o cálcio com a mesma intensidade, então não promovem o mesmo grau de desmineralização que o ácido láctico. O nível de colonização no biofilme por EGM é aumentado pelo consumo de sacarose. Estas bactérias sintetizam certas macro-moléculas da

sacarose que favorecem sua fixação ao dente (TANZER; LIVINGSTON; THOMPSON, 2001). Outros açúcares, além da sacarose, como glicose e lactose, também podem induzir a formação de cáries. Apesar disso, estes açúcares são menos cariogênicos do que a sacarose porque, além de ser convertida em metabólicos ácidos, a sacarose é unicamente utilizada na síntese de polissacarídeos extracelulares (PEC). O amido é menos cariogênico do que outros açúcares porque não difunde imediatamente para dentro do biofilme e não é prontamente hidrolisado. Na presença de carboidratos, não necessariamente sacarose, alguns EGM sintetizam polissacarídeos intracelulares (PIC) que se assemelham ao glicogênio. Quando não existem carboidratos exógenos, PIC podem ser metabolizados levando à contínua produção de ácidos. Estudos têm demonstrado que *S. mutans* que não possuem a habilidade de sintetizar PIC, apesar de ainda serem aptos a colonizar dentes de ratos, são relativamente menos cariogênicos que a cepa mãe. Contudo, *Streptococcus sobrinus* não sintetizam PIC (BALAKRISHNAN; SIMMONDS; TAGG, 2000).

A estrutura dos biofilmes desenvolvidos na presença de glicose ou sacarose difere. Na presença de sacarose as bactérias formam grandes agregados graças à produção de glucanos extracelulares – importantes no desenvolvimento de uma arquitetura de biofilme madura – embora o *S. mutans* se desenvolva com índice exponencial semelhante em ambos os açúcares. O tempo de sobrevivência do *S. mutans* no biofilme em regimes de restrição de glicose e sacarose é semelhante, apesar das estruturas de biofilme diferentes, que indicam que a sobrevivência não depende da arquitetura ou da agregação bacteriana (RENYE et al., 2004).

Os EGM podem desenvolver-se em baixos valores de pH (TAKAHASHI; YAMADA, 1999; TANZER; LIVINGSTON; THOMPSON, 2001). Alguns se

desenvolvem em pH inferior a 4. Estes estreptococos produzem altas quantidades de ATPase associada à membrana, capazes de atuar em baixo pH, que ajudam a bombear íons de H⁺ da célula reduzindo a acidificação intracelular (BALAKRISHNAN; SIMMONDS; TAGG, 2000).

A cárie pode ser sub-dividida em categorias: cárie de superfície lisa, de fissura, de esmalte, cárie de dentina, cárie secundária, cárie infantil e cárie de raiz. Outras divisões podem ser descritas clínica e histologicamente. Para todas estas categorias de cáries o mecanismo de ação é basicamente o mesmo: mineral é perdido pelo ataque de ácidos produzidos por bactérias. Se a desmineralização continua, ocorre a formação de uma cavidade, independente da forma ou da posição do dente na cavidade bucal (FEATHERSTONE, 2004).

Cáries secundárias são a maior causa de troca de restaurações (KIDD, 2001; MJÖR; TOFFENETTI, 2000). Bactérias da cavidade bucal que invadam o espaço entre dente e restauração podem causar cáries secundárias (GONZALES-CABEZAS et al., 1995; KIDD; TOFFENETTI; MJÖR, 1992) e danos à polpa (BROWNE; TOBIAS, 1986). Para manutenção da saúde bucal é importante prover materiais restauradores com componentes antibacterianos, que possam agir na prevenção de efeitos deletérios causados por micro-organismos bucais. Buscando atingir este propósito, muitas tentativas de desenvolver sistemas adesivos e materiais restauradores com ação antibacteriana tem sido desenvolvidas (BEYTH et al., 2006; BUERGERS et al., 2009; EHARA et al., 2000; HIRAISHI et al., 2008; MONTANARO et al., 2004; SYAFI UDDIN et al., 1997; TAKAHASHI et al., 2006; TANAGAWA et al., 1999; TÜRKÜN et al., 2008; YOSHIDA et al., 1999).

2.1.1 Cárie Radicular

O aumento na expectativa de vida e na manutenção dos dentes em pacientes idosos trouxe atenção especial nos cuidados à saúde bucal deste grupo etário. Apesar de as lesões de cárie se desenvolverem mais comumente em coroas dentais, a prevalência de cáries radiculares é significativa, especialmente na população idosa (BALAKRISHNAN; SIMMONDS; TAGG, 2000). A cárie radicular é uma patologia de especial importância nesta faixa etária, uma vez que é considerada a principal causa de perdas dentais em adultos, problema que é agravado com o envelhecimento do indivíduo (BECK, 1993).

Indivíduos idosos são considerados de alto risco ao desenvolvimento de lesões de cárie radicular por apresentarem um amplo conjunto de fatores de risco, como perda óssea (GILBERT et al., 2001), xerostomia (SAUNDERS; HANDELMAN, 1992), uso de medicação (THOMSON et al., 2002), dentaduras parciais (JEPSON et al., 2001), perda de motricidade e dificuldade na compreensão de instruções de higiene bucal (CURZON; PRESTON, 2004).

McComb (1994) descreve a cárie radicular como uma doença multifatorial. Dentre os fatores relevantes para o desenvolvimento das lesões está a manutenção dental em indivíduos de idade avançada. Nos idosos, o risco de doenças periodontais é alto, o que poderia levar a recessão gengival e, conseqüentemente, exposição cementária. De fato, a exposição da raiz dental ao meio bucal causada por recessão gengival é um fator importante no desenvolvimento da cárie radicular (ELIASSON; KRASSE; SÖREMARK, 1992; KIDD, 1989; MCCOMB, 1994).

Apesar dos esforços em categorizar pacientes de acordo com o risco, existe uma limitação nesta organização devido à multiplicidade de fatores envolvidos no desenvolvimento da cárie radicular, especialmente nos pacientes idosos. No entanto, um grupo é facilmente classificado como de alto risco: os indivíduos que apresentam baixo fluxo salivar (CURZON; PRESTON, 2004). A xerostomia é outro fator que contribui para o aumento da suscetibilidade à cárie de raiz. Inúmeros fatores podem interferir na redução do fluxo salivar. Uso de medicamentos (como antidepressivos, diuréticos, anfetaminas, anti-hipertensivos, anti-histamínicos e tranquilizantes), tratamentos radioterápicos, disfunções das glândulas salivares, diabetes e fatores psicológicos, entre outros, podem determinar o desenvolvimento de xerostomia (BURGESS, 1995; KIDD, 1989; MOUNT, 1986).

A saliva atua como protetora da cavidade bucal contra agressões físicas e microbiológicas. Com a diminuição do fluxo salivar ocorre a limitação do efeito tampão da saliva e, conseqüentemente, a diminuição dos minerais disponíveis para remineralização tecidual (BURGESS, 1995). Outra conseqüência da xerostomia é o aumento do acúmulo de restos alimentares que pode levar ao aumento bacteriano e, logo, ao aumento da atividade cariogênica (WIDDOP, 1989).

O consumo de carboidratos fermentáveis também está diretamente relacionado à presença de lesões de cárie radicular. Existe uma correlação positiva entre a quantidade e frequência do consumo de carboidratos refinados e o desenvolvimento da cárie radicular (WIDDOP, 1989). Quando a exposição ao açúcar é frequente, o processo de desmineralização dentária excede o de remineralização e a lesão cariiosa se desenvolve (BALAKRISHNAN; SIMMONDS; TAGG, 2000).

Contudo, um fator determinante para o desenvolvimento da cárie radicular é a presença de um biofilme cariogênico (ZAMBON; KASPRZAK, 1995). Ainda que o

biofilme dental seja constituído de numerosas espécies de bactérias, acredita-se que existam evidências consideráveis do envolvimento de EGM – especialmente *S. mutans* e *S. sobrinus* – e lactobacilos no desenvolvimento inicial e na progressão das lesões de cárie (BALAKRISHNAN; SIMMONDS; TAGG, 2000; BEIGHTON; LYNCH; HEATH, 1993; BROWN; BILLINGS; KASTER, 1986; ELLEN; BANTING; FILLERY, 1985; FURE et al., 1987; FURE; ZICKERT, 1990; GIBBONS; COHEN; HAY, 1986; LOESCHE, 1986; LYNCH; BEIGHTON, 1993; MARCOTTE; LAVOIE, 1998; MARSH, 2003; RAVALD; BIRKHED, 1992; SHEN; SAMARANAYAKE; YIP, 2004; TANZER; LIVINGSTON; THOMPSON, 2001; van HOUTE, 1980; ZAMBON; KASPRZAK, 1995).

A cárie induzida por EGM é mais severa que a causada por outras espécies de estreptococos. Experiências com animais e estudos epidemiológicos com humanos indicam que os *Streptococcus mutans* são os principais agentes etiológicos de cáries de esmalte e cáries de raiz e que populações com alta incidência de cárie têm índices de EGM relativamente mais altos do que populações com baixa incidência de cárie (van HOUTE, 1980). Segundo Bowden (1990), um aumento na proporção de *Streptococcus mutans* foi observado antes do desenvolvimento de lesões de cáries radiculares ou quando estas lesões tornaram-se ativas. O número de *S. mutans* encontrado em superfícies de lesões iniciais de cárie radicular é maior do que em lesões radiculares avançadas (BROWN; BILLINGS; KASTER, 1986).

Brown, Billings e Kaster (1986) realizaram uma comparação quantitativa dos microorganismos potencialmente cariogênicos encontrados em superfícies cariadas ou não de raízes e coroas dentais. As frequências do isolamento de *Streptococcus mutans* foram 94% em raízes não cariadas; 98% em lesões de cárie de raiz; 84%

em esmalte não cariado; 100% em lesões de cárie em esmalte e representaram a maior proporção do total de microorganismos anaeróbios cultivados no biofilme.

Considerando os nichos ecológicos de desenvolvimento dos EGM, sabe-se que a contagem destes micro-organismos e a frequência de seu isolamento em lesões radiculares estão negativamente relacionadas à distância em que se encontram da margem gengival. Quando a lesão cariosa está localizada próxima à margem gengival, EGM são isolados em praticamente 100% das lesões (BEIGHTON; LYNCH; HEATH, 1993). Este achado indica que a concentração de EGM na margem subgengival é relativamente alta. Portanto, a possibilidade de que estas bactérias invadam o sulco gengival é real, uma vez que este ambiente é propício para seu desenvolvimento (van REIJDEN et al., 2001).

O mecanismo de formação de cáries de raiz – descrito por Featherstone (2000) – ocorre pela ação de ácidos orgânicos (lático, acético e propiônico), que são produtos do metabolismo de bactérias do biofilme dental. Os ácidos difundem-se na subsuperfície dos tecidos dentais causando inicialmente desmineralização e exposição das fibras de colágeno (WEFEL; CLARKSON; HEILMAN, 1985). Considerando-se a composição orgânica da dentina, estudos têm demonstrado que o processo cariioso em raízes envolve tanto desmineralização quanto colapso da matriz orgânica (FRANK, 1990). O colágeno exposto está suscetível ao colapso por enzimas derivadas de bactérias, levando à rápida cavitação e decomposição da dentina na raiz dentária (CLARKSON; WEFEL; FEAGIN, 1986; KAWASAKI; FEATHERSTONE, 1997).

Apesar da alta solubilidade da dentina e do cemento, e da intensa penetração bacteriana, a progressão da cárie radicular ocorre de forma lenta. Com o avanço da idade, ocorre a diminuição no número de túbulos dentinários e a maior

mineralização da dentina radicular (FEJERSKOV; NYVAD, 1996). Outro fator que contribui para a redução da velocidade de progressão da cárie de raiz é a formação de um biofilme mais fino sobre a superfície radicular, possibilitando um melhor acesso salivar e, conseqüentemente, facilitando a deposição de minerais (NYVAD; FEJERSKOV, 1982).

Estudos focados em cárie radicular devem considerar o comportamento da dentina frente ao processo cariioso. Em muitos casos, o cemento já foi perdido por abrasão ou outros fatores iatrogênicos (FRANK, 1990). A dentina, devido ao seu menor conteúdo mineral, é mais suscetível a danos irreversíveis do processo cariioso quando comparado ao esmalte. O pH crítico para a superfície radicular é mais alto que para o esmalte. Enquanto o pH crítico para esmalte é frequentemente citado como em torno de 5,5, para a superfície radicular o pH crítico é de aproximadamente 6, tornando-a mais solúvel (HOPPENBROUWERS; DRIESSENS; BORGGREVEN, 1987, 1986).

Tratamentos restauradores para cáries radiculares requerem especial atenção do cirurgião dentista por apresentarem dificuldades de acesso e controle de umidade, proximidade com a polpa e margem gengival e ao alto componente inorgânico da dentina (LYNCH; BAYSAN, 2001). Falhas no tratamento restaurador podem levar à ocorrência de cáries secundárias.

2.2 Cimento de ionômero de vidro resino-modificado

Por muitos anos, os cimentos de ionômero de vidro (CIVs) têm sido usados como materiais restauradores para cavidades em raízes dentais. Este material apresenta a habilidade de reduzir a penetração bacteriana – provavelmente por sua adesão à estrutura dentária, liberação de flúor e baixo pH inicial. Os CIVs são considerados superiores a outros materiais restauradores em termos de inibição da incidência de lesões cariosas na interface dentina-restauração (GRIFFIN; DONLY; ERICKSON, 1992).

Desenvolvido no final da década de 60 – mas tendo seu primeiro relato na literatura em 1972, por Wilson e Kent – o cimento de ionômero de vidro foi formulado na tentativa de desenvolver um material com múltiplas aplicações na clínica odontológica como: restaurações de dentes anteriores e erosões, cimentação e forramento. Em sua fórmula original, o CIV consistia de uma solução aquosa de ácido poliacrílico em uma concentração de 45% que reagia com o pó composto de vidro de cálcio flúbuocaluminiosilicato. Desta forma, o CIV agregou as características favoráveis do pó do cimento de silicato (ligeiramente modificado) às do ácido poliacrílico (WILSON; KENT, 1972).

Uma das vantagens dos CIVs na restauração de cáries radiculares é sua habilidade de liberação de flúor, aumentando a resistência ao ataque cariogênico (GILMOUR; EDMUNDS; NEWCOMBE, 1997). Os CIVs liberam quantidades significantes de flúor (FORSTEN, 1994) e demonstraram reduzir a formação de cáries adjacentes às restaurações *in vivo* (MJÖR; JOKSTAD, 1993).

Atualmente sabe-se que o padrão de liberação de flúor em função do tempo apresenta um grande volume de liberação após a realização da restauração e decresce rapidamente nos próximos 5-10 dias. Com o passar do tempo, esta liberação atinge um nível constante por um período prolongado (CREANOR et al., 1994; SVANBERG; MJÖR; QRSTAVIK, 1990; ten CATE; van LOVEREN, 1999).

Os CIVs apresentam propriedades anticariogênicas por sua habilidade de liberar flúor. Embora, baixas concentrações de flúor não sejam capazes de eliminar a população bacteriana da cavidade bucal, estas podem alterar o metabolismo bacteriano com uma concomitante queda na produção ácida (van LOVEREN, 1990).

Além da liberação de flúor, os CIVs possuem: ação bactericida (podendo ser usados para reduzir a viabilidade de bactérias residuais) (BOTELHO, 2003); adesão química ao esmalte e à dentina; mínima alteração dimensional (MCCOMB, 1994); coeficiente de expansão térmica semelhante ao do dente e biocompatibilidade ao contato com a polpa dentária (MOUNT, 1999).

Superfícies de restaurações realizadas com CIVs convencionais têm demonstrado atividade antibacteriana contra bactérias cariogênicas por pelo menos uma semana (DAVIDOVICH et al., 2007). Avaliações das margens de restaurações realizadas com CIV têm demonstrado baixos níveis de *S. mutans* e biofilme, o que sugere que o biofilme formado em restaurações de CIV apresenta menor potencial para o desenvolvimento de lesões de cárie secundária (SVANBERG; MJÖR; QRSTAVIK, 1990).

Gilmour, Edmunds e Newcombe (1997) avaliaram a efetividade de um CIV convencional comparado a uma resina composta quando submetidos a um sistema bacteriano de indução de cárie. Os autores encontraram que o CIV foi bem sucedido na redução da formação de cárie na superfície de raízes adjacentes ao material

restaurador. Os autores atribuem este resultado à liberação de flúor e à melhor integridade marginal do CIV quando comparado à resina composta. A profundidade das lesões externas foi significativamente menor adjacente ao CIV e lesões de parede foram significativamente mais prevalentes adjacentes à resina composta.

Ainda que apresentem importantes propriedades (adesão aos tecidos dentais, liberação de flúor e isolamento térmico), os CIVs se mostravam pouco resistentes para serem usados como material restaurador definitivo. Seu alto potencial de solubilidade impedia que suas propriedades mecânicas alcançassem um padrão satisfatório (SWIFT, 1988). Outras questões a serem aperfeiçoadas eram tempo de trabalho restrito, longo tempo de presa e sensibilidade à umidade (MCLEAN; NICHOLSON; WILSON, 1994). Além disso, a alta opacidade do cimento inviabilizava seu uso em regiões onde a estética fosse necessária (GUGGENBERGER; MAY; STEFAN, 1998).

Na tentativa de aprimorar as propriedades mecânicas e estéticas dos CIVs, monômeros resinosos foram acrescentados do líquido do CIV. Como resultado, o produto desenvolvido – denominado cimento de ionômero de vidro resino-modificado (CIV-RM) – apresenta características de ambos, CIVs convencionais e resinas compostas. Os CIV-RMs são formulados com uma base de pó vítreo com íons liberáveis e um ácido polimérico solúvel em água, como um ácido poliacrílico. Além disso, contém monômeros orgânicos, tipicamente 2-hidroxietil metacrilato (HEMA), e um sistema iniciador (MCLEAN; NICHOLSON; WILSON, 1994). Os iniciadores incorporados aos CIV-RMs são geralmente fotossensíveis; portanto, a maioria dos CIV-RMs devem ser fotoativados (NICHOLSON; CZARNECKA, 2008). Cimentos de ionômero de vidro modificados por resina apresentam duas reações de presa, ou seja, reação dual de presa. Uma reação ocorre quando o material é estimulado com

luz no comprimento de onda de 470 nm. A outra reação acontece através de uma reação ácido-base quando pó e líquido são misturados, e continua depois da fotoativação, até atingir a completa maturação (BOURKE; WALLS; MCCABE, 1992; WILSON, 1990).

Originalmente, os CIV-RMs foram formulados para serem usados como materiais base ou forradores. No entanto, os CIV-RMs modernos são utilizados com sucesso como material restaurador, e apresentam bons resultados – quanto à retenção e integridade marginal – em estudos clínicos (FRANCO et al., 2006; LOGUERCIO et al., 2003).

A formulação dos CIV-RMs acrescentou ao material um melhor padrão de translucidez, permitindo o uso do material em áreas em que a estética é desejada. Além disso, CIV-RMs apresentam lisura superficial e resistência à flexão, à compressão, ao desgaste e à tração superiores quando comparados aos CIV convencionais (BURGESS, 1995; GUGGENBERGER; MAY; STEFAN, 1998). Eles também apresentam menor sensibilidade à umidade durante a reação de presa.

CIV-RMs apresentam adesão química à dentina, liberam flúor em quantidades comparáveis aos CIVs convencionais (BURGESS, 1995; ROBERTELLO et al., 1999) e são geralmente capazes aderir fortemente ao esmalte e à dentina – o que determina características de inibição de lesões cariosas (SCHERER; LIPPMAN; KAIM, 1989). Além do flúor, outros íons – cálcio, sódio, estrôncio, fósforo, alumínio e silício – também são liberados. Estes íons são os mesmos liberados pelos CIVs convencionais; entretanto, os níveis de fósforo liberados pelo CIV-RMs são muito inferiores aos encontrados para os CIVs convencionais (CZARNECKA; NICHOLSON, 2006).

