



UNESP - Universidade Estadual Paulista

“Júlio de Mesquita Filho”

Faculdade de Odontologia de Araraquara



MARIANA FLORIAN BELL

**Atividade antibacteriana de cimentos de
ionômero de vidro modificados por
nanopartículas de óxido de zinco**

ARARAQUARA

2014



UNESP - Universidade Estadual Paulista

“Júlio de Mesquita Filho”

Faculdade de Odontologia de Araraquara



MARIANA FLORIAN BELL

**Atividade antibacteriana de cimentos de
ionômero de vidro modificados por
nanopartículas de óxido de zinco**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas Área de Dentística Restauradora, da Faculdade de Odontologia de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista para título de Mestre em Ciências Odontológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Patrícia Petromilli Nordi Sasso Garcia

Co-orientadora: Profa. Dra. Alessandra Nara Souza Rastelli

ARARAQUARA

2014

MARIANA FLORIAN BELL

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE CIMENTOS DE IONÔMERO
DE VIDRO MODIFICADOS POR NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO
DE ZINCO

Comissão Julgadora

Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Presidente e Orientador: Profa Dra Patrícia Petromilli Nordi Sasso Garcia

2^º examinador: Profa Dra Juliana Alves Bonini Duarte Campos

3^º examinador: Profa Dra Patrícia Aleixo dos Santos

Araraquara, 20 de março de 2014

DADOS CURRICULARES

Nascimento	20 de maio de 1988
Filiação	Marcos Sérgio Forti Bell Ana Maria Florian Bell
Naturalidade	Campinas - SP
2007/2011	Curso Graduação em Odontologia na Faculdade de Odontologia de Araraquara – Universidade Estadual Paulista, Araraquara - SP.
2011	Curso de Aperfeiçoamento em Estética do sorriso - Conceitos integrados pela Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas Regional de Araraquara, - SP
2012/2014	Curso de Pós-Graduação em Dentística, nível Mestrado, na Faculdade de Odontologia de Araraquara – Universidade Estadual Paulista, Araraquara - SP.
2013/2014	Estágio Docência em Dentística e Ergonomia em Odontologia na Faculdade de Odontologia de Araraquara – Universidade Estadual Paulista, Araraquara - SP.
Associações	SBPqO – Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica GBPD – Grupo Brasileiro de Professores de Dentística

DEDICATÓRIA

Aos meus pais ***Ana Maria e Marcos***
pelo amor, pela dedicação, força, paciência, confiança em todos os
momentos, dando-me sempre o apoio necessário para que eu alcançasse
todos os meus objetivos.

Ao meu noivo ***Rodrigo***,
que sempre me apoiou em todas as decisões. Seu companheirismo,
lealdade e carinho foram essenciais durante esta etapa.
Amo você!

AGRADECIMENTOS

À **Faculdade de Odontologia de Araraquara - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - UNESP**, representada pela diretora Prof^a. Dr^a. Andréia Affonso Barretto Montandon e pela vice-diretora Prof^a. Dr^a. Elaine Maria Sgavioli Massucato, pela oportunidade de crescimento pessoal e profissional.

À minha co-orientadora, **Prof^a. Dr^a. Alessandra Nara de Souza Rastelli** pela ajuda, ensinamentos, orientações, atenção, contribuições e conhecimento para a realização deste trabalho. Muito obrigada pela colaboração!

À **Prof^a. Dr^a. Livia Nordi Dovigo**, pela grande ajuda. Sempre pronta e disposta em todos os momentos. Obrigada pela paciência com que nos conduziu, tentando sempre nos tranquilizar. Um exemplo de competência a ser seguido. Muito obrigada!

À **Prof^a. Dr^a. Juliana Alvares Duarte Bonini Campos** pela contribuição ao trabalho não apenas estatisticamente, mas também com o apoio e respaldo profissional e pessoal. Suas contribuições foram extremamente importantes e seu exemplo como pessoa é admirável!
Obrigada!

À **Profª. Drª. Denise Madalena Palomari Spolidório**, do Departamento de Fisiologia e Patologia, que abriu as portas do Laboratório de Biologia Molecular e Microbiologia e permitiu a utilização dos equipamentos disponíveis no laboratório de pesquisa, além de contribuir com os conhecimentos dentro da área de Microbiologia. Seu auxílio foi essencial para a realização deste estudo.

À amiga **Renata Serignoli Francisconi** que me ensinou os fundamentos da Microbiologia que foram imprescindíveis para que este estudo fosse concluído. Muito obrigada pela ajuda, força e apoio dentro e fora do Laboratório de Microbiologia.

