

AVALIAÇÃO DA AÇÃO ANTIMICROBIANA E CITOTOXICIDADE DE MATERIAIS RESTAURADORES PROVISÓRIOS

JULIANA SILVA RIBEIRO¹; PERALTA, SONIA LUQUE²; SILVA, ADRIANA FERNANDES², PIVA, EVANDRO³; LUND, RAFAEL GUERRA⁴.

¹ Acadêmica do curso de Graduação em Odontologia UFPel; – jujusilvaribeiro@gmail.com

² Universidade Federal de Pelotas – solupe@gmail.com

² Universidade Federal de Pelotas – adrisilvapiva@gmail.com

² Universidade Federal de Pelotas – evpiva@gmail.com

³ Universidade Federal de Pelotas – rafael.lund@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

Os materiais restauradores provisórios são usados para vários fins na odontologia (POONACHA V. et al 2013). Dentre esses está sua utilização no período entre o preparo de dentes e a cimentação de restaurações definitivas, isto pode se dá em alguns dias em casos mais simples, semanas ou até mesmo, vários meses em casos de reabilitações mais complexas (ULKER M. et al 2009) As restaurações provisórias são essenciais para cobrir dentina exposta após o preparo evitando sensibilidade e acúmulo de placa, estabilizar a posição do dente preparado, manter a função de forma adequada, manter a aparência estética e evitar a hiperplasia gengival (WASSEL R.W. 2002; POONACHA V. et al 2013).

Contudo, esses materiais contêm grande variedade de monômeros e aditivos (SPAHL W 1998;), por isso, diante da possibilidade conversão de monômero-polímero incompleta, pode-se ocorrer a liberação desses componentes para a ambiente oral (SZEP S 2002). Levando em conta essa composição química complexa e que os materiais ficam em contato direto com a dentina desgastada, é imprescindível se avaliar citotoxicidade desses materiais, já que a avaliação da citotoxicidade é um pré-requisito para a avaliação de biocompatibilidade dos materiais. No entanto, há poucos estudos sobre os materiais restauradores provisórios e sua citotoxicidade (YE R. R. et al 2008). Outra propriedade que se torna interessante ser avaliada é a ação antimicrobiana desses materiais, já que não seria interessante um material que acumule biofilme em excesso na superfície desses materiais (BITENCOURT, et al. 2010).

Sendo assim, o objetivo do estudo foi avaliar a biocompatibilidade dos materiais restauradores provisórios através do teste de citotoxicidade.

2. METODOLOGIA

2.1 Materiais utilizados

Os materiais utilizados neste estudo foram: Bioplic, Fermit, Fill Magic, Luxatemp, e Revotek.

Os eludatos dos materiais testados foram obtidos após 24h de contato com o DMEM. As condições de tratamento incluindo cultura e tempo de exposições serão baseadas nas especificações de International Standards Organization (1997).

2.2 Cultivo celular

A suspensão das células fibroblastos NCTC foi plaqueada em uma concentração de 2×10^4 células por poço e distribuídas em placas de cultivo celular de 96 poços. Cada poço recebeu 200µl de DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino e 1% de solução de penicilina. As placas foram incubadas à 37°C com 5% CO₂ por 24 horas para promover a adesão celular.

2.3 Ensaio de citotoxicidade (MTT)

A viabilidade celular foi avaliada pelo ensaio colorimétrico MTT, que se baseia na capacidade das células viáveis reduzirem metabolicamente o sal de MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazólio) por meio da enzima mitocondrial desidrogenase succínica em um cristal de formazan de cor azul-púrpura que se acumula no citoplasma celular. Em placas de 96 poços foram colocadas 1×10^4 células suspensas em 200µL DMEM por poço. A placa foi incubada (37°C, 5% de CO₂) por um período de 24 h. Após esse período os meios foram aspirados e as células lavadas com PBS para logo serem colocados os produtos teste, sendo armazenados por 24h em estufa a 37°C permitindo que produtos atuassem na monocamada celular.

Após 24 h, o meio com os produtos teste de cada poço foram aspirados. Foi preparada uma solução de MTT que foi adicionada a cada poço e incubados novamente por 6h de forma a permitir o metabolismo do MTT. Passado o período, o meio foi sugado e os cristais de formazan ressuspensos em 200 µl de dimetil sulfoxido (DMSO).