Os CIV-RMs apresentam potencial mais alto na inibição de cáries secundárias em raízes do que resinas compostas liberadoras de flúor (TORII et al., 2001). Por estas características, os CIV-RMs são considerados a primeira opção na restauração de lesões cervicais que se estendam à raiz (ELIASSON; KRASSE; SÖREMARK, 1992; FORSTEN, 1994).

Mesmo quando polimerizado de acordo com as instruções dos fabricantes, CIV-RMs são capazes de liberar o monômero HEMA (hidróxido-etil-metacrilato). Este monômero pode se difundir através da dentina até a polpa e, uma vez chegando até a polpa, pode levar a uma variedade de efeitos biológicos nocivos – de persistentes inflamações à sensibilidade e potenciais reações alérgicas no paciente. No entanto, existem muito poucos relatos de efeitos adversos atribuídos aos CIV-RMs (NICHOLSON; CZARNECKA, 2008).

Quando o CIV-RM é comparado à resina composta na restauração de lesões não cariosas, o primeiro tem apresentado melhor desempenho clínico. Loguercio et al. (2003), avaliando a longevidade de restaurações de lesões cervicais não cariosas restauradas com CIV-RM, encontraram um índice de retenção de 93% para este material após 5 anos. Semelhantemente, Franco et al. (2006) compararam a retenção de restaurações de lesões não cariosas realizadas com CIV-RM e resina composta após 5 anos. As restaurações realizadas com CIV-RM apresentaram desempenho clínico superior quanto à retenção e à integridade marginal quando comparadas às restaurações de resina.

Apesar de sua característica anticáries e de apresentarem bons índices de retenção na literatura, o principal problema quanto ao uso dos CIV-RMs está relacionado à estética. Os CIV-RMs apresentam pouca estabilidade de cor (BROWNING; BRACKETT; GILPATRICK, 2000; LOGUERCIO et al., 2003;

MANEENUT; TYAS, 1995) e alguns autores sugerem a compensação desta deficiência com a aplicação de um incremento final de resina composta sobre a restauração de CIV-RM (BROWNING; BRACKETT; GILPATRICK, 2000).

Além da liberação de flúor por muitos materiais restauradores, incluindo CIV, CIV-RMs, compósitos poliácido–modificados (compômeros), compósitos e amálgama (WIEGAND; BUCHALLA; ATTIN, 2007), outros agentes antibacterianos têm sido acrescentados a materiais restauradores na tentativa de prevenir a formação de lesões de cárie secundária. No entanto, a grande maioria destes componentes antibacterianos é solúvel. Agentes antimicrobianos solúveis, acrescentados à matriz resinosa, e expostos a um meio úmido têm a tendência de serem liberados do material restaurador. Geralmente, grandes quantidades destes agentes são liberadas nos primeiros dias, seguindo-se uma dramática queda de sua concentração. Assim, a imobilização do agente antibacteriano na matriz resinosa do compósito tem sido um desafio na modificação dos materiais restauradores.

2.3 Resinas compostas com atividade antibacteriana

Devido à alta frequência de cáries recorrentes após tratamentos restauradores, muita atenção tem sido dada aos efeitos terapêuticos dos materiais restauradores diretos. O efeito de liberação de flúor é uma importante característica na prevenção de cárie secundária. Ainda assim, a adição de componentes antibacterianos a materiais restauradores é desejada para que estes possam prevenir os efeitos nocivos de micro-organismos bucais (IMAZATO, 2003). Estes

materiais poderiam atuar prevenindo a reincidência de cáries (MJÖR, 1998; WILSON; BURKE; MJÖR, 1997).

O diagnóstico clínico de cárie secundária é, atualmente, a razão mais comum para troca de restaurações dentais (KIDD, 2001; MJÖR; TOFFENETTI, 2000). Devido à alta frequência de cáries recorrentes após tratamentos restauradores (MJÖR, 1998; WILSON; BURKE; MJÖR, 1997), vem sendo dada muita atenção aos efeitos terapêuticos manifestados por materiais restauradores diretos. A remineralização pela liberação de flúor é representativa, mas o efeito antibacteriano é outra propriedade importante porque a inativação da bactéria é um modo direto de erradicar a causa da cárie dental. Por este ponto de vista, numerosas tentativas de produzir sistemas adesivos dentinários e materiais restauradores que apresentem atividade antibacteriana têm sido realizadas (IMAZATO, 2003).

Restaurações dentais estéticas consistem de dois componentes fundamentais: um compósito para o preenchimento da cavidade e um sistema adesivo aplicado antes do material de preenchimento para garantir a união entre os tecidos dentais e o material restaurador. As propriedades antibacterianas destes dois materiais possuem diferentes funções na prevenção dos efeitos nocivos causados por bactérias cariogênicas. Os efeitos antibacterianos dos compósitos são principalmente importantes na inibição do acúmulo de biofilme na superfície do material e no tecido dentário em torno da restauração. Em contraste, para sistemas adesivos, os efeitos antibacterianos são mais importantes na desinfecção da cavidade e inativando bactérias que microinfiltram na interface dente-restauração (IMAZATO, 2003).

Testes de disco-difusão em ágar têm sido utilizados para investigar a atividade antibacteriana de compósitos após a polimerização. A maioria dos estudos mostra que resinas compostas polimerizadas não liberam componentes antibacterianos, portanto não há a formação de halo de inibição de crescimento bacteriano. Este resultado não é surpreendente, uma vez que os componentes de resinas compostas em baixa concentração demonstram pouco ou nenhum efeito bacteriostático/bactericida contra bactérias bucais. O íon metálico zircônio que é adicionado à partícula de preenchimento para produzir radiopacidade não apresenta efeito inibitório contra *S. mutans*, mesmo quando utilizado em alta concentração. A carga sílica adicionada a compósitos é inerte e não apresenta atividade antibacteriana. Quanto aos monômeros frequentemente incorporados em resinas compostas, embora o metil-metacrilato apresente uma pequena atividade antibacteriana, bis-fenol A-polietileno glicol dieter dimetacrilato (Bis-GMA), trietileno-glicol-dimetacrilato (TEGDMA) e dimetacrilato uretano (UDMA) não apresentam efeito antibacteriano contra *S. mutans* (IMAZATO, 2003).

A ausência de componentes antibacterianos em resinas compostas faz com que este material não seja capaz de inibir o acúmulo de biofilme bacteriano na superfície de restaurações. Esta característica diferencia compósitos de CIVs, que apresentam alguma atividade antimicrobiana pela liberação de flúor. Desta forma, um maior acúmulo de bactérias ocorre sobre resinas compostas do que sobre CIVs (FORSS et al., 1991).

Resinas compostas com capacidade de liberar flúor foram desenvolvidas e lançadas comercialmente por diversas empresas. No entanto, a quantidade de flúor liberado por esses compósitos é menor que a quantidade liberada por CIVs, não sendo efetiva na inibição bacteriana (MOMOI; MCCABE, 1993).

Dois métodos são utilizados na tentativa de modificar materiais resinosos: a adição de agentes antimicrobianos solúveis e a imobilização de componentes antibacterianos na matriz resinosa.

A adição de agentes antimicrobianos solúveis à matriz resinosa é um modo simples de obter-se uma liberação do agente quando o material está em ambiente úmido. Este é o método utilizado para a adição de clorexidina a resinas compostas.

Na tentativa de suprir compósitos com atividade antibacteriana, autores concentraram-se em incorporar clorexidina à resina composta. Forte atividade antibacteriana foi observada devido à liberação do agente antibacteriano (JEDRYCHOWSKI; CAPUTO; KERPER, 1983). No entanto, embora um forte efeito contra bactérias tenha sido obtido, a atividade antibacteriana diminuiu significativamente com o tempo (RIBEIRO; ERICSON, 1991).

Além da diminuição da ação antibacteriana com o tempo, as tentativas de incorporar agentes antimicrobianos na fase monomérica envolvem alterações adversas nas propriedades mecânicas dos compósitos, e este fenômeno também foi observado para a incorporação de clorexidina em resinas compostas (JEDRYCHOWSKI; CAPUTO; KERPER, 1983;. RIBEIRO; ERICSON, 1991). Esta alteração nas propriedades das resinas compostas pode ser causada por uma perturbação da polimerização de monômeros ou por uma interferência na união de carga e matriz pela incorporação do agente. Além disso, a liberação de agentes produz poros no material restaurador, fazendo com que as propriedades mecânicas dos compósitos sejam diminuídas com o passar do tempo (IMAZATO, 2003).

Outro método para o suprimento de resinas compostas com agentes antibacterianos é a imobilização do componente antimicrobiano na matriz resinosa (Figura 2.1). Este modelo específico permite a obtenção de um compósito

antibacteriano do qual nenhum componente antibacteriano é liberado. Entre as vantagens deste método de incorporação de agentes antibacterianos a resinas compostas está a longa duração do efeito antimicrobiano. Além disso, não ocorrem influências nas propriedades mecânicas e na capacidade de polimerização da resina composta na qual o agente antibacteriano foi imobilizado na matriz resinosa (IMAZATO, 2003; IMAZATO et al., 1994).

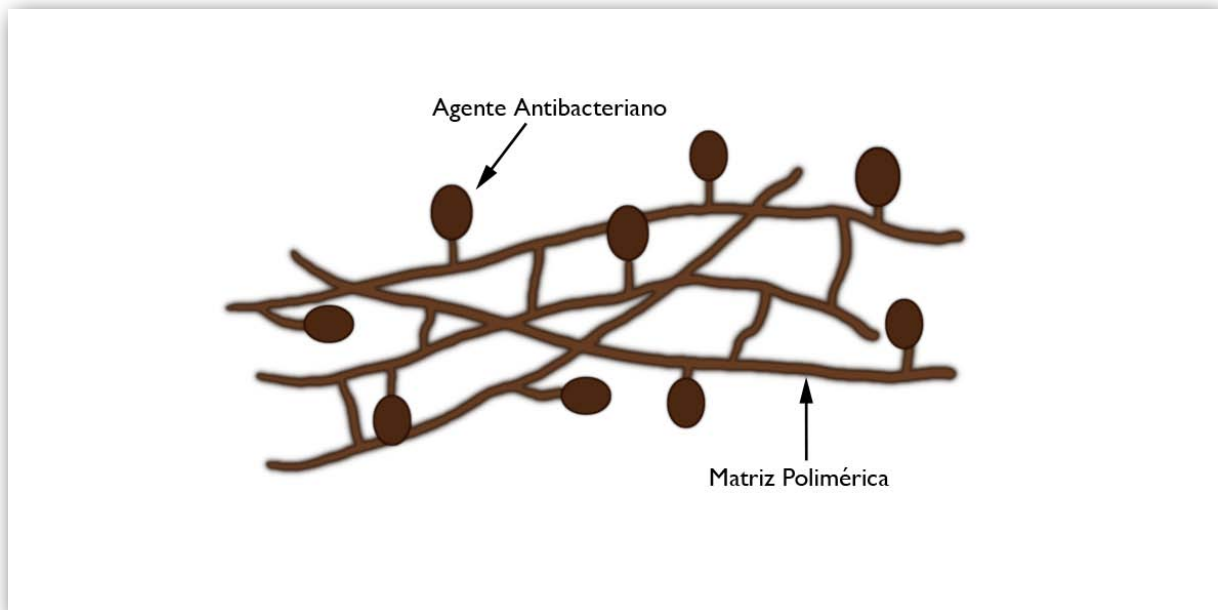


Figura 2.1 – Ilustração da imobilização de um componente antibacteriano em uma matriz polimérica pela co-polimerização de um monômero antibacteriano (adaptado de Imazato, 2003)

O agente antibacteriano imobilizado na matriz resinosa apresenta efeito inibitório apenas contra bactérias que venham ao contato com as moléculas do agente antibacteriano imobilizado. Ainda que a inibição do acúmulo de biofilme bacteriano na superfície do material restaurador reduza a quantidade total de bactérias em torno da restauração, o efeito do agente imobilizado não é capaz de atingir a área em torno da restauração. A ação é principalmente bacteriostática, uma vez que o agente antibacteriano imobilizado não penetra pela parede ou membrana celular como fazem agentes antimicrobianos livres (IMAZATO, 2003).

Na tentativa de desenvolver um compósito com atividade antibacteriana, mas sem a liberação de componentes, um monômero foi sintetizado.

2.4 Sistemas adesivos com atividade antibacteriana

Durante a restauração cavitária, sistemas adesivos que apresentam efeito antibacteriano podem ser especialmente úteis na inativação de bactérias residuais. Uma vez realizada a restauração, a ação antibacteriana em sistemas adesivos pode ser importante na inativação de bactérias que microinfiltram pela interface dente-restauração. Para tanto, é importante que a atividade antibacteriana de sistemas adesivos ocorra com o material não polimerizado e continue após a polimerização.

Muitos estudos têm investigado a capacidade anticariogênica de componentes de sistemas adesivos (EMILSON; BERGENHOLTZ, 1993; FELTON; BERGENHOLTZ; COX, 1989; IMAZATO; IMAI; EBISU, 1998; IMAZATO et al., 2002; ROLLAND et al., 2006; SCHERER; COOPER; ANTONELLI, 1990). Sistemas adesivos são materiais resinosos e os monômeros que constituem estes materiais apresentam pouca ou nenhuma atividade antibacteriana. No entanto, componentes específicos incluídos a alguns sistemas adesivos têm demonstrado efeito antibacteriano. Um componente que tem apresentado atividade antibacteriana é o glutaraldeído. Originalmente, o glutaraldeído foi incorporado a sistemas adesivos na intenção de promover adesão à dentina. No entanto, este produto é um potente desinfetante frequentemente utilizado para esterilização de instrumental odontológico. Os estudos que avaliaram sistemas adesivos com glutaraldeído pelo

método de disco-difusão em ágar encontraram zonas de inibição contra estreptococos, lactobacilos e actinomicetos (EMILSON; BERGENHOLTZ, 1993; SCHERER; COOPER; ANTONELLI, 1990).

Em estudo *in vivo* realizado em macacos, um sistema adesivo com glutaraldeído foi avaliado quanto à sua ação na eliminação de bactérias encontradas em cavidades que ficaram abertas ao meio bucal por 48 horas. Os achados histológicos demonstraram que o glutaraldeído foi capaz de eliminar completamente as bactérias que invadiram os túbulos dentinários (FELTON; BERGENHOLTZ; COX, 1989). Apesar dos efeitos positivos na eliminação de bactérias relacionadas à carie dental, o glutaraldeído foi eliminado da composição dos sistemas adesivos disponíveis atualmente.

Sistemas adesivos também podem apresentar efeitos antibacterianos em baixo pH (EMILSON; BERGENHOLTZ, 1993). É comum que monômeros promotores de adesão sejam incorporados em *primers* e adesivos na tentativa de se obter uma maior adesão ao substrato dentinário. Estes monômeros possuem um grupo hidrofílico em um dos extremos da molécula, geralmente ácido, como hidrogênio-fosfato ou carboxilato. *Primers* de sistemas adesivos autocondicionantes contêm quantidades especialmente grandes de monômeros ácidos para produzirem o condicionamento de esmalte e dentina, apresentando um pH menor que 3,0. Imazato, Imai e Ebisu (1998) observaram que alguns *primers* de sistemas adesivos autocondicionantes eram capazes de eliminar *S. mutans* em suspensão. Este efeito parece ser relativo à natureza ácida do material. No entanto, confiar a eliminação bacteriana ao baixo pH dos sistemas adesivos não é recomendado, uma vez que os produtos devem ser ineficientes contra bactérias ácido-tolerantes, como lactobacilos (IMAZATO; IMAI; EBISU, 1998).

Pesquisas sobre a incorporação de um monômero antibacteriano em sistemas adesivos e resinas compostas têm sido conduzidas pelo grupo coordenado pelo Professor Satoshi Imazato (Universidade de Osaka, Japão) desde 1994.

2.5 MDPB

O monômero antibacteriano brometo de metacriloiloxidodecilmiridínio (MDPB) (Figura 2.2) foi sintetizado pela combinação de brometo de hidroxidodecilmiridínio – uma amônia quaternária – com um grupo metacrilato (IMAZATO et al., 1994). Amônias quaternárias apresentam um amplo espectro de atividade antibacteriana (SCHEIE, 1989). Experimentos realizados *in vitro* demonstraram que o MDPB apresenta efeito antibacteriano e capacidade de copolimerizar com outros monômeros, podendo ser acrescentado a materiais resinosos levando à inibição do crescimento bacteriano e do acúmulo de biofilme formado por *Streptococcus mutans* em sua superfície. Após a polimerização da resina composta o agente antibacteriano é unido à rede polimérica através de ligações covalentes. O agente imobilizado não é liberado do compósito, mas age como um inibidor por contato contra bactérias que aderem à superfície do material (IMAZATO et al., 1994).

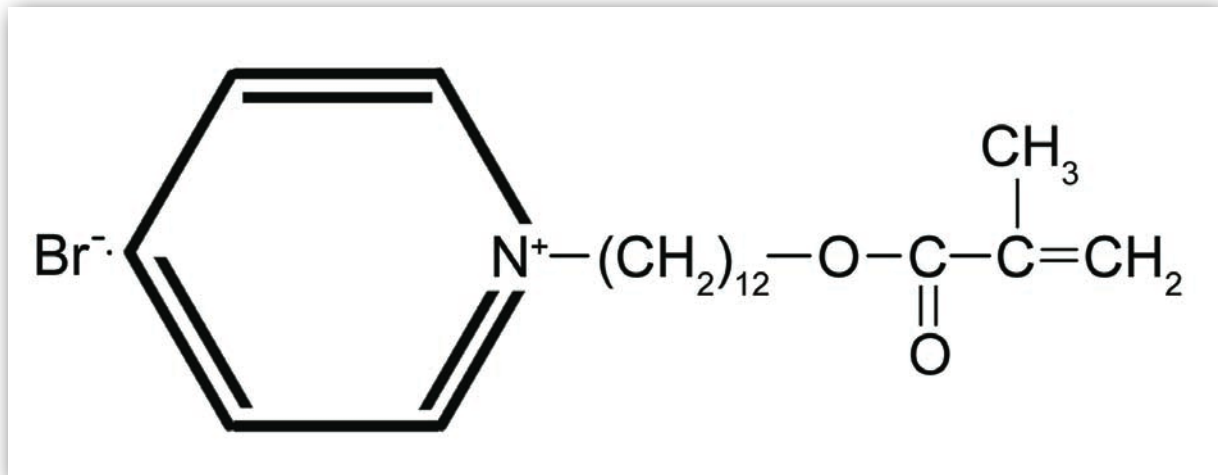


Figura 2.2 – Fórmula estrutural do monômero brometo de metacrilóiloxidodecílpiridínio (MDPB)

Compostos de amônia quaternária demonstram forte ação antibacteriana. Estes compostos apresentam agentes catiônicos ativos em suas superfícies. As moléculas possuem grupos hidrofílicos e hidrofóbicos, permitindo interações iônicas e hidrofóbicas. Acredita-se que a interação com bactérias ocorre por ligações catiônicas aos grupos fosfato do ácido teicóico da parede celular de bactérias Gram-positivas e aos grupos fosfatos da parede celular e polissacarídeos da membrana de bactérias Gram-negativas. A integridade da membrana pode subsequentemente ser rompida através de interações com a porção lipofílica da molécula causando distúrbio da função da membrana e escoamento do material citoplasmático (SCHEIE, 1989).

Inúmeros estudos têm demonstrado a atividade bactericida do MDPB. Imazato et al. (2008) testaram a atividade antibacteriana do monômero MDPB contra *S. mutans*, por um método de teste de viabilidade por corante. Os testes revelaram significativo efeito bactericida do MDPB contra *S. mutans* na concentração igual ou maior que 50 µg/ml, com eliminação total das bactérias na concentração de 250 µg/ml.