À **Adriana Alves de Faria**, pelo auxílio e pela disposição ao proporcionar ajuda durante a execução desta pesquisa.

Às **minhas amigas Miriane, Paula e Samira** que são como irmãs em Araraquara. Vocês foram fundamentais nestes dois anos de trabalho, desde os pequenos até os grandes problemas. A amizade de vocês tornou tudo mais alegre!

Às amigas de Mestrado, **Adriana, Hélida, Keren, Marina, Renata e Vanessa**, pelo companheirismo, amizade, apoio e muitas risadas nos laboratórios de sexta-feira e também durante toda essa etapa. Muito sucesso para todas vocês!

À **Drª. Mayara Ribeiro**, representante comercial da empresa **GC América Ltda**, que muito gentilmente nos doou o material necessário para esta pesquisa.

À **ACECIL** e à **Drª. Yuko Yoshimoto** por gentilmente fornecer a esterilização a gás de óxido de etileno em prol a pesquisa.

Aos **Professores Doutores do Departamento de Odontologia Restauradora, Alessandra Nara de Souza Rastelli, Andrea Abi Rached Dantas Edson Alves de Campos, José Roberto Cury Saad, Marcelo Ferrarezi de Andrade e Osmir Batista de Oliveira Júnior**, pela qualidade de ensino e por contribuir com meu crescimento profissional.

Aos **funcionários do Departamento de Odontologia Restauradora, Marinho, Creuza, Vanderlei, Priscila e Cida** pela ajuda e simpatia com que nos recebem!

Aos **funcionários da Seção de Pós-Graduação**, principalmente à **Mara**, por todo o apoio fornecido na hora de sanar dúvidas, resolver problemas e principalmente pela orientação durante todo o curso de Mestrado.

Ao **Laboratório de Microbiologia Aplicada, do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese** e à **Sarah de Annunzio**, pela ajuda e por permitir a utilização de materiais disponíveis no laboratório, para o andamento deste trabalho.

Ao **Laboratório de Microscopia Eletrônica do Instituto de Química de Araraquara** e ao **Laboratório de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) da Faculdade de Odontologia de Araraquara** pela disponibilidade de utilização do Microscópio Eletrônico de Varredura e aos técnicos **Sebastião e Thaís** pelo conhecimento e ajuda durante a obtenção das imagens da Microscopia Eletrônica de Varredura.

À **CAPES**, pelo financiamento da bolsa de Mestrado.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Agradeço de coração à minha orientadora **Prof^a. Dr^a.**

Patrícia Petromilli Nordi Sasso Garcia. Faltam palavras para expressar todo carinho e gratidão que sinto. Você abriu as portas para me receber e orientar, sem me conhecer direito, e acreditou que eu era capaz.

Você me passou muito mais do que ensinamentos e conhecimentos e me mostrou que nunca devemos desistir diante de qualquer obstáculo, e que com fé, determinação e criatividade, tudo se soluciona.

Obrigada pela confiança, paciência, palavras de incentivo, amizade, dedicação, carinho. Você é um exemplo de mestre, de pesquisador, de honestidade, de ética, de comprometimento. Neste mundo repleto de pessoas ruins, você me faz acreditar que os bons são a maioria. A conquista desta etapa, também é obra de todo o seu empenho e dedicação.

“Nos momentos de crise, só a imaginação é mais importante que o conhecimento.”

Albert Einstein

Bell MF. Atividade antibacteriana de cimentos de ionômero de vidro modificados por nanopartículas de óxido de zinco [Dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2014.

Resumo: Avaliou-se a atividade antibacteriana de diferentes concentrações de nanopartículas de óxido de zinco incorporadas a um cimento de ionômero de vidro (CIV) quimicamente ativado e outro modificado por resina fotopolimerizável sobre o biofilme de *Streptococcus mutans* em diferentes tempos de maturação. As concentrações de nanopartícula foram 0%, 1% e 2%, os CIVs utilizados foram o Fuji II (GC América) e Fuji II LC (GC América) e os tempos de maturação foram 24 horas e 7 dias. Confeccionou-se corpos de prova (N=108) circulares (4mm x 2mm). A atividade antibacteriana foi avaliada pela contagem das Unidades Formadoras de Colônia por Mililitro (UFC/ml). Analisou-se a morfologia celular em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Os dados obtidos para cada material atenderam os pressupostos de normalidade e homocedasticidade. Procedeu-se a Análise de Variância a dois fatores (tempo de maturação do biofilme e concentração de nanopartículas) ($\alpha=5\%$). Para o CIV quimicamente ativado encontrou-se diferença não significativa na atividade antibacteriana segundo o tempo de maturação do biofilme ($p=0,744$), concentração de nanopartículas ($p=0,966$) e a interação entre eles ($p=0,800$). Para o CIV modificado por resina, observou-se que a média de UFC/ml do biofilme com 7 dias foi significativamente superior à do biofilme de 24 horas ($p=0,034$). A concentração de nanopartículas ($p=0,570$) e a interação entre os dois fatores ($p=0,756$) não foi significativa. Na análise em MEV não foi observada mudança na morfologia celular do *Streptococcus mutans*. Conclui-se que a inclusão de nanopartículas de óxido de zinco à 1% e 2% aos CIVs avaliados não alterou sua atividade antibacteriana.

