

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE UM GLAZE MODIFICADO COM MONÔMERO METÁLICO PARA RECOBRIMENTO DE PLACAS OCLUSAIS IMPRESSAS EM 3D.

ANDERSON ROTUNDO PEREZ¹; GUILHERME ALFREDO MARTELLO²;
ANDRESSA DA SILVA BARBOZA³; INDYARA CERUTTI⁴; JAQUELINE BARBIERI⁵,
MARIA EDUARDA LIMA DO NASCIMENTO MARINHO⁶; GIANA DA SILVEIRA
LIMA⁷;

¹Universidade Federal de Pelotas – andersontp50@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – guilhermealfredomartello2@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas - andressahb@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas - indycerutti@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas - jaquelineenalta@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas - melnmarinho@gmail.com

⁷Universidade Federal de Pelotas - gianalima@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Placas oclusais são amplamente usadas para tratar o bruxismo, que pode causar disfunções temporomandibulares, geralmente fabricadas em polimetilmetacrilato (PMMA) através de processos demorados, como a moldagem com alginato (PEREA-LORERY et al., 2021). Essas placas oclusais podem ser impressas em 3D, no entanto apresentam superfícies rugosas após sua impressão favorecendo a aderência de microrganismos, como *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* (GITI et al., 2021), aumentando o risco de doenças bucais, como cárie, gengivite e candidíase oral (WUERSCHING et al., 2023).

Para abordar o problema de aderência bacteriana em placas oclusais, é comum aplicar um revestimento chamado “glaze”, que reduz a aderência bacteriana e facilita a remoção do biofilme durante a higienização (MAZUREK-POPCZYK et al., 2022). Além disso, a adição de antimicrobianos em resinas de impressão 3D tem se mostrado eficaz contra bactérias e fungos (TEIXEIRA; CARVALHO; REIS, 2022). O di-n-butilmetacrilato-estanho (DNBMT) é um exemplo comumente usado, sendo incorporado ao glaze como uma estratégia adicional para o controle do biofilme (BARBOZA et al., 2021). Este estudo buscou avaliar como o glaze modificado com DNBMT afeta microrganismos que formam biofilme oral e seu efeito na redução do acúmulo de biofilme quando aplicado em resina para manufatura aditiva usada em placas oclusais.

2. METODOLOGIA

Este estudo experimental *in vitro*, modificou um glaze fotopolimerizável (Megaseal, Megadenta, Radeberg, Alemanha) pela incorporação do agente antimicrobiano di-n-butildimetacrilato-estanho (Gelest, Morrisville, EUA). O glaze foi utilizado no recobrimento superficial de espécimes de resina para impressora 3D (Splint Cosmos, Yller, Pelotas, Brasil).

DNBMT foi incorporado ao glaze em quatro concentrações: 1,25%, 2,5%, 5% e 10% formando 4 glazes experimentais. Essas porcentagens (massa) foram adicionadas em relação ao glaze e escolhidas com base em estudos anteriores (COCCO et al., 2020; BARBOZA et al., 2021). No presente estudo identificou-se o

glaze com o melhor efeito antimicrobiano, que foi posteriormente avaliado nos testes de halo de inibição e acúmulo de biofilme.

Para os testes, foram produzidos 30 espécimes de glaze em concentrações de 0%, 1,25%, 2,5%, 5% e 10% de DNBMT, utilizando uma matriz de silicone cilíndrica (5mm x 2mm). E espécimes de glaze puro foram usados como controle negativo. Além disso, 216 espécimes de resina em formato de disco (5mm x 2mm) foram impressos usando uma impressora 3D LCD (Mars 2 Pro, ELEGOO, Shenzhen, China). Após a impressão, a estrutura de suporte foi removida manualmente, e as bordas dos espécimes foram lixadas e limpas com álcool nº 92%.