Os efeitos do MDPB na adesão bacteriana sobre discos de resina composta foi avaliado *in vitro*. A resina composta contendo MDPB inibiu a adesão de *S. sobrinus*, sugerindo que a incorporação do MDPB às resinas compostas pode ser de importância na prevenção de cáries secundárias, dificultando a adesão de bactérias cariogênicas (THOMÉ, 2005).

A habilidade do MDPB em inibir o crescimento de microorganismos associados a lesões ativas de cárie radicular e de modificar as características de crescimento destes microorganismos em concentrações abaixo da mínima concentração inibitória (MIC) foi testada. Para tanto, testes foram realizados utilizando-se isolados de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius*, *Actinomyces naeslundii*, *Actinomyces israelii*, *Actinomyces gerensceriae*, *Actinomyces odontolyticus*, *Lactobacillus* spp., e *Candida albicans*. Os resultados demonstraram que todos os isolados foram sensíveis à inibição pelo MDPB e, mesmo quando utilizado em concentrações abaixo da MIC, o MDPB foi capaz de reduzir o crescimento de todas as cepas. Os autores também apontaram que a ação inibitória do MDPB foi reduzida em baixo pH (YOSHIKAWA et al., 2007).

O monômero antibacteriano MDPB vem sendo incorporado com sucesso em resinas compostas e sistemas adesivos. O histórico evolutivo da presença do MDPB em materiais restauradores resinosos é apresentado a seguir.

2.5.1 Incorporação de MDPB às resinas compostas

Imazato et al. (1994) investigaram a capacidade antibacteriana de compósitos contendo MDPB. O efeito inibitório dos agentes imobilizados na superfície destes compósitos foi mensurado utilizando-se *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus*. O MDPB foi incorporado a compósitos na concentração final de 0,1 e 0,2%. O compósito contendo MDPB demonstrou significativa atividade na inibição do crescimento bacteriano e no acúmulo de biofilme formado por *Streptococcus mutans* em sua superfície.

Após a polimerização do compósito no qual o MDPB foi incorporado, o componente antibacteriano é quimicamente aderido à matriz resinosa. Os agentes imobilizados não são liberados pelo material, mas atuam como inibidores por contato contra as bactérias que se fixam à superfície. Em testes de atividade antibacteriana pelo método de disco difusão em ágar, não ocorreu a formação de zonas de inibição em torno de amostras às quais o MDPB foi incorporado, indicando que não ocorreu a liberação de monômero pelo material restaurador. Os resultados mostraram que o compósito que recebeu 0,2% de MDPB apresentou efeito inibitório ao acúmulo de biofilme formado por *S. mutans*, quando comparado ao grupo controle, mesmo depois de 3 meses de imersão em água, com a atividade antibacteriana sendo mantida no mesmo nível. Nenhuma evidência de liberação dos componentes antibacterianos pelo compósito foi observada, mesmo após 90 dias de imersão em água ou outros solventes (IMAZATO et al., 1994).

Materiais restauradores com agente bactericida MDPB apresentam efeito inibitório apenas contra bactérias que venham ao contato das moléculas

antibacterianas imobilizadas, então seu efeito não é capaz de alcançar a área em torno do compósito, ainda que a inibição do acúmulo de biofilme na superfície do material reduza o total de bactérias em torno da restauração. A atividade antibacteriana do MDPB é reduzida após a polimerização, mas o MDPB presente na superfície de um material resinoso ainda apresenta efeito bacteriostático e propriedade antiadesão contra estreptococos bucais (IMAZATO; RUSSELL; McCABE, 1995).

Imazato e McCabe (1994) investigaram a influência da incorporação de MDPB no processo de polimerização de compósitos compostos de Bis-GMA. Profundidade de polimerização, grau de polimerização, efeito de atenuação de luminosidade e dureza de superfície de compósitos aos quais foi incorporado MDPB na concentração de 0,4 ou 0,5% foram medidas e comparadas com um grupo controle sem MDPB. A profundidade de polimerização dos compósitos com MDPB, medida por meio de um penetrômetro, foi superior à do grupo controle. Diferentes análises térmicas mostraram que os compósitos com MDPB tiveram significativo aumento no grau de polimerização quando comparados ao grupo controle, provavelmente devido ao menor efeito de atenuação de luminosidade dos compósitos com MDPB. Nenhuma diferença significativa entre os grupos experimentais e o grupo controle foi obtida no que diz respeito à dureza Vickers após ambos, um dia e sete dias de armazenamento em água. Estes resultados indicam que a incorporação de pequenas quantidades de MDPB em compósitos compostos de Bis-GMA não afeta adversamente o desempenho de polimerização. Ao contrário, uma significativa, embora pequena, melhora foi observada.

Monômeros promotores de adesão são incorporados a materiais resinosos como resinas compostas, cimentos resinosos e selantes de fissuras para melhorar a

capacidade de adesão destes materiais ao substrato dentário. Imazato et al. (1998a) incorporaram MDPB e o monômero fosfórico promotor de adesão MDP (10-metacriloiloxidecil dihidrogênio fosfato) a uma resina dental baseada em Bis-GMA e investigaram sua ação bacteriana contra *Streptococcus mutans* após a polimerização. O crescimento de *S. mutans* foi fortemente inibido pelo contato com a superfície de resina contendo MDPB/MDP, embora o efeito bactericida ter sido pequeno. A resina contendo MDPB/MDP polimerizada também demonstrou um efeito inibitório contra a formação *in vitro* de biofilme por *S. mutans* em sua superfície.

As características bactericidas e a citotoxicidade do monômero antibacteriano MDPB foi investigada por Imazato et al. (1999b). Para investigar as características bactericidas do MDPB contra estreptococos bucais foram determinadas as mínimas concentrações bactericidas para sete espécies e o tempo necessário para eliminar o *Streptococcus mutans*. O efeito citotóxico do MDPB em células pulpares humanas foi estimado por [³H]-timidina após o contato com soluções de MDPB em diversas concentrações. O MDPB demonstrou forte atividade bactericida contra todas as espécies testadas e eliminou rapidamente as bactérias na concentração de 4 vezes ou mais da concentração bactericida mínima. Os efeitos citotóxicos do MDPB foram considerados similares aos dos outros monômeros utilizados rotineiramente em materiais resinosos de uso odontológico.

Imazato et al. (1999a) investigaram a influência da incorporação do MDPB nas características de absorção de água e estabilidade de cor em resinas de Bis-GMA. Discos polimerizados de resina composta contendo 0,4% ou 0,5% de MDPB foram confeccionados. O coeficiente de difusão e o ângulo da superfície de contato com a água foram determinados. A estabilidade de cor foi avaliada após a imersão

em água a 37°C e 60°C por 4 semanas e comparada à do grupo controle sem MDPB. A incorporação de pequenas quantidades de monômero MDPB demonstrou não influenciar as características de absorção de água; no entanto, afetou a estabilidade de cor da resina composta, causando rápida descoloração.

Ebi et al. (2001), avaliaram o efeito inibitório de uma resina composta contendo o monômero MDPB no acúmulo de biofilme formado por *S. mutans*. A concentração de MDPB presente no compósito foi de 2,83%. Os pesquisadores encontraram diferenças estatisticamente significantes na inibição do acúmulo de biofilme quando comparado ao controle. Os valores para redução do acúmulo de biofilme para a resina experimental foram de 35,9, 20,5 e 28,3% para primeiro, segundo e terceiro ciclos, respectivamente. O grupo que recebeu tratamento com saliva previamente à incubação em suspensão bacteriana apresentou efeito antibiofilme atenuado, ainda que significativamente menos biofilme tenha se acumulado na superfície das amostras experimentais. A redução para o grupo experimental tratado com saliva quando comparado ao controle foi de 14,2, 13,6 e 17,9% para os três ciclos. A análise das características da superfície das amostras demonstrou não haverem diferenças entre a rugosidade superficial e hidrofobia entre os blocos de resina controle ou com MDPB, fatores que poderiam influenciar o acúmulo de biofilme.

Atualmente, o monômero MDPB é incorporado a resinas compostas na forma de carga pré-polimerizada para resinas (PPRF – *prepolymerized resin filler*). Esta carga pode ser intensamente polimerizada e lavada antes de ser incorporada ao compósito. Deste modo é possível incorporar grandes quantidades de MDPB e imobilizar componentes antibacterianos em maiores densidades do que quando o MDPB é acrescentado na fase de monômero. A incorporação do MDPB ao

compósito na forma de PPRF permite um aumento na concentração de MDPB na ordem de 10 vezes, promovendo efeito mais confiáveis na inibição do acúmulo de biofilme (IMAZATO et al., 2001) (Figura 2.3).

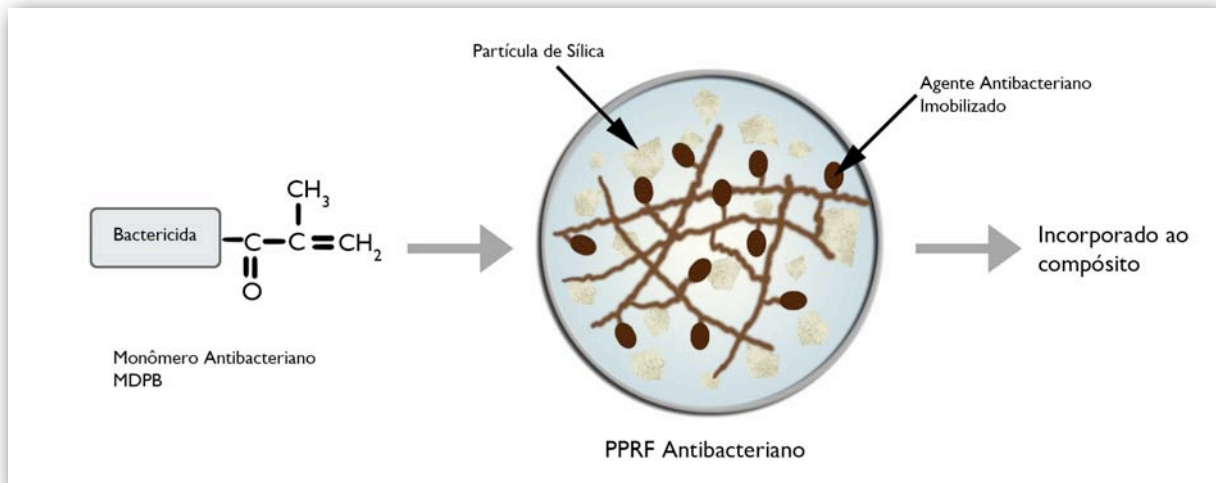


Figura 2.3 – Ilustração da utilização do monômero antibacteriano MDPB no preparo de uma carga resinosa pré-polimerizada (PPRF) para obter uma resina composta antibacteriana (adaptado de Imazato, 2003)

Imazato et al. (2003a), examinaram a atividade antibacteriana de uma PPRF no qual a amônia quaternária bactericida foi imobilizada. O compósito experimental foi preparado mediante a moagem de blocos resinosos pré-polimerizados de monômeros metacrilato, partículas de sílica e monômero antibacteriano MDPB. O número de *S. mutans* após 18 horas de incubação em contato com o material restaurador experimental, com ou sem absorção de proteínas por tratamento com saliva, foi determinado e a adesão de bactérias à superfície do compósito foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura. A liberação de MDPB não-polimerizado pelo compósito e sua influência no crescimento bacteriano também foram investigadas. O crescimento do *S. mutans* foi completamente inibido pelo contato com o compósito experimental sem o tratamento com saliva. Ainda que os efeitos tenham sido atenuados, o material restaurador que recebeu tratamento com saliva ainda exibiu inibição de crescimento >99,9%. Foi confirmado que a redução

no número de bactérias não foi devido à aderência bacteriana às partículas do compósito e que a concentração de MDPB não-polimerizado liberado foi muito pequena para afetar o crescimento bacteriano. Os resultados indicaram que a resina com MDPB apresentou efeito bacteriostático significativo sem liberação de componentes antibacterianos e seria útil para incorporação em diversos materiais restauradores resinosos.

A inibição da formação de biofilme por resinas compostas com MDPB dependeria da interação da amônia quaternária imobilizada na superfície do material. Embora o mecanismo da ação antibacteriana da amônia quaternária não esteja completamente estabelecido, existe a hipótese de que ocorreria o rompimento da integridade da membrana citoplasmática causando a lise da célula. Contudo, o comprimento molecular do MDPB é muito menor que a espessura da parede celular de bactérias Gram-positivas, inclusive EGM. Portanto, não está claro se o MDPB é capaz de causar danos à parede celular ou à membrana citoplasmática. MDPB não-polimerizado liberado em concentrações extremamente baixas, não bacteriostáticas contra as bactérias comensais, pode ser capturado na superfície por alguma interação e desenvolver um papel na inibição da bactéria. O mecanismo do MDPB na inibição da bactéria necessita investigação (IMAZATO et al., 2003a).

2.5.2 Incorporação de MDPB a sistemas adesivos dentinários

A atividade antibacteriana é considerada uma das mais importantes propriedades de um sistema adesivo, especialmente para *primers*

autocondicionantes (*self-etching primers*), já que a dentina preparada é tratada com o *primer* sem ser previamente condicionada e lavada. A incorporação de MDPB é considerada um método em potencial para prover sistemas adesivos dentinários com atividade antibacteriana antes e após a polimerização.

Imazato et al. (1997), investigaram o efeito antibacteriano de um *primer* dentinário ao qual foi incorporado MDPB. A influência da incorporação do monômero na força de adesão à dentina e na polimerização do sistema adesivo dentinário também foi avaliada. *Primers* experimentais foram preparados pela adição de MDPB a um *primer* comercialmente disponível nas concentrações de 2, 4 e 10% originando as concentrações finais de 1, 2, ou 5%. Os *primers* experimentais produziram zonas de inibição maiores contra *Streptococcus mutans*, *Actinomyces viscosus* e *Lactobacillus casei* que qualquer um dos três *primers* comerciais avaliados, e a inibição aumentou à medida que a concentração de MDPB aumentou. A atividade bactericida dos *primers* que continham MDPB contra o *Streptococcus mutans* foi maior que para os *primers* comercialmente disponíveis, tendo a incorporação de MDPB a 5% apresentando eliminação completa das bactérias após 30 segundos de contato. Não foi observado decréscimo na força de adesão para os *primers* contendo MDPB. Não houve diferença significativa entre o grau de conversão do *primer* experimental e do controle. Imazato et al. (1998b) avaliaram a atividade antibacteriana do *primer* contendo MDPB polimerizado durante contato de uma hora utilizando *S. mutans*. e um número menor de bactérias foi encontrado após o contato com o *primer* contendo MDPB quando comparado ao controle, ainda que a diferença na contagem tenha sido pequena.

Imazato et al. (2001) também investigaram o efeito bactericida de um *primer* dentinário ao qual foi incorporado o monômero MDPB contra bactérias em lesões de

cárie dentinária humanas. Bactérias foram retiradas de amostras de dentina cariada obtidas de dentes de pacientes, e a atividade bactericida do *primer* experimental contendo 5% de MDPB e três *primers* comercialmente disponíveis foram comparadas pela contagem do número de células viáveis após o contato com soluções diluídas de cada *primer* por 30 segundos. O MDPB apresentou forte atividade antibacteriana contra anaeróbios. O *primer* experimental foi o mais bactericida entre os materiais testados e foi capaz de eliminar completamente as bactérias mesmo quando diluído 40 vezes. De acordo com isto, a incorporação de MDPB em *primer* dentinário é considerada benéfica na eliminação das bactérias residuais em cavidades.

A penetração de um sistema adesivo dentinário com MDPB em lesões de cárie artificial em dentina de raízes bovinas foi avaliada *in vitro* por Imazato et al. (2002). Além da profundidade de penetração do adesivo, a atividade bactericida contra *S. mutans* e *Lactobacillus casei* foi avaliada. O sistema adesivo com MDPB não apresentou diferenças significantes em penetração na dentina quando comparado a outros adesivos sem MDPB, penetrando em média mais de 150 µm nas lesões artificiais. A atividade bactericida de *primers* experimentais com 1, 2 e 4% de MDPB foi maior do que a de todos os outros *primers* sem MDPB testados, sendo o *primer* com 4% de MDPB capaz de eliminar completamente todas as bactérias presentes na dentina desmineralizada, sugerindo que o sistema adesivo com MDPB pode ser benéfico no controle de lesões de cárie radicular.

A hipótese de que o sistema adesivo contendo MDPB seria efetivo para inibir a progressão de lesões de cárie radicular também foi testada por Kuramoto et al. (2005). Sistemas adesivos com ou sem a presença de MDPB foram aplicados sobre superfícies desmineralizadas de raízes dentais humanas. Dois modelos de indução

cariogênica foram utilizados – ácido-gel e bacteriológico com *S. mutans*. O sistema adesivo com MDPB foi capaz de prevenir completamente desmineralizações em ambos os modelos, enquanto o sistema adesivo sem MDPB demonstrou capacidade limitada de inibir desmineralizações. Os autores creditam o efeito obtido com MDPB a uma combinação de atividade antimicrobiana com selamento da dentina desmineralizada.

A atividade antibacteriana de um adesivo resinoso ao qual foi incorporado MDPB, assim como suas características adesivas em termos de força de adesão à dentina e habilidade de polimerização foi investigada. Imazato et al. (2003b) prepararam um adesivo resinoso experimental pela incorporação de 2,5% de MDPB a um adesivo comercialmente disponível (LB Bond), e o efeito inibitório contra o crescimento de *S. mutans* na superfície de amostras polimerizadas foi determinado. A força de adesão à dentina humana e o grau de conversão do adesivo experimental em combinação com *primers* contendo 1, 2, ou 5% de MDPB foram avaliados por um teste convencional de força de adesão e espectroscopia de transformação infravermelha Fourier, respectivamente. Os resultados obtidos para o adesivo experimental polimerizado indicaram um efeito inibitório no crescimento de *S. mutans*, reduzindo o número de bactérias para aproximadamente 3% do adesivo controle sem MDPB. A força de adesão do adesivo experimental não apresentou diferença significativa quando comparada à do grupo controle, e o uso do adesivo em combinação com o *primer* contendo MDPB não apontou nenhuma influência adversa na força de adesão. Independentemente da adição de MDPB ao *primer*, o grau de conversão do sistema adesivo não foi diferente entre os adesivos controle e experimental. Conseqüentemente, considerado-se que sistema adesivo contendo MDPB possivelmente iniba o desenvolvimento de bactérias invasoras mesmo

quando o selamento marginal não esteja completo ou tenha sido destruído após a acomodação da restauração.

Lobo et al. (2005) avaliaram o efeito de sistemas adesivos com agentes antibacterianos na inibição da progressão de cárie secundária em esmalte dental bovino utilizando um modelo de cárie artificial microbiológica *in vitro*. O sistema adesivo antibacteriano Clearfil Protect Bond (Kuraray Medical, Japão), contendo MDPB e flúor, foi testado juntamente com outros sistemas adesivos comercialmente disponíveis que não contém o monômero MDPB. Em teste de produção de glucanos o sistema adesivo com MDPB foi o único capaz apresentar redução da síntese de glucanos, embora nenhum sistema adesivo tenha sido capaz de inibir a progressão de cárie secundária.

O efeito antibacteriano do *primer* contendo 5% MDPB do sistema adesivo Clearfil Protect Bond contra *S. mutans*, *Lactobacillus casei* e *Actinomyces naeslundii* foi testado por Imazato et al. (2006) através de teste de disco-difusão em ágar e aplicação de *primer* em blocos de dentina impregnados com *S. mutans*. Ainda que o *primer* sem MDPB testado tenha apresentado algum efeito bactericida, apenas o *primer* com MDPB foi capaz de eliminar quase todas as bactérias inoculadas nos blocos de dentina. Para o teste de disco-difusão em ágar, as zonas de inibição produzidas pelo *primer* com MDPB foram significativamente maiores para as três bactérias testadas, quando comparadas ao produto sem o agente antibacteriano.