Os resultados foram lidos em um espectrofotômetro com um comprimento de onda de 560 nm, onde foram considerados os valores de absorbância como indicador da viabilidade celular (FERNÁNDEZ, 2010).

2.4 Teste de contato direto

Para este ensaio, foram utilizadas cepas de *E. faecalis* ATTC4083, em modelo estático de monocultura de biofilme.

Após o descongelamento dos microrganismos, estes foram reativados em um tubo Falcon de 15 ml, contendo 9 ml de TSB e 1% de sacarose. Então, os tubos foram homogeneizados em agitador de tubos Vórtex e incubados em ambiente com 10% de CO₂ por 18 h. Após, foi verificado o crescimento das colônias de bactérias e o inóculo foi diluído e padronizado em meio TSB para a escala 0,5 de Mcfarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/ml) (*starter*). Para o cultivo bacteriano, foi preparada uma solução com 90% de meio e 10% de sacarose.

Foram confeccionados discos de 6mm de diâmetro e 1mm de espessura, sobre os quais foram inoculados 10µl da suspensão bacteriana e essa mistura foi incubada por 1, e 24 h a 10% de de CO₂ à temperatura de 37 °C.

Passados os respectivos tempos de incubação, foram adicionados 180µl de meio de cultura TSB, e as placas foram levadas ao Shaker (TS-200^a VDRL shaker Biomixer, Brasil) até que as células se desprendesse. Após foi realizado uma

diluição seriada e plaqueadas em placas TSA, as quais foram incubadas a 37° por 48hs.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Fig. 1 Biocompatibilidade de materiais restauradores temporários

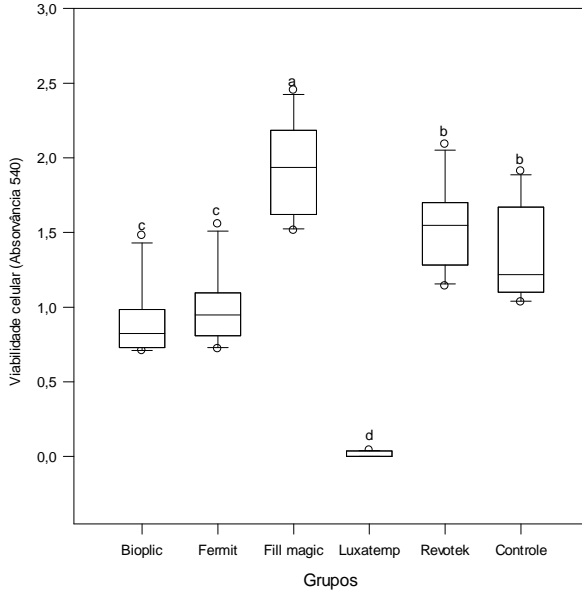
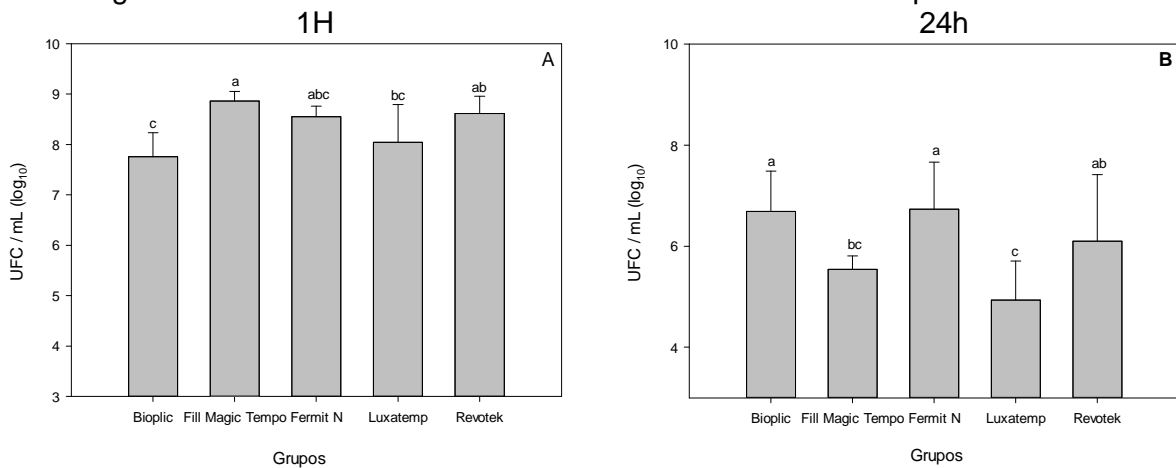