Para os testes de cultivo de biofilme, os espécimes de resina foram divididos em três grupos: apenas resina (Grupo R), resina com aplicação superficial de glaze Megaseal (Grupo RG) e resina com glaze incorporado de DNBMT a 10% (Grupo RG10DNBMT). A concentração de 10% foi escolhida com base nos resultados do teste de halo de inibição, demonstrando ser a mais eficaz. A aplicação do glaze seguiu as instruções do fabricante e foi fotopolimerizada usando uma câmara de cura de luz ultravioleta por 5 minutos (Wash & Cure Plus, ANYCUBIC, Shenzhen, China). Já para avaliar a atividade antimicrobiana, foi realizado um ensaio de inibição de crescimento bacteriano e fúngico. Foram utilizadas cepas de *S. mutans* (UA159), *S. aureus* (ATCC259231), *C. albicans* (ATCC 10231). O teste de difusão em ágar (halo de inibição) incluiu seis grupos (n=3) de espécimes além de um controle positivo (solução de digluconato de clorexidina a 0,12%) e controles negativos (espécimes de resina pura e glaze puro). As cepas foram cultivadas e o inóculo foi semeado em placas de petri com ágar BHI. Após 24h de incubação a 37°C, as zonas de inibição ao redor dos espécimes foram medidas (mm) usando um paquímetro digital (Mitutoyo, MIT Corporation, Tóquio, Japão).

A avaliação das propriedades antibiofilme do material experimental seguiu o protocolo anterior (Ribeiro et al., 2022). As amostras cilíndricas foram desinfetadas por meio de radiação UV e colocadas em placas de 24 poços (n=4) expostas a cepas de *S. aureus* e *C. albicans*. A suspensão microbiana foi ajustada para uma concentração de 3.108 UFC/mL. Foram adicionados 20 uL dessa suspensão em cada poço com 2 mL de caldo de BHI estéril. O biofilme cresceu ao longo de 4 dias, com trocas de meio diárias. Após cada período de cultivo, os espécimes foram removidos, lavados e submetidos à sonicação (30 W por 30 s). Foram coletados 100 mL de amostra e realizadas diluições seriadas. Estas foram aplicadas em placas de ágar BHI e incubadas a 37°C com 5% de CO₂ para contagem das Unidades Formadoras de Colônia por mL (UFC/mL). A análise estatística dos resultados foi realizada por meio de um software (Sigma Plot, Systat software Inc.) Os resultados dos testes de cultivo de biofilme e de difusão em ágar foram analisados usando a análise de variância ANOVA de uma via, seguido de teste de Tukey.

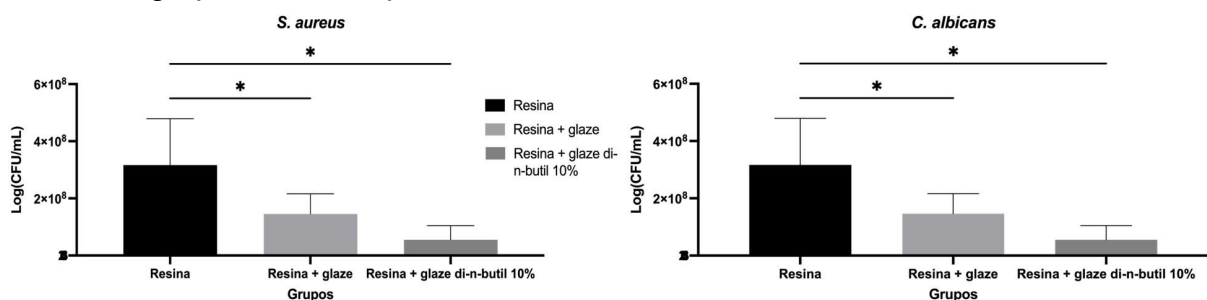
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O monômero metálico DNBMT, incorporado a um glaze para revestimento de placas oclusais produzidas por impressoras 3D, exibiu atividade antimicrobiana eficaz contra *S. mutans*, *S. aureus* e *C. albicans*, na concentração 10%. Também demonstrou eficácia na redução do biofilme de *C. albicans* e *S. aureus*. Portanto, a inclusão de DNBMT em glaze como medida suplementar de controle de biofilme é viável. A adição de 10% de DNBMT ao glaze demonstrou uma maior atividade antimicrobiana, resultando em halos de inibição mais evidentes, em comparação com grupos que tinham concentrações mais baixas de DNBMT, que não mostraram nenhum efeito inibitório no teste de difusão em ágar. A clorexidina 0,12% apresentou