A capacidade de adesão de sistemas adesivos com MDPB à dentina saudável foi testada em estudo *in vivo* realizado em cães (IMAZATO et al., 2007). Um *primer* contendo 5% de MDPB e um adesivo com 2,5% MDPB experimentais foram testados juntamente com um sistema adesivo comercialmente disponível sem

MDPB. Os pesquisadores encontraram adesão efetiva com todos os sistemas adesivos testados.

O monômero antibacteriano MDPB tem sido acrescentado a resinas e sistemas adesivos. As propriedades físicas e mecânicas dos materiais contendo MDPB foram avaliadas e apresentaram características comparáveis àquelas dos materiais restauradores em que o MDPB não estava presente. Contudo, o potencial dos materiais restauradores na prevenção da ocorrência de cáries secundárias não foi avaliado.

2.6 Indução de cárie *in vitro* pelo modelo bacteriano

Na tentativa de simular a atividade cariosa, muitos modelos de indução de cárie foram desenvolvidos. Em 1996, Featherstone dividiu estes métodos em *in vivo*, *in situ* e *in vitro*.

Os modelos de indução de cárie *in vivo* podem ser realizados em humanos ou animais. Em humanos, os estudos são realizados em dentes com extração indicada por razões ortodônticas. Para a realização de testes em animais, o pesquisador enfrenta questões relativas à ética, custo elevado, risco apresentado quanto à manipulação de animais, tamanho e forma diferenciada dos dentes, além de uma dinâmica bucal diferente. Portanto, a avaliação dos resultados obtidos com testes em animais deve ser cautelosa (FEATHERSTONE, 1996).

Um modelo de teste muito apreciado por pesquisadores é o modelo *in situ*. Entre as vantagens deste método destaca-se o fato de que as amostras são

mantidas no ambiente bucal, com toda sua complexidade bacteriológica, ação salivar, variações de pH, entre outros importantes fatores que são dificilmente reproduzidos *in vitro*. No entanto, este modelo apresenta alto custo, é de longa duração e depende da cooperação dos indivíduos que utilizam os dispositivos removíveis nos quais as amostras são fixadas (TENUTA et al., 2006).

Entre os modelos de indução cariogênica *in vitro* destaca-se o modelo bacteriano, que tem sido utilizado por diversos autores em esmalte (DUMMER; EDMUNDS; GREEN, 1982; EDMUNDS; WHITTAKER; GREEN 1988; GILMOUR; EDMUNDS; DUMMER, 1990; GILMOUR et al., 1993; GAMA-TEIXEIRA et al., 2007) e em dentina (GILMOUR; EDMUNDS, 1998; KURAMOTO et al., 2005; MELLO et al., 2006; SHEN; SAMARANAYAKE; YIP, 2004; TORII et al., 2001).

Apresentando considerável semelhança à realidade clínica, o sistema de indução de cáries bacteriana utiliza uma cultura de bactérias específica – geralmente *S. mutans*, em conjunto ou não com outras bactérias – para induzir a desmineralização. As lesões externas formadas pelo método bacteriano de indução de cárie exibem muitas das características das lesões iniciais de cárie natural (DUMMER; EDMUNDS; GREEN, 1982; EDMUNDS; WHITTAKER; GREEN 1988; GILMOUR; EDMUNDS; DUMMER, 1990).

Ainda que o método de indução química de cárie *in vitro* permita melhor controle do experimento e seja relativamente mais simples, este método nunca será capaz de simular a situação *in vivo* de forma tão apurada quanto o método de indução bacteriano. No modelo bacteriano, o espécime é imerso em um meio de cultura que contém bactérias que produzem ácidos orgânicos, semelhante ao que ocorre no biofilme dental. Além de desenvolver cáries artificiais, este método pode ser usado para estudo de materiais que contenham propriedades antibacterianas.

Pelo modelo bacteriano, o pH do meio – que antes da inoculação era 7,1 – cai significativamente quando inoculada com bactérias acidogênicas na presença de sacarose. Após 24 horas de incubação, o pH encontrado no meio é menor do que o normalmente encontrado *in vivo*, mesmo no biofilme (GILMOUR; EDMUNDS; DUMMER, 1990). Este pH mais baixo obviamente acelera o processo de desmineralização quando comparado ao que ocorre naturalmente, mas é muito similar ao de muitos métodos de indução química de cárie.

Outro ponto importante a ser ressaltado é que os resultados dos métodos de indução de cáries artificiais realizados *in vitro* não devem ser interpretados como verdades clínicas inquestionáveis. Ainda que os métodos *in vitro* permitam a análise de determinadas propriedades dos materiais avaliados, estudos têm demonstrado falhas na correlação entre testes realizados por este método quando comparados a testes realizados *in vivo* (PAPAGIANNIOLIS; KAKABOURA; ELIADES, 2002).

A interpretação dos resultados de estudos de avaliação de agentes antibacterianos realizados *in vitro* exige cautela, já que as bactérias presentes nas lesões naturais de cárie podem ser mais resistentes a agente bactericidas. É possível que estas bactérias estejam cobertas por produtos metabólicos (como matriz extracelular) que podem interferir na ação do agente antibacteriano (KURAMOTO et al., 2005). Assim sendo, estudos desenvolvidos *in vitro* devem ser considerados como pontos de partida para outras investigações, que devem prosseguir até que se obtenham comprovações de eficiência e segurança, garantindo que o produto esteja apto a ser comercializado.

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo foi:

Analisar o efeito inibitório de restaurações contendo o monômero antibacteriano MDPB no desenvolvimento de lesões de cárie secundária artificiais em raízes dentárias submetidas a um desafio cariogênico *in vitro*.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Grupo amostral

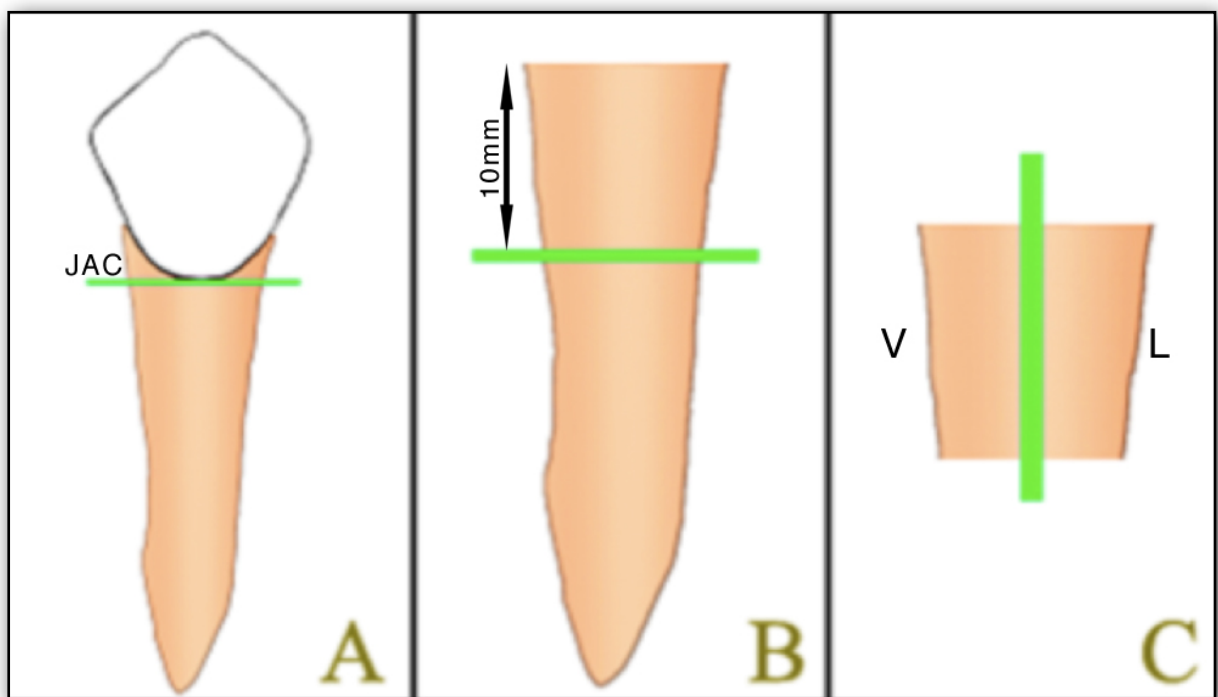
Trinta e oito dentes extraídos por doença periodontal foram obtidos junto ao Banco de Dentes Humanos da Faculdade de Odontologia da USP. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da USP mediante o parecer de aprovação n° 185/04 (Anexo A).

4.2 Preparo das amostras

As raízes de dentes unirradiculares foram examinadas com lupa para detecção de presença de cáries prévias, ainda que incipientes, ou defeitos na superfície radicular. Aqueles elementos que apresentaram alguma dessas alterações foram descartados do experimento. Restos orgânicos e cimento foram removidos das superfícies radiculares utilizando-se curetas periodontais e profilaxia com pedrapomes e água foi realizada. Os dentes selecionados foram seccionados transversalmente imediatamente abaixo da junção cimento–esmalte (JAC), separando as coroas das raízes (Figura 4.1A) utilizando-se um equipamento de corte (Labcut Modelo 1010, Extec, Enfield, CL, EUA) com um disco diamantado

(Extec) em baixa rotação. As raízes foram estocadas em água destilada e guardadas em geladeira a 4°C.

Na sequência do estudo, cada raiz foi seccionada transversalmente 10 mm abaixo da JAC, na intenção de obter-se um fragmento com 10 mm de altura correspondente à porção cervical (Figura 4.1B). Este fragmento foi então seccionado, agora no sentido longitudinal, separando-se as porções vestibular e lingual de cada raiz (Figura 4.1C).

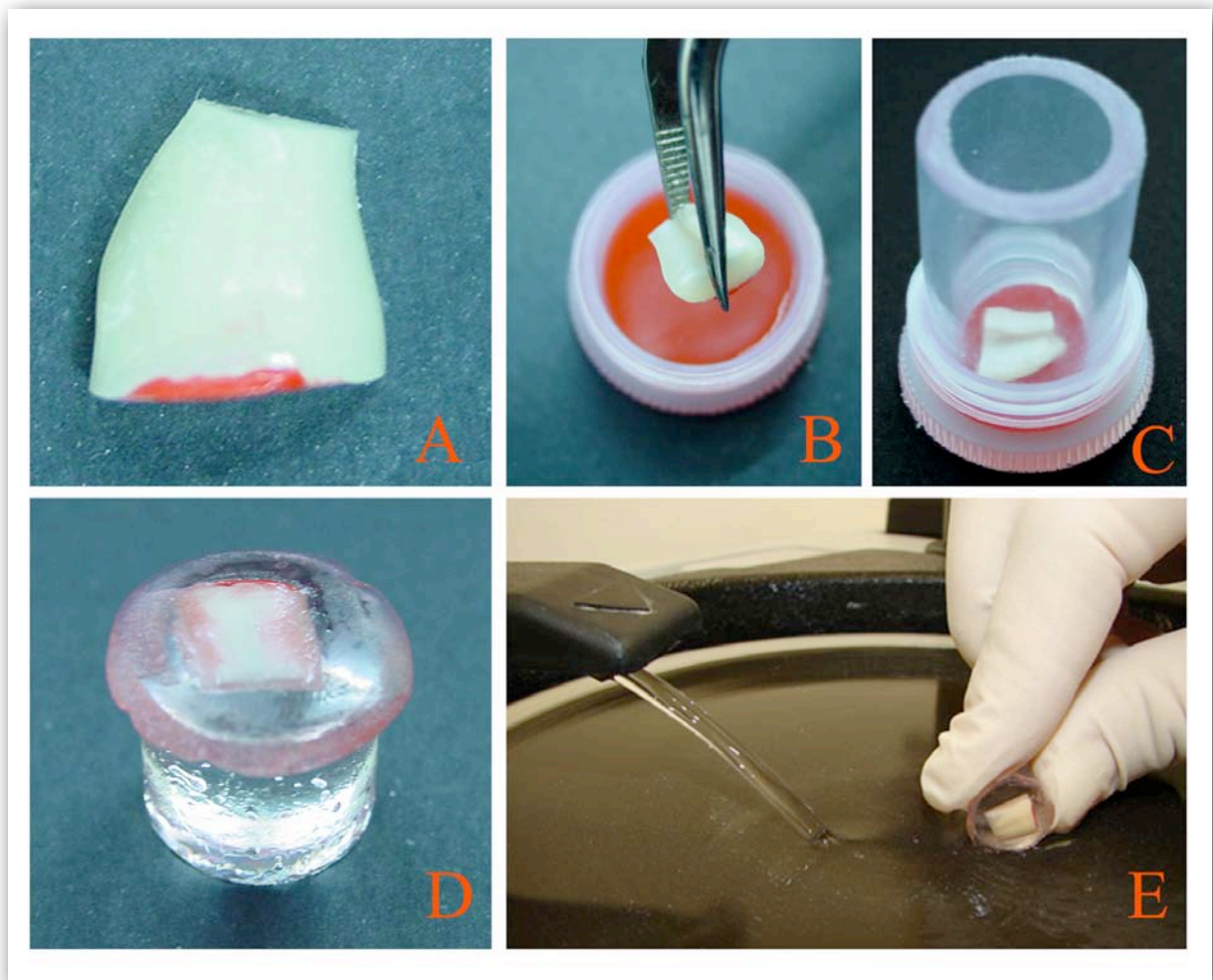


A – Ilustração referente à secção do dente abaixo da junção cimento–esmalte (JAC), separando-se coroa de raiz.
 B – Ilustração da secção realizada com intenção de obter-se um fragmento correspondente à porção cervical.
 C – Ilustração do corte realizado para obtenção de dois fragmentos radiculares, um referente à face vestibular (V) e um referente à face lingual (D).

Figura 4.1 – Obtenção dos fragmentos de raiz

Desta forma, 76 amostras radiculares foram obtidas. Setenta e cinco destes fragmentos receberam uma marca feita com esmalte de unhas na cor vermelha para sinalizar a porção correspondente à cervical (Figura 4.2A). Os fragmentos marcados foram incluídos em resina poliéster ativada quimicamente por

peróxido orgânico. Esta resina diminui a inclusão de bolhas e favorece a lisura superficial das amostras. Para realizar a inclusão foram utilizadas tampas plásticas e um tubo plástico semi-rígido transparente de 1/2 polegada, que encaixavam perfeitamente. O fundo das tampas plásticas foi preenchido com uma fina camada de cera utilidade derretida para conferir lisura. Em cada tampa, sobre a cera, um fragmento de raiz foi posicionado tendo-se o cuidado de manter a superfície de teste (superfície externa da raiz) voltada para a cera, evitando que fosse coberta pelo material de inclusão (Figura 4.2B). O tubo plástico foi acoplado à tampa (Figura 4.2C) e a resina foi vertida sobre o fragmento, preenchendo o tubo. Após a completa polimerização da resina, as amostras foram removidas do conjunto tubo e tampa plásticos (Figura 4.2D). Para remoção do excesso de resina, as superfícies lateral e inferior das amostras foram polidas com lixas de granulação 400 no equipamento Politriz (Figura 4.2E). Os corpos de prova foram mantidos em água destilada em geladeira (4°C).



- A – Fragmento de raiz com marca feita com esmalte de unhas na cor vermelha sinalizando a porção correspondente à cervical.
 B – Fragmento de raiz posicionado mantendo-se a superfície de teste voltada para a cera.
 C – Tubo plástico acoplado à tampa.
 D – Fragmento de raiz incluído em resina poliéster.
 E – Acabamento da resina de inclusão das amostras em Politriz.

Figura 4.2 – Fotos ilustrativas da inclusão dos fragmentos de raiz

4.3 Preparo das cavidades

Preparos com características de cavidades Classe V foram realizados na superfície dos fragmentos de raiz incluídos. As dimensões das cavidades foram 2 mm de extensão no sentido méso-distal, 2 mm no sentido cérvico-apical e 1 mm de

profundidade. Para facilitar a padronização das cavidades, foram confeccionados moldes em etiquetas autoadesivas, removendo-se um quadrado com as medidas de 2 mm x 2 mm, no centro das etiquetas, com auxílio de um bisturi. Estas etiquetas foram coladas sobre as superfícies radiculares a serem restauradas. Os preparos foram executados com instrumento abrasivo diamantado (IAD) cilíndrico número 1090 (KG Sorensen, Barueri, Brasil), em alta rotação, sob refrigeração com jato de água. Os cantos das cavidades foram conformados de forma ligeiramente arredondada. Cada IAD foi utilizado para o preparo de três cavidades. Os IADs foram pintados com esmalte de unhas na cor vermelha protegendo-se desta pintura apenas 1 mm da ponta ativa do instrumento, facilitando a obtenção de cavidades com a profundidade padronizada. Os fragmentos incluídos foram divididos, de forma aleatória, em cinco grupos experimentais (15 amostras em cada grupo).

4.4 Materiais restauradores

As cavidades foram restauradas com os materiais restauradores descritos na tabela 4.1. e de acordo com os grupos experimentais.

Tabela 4.1 - Lista dos materiais restauradores utilizados

	Material Restaurador	Composição
Sem MDPB	<i>Primer</i> autocondicionante SE <i>primer</i> (Clearfil SE Bond System, Kuraray Medical, Tóquio, Japão)	MDP, dimetacrilato hidrofílico, HEMA, água
	Adesivo liberador de flúor (Clearfil Protect Bond; Kuraray Medical)	MDP, Bis-GMA, HEMA, dimetacrilato, N,N-dietanol-p-toluidina, NaF, carga
	Resina composta micro-híbrida Clearfil AP-X (cor A3, Kuraray Medical).	TEGDMA, Bis-GMA
Com MDPB	<i>Primer</i> autocondicionante antibacteriano contendo MDPB (Clearfil Protect Bond; Kuraray Medical)	MDPB^a , MDP, HEMA, dimetacrilato, água
	Adesivo liberador de flúor contendo MDPB (Adesivo experimental)	MDPB^b , MDP, Bis-GMA, HEMA, dimetacrilato, N,N-dietanol-p-toluidina, NaF, filler
	Resina composta antibacteriana carregada com carga resinosa pré-polymerizada (PPRF) contendo MDPB (Resina Composta Experimental)	MDPB^c , TEGDMA, Bis-GMA
Controle Positivo	Cimento de ionômero de vidro modificado por resina Vitremer (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA).	HEMA, etanol, água, ácido polialcenóico, BisGMA, TEGDMA, cristais de F-Al-SiO ₂

^a MDPB foi incorporado na concentração de 5%.

^b MDPB foi incorporado na concentração de 2,5%.

^c MDPB foi incorporado na concentração de 2,83%

Abreviaturas: Bis-GMA, bis-fenol A-polietileno glicol dieter dimetacrilato; HEMA, Poliidroxietyl Metacrilato; MDP, 10-metacrilóiloxidecil dihidrogênio fosfato; MDPB, brometo de 12-metacrilóiloxidodecylpiridínio; TEGDMA, trietileno-glicol-dimetacrilato; e NaF, fluoreto de sódio.

4.4.1 Preparo da resina e do adesivo experimentais

A resina composta experimental foi produzida pela Kuraray Co. a pedido do professor Satoshi Imazato, da Universidade de Osaka no Japão, que gentilmente cedeu este material para esta pesquisa. Resumidamente, a resina experimental foi preparada da seguinte forma: uma pasta de carga resinosa pré-polimerizada (*Prepolymerized Resin Filler*; PPRF) antibacteriana contendo 15,8% de MDPB foi polimerizada com luz e, subsequentemente, aquecida a 120°C. A quantidade incorporada de MDPB foi determinada como a concentração máxima que apresentou propriedades de manuseio aceitáveis. Um bloco polimerizado foi pulverizado em um pó fino, e lavado em metanol 100% por 24 horas para remoção de componentes não-polimerizados. O PPRF experimental obtido (MDPB-PPRF) foi seco por mais de 24 horas e incorporado à resina composta (Clearfil AP-X, Kuraray), originando uma concentração final de 2,83% de MDPB.