Fig. 2 Teste de contato direto dos materiais restauradores temporários



De acordo com o gráfico 1 observa-se que o Fill magic apresentou estatisticamente maior viabilidade celular quando comparados aos outros grupos. Mostrando valores maiores até que o grupo controle. Apresentando os outros materiais valores intermediários. Podemos observar no entanto que o Luxatemp apresentou os menores valores de absorbância. Isso pode estar relacionado com o fato de que no ensaio de teste de contato direto (resultados no gráfico 2) o Luxatemp apresentou maior potencial antimicrobiano, isso revela que essa capacidade antimicrobiana pode estar mais relacionada a sua citotoxicidade revelando em sua composição monômeros tóxicos não só as bactérias como também as células.

Para os resultados do teste de contato direto podemos observar que em 1h o Fill magic apresentou maior viabilidade bacteriana, observamos que o Bioplic mostrou os menores valores de viabilidade bacteriana.

No entanto em 24h observamos que o Fermit, Bioplic e Revotek apresentaram os maiores valores de viabilidade bacteriana e o Luxatemp apresentou os menores valores, essa interação em relação ao tempo pode ser explicada devido ao fato de que em 24h o líquido presente no ensaio pode ter deteriorado a rede polimérica dos materiais liberando esses componentes no meio levando a uma diminuição da viabilidade bacteriana e celular

Com base nos resultados sugere-se a realização de outros ensaios para determinar a liberação e proporção dos componentes químicos desses materiais como por exemplo o teste gravimétrico.

4. CONCLUSÕES

Dos materiais testados, o Luxatemp foi o que apresentou maior efeito antibacteriano, no entanto foi o que apresentou menor viabilidade celular sendo necessário realização de outros ensaios para uma melhor avaliação.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BITENCOURT, PMR.; BRITTO, M L B.; NABESHIMA, C K. Evaluation of sealing ability of two temporary resin-based cements used in Endodontics. **Revista Sul Brasileira de Odontologia**, v.3, n.7, p.269-74, 2010.

FERNÁNDEZ, M.R.; CARVALHO, R.V.; OGLIARI, F.A.; BEIRA, F.A.; A. ETGES, A.; BUENO, M. Cytotoxicity and genotoxicity of sodium percarbonate: a comparison with bleaching agents commonly used in discoloured pulpless teeth, **International Endodontic Journal**, v.43, p.102-108, 2010.

POONACHA V.; POONACHA S.; SALAGUNDI B.; RUPESH P. L.; RAGHAVAN R. In vitro comparison of flexural strength and elastic modulus of three provisional crown materials used in fixed prosthodontics. **Journal of clinical and experimental dentistry**, Espanha, v.5, n.5, p.212-217, 2013.

SPAHL W.; BUDZIKIEWICZ H.; GEURTSSEN W J. Determination of leachable components from four commercial dental composites by gas and liquid chromatography/mass spectrometry. **Journal of dentistry**, Inglaterra, v.26, n.2, p. 137-45, 1998.

SZEP S.; KUNKEL A.; RONGE K.; HEIDEMANN D. Cytotoxicity of modern dentin adhesives--in vitro testing on gingival fibroblasts. **Journal of biomedical materials research**, Estados Unidos, v.63, n.1, p.53-60, 2002.

ULKER M.; ULKER H E.; ZORTUK M.; BULBUL M.; ALI RIZA TUNCDEMIR R A.; BILGIN S M. Effects of Current Provisional Restoration Materials on the Viability of Fibroblasts. **European journal of dentistry**, Índia, v.3, n.2, p.114-119, 2009.

WASSELL R W.; GEORGE G S T.; INGLEDEW R P.; STEELE J G. Crowns and other extra-coronal restorations: provisional restorations. **British dental journal**, Inglaterra, v. 192, n.11, p.619-22, 625-30, 2002.

YE R R.; SHEN Q P.; QIAO G Y. Cytotoxicity of three kinds of temporary crown and bridge materials on mouse fibroblasts in vitro. **Shanghai journal of stomatology**, Shanghai, v. 17, n.3, p.308-12, 2008.