capacidade antimicrobiana ($12,97 \pm 0,7$) semelhante ao glaze modificado com DNBMT ($11,65 \pm 0,12$) para *C. albicans*. O grupo com 10% de DNBMT no glaze mostrou halos de inibição para *S. aureus* ($10,06 \pm 1,02$) e *S. mutans* ($9,67 \pm 0,59$), embora menores em comparação ao grupo controle com clorexidina 0,12%. A clorexidina 0,12% foi mais eficaz contra *S. aureus* ($28,22 \pm 0,28$) e *S. mutans* ($26,81 \pm 2,42$). No entanto, vale ressaltar que a clorexidina avaliada como controle positivo neste experimento é usada na forma líquida e não na forma polimérica como o glaze modificado, apresentando efeito direto, pelo seu espalhamento, sobre o halo de inibição formado. Em resumo, o glaze modificado foi capaz de promover halo de inibição e revelou um efeito antimicrobiano consistente em diferentes microrganismos, ressaltando a eficácia dessa abordagem como uma medida adicional de controle do biofilme.

Após o teste de cultivo de biofilme, observaram-se resultados semelhantes. A resina sem revestimento de glaze permitiu cerca de quatro vezes mais crescimento de ambas as cepas em comparação com o grupo que recebeu o glaze contendo 10% de DNBMT. Por outro lado, os grupos que receberam glaze sem a incorporação de DNBMT mostraram cerca de metade do crescimento do biofilme. É importante notar que o grupo com glaze modificado contendo 10% de DNBMT apresentou aproximadamente metade do crescimento de colônias em comparação com o glaze sem DNBMT, tanto para *C. albicans* (Figura 1) quanto para *S. aureus* (Figura 1).

Figura 1. Média e desvio padrão para formação de biofilme, de acordo com os diferentes grupos testados para *C. albicans* e *S. aureus*.



O uso de metacrilatos metálicos como agentes antimicrobianos em polímeros odontológicos pode ser estratégico para diferentes materiais (LIMA et al., 2018). Os compostos de estanho, como o DNBMT, atuam como agentes biocidas (AHMAD et al., 2007), formando ligações de hidrogênio com centros ativos das células bacterianas, perturbando seus processos normais, levando à inibição da produção de enzimas essenciais para o crescimento bacteriano, reduzindo a metabolização de nutrientes e, conseqüentemente, inibindo o crescimento (BAUL, 2008). No caso do glaze com DNBMT, sugere-se que ele possa interferir nas atividades metabólicas bacterianas de *Streptococcus* e *Staphylococcus*, inibindo seu crescimento. Quanto ao efeito antifúngico dos metacrilatos contendo estanho, a explicação sugere que esses compostos podem afetar o funcionamento mitocondrial das células (SKARNING et al., 2002), sendo uma alternativa eficaz a incorporação de agentes bactericidas e fungicidas no glaze (SESMA et al., 2005).

A inclusão do DNBMT no glaze revelou efeitos antimicrobianos significativos, apresentando potencial promissor. Porém, as limitações do estudo incluem sua natureza *in vitro* com testes antimicrobianos monoculturais. Para validar plenamente a eficácia antimicrobiana e segurança do glaze, são necessários estudos de longo prazo e análises antimicrobianas com diferentes marcas comerciais de resina e glaze, bem como investigações físico-químicas e de viabilidade celular.