O adesivo experimental foi preparado pela incorporação de 2,5% de MDPB ao adesivo do sistema adesivo Clearfil Protect Bond (Kuraray).

4.5 Grupos experimentais

As cavidades foram restauradas de acordo com os seguintes grupos experimentais:

Grupo I – Sistema adesivo sem MDPB + Resina composta sem MDPB (Controle Negativo);

Grupo II – Cimento de ionômero de vidro modificado por resina (CIV-RM; Controle Positivo);

Grupo III – Sistema adesivo sem MDPB + resina composta com MDPB;

Grupo IV – Sistema Adesivo com MDPB + resina composta sem MDPB;

Grupo V – Sistema Adesivo com MDPB + resina composta com MDPB.

Modus operandi:

Grupos I, III, IV e V: Todos os procedimentos restauradores seguiram as indicações do fabricante. O *primer* do sistema adesivo auto-condicionante foi aplicado à cavidade com pincel descartável e foram aguardados 20 segundos. Após secagem com ar, o adesivo foi aplicado, também com pincel descartável, e fotoativado por 10 segundos. A resina composta foi inserida na cavidade em dois incrementos, sendo cada um fotoativado por 40 segundos, utilizando-se um equipamento fotopolimerizador Astralis 3 (Ivoclar, Vivadent, Schaan, Liechtenstein) com intensidade de luz de aproximadamente 530 mW/cm², aferida por um radiômetro de cura analógica de alta precisão do próprio equipamento. Os espécimes restaurados foram mantidos em água destilada em geladeira (4°C) por 24 horas e então receberam o acabamento e polimento com discos abrasivos de óxido de alumínio Sof-Lex (3M), seguindo indicação de uso do fabricante.

Grupo II: O *primer* do sistema Vitremer foi aplicado à cavidade por 30 segundos. Após secagem com ar por 15 segundos, o *primer* foi polimerizado por 20 segundos. Pó e líquido foram proporcionados (uma gota de líquido para uma colher medida de pó), aglutinados e o CIV-RM foi aplicado em incremento único. Uma

matriz de poliéster foi posicionada sobre o material para conferir lisura à restauração e o material foi fotoativado por 40 segundos. Após 5 minutos, a restauração recebeu acabamento e polimento com discos abrasivos de óxido de alumínio (Soft-Lex, 3M ESPE). O *finishing gloss* que acompanha o sistema foi aplicado sobre a restauração e fotoativado por 20 segundos.

As amostras foram colocadas em sacos de tule, separadas de acordo com o grupo correspondente e foram submetidas à ciclagem térmica.

4.6 Ciclagem térmica

A ciclagem térmica foi utilizada para simular as condições bucais de variação de temperatura, provocando o envelhecimento das amostras. Este procedimento foi realizado no equipamento para teste cíclico em corpos de prova (Nova Ética Produtos e Equipamentos Científicos – Processo FAPESP nº 04/10377-5).

As amostras foram submetidas a 1500 ciclos, sendo cada ciclo composto pela imersão em água a 5°C durante 1 minuto, seguida de transferência para imersão em água a 55°C durante 1 minuto.

4.7 Desafio cariogênico

Após a ciclagem térmica as amostras foram submetidas à indução de cáries *in vitro* pelo método biológico. Para tanto, a superfície das restaurações e 1 mm em torno delas foram protegidas com etiquetas adesivas nas dimensões 4 mm x 4 mm. A superfície das amostras foi coberta por duas camadas de esmalte de unhas. A intenção foi que a indução de cárie ocorresse apenas na janela que, após a remoção do adesivo, foi exposta.

Utilizando cola a base de silicone, os corpos de prova foram colados em placas de cultivo celular de 24 poços, sendo que cada placa recebeu 4 amostras de cada grupo, mantendo-se os fragmentos dentais expostos voltados para cima (Figura 4.3). As placas de cultura contendo as amostras restauradas foram embaladas em filme plástico, de forma que ficassem perfeitamente vedadas, e então submetidas à esterilização.



Figura 4.3 - Distribuição das amostras nas placas de cultivo

Para a obtenção de lesões de cárie *in vitro*, com base em modelos experimentais que utilizam bactérias, é necessário que o meio de cultura esteja livre de contaminação. Para isso as amostras precisam ser esterilizadas previamente à sua imersão nestes meios. A irradiação Gama – na dosagem de 25 KGy – tem sido considerada o método mais aceitável para testes cariogênicos (AMAECHEA; HIGHAM; EDGAR, 1999; GILMOUR et al., 1993; GILMOUR; EDMUNDS, 1998) provocando apenas alterações de cor no esmalte dentário e nas lesões de cárie.

Os conjuntos placas de cultura e fragmentos dentais incluídos foram esterilizados em irradiação Gama, procedimento realizado no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), utilizando o equipamento Gamacell 220 (Atomic Energy of Canada Ltd, Canadá). Este equipamento utiliza uma fonte de cobalto, disposta de maneira circular em torno da câmara na qual a amostra é colocada, que a irradia por todos os lados. A dose de esterilização utilizada foi de 25 KGy (Figura 4.4).



Figura 4.4 - Placas de cultivo embaladas com amostras esterilizadas

Todas as amostras foram submetidas a um desafio cariogênico *in vitro* utilizando um sistema bacteriano para induzir a formação das lesões de cárie radicular, uma vez que é o que mais se assemelha a formação de cáries no meio bucal (DUMMER; EDMUNDS; GREEN, 1982; GILMOUR et al., 1993).

Os meios da cultura para *Streptococcus mutans* utilizados foram BHI caldo (*Brain Heart Infusion*; Difco Laboratories, Detroit, MI, EUA) e BHI agar (*Brain Heart Infusion*; Difco). O preparo dos meios de cultura foi realizado de acordo com as instruções do fabricante e, ambos os meios de cultura foram acrescidos de 5% de sacarose, visto que o organismo utilizado é dependente de sacarose.

Para o preparo de 1 litro de meio BHI agar foram dissolvidos 52 g de meio e 50 g de sacarose em um litro de água destilada. A mistura foi transferida para um frasco tipo Erlenmeyer, fechado com um tampão de algodão, e esterilizada em autoclave, a 121°C, por 15 minutos. Sob capela de fluxo laminar, o meio foi transferido para placas de Petri, sendo aproximadamente 20 mL de meio para cada placa. As placas foram estocadas em geladeira (4°C).

Para o preparo de um litro de meio de cultura BHI caldo foram dissolvidos 37 g de BHI e 50 g de sacarose em um litro de água. A mistura foi transferida para frascos de vidro contendo cada um 150 mL de meio. Os frascos foram vedados com tampões de algodão e, a seguir, esterilizados em autoclave, a 121°C, por 15 minutos. Estes frascos foram mantidos estocados em geladeira (4°C).

As bactérias utilizadas neste estudo foram *Streptococcus mutans*, cepa GS-5, de cariogenicidade estabelecida e conhecida, armazenada em glicerol e congelada a -20°C.

As bactérias foram descongeladas em temperatura ambiente por 10 minutos. Com o auxílio de uma alça de Trigalski, a amostra de *S. mutans* foi

semeada em meio BHI-sacarose em uma placa de Petri, pela técnica de esgotamento, fazendo-se uma série de estrias para distribuir melhor os microorganismos e assim obter colônias isoladas. A placa foi levada à estufa a 37°C e 10% de CO₂ por 48 horas. Todos os procedimentos foram realizados sob capela de fluxo laminar para se evitar possível contaminação do meio de cultura. Este procedimento de semeadura foi realizado com o objetivo de reativar as bactérias e verificar seu grau de pureza (Figura 4.5).

Após 48 horas, já testadas em seu grau de pureza, algumas colônias de bactérias foram transferidas, com o auxílio de uma alça de Trigalski, para um tubo de ensaio contendo 5 mL de caldo BHI-sacarose para compor o caldo inóculo, incubado por 18 horas em estufa a 37°C e 10% de CO₂.

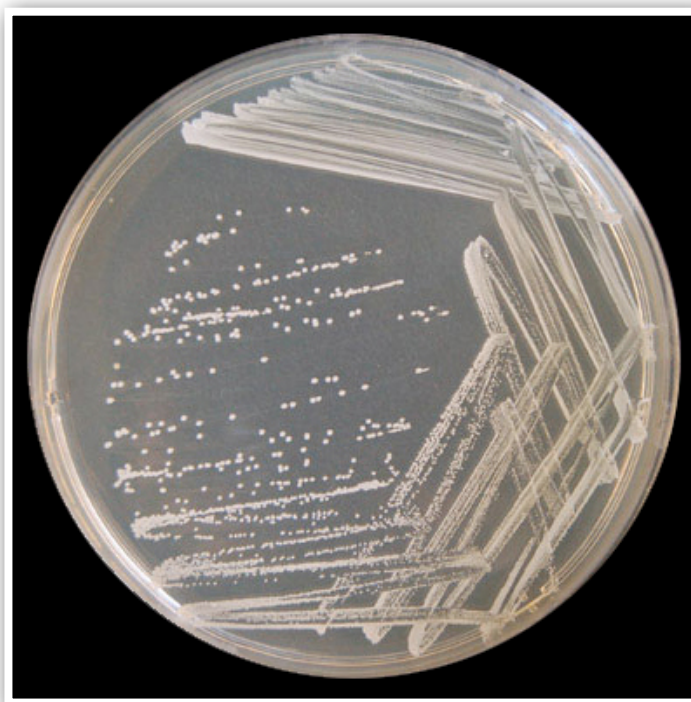


Figura 4.5 – Fotografia de colônias de *Streptococcus mutans* reativadas pela técnica do esgotamento em placa de Petri contendo meio de cultura BHI ágar com sacarose

Após este período de incubação o caldo inóculo foi diluído na proporção de 1/10, isto é, para um novo tubo foram transferidos 0,5 mL do caldo inóculo e 4,5 mL de meio de cultura BHI-sacarose. Foi realizada a leitura da absorvância do caldo inóculo diluído, em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 580 nm, para verificar a concentração de bactérias. O caldo apresentou densidade óptica de 0,104.

O caldo diluído foi incubado por 6 horas em estufa com atmosfera contendo 10% de CO₂ até atingir a fase *log* e crescimento celular. Este caldo passou a ser considerado a cultura-mãe.

Após 6 horas, uma nova leitura de absorvância foi realizada, no comprimento de onda 580 nm, e o caldo apresentou densidade óptica de 0,7.

A cultura-mãe foi seriadamente diluída na ordem de 10 em 5 diluições: 0,5 mL desta cultura foi diluído em um tubo de ensaio contendo 4,5 mL de caldo BHI-sacarose. Depois de misturada, 0,5 mL desta diluição foi diluído em 4,5 mL de meio de cultura em outro tubo, e assim sucessivamente, até obterem-se as 5 diluições: 1:10, 1:100, 1:1000, 1:10000 e 1: 100000. Do tubo correspondente à diluição de 1:100000 foi retirado 0,5 mL para que todos os tubos contivessem a mesma quantidade de caldo.

Das culturas obtidas com as diluições 1:1000, 1:10000 e 1:100000 foi inoculado 0,1 mL de cultura sobre placas preenchida com meio BHI-sacarose, em triplicata, resultando em 9 placas. As placas foram incubadas em estufa com atmosfera contendo 10% de CO₂, a 37°C por 48 horas. Os tubos contendo as culturas diluídas foram incubados inclinados para verificar-se a aderência bacteriana.

Após 48 horas, as placas incubadas com as culturas diluídas 1:100000 permitiram a contagem das unidades formadoras de colônias (UFCs). Foi calculada a média das UFCs contadas nas 3 placas correspondentes a esta diluição e esta média foi multiplicada por 100000 (correspondente à diluição do inóculo) e, em seguida, por 10 (já que as placas foram inoculadas com 0,1 mL de cultura). O resultado encontrado foi $8,8 \times 10^7$ UFCs/mL.

A observação dos tubos permitiu a avaliação da aderência bacteriana à parede do tubo nas diferentes diluições (Figura 4.6). A diluição escolhida para ser utilizada na indução cariogênica foi a de 1:1000 por apresentar um filme homogêneo.

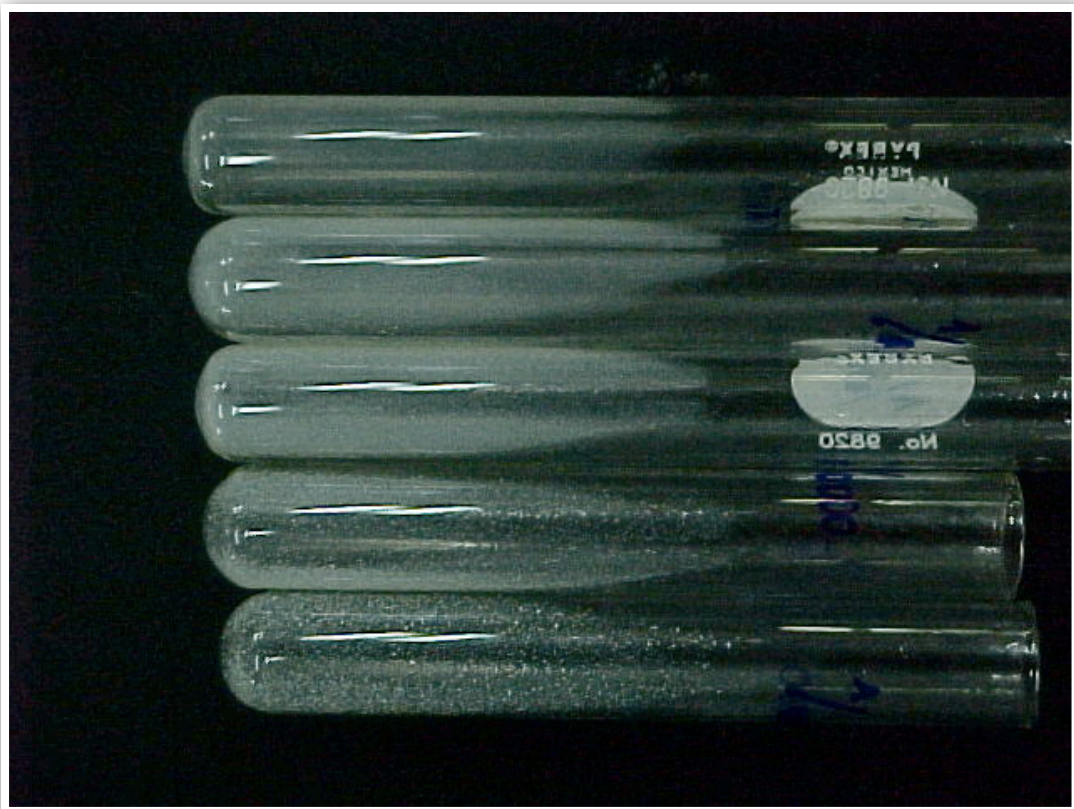


Figura 4.6 - Fotografia mostrando a aderência bacteriana das culturas diluídas às paredes dos tubos de ensaio. De cima para baixo: 1:10, 1:100, 1:1000, 1:10000 e 1:100000.

Da cultura-mãe foram dissolvidos 150 µl em 150 mL de meio de cultura para obter-se a diluição escolhida de 1:1000. As placas de cultura com as amostras foram removidas do invólucro utilizado para irradiação sob capela de fluxo laminar. Cada poço foi inoculado com 1,5 mL do caldo inóculo preparado, com auxílio de micropipeta. Este conjunto foi mantido em estufa a 37°C e atmosfera contendo 10% de CO₂ por 24 horas para que ocorressem crescimento e aderência bacteriana, com presença confirmada por meio da visualização do biofilme bacteriano depositado sobre os corpos de prova.

Após 24 horas, o caldo inóculo foi removido com auxílio de pipeta de vidro acoplada à bomba a vácuo e 1 mL de meio de cultura fresco foi adicionado a cada poço. As trocas dos meios de cultura foram realizadas a cada 24 horas nos primeiros 4 dias para favorecer a formação do biofilme. Após este período, as trocas de meio de cultura foram realizadas a cada 48 horas com vistas à manutenção da vitalidade das bactérias. O meio de cultura possui pH 7,0 e a leitura do pH do meio após 24 e 48 horas demonstrou queda para 4,26 e 4,11, respectivamente. A verificação de ausência de contaminação foi feita a cada 48 horas.

Os fragmentos dentários foram submetidos a esta indução de cárie por um total de 15 dias.

Testes específicos, para determinar a ausência de contaminação, foram realizados durante o experimento. O caldo era semeado em uma placa contendo BHI-sacarose, pela técnica de esgotamento, para obtenção de colônias isoladas. A placa era incubada a 37°C e, após 24 ou 48 horas, era verificado se todas as colônias desenvolvidas apresentavam aspectos semelhantes entre si (cultura pura) e se apresentavam características de colônias de *S. mutans*.

Esfregaços corados pelo método de Gram também foram executados para controle de ausência de contaminação a cada 48 horas. Neste teste, eram preparadas lâminas com amostras do caldo bacteriano e estas eram coradas com Fucsina, Lugol e Violeta de Genciana. As lâminas eram observadas em microscópio com objetiva de imersão e durante todo o experimento foram observados apenas estreptococos.

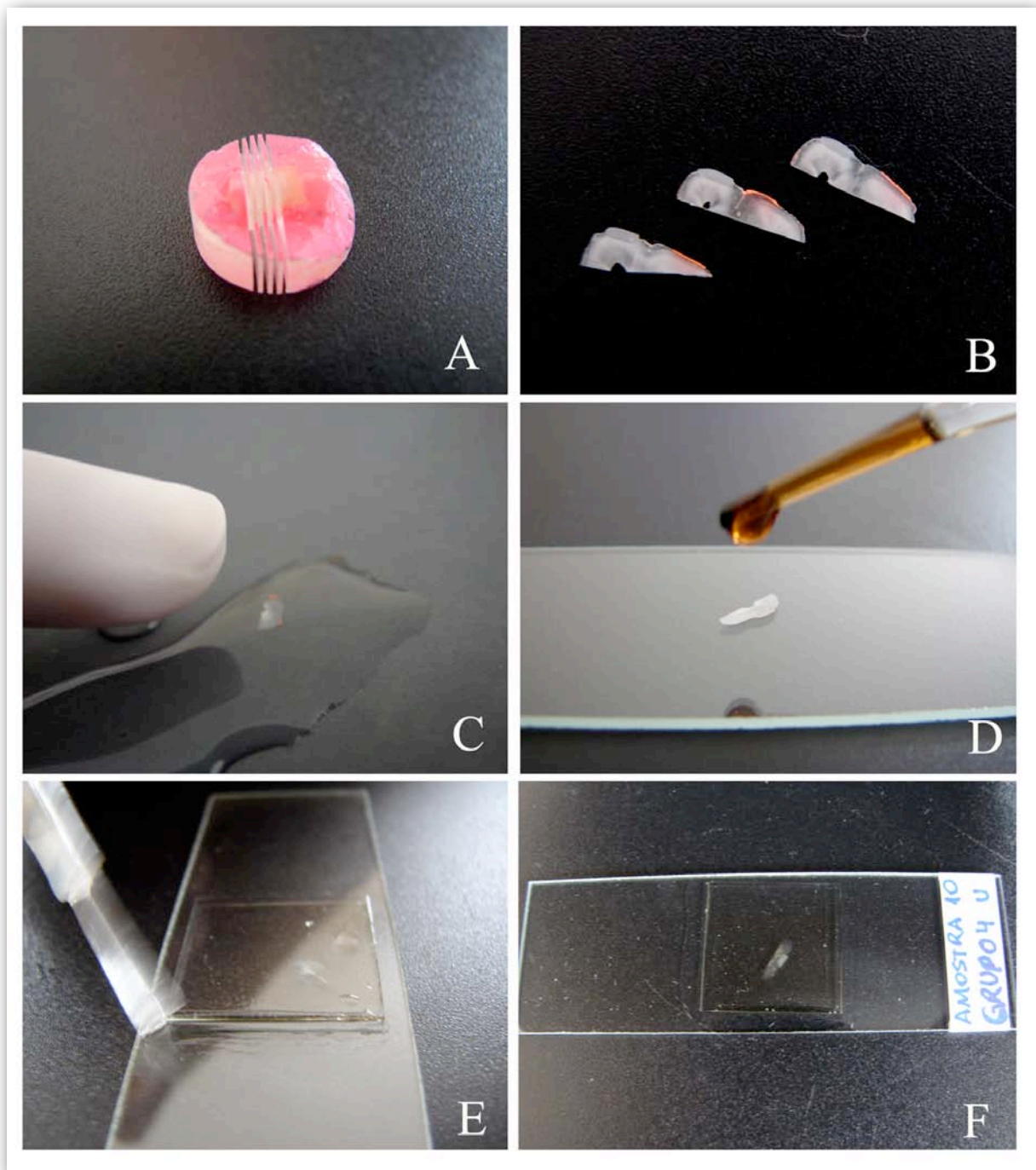
4.8 Mensuração da profundidade das lesões

Encerrado o período de 15 dias de indução cariogênica, os espécimes foram preparados para análise das lesões formadas. Inicialmente o biofilme dental aderido aos corpos de prova foi removido com auxílio de água destilada e gaze. Em seguida, as amostras foram lavadas em água destilada e secas. Então, um novo procedimento de inclusão em resina acrílica quimicamente ativada foi realizado, a fim de permitir o corte das amostras. Tubos de PVC foram posicionados sobre uma lâmina de cera. A resina acrílica foi vertida nos tubos e sobre a resina foi posicionada a amostra. Desta forma, apenas a resina epóxica da inclusão das amostras teve contato com a resina acrílica.

