

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE CIMENTOS ENDODÔNTICOS EXPERIMENTAIS CONTENDO METACRILATOS METÁLICOS

LARISSA TORRES NUNES¹; VICTORIA BURMANN DA SILVA GUIMARÃES²;
SIMONE DUARTE³; RAFAEL GUERRA LUND⁴

¹Universidade Federal de Pelotas– larissa.ifsul@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – victoryabs@gmail.com

³Indiana University School of Dentistry– siduarte@iu.edu

⁴Universidade Federal de Pelotas – rafael.lund@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Para se ter sucesso na terapia endodôntica, é necessário haver a completa obturação do sistema de canais radiculares. Isto se deve ao fato de que, mesmo após o preparo biomecânico, as paredes do canal radicular podem conter microorganismos capazes de causar irritação aos tecidos periapicais, levando ao insucesso do tratamento. (NGUYEN, 2007; PÉCORA, 2010; SOUZA-NETO, 2011). Deste modo, para evitar o crescimento microbiano e a penetração de fluidos, o cimento endodôntico deveria aderir firmemente à dentina e à guta-percha. Com esse mecanismo, seria eliminado a penetração de fluidos e se teria melhor e maior resistência da obturação ao deslocamento (GOGOS et al., 2003).

Na verdade, tem-se observado a impossibilidade de um material preencher todas as características ideais e desejáveis para um cimento obturador dos canais radiculares. O que normalmente ocorre é a prevalência de algumas delas em detrimento de outras.

Em estudo *in vitro* de um cimento endodôntico experimental contendo metacrilato de Ca e Sn houve a melhora no efeito antimicrobiano de *E. faecalis*, e citotoxicidade moderada quando comparada ao controle Resilon/RealSeal® (RS – SybronEndo, CA, EUA). Autores relatam que é necessário que mais estudos que avaliem as respostas biológicas devem ser realizados (ROSSATO et al., 2017). Sendo assim, o objetivo deste estudo foi formular e caracterizar fisico-quimicamente cimentos endodônticos experimentais contendo monômeros metacrilatos metálicos (Ca e Sn), bem como avaliar a sua atividade antimicrobiana através de ensaios *in vitro* de inibição da formação de biofilme.

2. METODOLOGIA

2.1 Formulação e delineamento dos grupos do cimento endodôntico experimental

A pasta base tem como composição: Bis-EMA30, exotano 8, dimetacrilato PEG400, α =25, TEGDMA, canforoquinina, DHEPT, sílica não silanizada e itérbio; o catalizador teve a seguinte composição: Bis-EMA30, exotano 8, TEGDMA, sulfínic, peróxido de benzoila, BHT, sílica não silanizada e itérbio. Os cimentos experimentais foram adicionados de metacrilatos de Ca a 1, 2 e 5%, e metacrilatos de dibutilestanho a 1,2 e 5%.

Tabela 1. Composição dos cimentos avaliados

Cimento Endodôntico	Composição	
	Pasta Base	Pasta Catalisadora
Cimento Endodôntico Experimental	Bis-EMA30, Exotano 8, dimetacrilato PEG 400 α =25, TEGDMA, canforoquinona, DHEPT, sílica não silanizada e itérbio	Bis-EMA 30, Exotano 8, TEGDMA, sulfínico, peróxido de benzoila, BHT, sílica não silanizada e itérbio
E + Metacrilato de Cálcio	Experimental + metacrilato de cálcio em 1%, 2%, 5%	
E + Metacrilato de Dibutilestanho	Experimental + metacrilato de dibutilestanho em 1%, 2%, 5%	

2.2 Biofilme Microcosmos

Para o ensaio antimicrobiano, os cimentos foram manipulados e colocados em moldes de plástico e armazenados à temperatura ambiente durante 48h. *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 foi preparado em meio BHI para obter-se 3×10^8 Unidades formadoras de colônia (CFU) e incubadas por 18–24 h a 37 ° C sob condições microaerofílicas (5% de CO₂). Biofilmes de *E. faecalis* foram formados em discos de hidróxiapatita (controle), discos de cimento endodôntico experimental e o controle comercial (AH Plus - padrão-ouro), e foram colocados em 2 mL de meio BHI com inóculo, em placas de cultura de 24 poços, a 37 ° C, 5% de CO₂, durante 3 e 14 dias. Cada poço continha 1,8mL de caldo BHI estéril e 0,2mL de inóculo, e os espécimes foram mantidos submersos. A densidade celular foi ajustada num espectrofotômetro a 405nm (Sp22-325 a 1000nm, Bioespectro, Curitiba, PR, Brasil) até uma densidade de aproximadamente $7,5 \times 10^7$ unidades formadoras de colônias por mililitro em caldo BHI. Após os períodos de crescimento de 3 e 14 dias, foram analisados 108 discos (n=6 por grupo e por período de incubação).