4. CONCLUSÕES

A adição de 10% de DNBMT ao glaze demonstrou ação antibiofilme eficaz contra microrganismos orais, superando a aplicação simples do glaze na placa oclusal. Isso resultou em atividade antibacteriana e antifúngica eficaz contra *S. mutans*, *C. albicans* e *S. aureus*. Além disso, o glaze modificado (10% de DNBMT) conseguiu impedir a formação de biofilme causada por *C. albicans* e *S. aureus* mostrando-se promissor para estudos futuros e investigação de seus efeitos e sua possível aplicação clínica.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMAD, M. S. *et al.* Synthesis, chemical characterization and biological screening for cytotoxicity and antitumor activity of organotin (IV) derivatives of 3,4-methylenedioxy 6-nitrophenylpropenoic acid. **Molecules**, [s. l.], v. 12, n. 10, p. 2348-2363, 2007.
- BARBOZA, A. S. *et al.* Physicomechanical, optical, and antifungal properties of polymethyl methacrylate modified with metal methacrylate monomers. **The Journal of Prosthetic Dentistry**, [s. l.], v.125, n. 4, p. 709-712, 2021.
- BAUL, T. B. Antimicrobial activity of organotin(IV) compounds: a review. **Applied Organometallic Chemistry**, [s. l.], v. 22, n. 4, p. 195-204, 2008.
- COCCO, A. R. *et al.* Anti-biofilm activity of a novel pit and fissure self-adhesive sealant modified with metallic monomers. **The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research**, [s. l.], v. 36, n. 3, p. 245-255, 2020.
- GITI, R *et al.* Surface roughness, plaque accumulation, and cytotoxicity of provisional restorative materials fabricated by different methods. **PLoS ONE**, [s. l.], v.16, n. 4 April 2021, p. 1–12, 2021.
- MAZUREK-POPCZYK, J. *et al.* Evaluation of biofilm formation on acrylic resins used to fabricate dental temporary restorations with the use of 3D printing technology. **BMC Oral Health**, [s. l.], v. 22, n. 1, p. 1–12, 2022.
- PEREA-LOWERY, L. *et al.* Evaluation of the mechanical properties and degree of conversion of 3D printed splint material. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, [s. l.], v. 115, n. 10, p. 1-7, 2021.
- RIBEIRO, J. S. *et al.* Engineering of injectable antibiotic-laden fibrous microparticles gelatin methacryloyl hydrogel for endodontic infection ablation. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 23, n. 2, p. 1-15, 2022.
- SESMA, N. *et al.* Effect of denture surface glazing on denture plaque formation. **Brazilian Dental Journal**, [s. l.], v.16, n. 2, p. 129-134, 2005.
- SKARNING, C. R. F. *et al.* Effects of *in vivo* treatment of rats with trimethyltin chloride on respiratory properties of rat liver mitochondria. **Biochemical Pharmacology**, [s. l.], v. 64, n. 4, p. 657-667, 2002.
- TEIXEIRA, A. B. V.; CARVALHO, G. G.; REIS, A. C. Incorporation of antimicrobial agents into dental materials obtained by additive manufacturing: A literature review. **Saudi Dental Journal**, [s. l.],v. 34, n. 6, p. 411–420, 2022.
- WUERSCHING, S. N. *et al.* Surface properties and initial bacterial biofilm growth on 3D-printed oral appliances: a comparative in vitro study. **Clinical Oral Investigations**, [s. l.], v. 27, p. 2667-2677, 2023.
- LIMA, GIANA *et al.* Composições odontológicas antibacterianas contendo metacrilatos metálicos polimerizáveis. Titular: **Universidade Federal de Pelotas**. BR 102016016883-0. Depósito: 21 jul. 2016. Concessão: 6 Fev. 2018
- LIMA, GIANA *et al.* Antimicrobial polymeric compositions containing metal containing methacrylates. Titular: **Universidade Federal de Pelotas**. US 20180021225A1. Depósito: 21 Jul. 2017. Concessão: 25 Jan. 2018.