Após a polimerização da resina, os tubos de PVC foram removidos e os corpos de prova foram seccionados utilizando-se a máquina de corte de precisão Labcut (Extec 1010, Excel Technologies Inc.) com disco diamantado de 0,3 mm de espessura, sob refrigeração. Cortes com espessura de aproximadamente 250 µm foram realizados perpendicularmente às restaurações. De cada amostra foram

obtidas entre 3 e 4 seções (Figuras 4.7A, 4.7B). As amostras seccionadas foram mantidas em água deionizada. Estas fatias foram lixadas manualmente em lixas d'água de granulação 600 até atingirem a espessura final de $80 \pm 20 \mu\text{m}$ (Figura 4.7C). A medida de espessura dos fragmentos foi realizada com paquímetro digital (Mitutoyo, Tóquio, Japão). Para que os fragmentos lixados não quebrassem durante as medidas de espessura, estes foram posicionados entre uma lâmina e uma lamínula de vidro.

Quando atingiram a espessura desejada, as amostras foram colocadas sobre uma lâmina de vidro e cobertas por uma gota de quinolina (Figura 4.7D). O conjunto foi coberto por uma lamínula, e esmalte de unhas incolor foi utilizado para vedar as extremidades do conjunto (Figura 4.7E). Cada lâmina era identificada com o grupo e número da amostra (Figura 4.7F).



- A. Cortes da amostra na região da lesão de cárie.
- B. Fatias obtidas com o corte das amostras.
- C. Fatia sendo lixada manualmente.
- D. Recobrimento da fatia com quinolina sobre lâmina de vidro.
- E. Posicionamento da lamínula e aplicação do esmalte de unhas para vedar o conjunto.
- F. Lâmina pronta e identificada.

Figura 4.7 – Fotos ilustrativas do preparo para análise em microscopia de luz polarizada

As amostras foram analisadas por meio de microscopia de luz polarizada em microscópio de luz (Carl Zeiss, Oberkochen, Alemanha) ao qual foi acoplada câmera

fotográfica digital Sony H5 (Sony). A microscopia de luz polarizada tem sido utilizada em muitos estudos para analisar o desenvolvimento de lesões de cárie (GAMA-TEIXEIRA et al., 2007; GILMOUR et al., 1993; GILMOUR; EDMUNDS, 1998; GILMOUR; EDMUNDS; DUMMER, 1990; GILMOUR, EDMUNDS, NEWCOMBE, 1997). As 75 amostras originaram 150 potenciais margens para mensuração, sendo uma na porção distal e uma na porção mesial da cavidade restaurada. Para a realização das medidas de profundidade das lesões de cárie as imagens digitais captadas pela câmera fotográfica foram inseridas no *software* Adobe Photoshop CS (Adobe Systems Incorporated, San Jose, CA, EUA). As imagens foram previamente selecionadas, eliminando-se aquelas que apresentavam artefatos que impedissem as medidas ou que apresentassem problemas relacionados à anatomia, seccionamento e polimento. Desta forma, os grupos tiveram variação da quantidade de amostras avaliadas e o número de margens passíveis de mensuração foi reduzido para 115 (GI: 17; GII: 25; GIII:23; GIV: 23; GV:27). As medidas foram realizadas utilizando-se a ferramenta “lápiz” do *software*. Uma linha foi demarcada a partir do limite da restauração até o ponto mais profundo da lesão junto à restauração. A linha originada da medição foi mensurada no próprio *software*. Os valores originais em milímetros foram transformados em porcentagem em relação à média das profundidades das lesões de espécimes do grupo controle negativo (sistema adesivo sem MDPB + resina composta sem MDPB), que foi considerada como 100%.

4.7 Análise estatística

Os dados obtidos apresentados como médias \pm o desvio padrão dos resultados obtidos de no mínimo 17 espécimes para cada grupo experimental foram comparados por análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste Tukey. O nível de significância adotado foi de 5%.

5 RESULTADOS

Lesões morfológicamente semelhantes a lesões de cárie secundária foram observadas em todas as amostras. As lesões, como ilustrado na figura 5.1, estavam localizadas adjacentes às cavidades restauradas e apresentavam diâmetros variados.

As imagens histológicas também ilustraram os aspectos morfológicos dos materiais restauradores. A resina composta experimental com MDPB (Figura 5.1 - GIII e GV) apresentou aspectos semelhante ao cimento de ionômero de vidro resino-modificado (Figura 5.1 - GII), demonstrando algum conteúdo granular, o que não foi observado na resina composta sem MDPB (Figura 5.1 - GI e GIV).

As medidas originais de profundidade das lesões em milímetros obtidas de fotomicrografias ampliadas dos cortes por desgaste dos fragmentos dentários contendo as lesões de cárie estão apresentadas no Anexo B.

As medidas originais foram analisadas descritivamente (Tabela 5.1) e transformadas em porcentagem em função da média das amostras do grupo controle negativo (resina sem MDPB + sistema adesivo sem MDPB) que foi considerado como 100% (Tabela 5.2).

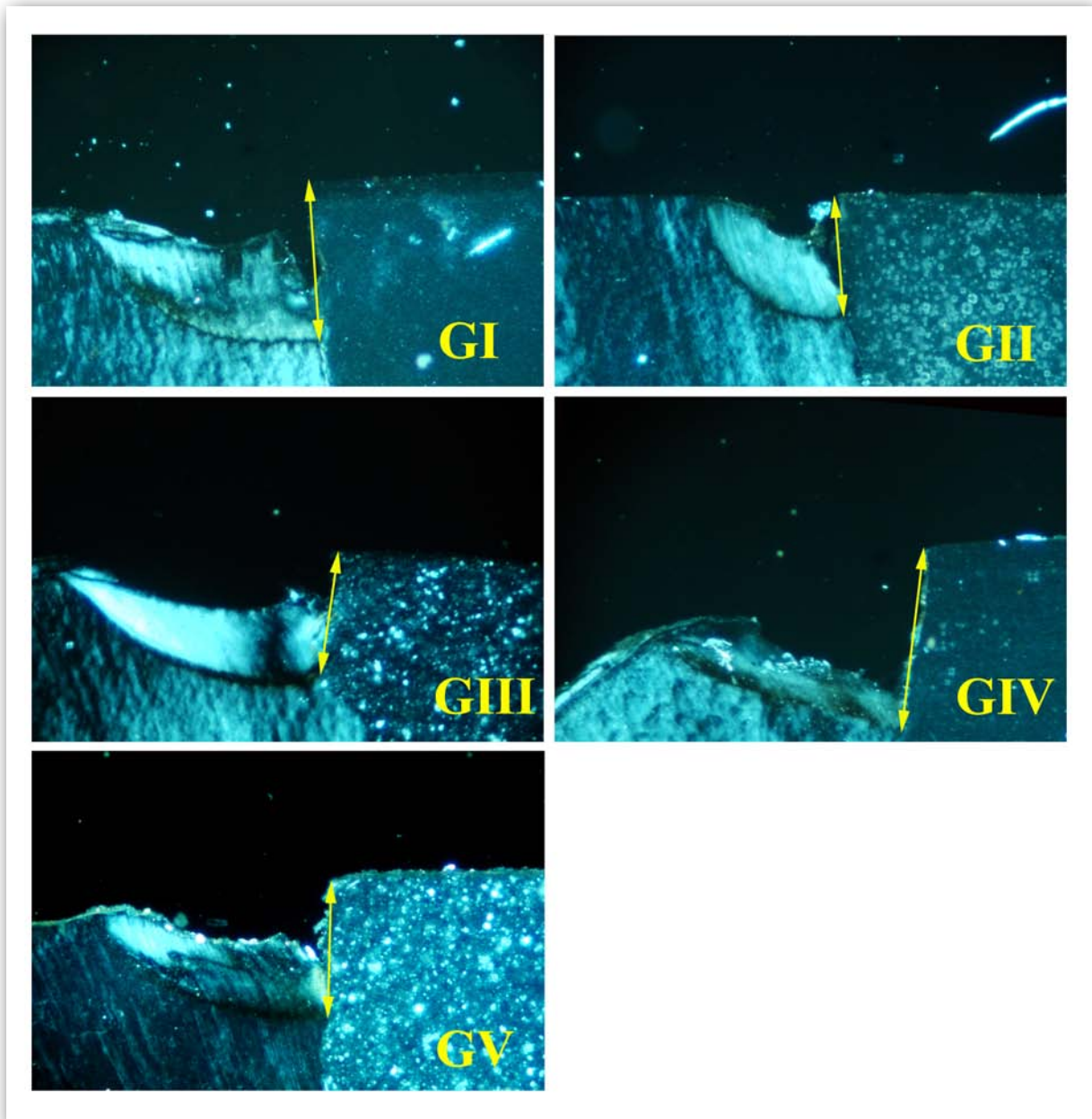


Figura 5.1 – Fotomicrografias de polarização (aumento original 40x)

Tabela 5.1 – Estatística descritiva das profundidades de lesões de cárie artificial em milímetros

	Sistema Adesivo sem MDPB e Resina sem MDPB (Controle Negativo)	CIV-RM (Controle Positivo)	Sistema Adesivo sem MDPB + Resina com MDPB	Sistema Adesivo com MDPB + Resina sem MDPB	Sistema Adesivo com MDPB + Resina com MDPB
Tamanho da amostra	17	25	23	23	27
Mínimo	16,4	12,0	11,2	14,3	9,2
Máximo	24	23,7	21,6	30,2	22,1
Mediana	20,1	16,7	16,6	19,8	17,8
Média Aritmética	19,94	16,98	16,48	20,33	17,07
Variância	4,01	9,18	6,52	18,07	9,46
Desvio Padrão	2,00	3,03	2,55	4,25	3,07
Erro Padrão	0,48	0,60	0,53	0,88	0,59

Tabela 5.2 – Estatística descritiva das profundidades de lesões de cárie artificial em porcentagem. A média aritmética calculada para os valores do grupo Controle Negativo foi considerada 100%

	Sistema Adesivo sem MDPB e Resina sem MDPB (Controle Negativo)	CIV-RM (Controle Positivo)	Sistema Adesivo sem MDPB + Resina com MDPB	Sistema Adesivo com MDPB + Resina sem MDPB	Sistema Adesivo com MDPB + Resina com MDPB
Tamanho da amostra	17	25	23	23	27
Mínimo	82,24	60,2	56,16	71,71	46,13
Máximo	120,36	118,85	108,32	151,45	108,32
Mediana	100,8	83,75	83,25	99,29	89,26
Média Aritmética	100	85,17	82,68	101,95	85,64
Variância	100,85	231,04	164,12	454,68	237,97
Desvio Padrão	10,04	15,2	12,81	21,32	15,42
Erro Padrão	2,43	3,04	2,67	4,44	2,96

Os dados de porcentagem obtidos foram submetidos à análise estatística onde inicialmente foi analisada a distribuição da amostra utilizando-se o teste de Lilliefors que indicou uma distribuição normal (Tabela 5.3). A seguir, esses dados foram então comparados utilizando-se o teste paramétrico de análise de variância (ANOVA) complementada pelo teste de Tukey que apontou onde estavam as diferenças estatisticamente significantes (Tabela 5.4).

Tabela 5.3 – Teste de Normalidade de Lilliefors

	Sistema Adesivo sem MDPB e Resina sem MDPB (Controle Negativo)	CIV-RM (Controle Positivo)	Sistema Adesivo sem MDPB + Resina com MDPB	Sistema Adesivo com MDPB + Resina sem MDPB	Sistema Adesivo com MDPB + Resina com MDPB
Tamanho da amostra	17	25	23	23	27
Desvio Máximo	0,13	0,06	0,07	0,08	0,11
Valor Crítico (0,05)	0,20	0,18	0,18	0,18	0,17
Valor Crítico (0,01)	0,24	0,20	0,21	0,21	0,19
p (valor)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Tabela 5.4 – Análise estatística: Testes ANOVA e Tukey

FONTES DE VARIAÇÃO	GL	SQ	QM
Tratamentos	4	7303,1	1825,77
Erro	110	26959,92	245,09
F	7,44		
(p)	0,0001		
Média (GI)	100		
Média (GII)	85,17		
Média (GIII)	82,68		
Média (GIV)	101,95		
Média (GV)	85,65		
Tukey:	Q	(p)	
Médias GI x GII (Sistema Adesivo sem MDPB + Resina sem MDPB X CIV-RM)	4,26	< 0,05	
Médias GI x GIII (Sistema Adesivo sem MDPB + Resina sem MDPB X Sistema Adesivo sem MDPB + Resina com MDPB)	4,89	< 0,01	
Médias GI x GIV (Sistema Adesivo sem MDPB + Resina sem MDPB X Sistema Adesivo com MDPB + Resina sem MDPB)	0,55	> 0,05	
Médias GI x GV (Sistema Adesivo sem MDPB + Resina sem MDPB X Sistema Adesivo com MDPB + Resina com MDPB)	4,18	< 0,05	
Médias GII x GIII (CIV-RM X Sistema Adesivo sem MDPB + Resina com MDPB)	0,77	> 0,05	
Médias GII x GIV (CIV-RM X Sistema Adesivo com MDPB + Resina sem MDPB)	5,24	< 0,01	
Médias GII x GV (CIV-RM X Sistema Adesivo com MDPB + Resina com MDPB)	0,15	> 0,05	
Médias GIII x GIV (Sistema Adesivo sem MDPB + Resina com MDPB x Sistema Adesivo com MDPB + Resina sem MDPB)	5,9	< 0,01	
Médias GIII x GV (Sistema Adesivo sem MDPB + Resina com MDPB x Sistema Adesivo com MDPB + Resina com MDPB)	0,94	> 0,05	
Médias GIV x GV (Sistema Adesivo com MDPB + Resina sem MDPB x Sistema Adesivo com MDPB + Resina com MDPB)	5,19	< 0,01	

Médias e desvio padrão expressos em porcentagem relativa à média da profundidade das lesões de cárie artificial desenvolvidas nas amostras do grupo controle negativo – foi considerado 100% – são apresentados na tabela 5.5. A mensuração da profundidade das lesões no limite dente–restauração demonstrou que amostras restauradas com resina composta sem MDPB (GI e GIV) apresentaram as lesões mais profundas ($p < 0,05$). As lesões desenvolvidas no grupo

controle positivo restaurado com CIV-RM (GII) apresentaram média da profundidade das lesões significativamente menor do que o grupo controle negativo, que foi restaurado com resina composta sem MDPB (GI, $p < 0,05$)

Amostras restauradas com a resina composta experimental com MDPB, independentemente do sistema adesivo utilizado (GIII e GV), apresentaram a média das profundidades desenvolvidas similar àquela observada para as amostras restauradas com CIV-RM (GII). A média da profundidade das lesões nestes grupos decresceu em 13% (GV) e 17% (GIII) em relação ao grupo controle negativo (GI).

Para os grupos em que componentes antibacterianos estavam presentes no sistema adesivo (ex. flúor no GI e flúor e MDPB no GIV) e a resina composta sem MDPB foi utilizada, a profundidade das lesões desenvolvidas foi significativamente maior do que nas amostras do grupo controle positivo (GII).

Tabela 5.5 – Resultados expressos em porcentagem relativa à média da profundidade das lesões de cárie artificial desenvolvidas nas amostras do grupo controle negativo, que foi considerado 100%

Grupos	Materiais Restauradores	n	Média (%) ± Desvio Padrão
I	Sistema Adesivo sem MDPB e Resina sem MDPB (Controle Negativo)	17	100,00 ± 10,04 ^a
II	CIV-RM (Controle Positivo)	25	85,17 ± 15,20 ^b
III	Sistema Adesivo sem MDPB + Resina com MDPB	23	82,68 ± 12,81 ^b
IV	Sistema Adesivo com MDPB + Resina sem MDPB	23	101,95 ± 21,32 ^a
V	Sistema Adesivo com MDPB + Resina com MDPB	27	85,65 ± 15,42 ^b

6 DISCUSSÃO

O tratamento restaurador de lesões radiculares – cariosas e não-cariosas – permanece como um desafio à odontologia restauradora, devido à sensibilidade relativamente mais elevada dos tecidos radiculares (cimento e dentina), à dissolução por ácidos quando comparados ao esmalte (HOPPENBROUWERS; DRIESSENS; BORGGREVEN, 1986, 1987) e à necessidade de materiais com boa adesão à dentina. Assim, o surgimento de cáries secundárias em raízes restauradas permanece como uma preocupação ao cirurgião-dentista, especialmente em pacientes de alto risco à cárie – como a crescente população idosa (SAUNDERS; MEYEROWITZ, 2005) – conduzindo à busca por técnicas alternativas de remoção de cárie radicular e por materiais restauradores que possam estender a longevidade de tais restaurações.

O diagnóstico clínico de cárie secundária é a razão mais comum para troca de restaurações dentais (KIDD, 2001; MJÖR; TOFFENETTI, 2000). Portanto, considerável atenção vem sendo dada aos efeitos terapêuticos manifestados por materiais restauradores diretos. Na intenção de controlar e/ou evitar a ocorrência de cáries secundárias em raízes, alternativas de manejo clínico de cáries radiculares têm sido propostas, incluindo a busca por novos materiais restauradores com ação antibacteriana. Este estudo avaliou a ação de um componente antibacteriano adicionado a materiais restauradores resinosos.

A associação do monômero brometo de metacriloiloxidodecilpiridínio (MDPB) com materiais restauradores resinosos (IMAZATO et al., 1994) resulta em produtos com ação antibacteriana, sem alteração de suas propriedades mecânicas.

O efeito inibidor da resina com MDPB na formação de lesões de cárie secundária em raízes pode ser de especial importância no tratamento de pacientes idosos, que apresentam alto risco de desenvolvimento de cáries radiculares.

O presente estudo avaliou os efeitos de materiais restauradores (sistema adesivo e resina composta) aos quais o monômero antibacteriano MDPB foi incorporado, no desenvolvimento de lesões de cárie secundária em raízes dentais submetidas a um desafio cariogênico bacteriano *in vitro*. Após o período de incubação das raízes restauradas no meio de cultura contendo *S. mutans*, observou-se macroscopicamente a formação de lesões semelhantes às lesões de cárie formadas *in vivo*. Microscopicamente também foi possível evidenciar alterações na dentina compatíveis com lesões de cárie. Nossos resultados mostraram que embora lesões de cárie secundária tenham sido observadas em todas as amostras, estas foram significativamente mais rasas nas raízes restauradas com resina composta contendo MDPB do que nas restauradas com resina composta sem MDPB, independentemente do sistema adesivo utilizado.