Palavras-chave: antibacterianos, cimentos de ionômeros de vidro, nanopartículas, óxido de zinco, biofilmes

Bell MF. Antibacterial activity of modified glass ionomer cements by nanoparticles of zinc oxide [Dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2014.

Abstract: This study evaluated the antibacterial activity of different concentrations of zinc oxide nanoparticles incorporated into a self-cured glass ionomer cement (GIC) and a light-cured resin-reinforced glass ionomer cement on *Streptococcus mutans* biofilm at different maturation times. Nanoparticles concentrations were 0%, 1% e 2%, the GICs were Fuji II (GC America) and Fuji II LC (GC America) and the maturation times were 24 hours and 7 days. Were prepared circular (4mm x 2mm) specimens (N= 108). The antibacterial activity was evaluated by the number of Colony Forming Unit per mililiters (CFU/ml). Morphological analysis of biofilm was taken by scanning electron microscopy (SEM). The data obtained for each material attended the assumptions of normality and homoscedasticity and a two-way ANOVA ($\alpha=5\%$). No significant difference was observed according to the time of biofilm maturation ($p=0.744$), concentration of nanoparticles ($p=0.966$) and their interaction ($p=0.800$). Resin-reinforced GIC showed significantly higher CFU/ml mean for 7-day biofilms compared to 24h-biofilms ($p=0.034$). The concentration of nanoparticles ($p=0.570$) and the interaction ($p=0.756$) between the two factors was not significant. SEM analysis showed no change in cell morphology of *S. mutans* according to the type of GIC, maturation time and nanoparticles concentration. We conclude that the inclusion of zinc oxide nanoparticles at concentrations of 1% and 2% into the glass ionomer cement evaluated did not promote antimicrobial activity against *Streptococcus mutans*.

Key Word: antibacterial, glass ionomer cement, nanoparticles, zinc oxide, biofilms

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ATCC	American Type Culture Collection
UFC/mL	Unidade formadora de colônia por mililitro
BHI	Brain heart infusion
Ag-Zn	Zeolito de prata e zinco
ZOE	Cimento de óxido de zinco e eugenol
PEI	Nanopartícula de polietilenoamina de amônia quaternária
ART	Técnica atraumática restauradora
MIC	Concentração mínima inibitória
MBC	Concentração mínima bactericida
ZnO	Óxido de zinco
M	Molar
MgO	Óxido de magnésio
TiO ₂	Dióxido de titânio
Al ₂ O ₃	Óxido de alumínio
CuO	Óxido de cobre
CeO ₂	Óxido de cério
ZnONP	Nanopartícula de óxido de zinco
TSA	Ágar triptose de soja
Ag	Prata
NACP	Nanopartículas de fosfato de cálcio amorfo
CIV	Cimento de ionômero de vidro
LED	Light emitting diode
mW/cm ²	Miliwatts por centímetro quadrado

rpm	Rotações por minuto
μl	Microlitros
PBS	Tampão fosfato alcalino
W	Watts
c	Média do número de colônias
n	Valor absoluto da diluição
q	Quantidade para cada diluição nas semeaduras das placas
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
ρ	Coeficiente de correlação intraclasse

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	16
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	19
3 PROPOSIÇÃO.....	46
4 MATERIAL E MÉTODO.....	47
4.1 Delineamento Experimental e Variáveis de Estudo.....	47
4.2 Materiais.....	48
4.3 Confeção dos corpos de prova.....	48
4.4 Microrganismo.....	49
4.5 Reativação da espécie.....	49
4.6 Formação do biofilme bacteriano in vitro sobre os corpos de prova.....	50
4.7 Teste antibacteriano.....	50
4.8 Análise da morfologia do biofilme por Microscopia Eletrônica de Varredura.....	52
4.9 Análise Estatística.....	53
5 RESULTADO.....	55
5.1 Cimento de ionômero de vidro quimicamente ativado.....	55
5.2 Cimento de ionômero de vidro modificado por resina fotopolimerizável.....	58
6 DISCUSSÃO.....	62
7 CONCLUSÃO.....	67
8 REFERÊNCIAS.....	68