No final do período experimental, os biofilmes foram lavados por imersão três vezes, colocados em 5 ml de solução salina estéril, e as superfícies dos discos raspadas suavemente com uma espátula estéril para colher as células aderentes. Os biofilmes removidos foram submetidos à sonicação utilizando três pulsos de 15s com uma saída de 7 W (Fisher Scientific, Sonic Dismembrator modelo 100; USA). A suspensão homogeneizada foi utilizada para peso seco e viabilidade bacteriana (unidades formadoras de colônias - CFU mg⁻¹ de peso seco de biofilme) (Duarte et al, 2006).

2.3 Biofilme com Análise em Microscópio Confocal

Se utilizou a mesma metodologia acima descrita para análise em confocal, com um n=1 por período de tempo, 3 dias e 14 dias. A análise da viabilidade do biofilme se realizou utilizando a técnica SYTO 9/iodeto de propídio (Live/Dead

Bacligth Kit, Invitrogen, Eugene, OR, EUA). As amostras foram limpas com 2mL de solução salina e, em seguida, 0,25µL de corante foi colocado sobre o biofilme. Utilizou-se um CLSM (Olympus Fluoview 1000, Olympus Corporation, Tóquio, Japão) para visualizar as amostras (Ordinola-Zapata et al., 2012). Os respectivos comprimentos de onda de absorção e emissão foram 494/518nm para SYTO 9 e 536/617nm para iodeto de propídio. O biofilme foi avaliado aleatoriamente a uma ampliação de 60x. Em seguida, serão obtidas cinco pilhas confocais de diferentes áreas aleatórias de cada amostra utilizando uma lente de óleo 40x, um tamanho de passo de 1µm e um formato de 386×386 pixels.

2.4 Análise Estatística

Os dados estatísticos foram analisados estatisticamente por Análise de Variância de uma via (ANOVA) e teste post hoc de Tukey utilizando software SigmaPlot 12.0.

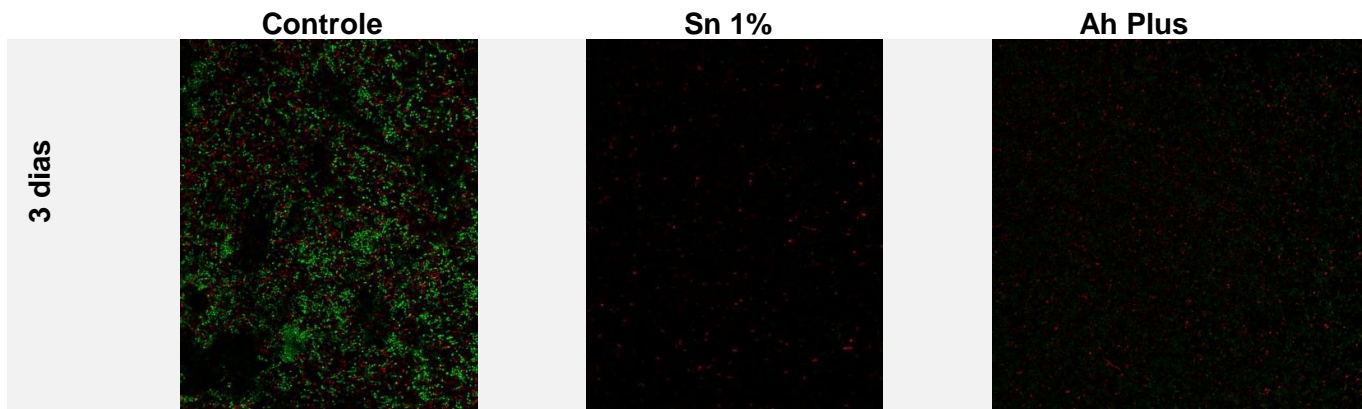
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 2. Média (DP) do biofilme em UFC/mg em log10

	3 dias	14 dias
Sn1%	8,35 (8,4) ^a	8,23 (7,3) ^b
Sn2%	8,66 (8,4) ^a	8,40 (8,1) ^a
Sn5%	8,53 (8,2) ^a	8,50 (8,1) ^a
Ca1%	8,72 (8,5) ^a	8,55 (8,5) ^a
Ca2%	8,68 (8,5) ^a	8,38 (7,9) ^a
Ca5%	8,68 (8,3) ^a	8,64 (8,7) ^a
Experimental	8,55 (8,4) ^a	8,86 (9,0) ^a
Ahplus	8,64 (8,4) ^a	8,55 (7,7) ^a
Controle	8,57 (8,4) ^a	8,57 (8,5) ^a

Letras indicam diferença estatística significativa entre os grupos. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo (teste de Tukey).

Conforme demonstrado na tabela, a atividade antimicrobiana de todos os cimentos experimentais foi similar ao controle. A análise antimicrobiana de microcosmos apresentou resultados de biofilme em UFC/mg em log10 estatisticamente iguais, estes foram semelhantes entre os cimentos com metacrilato de Sn, Ca e o AH PLUS, tanto no terceiro dia, quanto aos quatorze dias. A única exceção foi a do Sn 1% que apresentou uma diferença estatística significativa entre o terceiro e o décimo quarto dia.