O modelo bacteriano foi o método escolhido para indução de lesões de cáries artificiais neste estudo. Semelhante à realidade clínica, este método utiliza uma cultura de bactérias específica para induzir a desmineralização tecidual e a denaturação de proteínas do cemento e da dentina. Ainda que outros métodos de indução de desmineralização, como a ciclagem de pH, permitam um melhor controle do experimento e sejam de execução relativamente mais simples, não são capazes de simular a situação *in vivo* de forma tão apurada quanto o modelo bacteriano. Além disso, com o objetivo de estudar as propriedades antibacterianas dos materiais restauradores sobre o desenvolvimento de lesões de cárie secundária, a presença de bactérias cariogênicas era imprescindível. As lesões formadas pelo método

bacteriano de indução cariogênica exibem muitas das características das lesões iniciais de cárie desenvolvidas *in vivo* (DUMMER; EDMUNDS; GREEN, 1982; EDMUNDS; WHITTAKER; GREEN, 1988; GILMOUR; EDMUNDS; DUMMER, 1990). Nas análises macroscópica e microscópica de todas as amostras, bem como na avaliação das imagens obtidas, independentemente do material restaurador utilizado, foi possível detectar alterações teciduais adjacente às restaurações semelhantes àquelas de lesões de cárie.

Neste estudo, o biofilme dental não foi removido da superfície dentária em nenhum momento. A presença de bactérias aderidas a esta superfície garantiu a continuidade do processo de desmineralização, desenvolvendo assim as lesões. Este modelo *in vitro* cria um ambiente altamente cariogênico. Enquanto o experimento era desenvolvido, a quantidade de *S. mutans* presente nos poços das placas de cultura e recobrimo as amostras foi capaz de baixar o pH de forma drástica, desenvolvendo lesões de cárie de forma bastante agressiva. O baixo pH do ambiente pode ter diminuído a ação do MDPB, uma vez que o efeito inibitório do MDPB no crescimento bacteriano é sensível ao ambiente ácido (YOSHIKAWA et al., 2007).

As lesões cariosas induzidas *in vitro* apresentaram diâmetros e profundidades distintas, dependendo do material restaurador utilizado. Os materiais restauradores empregados foram aqueles aos quais o MDPB poderia ser incorporado (sistema adesivo e resina composta). Como controle negativo foram utilizados resina composta e sistema adesivo (*primer* e adesivo resinoso) sem a incorporação de MDPB. Em contrapartida, um cimento de ionômero de vidro modificado por resina (CIV-RM) foi empregado como controle positivo. Por muitos anos, o CIV-RM foi considerado a primeira opção para restauração de lesões

cervicais que se estendam às raízes (ELIASSON; KRASSE; SÖREMARK, 1992; FORSTEN, 1994). Os CIV-RMs apresentam adesão química à dentina e possuem a habilidade de liberar flúor, o que determina sua característica de inibição de cárie (SCHERER; LIPPMAN; KAIM, 1989). Confirmando o efeito inibitório dos CIV-RMs no desenvolvimento de lesões de cárie, a profundidade das lesões formadas adjacentes a este material (controle positivo – GII) foram significativamente mais rasas do que as lesões encontradas nas amostras restauradas com resina composta sem MDPB (controle negativo – GI). De fato, esta diferença encontrada entre as profundidades das lesões de cárie secundária desenvolvidas nos grupos controle validaram o método utilizado para a mensuração das lesões de cárie secundária-símile. No entanto, apesar de sua característica inibitória no desenvolvimento de lesões de cárie, os CIVs, mesmo quando modificados por resina, não apresentam as mesmas propriedades mecânicas e estéticas das resinas compostas (ONAL; PAMIR, 2005).

A resina composta contendo MDPB inibiu significativamente a progressão das lesões de cárie artificial quando comparada ao grupo controle negativo, que não apresentava componentes antibacterianos ou características anticariogênicas. Além disso, as profundidades das lesões de cárie nos grupos restaurados com resina composta contendo MDPB foram similares às medidas encontradas no grupo controle positivo, restaurado com CIV-RM. Estes resultados sugerem que a resina composta contendo MDPB pode ser uma alternativa para a restauração de cavidades radiculares, inibindo a progressão de lesões de cáries secundárias. A superioridade mecânica da resina composta quando comparada ao CIV-RM, somada à capacidade de inibição da progressão das lesões de cárie secundária observada neste estudo, indicam o uso deste material na restauração de raízes dentais.

O efeito inibitório da resina contendo MDPB na progressão de cárie secundária em raízes pode ser de particular importância no tratamento de pacientes idosos, que são a população de maior risco para o desenvolvimento de cárie radicular. Outra importante característica da resina contendo MDPB é o fato de que, após a polimerização do compósito, o componente antibacteriano é quimicamente aderido à matriz resinosa. Desta forma, o agente antibacteriano não é liberado pelo material. Apesar da redução da atividade bactericida do MDPB que ocorre quando o monômero é imobilizado no compósito, o MDPB presente na superfície do material restaurador ainda apresenta atividade bacteriostática e propriedade antiadesão contra bactérias bucais (IMAZATO et al., 1994, THOMÉ, 2005). Materiais restauradores com agente bactericida MDPB apresentam efeito inibitório apenas contra bactérias que venham ao contato das moléculas antibacterianas imobilizadas, então seu efeito não é capaz de alcançar a área em torno do compósito. Esta característica pode ser considerada uma desvantagem da resina contendo MDPB quando comparada aos CIVs que podem liberar flúor para o ambiente bucal. No entanto, a inibição do acúmulo de biofilme na superfície do material e nas paredes cavitárias irão reduzir o total de bactérias em torno da restauração (IMAZATO; RUSSELL; McCABE, 1995). Este é um efeito desejado em materiais restauradores dentais. A interface dente-restauração é o sítio mais suscetível para a progressão de cáries secundárias. Por essa razão este trabalho se propôs a medir a profundidade das lesões de cárie, e não a largura.

Um resultado interessante obtido neste estudo foi quanto à incorporação do monômero antibacteriano MDPB ao sistema adesivo. De fato, a atividade antibacteriana é considerada uma das propriedades mais importantes em um sistema adesivo, especialmente para *primers* autocondicionantes, pois a dentina

preparada é tratada com o *primer* sem ser previamente condicionada e lavada. A incorporação de MDPB a *primers* dentinários tem demonstrado importantes efeitos contra *S. mutans* e outras bactérias encontradas em lesões de cárie dentinária (IMAZATO et al., 2001; LOBO et al., 2005). No entanto, neste estudo, nos grupos restaurados com sistemas adesivos contendo componentes antibacterianos (ex. flúor no GI e flúor e MDPB no GIV) e resina compostas sem a presença de MDPB, as lesões de cárie foram significativamente mais profundas do que no grupo controle positivo (GII). Este resultado indica que a incorporação de agentes antibacterianos a sistemas adesivos não inibe a progressão de lesões artificiais de cárie secundária em torno de restaurações de resina composta e concordam com os resultados encontrados por Lobo et al. (2005). Neste estudo, os autores encontraram que, apesar de o sistema adesivo com MDPB reduzir a síntese de glucanos quando comparado a sistemas adesivos sem MDPB, o sistema adesivo com o monômero antibacteriano não foi capaz de inibir a progressão de lesões de cárie secundária em esmalte bovino induzidas por um modelo biológico.

Os resultados apresentados pelo sistema adesivo com MDPB eram esperados, uma vez que o efeito antibacteriano do MDPB após a polimerização é dependente do contato com a bactéria. Assim, podemos dizer que a eficácia antibacteriana de materiais restauradores contendo MDPB é diretamente proporcional à área de contato entre material e biofilme. Resina compostas contendo MDPB apresentam uma área de exposição suficiente para demonstrar sua atividade antibacteriana, enquanto para sistemas adesivos com MDPB a área exposta é limitada a uma fina linha na interface dente-restauração. Esta particularidade anatômica também poderia explicar a ausência de controle da progressão da cárie secundária pelo sistema adesivo com flúor. Possivelmente a quantidade de sistema

adesivo exposto nesta fina linha na interface dente-restauração não seja suficiente para liberar quantidades de flúor capazes de inibir a formação de biofilme e a produção de ácidos. De fato, Rolland et al. (2006), testando os efeitos antibacterianos de adesivos resinosos como selantes de superfícies radiculares, não encontraram redução na formação de biofilme quando adesivos liberadores de flúor foram utilizados.

Contribuindo para a idéia de que a atividade antibacteriana de materiais contendo MDPB é proporcional à área de contato entre material restaurador e biofilme, Kuramoto et al. (2005) demonstraram que um adesivo resinoso contendo MDPB, quando aplicado como selante em superfícies de raízes desmineralizadas, ou seja, em contato direto com o biofilme, foi capaz de inibir a progressão de cáries radiculares.

Outra propriedade de sistemas adesivos contendo MDPB a ser considerada é sua ação antibacteriana na dentina infectada. Imazato et al. (2001) avaliaram o efeito bactericida de um *primer* dentinário com MDPB contra bactérias de lesões cáries humanas. O *primer* contendo MDPB foi capaz de eliminar completamente as bactérias da dentina cariada, mesmo quando diluído 40 vezes. Este resultado indica que o uso de *primer* dentinário contendo MDPB na restauração de cavidades causadas por cárie é benéfico para a eliminação de bactérias residuais, prevenindo a formação de lesões de cárie secundária sob a restauração.

A qualidade da adesão proporcionada pelo adesivo contendo MDPB não parece ser o motivo pelo qual as amostras restauradas com presença de MDPB apenas no sistema adesivo não apresentaram inibição na progressão das lesões. Imazato et al. (2003b) investigaram a atividade antibacteriana e as características adesivas em termos de força de adesão à dentina e habilidade de polimerização do

adesivo com 2,5% de MDPB utilizado neste estudo, além de avaliarem a força de adesão à dentina humana e o grau de conversão do adesivo experimental em combinação com *primers* contendo 1, 2, ou 5% de MDPB. A força de adesão do adesivo contendo MDPB não apresentou diferença significativa quando comparada à do grupo controle, e o uso do adesivo em combinação com o *primer* contendo MDPB não apontou nenhuma influência adversa na força de adesão. Independentemente da adição de MDPB ao *primer*, o grau de conversão do sistema adesivo não foi diferente entre os adesivos controle e experimental.

Os resultados obtidos neste estudo concordam com a observação prévia de Imazato et al. (1999b) de que o monômero MDPB pode ser eficientemente incorporado a materiais resinosos dentais, provendo-os com atividade antibacteriana contra bactérias bucais. Este efeito não é determinado por uma característica tóxica do material, uma vez que nenhuma atividade citotóxica foi observada no contato com MDPB em concentrações iguais ou menores que 10 µg/ml, e a toxicidade do MDPB foi considerada semelhante à de outros monômeros utilizados em materiais odontológicos (Imazato et al., 1999b).

Ainda que o mecanismo de atividade antibacteriana da amônia quaternária imobilizada não tenha sido totalmente esclarecido, uma hipótese sugere que a fração biocida imobilizada rompe a integridade da membrana citoplasmática causando lise celular semelhante à que ocorre por ação de agentes biocidas livres. Este é possivelmente o meio pelo qual o MDPB-PPRF – que possui o agente alquil-piridínio imobilizado – inibe a viabilidade bacteriana e sua capacidade de crescimento. No entanto, a mobilidade limitada dos agentes que estão unidos à rede polimérica por meio de ligações covalentes reduz sua ação biocida. Ainda que

estudos tenham demonstrado alguma ação bactericida do MDPB-PPRF, seu efeito é considerado predominantemente bacteriostático (IMAZATO et al., 2003a).

O efeito antibacteriano da resina composta contendo MDPB foi demonstrado uma vez que a profundidade das lesões foi significativamente menor nas amostras restauradas com a resina contendo MDPB quando comparadas às amostras em que o MDPB não foi incorporado à resina. No entanto, um problema relacionado ao compósito contendo MDPB ainda precisa ser contornado. Durante o preparo dos blocos de resina foi observado, como já havia sido descrito por Ebi et al. (2001) e Imazato et al. (1999a), que a resina com MDPB apresenta rápida descoloração após a polimerização. Apresentando cor intensamente amarelada, tornou-se esbranquiçada imediatamente após a fotoativação. Esta característica indesejada ainda impede o uso comercial deste compósito – já que a estabilidade de cor é uma propriedade fundamental para um material restaurador estético – e permanece como uma propriedade a ser aperfeiçoada. Portanto, neste momento o uso de resinas compostas contendo MDPB não apresentaria vantagens em relação ao uso de CIV-RMs, uma vez que sua característica estética ainda é deficiente. No entanto, quando esta adversidade estiver contornada, a superioridade mecânica da resina composta associada à demonstrada atividade antibacteriana certamente indicará esta nova resina na restauração de cavidades dentais, especialmente em superfícies radiculares.

Concluindo, a resina composta contendo MDPB foi efetiva na inibição da progressão de lesões de cárie artificial radicular, independentemente do sistema adesivo utilizado. A incorporação de MDPB à resina composta parece ter importância no controle do desenvolvimento de lesões de cárie secundária. Esta característica permite a indicação deste material para a restauração cavitária em

áreas em que a estética não é fundamental, especialmente na população idosa e outros pacientes com alto risco à cárie. Melhoras nas características estéticas de resinas contendo MDPB e estudos *in situ* devem ser conduzidos para que este produto esteja pronto para uso clínico.

Apesar da grande variedade de modelos para indução de cárie artificial conhecidos, ainda existem dúvidas quanto ao grau de correlação dos estudos realizados *in vitro* com a realidade *in vivo* (KURAMOTO et al., 2005; PAPAGIANNOULIS; KAKABOURA; ELIADES, 2002). Assim sendo, resultados obtidos com estudos de indução cariogênica *in vitro* devem ser interpretados como uma avaliação de propriedades de um determinado material, com cuidados ao extrapolarmos para a realidade clínica, uma vez que não existem evidências que comprovem a total equivalência destes testes com a situação *in vivo*.

7 CONCLUSÕES

Nas condições deste estudo podemos concluir que:

Restaurações contendo o monômero antibacteriano MDPB são capazes de inibir *in vitro* a progressão de lesões de cárie secundária em raízes dentais, desde que o monômero esteja presente na resina composta. O MDPB somente no sistema adesivo da restauração não é capaz de inibir a progressão de lesões cariosas.

REFERÊNCIAS¹

Amaecha BT, Higham SM, Edgar WM. Effect of sterilisation methods on the structural integrity of artificial enamel caries for intra-oral cariogenicity tests. *J Dent* 1999;27(4):313-6.

Balakrishnan M, Simmonds RS, Tagg JR. Dental caries is a preventable infectious disease. *Aus Dent J* 2000;45(4):235-45.

Beck JD. The epidemiology of root surface caries: North American studies. *Adv Dent Res* 1993;7(1):42-51.

Becker MR, Paster BJ, Leys EJ, Moeschberger ML, Kenyon SG, Galvin JL, et al. Molecular analysis of bacterial species associated with childhood caries. *J Clin Microbiol* 2002;40(3):1001-9.

Beighton D, Lynch E, Heath MR. A microbiological study of primary root-caries lesions with different treatments needs. *J Dent Res* 1993;72:623-9.

Beyth N, Yudovin-Farber I, Bahir R, Domb AJ, Weiss EI. Antibacterial activity of dental composites containing quaternary ammonium polyethylenimine nanoparticles against *Streptococcus mutans*. *Biomaterials* 2006;27:3995-4002.

Botelho MG. Inhibitory effects on selected oral bacteria of antibacterial agents incorporated in a glass ionomer cement. *Caries Res* 2003;37(2):108-14.

Bourke AM, Walls AW, McCabe JF. Light-activated glass polyalkenoate (ionomer) cements: the setting reaction. *J Dent* 1992;20(2):115-20.

Bowden GHW. Microbiology of root surface caries in humans. *J Dent Res* 1990;69:1205-10

Brown LR, Billings RJ, Kaster AG. Quantitative comparisons of potentially cariogenic microorganisms cultured from noncarious and carious root and coronal tooth surfaces. *Infect Immun* 1986;51(3):765-70.

¹ De acordo com Estilo Vancouver. Abreviatura de periódicos segundo base de dados MEDLINE.

Browne RM, Tobias RS. Microbial microleakage and pulpal inflammation: A review. *Endod Dent Traumatol* 1986;2:177–83.

Browning WD, Brackett WW, Gilpatrick RO. Two-year clinical comparison of a microfilled and a hybrid resin-based composite in non-carious Class V lesions. *Oper Dent* 2000;25(1):46-50.

Buergers R, Schneider-Brachert W, Hahnel S, Rosentritt M, Handel G. Streptococcal adhesion to novel low-shrink silorane-based restorative. *Dent Mater* 2009;25(2):296-75.

Burgess RC. Assessment of caries risk factors and preventive practices. *J Dent Educ* 1995;59(10):962-71.

Clarkson BH, Wefel JS, Feagin FF. Fluoride distribution in enamel after *in vitro* caries-like lesion formation. *J Dent Res* 1986;65(7):963-6.

Creanor SL, Carruthers LM, Saunders WP, Strang R, Foye RH. Fluoride uptake and release characteristics of glass-ionomer cements. *Caries Res* 1994;28:322-8.

Curzon ME, Preston AJ. Risk group: nursing bottles caries/caries in the elderly. *Caries Res* 2004;38(Suppl 1):24-33.

Czarnecka B, Nicholson JW. A preliminary study of the interaction of glass-ionomer dental cements with amino acids. *Dent Mater* 2006;22(2):133-7.

Davidovich E, Weiss E, Fuks AB, Beyth N. Surface antibacterial properties of glass ionomer cements used in atraumatic restorative treatment. *JADA* 2007;138(10):1347-52.

Dummer PMH, Edmunds DH, Green RM. Demineralization of human enamel by streptococcus mutans NCTC 10832 using a sequential batch culture technique. *Caries Res* 1982;16(2):193-6.

Ebi N, Imazato S, Noiri Y, Ebisu S. Inhibitory effects of resin composite containing bactericide-immobilized filler on plaque accumulation. *Dent Mater* 2001;17:485-91.

Edmunds DH, Whittaker DK, Green RM. Suitability of human, bovine, equine, and ovine tooth enamel for studies of artificial bacterial carious lesions. *Caries Res* 1988;22:327-36.

Ehara A, Torii M, Imazato S, Ebisu S. Antibacterial activities and release kinetics of a newly developed recoverable controlled agent-release system. *J Dent Res* 2000;79:824-8.

Eliasson S, Krasse B, Söremark R. Root caries. A consensus conference statement. *Swed Dent J* 1992;16:21-5.

Ellen RP, Banting DW, Fillery ED. *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* detection in the assessment of dental root surface caries risk. *J Dent Res* 1985;64(10):1245-9.

Emilson CG, Bergenholtz G. Antibacterial activity of dentinal bonding agents. *Quint Int* 1993;24:511-5.

Featherstone JD. Modeling the caries-inhibitory effects of dental materials. *Dent Mater* 1996;12(3):194-7.

Featherstone JD. The caries balance: the basis for caries management by risk assessment. *Oral Health Prev Dent* 2004;2(Suppl 1):259-64.

Featherstone JD. The science and practice of caries prevention. *J Am Dent Assoc* 2000;131(7):887-99.

Fejerskov O. Changing paradigms in concepts on dental caries: consequences for oral health care. *Caries Res* 2004;38(3):182-91.

Fejerskov O, Nyvad B. Dental caries in the aging individual. In: Holm-Pedersen P, Løe H. *Textbook of geriatric dentistry*. Copenhagen: Munksgaard; 1996.

Felton D, Bergenholtz G, Cox CF. Inhibition of bacterial growth under composite restorations following GLUMA pretreatment. *J Dent Res* 1989;68:491-5.

Forss H, Jokinen J, Spets-Happonen S, Seppä L, Luoma H. Fluoride and mutans streptococci in plaque grown on glass ionomer and composite. *Caries Res* 1991;25:454-8.