1 INTRODUÇÃO

A Odontologia voltada para a promoção de saúde preconiza que o tratamento da cárie dental não seja apenas curativo uma vez que este tipo de tratamento não promove a redução de microrganismos em longo prazo e, portanto, não evita que a doença se instale novamente^{29,34}. Além disso, pacientes com alto risco à cárie necessitam que sua cavidade bucal seja preparada, antes da execução do tratamento restaurador propriamente dito^{29,34}. Esse procedimento preparatório é chamado de adequação do meio bucal e deve ser adotado rotineiramente, uma vez que proporciona melhora no prognóstico do tratamento restaurador/reabilitador^{29,34}.

A adequação do meio bucal é um conjunto de procedimentos, que variam de acordo com o risco do paciente à cárie, e que visam diminuir os níveis de microrganismos cariogênicos na cavidade bucal, eliminar os focos infecciosos e estabilizar a atividade da cárie dental^{3,9,29,33,34,41,42}. Esses procedimentos visam resgatar o padrão ecológico bucal que o paciente apresentava antes da doença, criando condições de melhoria da saúde^{9,10,33,37}. A adequação é uma fase preparatória e de extrema importância para a promoção da saúde do paciente, pois prepara o meio bucal para receber o tratamento restaurador/reabilitador^{3,10,27,29,34,41}. Se esta fase do tratamento for negligenciada a chance de insucesso do tratamento restaurador poderá aumentar devido a fatores como diminuição da longevidade das restaurações e aumento do número de cáries secundárias, o que consequentemente resultará num ciclo restaurador repetitivo¹⁰.

Entre os procedimentos realizados na adequação do meio bucal^{29,33,34,41,42}, a escavação e selamento em massa das lesões cariosas apresentam papel importante, pois interrompem a progressão da lesão e produzem a queda da microbiota bucal cariogênica, uma vez que removem os nichos de retenção bacteriana^{3,29}. Entre os materiais utilizados para o

selamento das cavidades têm-se os cimentos de óxido de zinco e eugenol e de ionômero de vidro^{3,9,33,35,41}.

O cimento de óxido de zinco e eugenol é amplamente utilizado em restaurações temporárias devido ao seu baixo custo e fácil manipulação⁹. Entretanto, esse cimento não é adesivo, não possui liberação de flúor^{33,42} e sua formulação contém eugenol que é uma substância que pode desencadear dermatite de contato e reações alérgicas nos pacientes^{35,41}.

O cimento de ionômero de vidro apresenta boa adesão química à estrutura dental, liberação de flúor^{3,9,16,33,39} e a possibilidade de recarregamento de flúor após aplicações tópicas²⁹. Isso faz com que ele tenha uma posição de destaque na Odontologia voltada para a promoção de saúde^{3,18}. Por alterar a produção ácida e o metabolismo eletrolítico dos microrganismos cariogênicos ele promove a diminuição no número de *Streptococcus mutans* e das bactérias da placa sob a restauração^{16,27,29,40}.

Assim, considerando a ampla utilização do cimento de ionômero de vidro na clínica odontológica e suas vantagens para a adequação do meio bucal esse material deve ser alvo de estudos que investiguem vantagens de sua utilização e seu potencial antibacteriano¹⁶.

A incorporação de nanopartículas com ação antibacteriana em materiais restauradores odontológicos vem sendo estudada nos últimos anos com o intuito de se obter materiais que previnam a cárie recorrente e consequentemente aumentem a longevidade do tratamento executado^{1,4-6,14,22,36,44,45}.

Dentro deste contexto, a aplicação da nanotecnologia, por meio do uso de nanopartículas e materiais nanoestruturados, têm atraído o interesse da comunidade científica devido à sua aplicação biomédica e pela possibilidade de criar novos tipos de materiais^{24,30}.

Um dos materiais que tem sido empregado de forma nanoparticulada é o óxido de zinco. Esse material na forma de pó tem sido utilizado como ingrediente ativo de medicamentos de aplicação dermatológica devido a sua atividade antibacteriana^{26,38}. Acredita-se que as nanopartículas de óxido de zinco sejam efetivas no controle de vários microrganismos²⁶, por apresentarem a capacidade de mudar os componentes da membrana celular da bactéria e distorcê-la levando à perda do componente intracelular e consequentemente à morte²⁸. Entre as vantagens desse material soma-se o fato do mesmo ser não tóxico, seguro e biocompatível²⁴.