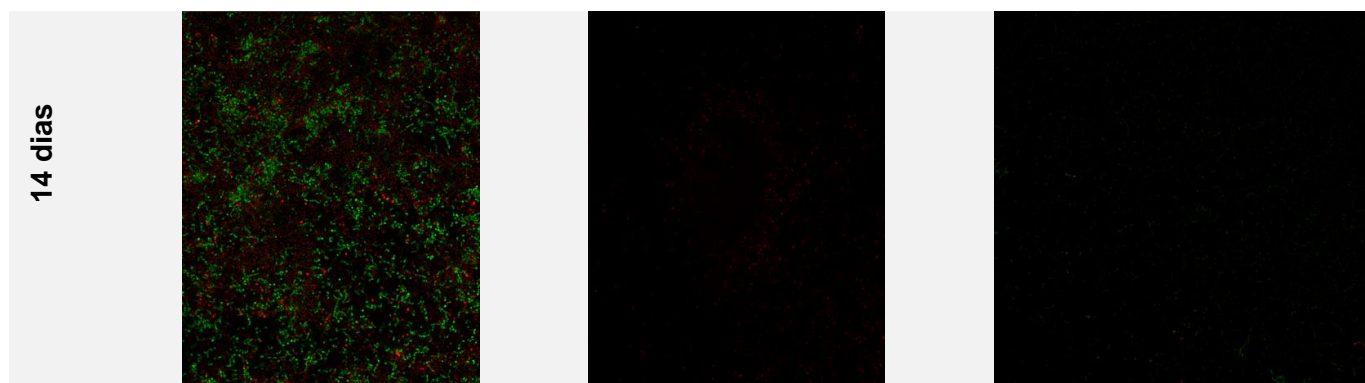


Figura 1. Imagens do microscópio confocal. Fluorescência verde: bactérias viáveis; fluorescência vermelha: bactérias mortas.

4. CONCLUSÕES

Com base na metodologia empregada, conclui-se que o cimento contendo Sn 1%, em 14 dias de biofilme, apresentou atividade antimicrobiana comparada com o grupo controle e o padrão ouro.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSMANN E, BÖTTCHER DE, HOPPE CB, GRECCA FS, KOPPER PM. Evaluation of bone tissue response to a sealer containing mineral trioxide aggregate. **J Endod.**2015;41:62-6.

BARRY, J. E.; TROGOLO, J. A.; PASTECKL, E. A. Antimicrobial Dental Products. **United States Patent US** 6,267,590 B1v.2001.

FRAUNHOFER, J.A. & BRANSTETTER, J. The physical properties of four endodontic sealer cements. **Journal of Endodontics**, v.8, n.3, p. 126-30, 1982.

H. Q. NGUYEN^{1,*}, A. Y. KAUFMAN, R. C. KOMOROWSKI¹, S. FRIEDMAN¹. Electronic length measurement using small and large files in enlarged canals. **International Endodontic Journal**, 2007.

NUNES, V. H. et al. Adhesion of Epiphany and AH Plus sealers to human root dentin treated with different solutions. **Brazilian Dental Journal**, v. 19, n. 1, p. 46-50, 2008.

PRINZ, H. Filling root-canals with an improved parafinn compound. **D. Cosmos**, v.54, n.2, p. 1081-94, 1912..

ROSSATO, T.C.A.; GALLAS, J.A.; ROSA W.L.O.; DA SILVA, A.F.; PIVA, E; PERALTA, S.L; LUND, R.G. Experimental Sealers Containing Metal Methacrylates: Physical and Biological Properties. **Journal of Endodontics**, v.43, n.9, 2017.

SOUSA-NETO MD, PÉCORA JD. Method for determination of root curvature radius using cone-beam computed tomography images. **Brazilian Dental Journal**, v.2, n.19, p. 114-118, 2008.

SOUSA-NETO¹,J. D. PÉCORA¹. Evaluation of physicochemical properties of four root canal sealers. **International Endodontic Journal**. v.44, n.2, p. 126–135, February 2010.

SOUSA-NETO MD, VERSIANI MA, RACHED-JÚNIOR FA, DE-DEUS G, MIRANDA CE, PÉCORA JD.. Changes in the surface of four calcium silicate-containing endodontic materials and an epoxy resin-based sealer after a solubility test. **International Endodontic Journal**. May; v.45, n.5, p. 419-28. 2011.

SVATUN B. 1978. Plaque-inhibiting effect of dentifrices containing stannous fluoride. **Acta odontologica Scandinavica**.36:205-210.

SVATUN B, ATTRAMADAL A. 1978. The effect of stannous fluoride on human plaque acidogenicity *in situ* (Stephan curve). **Acta odontologica Scandinavica**.36:211-218.

ZHANG, H.; SHEN, Y.; RUSE, N.D.; HAAPASALO, M. Antibacterial activity of endodontic sealers by modified direct contact test against *Enterococcus faecalis*. **Journal of Endodontics**, v. 35, n. 7, p. 1051–1055, 2009.