Forsten L. Fluoride release of glass ionomers. *J Esthet Dent* 1994;6:216-22.

Franco EB, Benetti AR, Ishikiriama SK, Santiago SL, Lauris JRP, Jorge MFF, et al. 5-year clinical performance of resin composite versus resin modified glass ionomer restorative system in non-cariou cervical lesions. *Oper Dent* 2006;31(4):403-8.

Frank RM. Structural events in the caries process in enamel, cementum, and dentin. *J Dent Res* 1990;69 Spec No:559-66; discussion 634-6.

Fure S, Romaniec M, Emilson CG, Krasse B. Proportions of *Streptococcus mutans*, *lactobacilli* and *Actinomyces* spp in root surface plaque. *Scand J Dent Res* 1987;95(2):119-23.

Fure S, Zickert I. Root surface caries and associated factors. *Scand J Dent Res* 1990;98(5):391-400.

Gama-Teixeira A, Simionato MR, Elian SN, Sobral MA, Luz MA. *Streptococcus mutans*-induced secondary caries adjacent to glass ionomer cement, composite resin and amalgam restorations in vitro. *Braz Oral Res* 2007;21(4):368-74.

Gibbons RJ, Cohen L, Hay DI. Strains of *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus* attach to different pellicle receptors. *Infect Immun* 1986;52:555-61.

Gilbert GH, Duncan RP, Dolan TA, Foerster U. Twenty-four month incidence of root caries among a diverse group of adults. *Caries Res* 2001;35(5):366-75.

Gilmour ASM, Edmunds DH. The polarized light microscopic appearance of caries-like lesions adjacent to restored cavities in the crowns and roots of extracted human teeth. *J Oral Rehabil* 1998;25(12):929-39.

Gilmour ASM, Edmunds DH, Dummer PMH. The production of secondary caries like lesions on cavity walls and the assessment of microleakage using an *in vitro* microbial caries system. *J Oral Rehabil* 1990;17(6):573-8.

Gilmour ASM, Edmunds DH, Newcombe RG. Prevalence and depth of artificial caries-like lesions adjacent to cavities prepared in roots and restored with glass ionomer or a dentin-bonded composite material. *J Dent Res* 1997;76(12):1854-61.

Gilmour ASM, Edmunds DH, Newcombe RG, Clark MF. An *in vitro* study into effect of a bacterial artificial system on the enamel adjacent to composite and amalgam restorations. *Caries Res* 1993;27:169-75.

González-Cabezas C, Li Y, Noblitt TW, Gregory RL, Kafrawy AH, Stookey GK. Detection of mutans streptococci in secondary carious lesions using immunofluorescent techniques and confocal laser scanning microscopy. *Caries Res* 1995;29(3):198-203.

Griffin F, Donly KJ, Erickson R. Caries inhibition of fluoride releasing liners. *Am J Dent* 1992; 5:293-5.

Guggenberger R, May R, Stefan KP. New trends in glass-ionomer chemistry. *Biomaterials* 1998;19(6):479-83

Hiraishi N, Yiu CK, King NM, Tay FR, Pashley DH. Chlorhexidine release and water sorption characteristics of chlorhexidine-incorporated hydrophobic/hydrophilic resins. *Dent Mater* 2008;24:1391-9.

Hoppenbrouwers PM, Driessens FC, Borggreven JM. The mineral solubility of human tooth roots. *Arch Oral Biol* 1987;32(5):319-22.

Hoppenbrouwers PM, Driessens FC, Borggreven JM. The vulnerability of unexposed human dental roots to demineralization. *J Dent Res* 1986;65(7):955-8.

Imazato S. Antibacterial properties of resin composites and dentin bonding systems. *Dent Mater* 2003;19:449-57.

Imazato S, Ebi N, Takahashi Y, Kanebo T, Ebisu S, Russell RRB. Antibacterial activity of bactericide-immobilized filler for resin-based restoratives. *Biomaterials* 2003a; 24:3605-9.

Imazato S, Ebi N, Tarumi H, Russel RRB, Kanebo T, Ebisu S. Bactericidal activity and cytotoxicity of antibacterial monomer MDPB. *Biomaterials* 1999b;20(9):899-903.

Imazato S, Ehara A, Torii M, Ebisu S. Antibacterial activity of dentin primer containing MDPB after curing. *J Dent* 1998b;26(3):267-71.

Imazato S, Imai T, Ebisu S. Antibacterial activity of proprietary self-etching primers. *Am J Dent* 1998;11:106-8.

Imazato S, Imai T, Russell RRB, Torii M, Ebisu S. Antibacterial activity of cured dental resin incorporating the antibacterial monomer MDPB and an adhesion-promoting monomer. *J Biomed Mater Res* 1998a;39:511-5.

Imazato S, Kinomoto Y, Tarumi H, Ebisu S, Tay FR. Antibacterial activity and bonding characteristics of an adhesive resin containing antibacterial monomer MDPB. *Dent Mater* 2003b;19:313-9.

Imazato S, Kinomoto Y, Tarumi H, Torii M, Russell RRB, McCabe JF. Incorporation of antibacterial monomer MDPB into dentin primer. *J Dent Res* 1997;76(3):768-72.

Imazato S, Kuramoto A, Kaneko T, Ebisu S, Russell RRB. Comparison of antibacterial activity of simplified adhesive systems. *Am J Dent* 2002;15(6):356-60.

Imazato S, Kuramoto A, Takahashi Y, Ebisu S, Peters MC. *In vitro* antibacterial effects of the dentin primer of Clearfil Protect Bond. *Dent Mater* 2006;22:527-32.

Imazato S, McCabe JF. Influence of incorporation of antibacterial monomer on curing behavior of a dental composite. *J Dent Res* 1994;73(10):1641-45s.

Imazato S, Ohmori K, Russell RRB, McCabe JF, Momoi Y, Maeda N. Determination of bactericidal activity of antibacterial monomer MDPB by a viability staining method. *Dent Mater J* 2008;27(1):145-8.

Imazato S, Russell RRB, McCabe JF. Antibacterial activity of MDPB polymer incorporated in dental resin. *J Dent* 1995;23(3):177-81.

Imazato S, Tarumi H, Kato S, Ebisu S. Water sorption and colour stability of composites containing the antibacterial monomer MDPB. *J Dent* 1999a;27:279-83.

Imazato S, Tay FR, Kaneshiro AV, Takahashi Y, Ebisu S. An *in vivo* evaluation of bonding ability of comprehensive antibacterial system incorporating MDPB. *Dent Mat* 2007;23:170-6.

Imazato S, Torii M, Tsuchitani Y, McCabe JF, Russell RRB. Incorporation of bacterial inhibitor into resin composite. *J Dent Res* 1994;73(8):1437-43.

Imazato S, Torii Y, Takatsuka T, Inoue K, Ebi N, Ebisu S. Bactericidal effect of dentin primer containing antibacterial monomer methacryloyloxydodecylpyridinium bromide (MDPB) against bacteria in human carious dentin. *J Oral Rehabil* 2001;28:314-9.

Imazato S, Walls AWG, Kuramoto A, Ebisu S. Penetration of an antibacterial dentine-bonding system into demineralized human root dentine *in vitro*. *Eur J Oral Sci* 2002;110:168-74.

Jedrychowski JR, Caputo AA, Kerper S. Antibacterial and mechanical properties of restorative materials combined with chlorhexidines. *J Oral Rehabil* 1983;10:373-81.

Jepson NJ, Moynihan PJ, Kelly PJ, Watson GW, Thomason JM. Caries incidence following restoration of shortened lower dental arches in a randomized controlled trial. *Br Dent J* 2001;191(3):140-4.

Kawasaki K, Featherstone JD. Effects of collagenase on root demineralization. *J Dent Res* 1997;76(1):588-95.

Kidd EA. Diagnosis of secondary caries. *J Dent Educ* 2001;65:997-1000.

Kidd EA. Root caries. *Dent Update* 1989;16(3):93-100.

Kidd EA, Toffenetti F, Mjör IA. Secondary caries. *Int Dent J* 1992;42(3):127-38.

Kuramoto A, Imazato S, Walls AWG, Ebisu S. Inhibition of root caries progression by an antibacterial adhesive. *J Dent Res* 2005;84:89-93.

Lobo MM, Gonçalves RB, Pimenta LAF, Bedran-Russo AKB, Pereira PN. *In vitro* evaluation of caries inhibition promoted by self-etching adhesive system containing antibacterial agents. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2005;75:122-7.

Loesche WJ. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev* 1986;50(4):3446-50.

Loguercio AD, Reis A, Barbosa AN, Roulet JF. Five-year double-blind randomized clinical evaluation of a resin-modified glass ionomer and a polyacid-modified resin in non-carious cervical lesions *J Adhes Dent* 2003;5(4):323-32.

Lynch E, Baysan A. Reversal of primary root caries using a dentifrice with a high fluoride content. *Caries Res* 2001;35:60-4.

Lynch E, Beighton D. Relationships between mutans streptococci and perceived treatment need of primary root-caries lesions. *Gerodontology* 1993;10(2):98-104.

Maneenut C, Tyas MJ. Clinical evaluation of resin-modified glass-ionomer restorative cements in cervical "abrasion" lesions: One-year results *Quintessence Int* 1995;26(10):739-43.

Marcotte H, Lavoie MC. Oral microbial ecology and the role of salivary immunoglobulin A. *Microbiol Mol Biol Rev* 1998;62(1):71-109.

Marsh PD. Are dental diseases examples of ecological catastrophes? *Microbiol* 2003;149:279-94.

McComb D. Operative dentistry considerations for the elderly. *J Prosthet Dent* 1994;72(5):517-24.

McLean JW, Nicholson JW, Wilson AD. Proposed nomenclature for glass-ionomer cements and related materials. *Quintessence Int* 1994;25:587-9.

Mello AMD, Mayer MPA, Mello FAS, Matos AB, Marques MM. Effects of Er:YAG laser on the sealing of glass ionomer cement restorations of bacterial artificial root caries. *Photomed Laser Surg* 2006;24:467-73.

Mjör IA. The location of clinically diagnosed secondary caries. *Quintessence Int* 1998;29:313-7.

Mjör IA, Jokstad A. Five-year study of Class II restorations in permanent teeth using amalgam, glass polyalkenoate (ionomer) cement and resin-based composite materials. *J Dent* 1993;21(6):338-43.

Mjör IA, Toffenetti F. Secondary caries: a literature review with caries reports. *Quintessence Int* 2000;31:165-79.

- Momoi Y, McCabe JF. Fluoride release from light-activated glass ionomer restorative cements. *Dent Mater* 1993;9(3):151-4.
- Montanaro L, Campoccia D, Rizzi S, Donati ME, Breschi L, Prati C, et al. Evaluation of bacterial adhesion of *Streptococcus mutans* on dental restorative materials. *Biomaterials* 2004;25:4457-63.
- Mount GJ. Glass ionomers: a review of their current status. *Oper Dent* 1999;24(2):115-24.
- Mount GJ. Root surface caries: a recurrent dilemma. *Aust Dent J* 1986;31(4):288-91.
- Nicholson JW, Czarnecka B. The biocompatibility of resin-modified glass ionomer cements for dentistry. *Dent Mater* 2008;24:1702-8.
- Nyvad B, Fejerskov O. Root surface caries: clinical, histopathological and microbiological features and clinical implications. *Int Dent J* 1982;32(4):312-26.
- Onal B, Pamir T. The two-year clinical performance of esthetic restorative materials in noncarious cervical lesions. *J Am Dent Assoc* 2005;136:1547-55.
- Papagiannoulis L, Kakaboura A, Eliades G. In vivo vs in vitro anticariogenic behavior of glass-ionomer and resin composite restorative materials. *Dent Mater* 2002;18(8):561-9.
- Ravald N, Birkhed D. Prediction of root caries in periodontally treated patients maintained with different fluoride programmes. *Caries Res* 1992;26(6):450-8.
- Renye JA, Piggot JP, Daneo-Moore L, Buttaro BA. Persistence of *Streptococcus mutans* in stationary-phase batch cultures and biofilms. *Appl Environ Microbiol* 2004;70(10):6181-7.
- Ribeiro J, Ericson D. In vitro antibacterial effect of chlorhexidine added to glass ionomer cements. *Scand J Dent Res* 1991;99:533-40.
- Robertello FJ, Coffey JP, Lynde TA, King P. Fluoride release of glass ionomer-based luting cements *in vitro*. *J Prosthet Dent* 1999;82:172-6.

Rolland SL, McCabe JF, Robinson C, Walls AWG. *In vitro* biofilm formation on the surface of resin-based dentine adhesives. *Eur J Oral Sci* 2006;114:243-9.

Saunders RH, Handelman SL. Effects of hyposalivatory medications on saliva flow rates and dental caries in adults aged 65 and older. *Spec Care Dentist* 1992;12(3):116-21.

Saunders RH, Meyerowitz C. Dental caries in older adults. *Dent Clin N Am* 2005;49:293-308.

Scheie AA. Modes of action of currently know chemical anti-plaque agents other than chlorhexidine. *J Dent Res* 1989;68:1609-16.

Scherer W, Cooper H, Antonelli J. Antimicrobial properties of dental dentin-enamel adhesives. *J Esthet Dent* 1990;2:140-1.

Scherer W, Lippman N, Kaim J. Antimicrobial properties of glass-ionomer cements and other restorative materials. *Oper Dent* 1989;14:77-81.

Shen S, Samaranayake LP, Yip HK. *In vitro* growth, acidogenicity and cariogenicity of predominant human root caries flora. *J Dent* 2004;32(8):667-78.

Svanberg M, Mjör IA, Qrstavik D. Mutans streptococci in plaque from margins of amalgam composite, and glass-ionomer restorations. *J Dent Res* 1990;69(3)861-4.

Swift EJ Jr. An update on glass ionomer cements. *Quintessence Int* 1988;19(2):125-30.

Syafiuddin T, Hisamitsu H, Toko T, Igarashi T, Goto N, Fujishima A, et al. *In vitro* inhibition of caries around a resin composite restoration containing antibacterial filler. *Biomaterials* 1997;18:1051-7.

Takahashi N, Yamada T. Acid-induced acid tolerance and acidogenicity of non-mutans streptococci. *Oral Microbiol Immunol* 1999;14(1):43-8.

Takahashi Y, Imazato S, Kaneshiro AV, Ebisu S, Frencken JE, Tay FR. Antibacterial effects and physical properties of glass-ionomer cements containing chlorhexidine for the ART approach. *Dent Mater* 2006;22:647-52.

Tanagawa M, Yoshida K, Matsumoto S, Yamada T, Atsuta M. Inhibitory effect of antibacterial resin composite against *Streptococcus mutans*. *Caries Res* 1999;33:366-71.

Tanzer JM, Livingston J, Thompson AM. The microbiology of primary dental caries in humans. *J Dent Educ* 2001;65(10):1028-37.

ten Cate JM, van Loveren C. Fluoride mechanisms. *Dent Clin North Am* 1999;43(4):713-42.

Tenuta LM, Ricomini Filho AP, Bel Cury AA, Cury JA. Effect of sucrose on the selection of mutans streptococci and lactobacilli in dental biofilm formed *in vitro*. *Caries Res* 2006;40(6):546-9.

Thomé T. Análise *in vitro* do efeito do monômero antibacteriano MDPB sobre a adesão bacteriana à resina composta [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2005.

Thomson WM, Spencer AJ, Slade GD, Chalmers JM. Is medication a risk factor for dental caries among older people? *Community Dent Oral Epidemiol* 2002;30(3):224-32.

Torii Y, Itota T, Okamoto M, Nakabo S, Nagamine M, Inoue K. Inhibition of artificial secondary caries in root by fluoride-releasing restorative materials. *Oper Dent* 2001;26(1):36-43.

Türkün LS, Türkün M, Ertuğrul F, Ateş M, Brugger S. Long-term antibacterial effects and physical properties of a chlorhexidine-containing glass ionomer cement. *J Esthet Restor Dent* 2008;20:29-45.

van Houte J. Bacterial specificity in the etiology of dental caries. *Int Dent J* 1980;30:305-26.

van Loveren C. The antimicrobial action of fluoride and its role in caries inhibition. *J Dent Res* 1990;69 Spec No:676-83.

van Reijden WA, DelleMijn-Kippuw N, Stijne-van Nes AM, de Soett JJ, van Winkelhoff AJ. Mutans streptococci in subgingival plaque of treated and untreated patients with periodontitis. *J Clin Periodontol* 2001;28:686-91.

Wefel JS, Clarkson BH, Heilman JR. Natural root caries: a histologic and microradiographic evaluation. *J Oral Pathol* 1985;14(8):615-23.

Widdop FT. Caring for the dentate elderly. *Int Dent J* 1989;39(2):85-94.

Wiegand A, Buchalla W, Attin T. Review on fluoride-releasing restorative materials - fluoride release and uptake characteristics, antibacterial activity and influence on caries formation. *Dent Mater* 2007;23:343-62.

Wilson AD. Resin-modified glass-ionomer cements. *Int J Prosthodont* 1990;3(5):425-9.

Wilson AD, Kent BE. A new translucent cement for dentistry. The glass ionomer cement. *Br Dent J* 1972;132(4):133-5.

Wilson NHF, Burke FJT, Mjör IA. Reasons for placement and replacement of restorations of direct restorative materials by a selected group of practitioners in the United Kingdom. *Quintessence Int* 1997;28:245-248.

Yoshida K, Tanagawa M, Matsumoto S, Yamada T, Atsuta M. Antibacterial activity of resin composites with silver-containing materials. *Eur J Oral Sci* 1999;107:290-6.

Yoshikawa K, Clark DT, Brailsford SR, Beighton D, Watson TF, Imazato S, et al. The effect of antibacterial monomer MDPB on the growth of organisms associated with root caries. *Dent Mater J* 2007;26(3):388-92.

Zambon JJ, Kasprzak SA. The microbiology and histopathology of human root caries. *Am J Dent* 1995;8(6):323-8.

ANEXO A



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

PARECER DE APROVAÇÃO
Protocolo 185/04

O Grupo de Trabalho indicado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, **APROVOU** o protocolo de pesquisa "*Análise in vitro do efeito inibitório de restaurações contendo o monômero antibacteriano MDPB na formação de cáries secundárias em raízes dentárias*", de responsabilidade da Pesquisadora **Thais Thomé**, sob orientação da Professora Doutora **Márcia Martins Marques**.

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados a este Comitê relatórios anuais referentes ao andamento da pesquisa e ao término cópia do trabalho em "cd". Qualquer emenda do projeto original deve ser apresentada a este CEP para apreciação, de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

São Paulo, 28 de outubro de 2004

Profª Drª **ROSA HELENA MIRANDA GRANDE**
Coordenadora do CEP-FOUSP

ANEXO B

GRUPO 1	GRUPO 2	GRUPO 3	GRUPO 4	GRUPO 5
21,7	15,8	14,2	16,7	22,1
21,1	18	12,9	19,8	18,8
24	21,7	19,5	23,5	18,8
21,5	15,9	18,2	30,2	15,5
17,2	16,3	21,6	28	9,2
20,4	21,9	16,8	21,8	13,4
19	19,6	16,1	22,7	18,4
16,4	15	11,2	24,6	15,8
21,4	12	14,9	14,7	21,6
21,2	23,7	17,5	17	18,9
20,1	17,9	14,9	14,3	13,4
17,2	13,1	13	21,5	19,2
18,6	15,2	16,6	22	17,8
21,8	17,4	16,2	23,8	19,2
18,9	17	18,3	19,5	14,5
18,5	16,7	15,3	24,6	21
20	19,3	14,2	17,7	18,1
	18,9	15,2	18,9	20,4
	18,2	18	20,9	18,3
	16,1	17,8	15,4	15,9
	19,8	20,9	15,5	15,8
	12,6	17,1	16,3	16,2
	14	18,8	18,2	13,5
	16,2			16,6
	12,3			16,3
				20,2
				12,2

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)