Embora as nanopartículas de óxido de zinco apresentem potencial antibacteriano, verifica-se na literatura que a maior parte dos estudos foram realizados incorporando vários tipos de nanopartículas à resina composta a qual é um material restaurador definitivo^{4-7,14,21,36,45}. Estudos que associam nanopartículas de óxido de zinco aos cimentos de ionômero de vidro³⁸ são escassos, apesar de estes serem de extrema importância principalmente no sentido de melhorar a ação deste material na adequação do meio bucal.

Assim, estudos são necessários para se avaliar o potencial antibacteriano das nanopartículas de óxido de zinco associadas aos cimentos de ionômero de vidro.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Svanberg et al.³⁹, em 1990, visando comparar os níveis de *Streptococcus mutans* presentes em placa bacteriana de restaurações Classe II de amálgama, resina composta e cimento de ionômero de vidro coletaram 1 ml de saliva seguida de coleta de placa bacteriana da margem vestibular, lingual e proximal de restaurações de 51 crianças. Foi realizada a contagem total de UFC/ml e de *Streptococcus mutans*. Neste estudo foi encontrado que a porcentagem de *Streptococcus mutans* foi muito maior na resina composta e no amálgama do que na restauração de cimento de ionômero de vidro na comparação inter-individual. Na comparação intra-individual a porcentagem de *Streptococcus mutans* foi muito maior nos compósitos do que nos ionômeros de vidro.

Garib et al.¹⁹, em 1993, estudaram a ação antibacteriana e a concentração de flúor liberado, por meio do teste de difusão em ágar, de 5 cimentos de ionômero de vidro químicos frescos e após a sua presa: Ceram fil, Chelon-FIL, Chelon-Silver, Shofu Glaslonomer e Vidrion R. A cepa de *Streptococcus mutans* foi semeada em placas de petri com ágar Müller Hinton enriquecidas com 5% de sangue de carneiro na qual foi realizada 6 cavidades com 6 mm de diâmetro para a colocação dos corpos de prova (n=6). Os cimentos de ionômero de vidro frescos foram inseridos nas cavidades logo após a sua manipulação enquanto que os cimentos de ionômero de vidro testados após a sua presa, foram primeiramente manipulados e inseridos em uma matriz com 6 mm de diâmetro por 3 mm de espessura. Após a presa foram posicionados nas respectivas cavidades da placa de petri. Após o período de incubação de 48 horas, os halos de inibição foram medidos com uma régua milimetrada. Para medir a concentração de flúor liberado, o teste de difusão em ágar foi repetido em 3 placas com o cimento de ionômero de vidro fresco e em 3 placas com o

cimento de ionômero de vidro após a presa. Decorrido o período de incubação de 48 horas, 4 blocos de ágar foram demarcados e recortados de 3 diferentes regiões: adjacente ao cimento, no limite do halo de inibição e além do limite do halo de inibição. Estes blocos de ágar foram alocados em tubos de plásticos contendo água deionizada para realização da leitura da concentração de flúor liberada nas três diferentes regiões. Foi utilizada a Análise de Variância e o t *Student* com nível de significância de 5%. Os resultados mostraram que todos os cimentos de ionômero de vidro, frescos e após a sua presa, foram capazes de inibir o crescimento bacteriano do *Streptococcus mutans* ($p < 0,05$), exceto o Ceram Fil que apresentou atividade antibacteriana apenas no seu estado fresco. Observaram também que a liberação de flúor dos cimentos, tanto frescos quando geleificados, ocorreu na seguinte ordem crescente: Ceram Fil, Chelon-Silver, Shofu Glaslonomer, Chelon-FIL e Vidrion R. Os autores concluíram que os cimentos de ionômero de vidro apresentaram um efeito antibacteriano, no entanto, o halo de inibição não correspondeu com a quantidade de flúor liberado.

Prati et al.³², em 1993, pesquisaram a atividade antibacteriana de cimentos de ionômero de vidro (Alpha Base, Alpha Silver, Fuji, Fuji LC e Vitrebond), sistemas adesivos (Clearfil Photobond, New PanaviaTPN-S, Scotchbond 2, Superbond C&B e Teethmate), compósitos (Coltene A.R.T e Silux), amálgama (Valiant PhD) e agentes de cimentação (Timeline), por meio do teste de difusão em ágar e teste de inibição do crescimento, em 4 cepas de microorganismos comumente encontrados em cáries e placa bacteriana: *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis* e *Streptococcus sanguis*. Para o teste de difusão em ágar, os corpos de prova com 4 mm de diâmetro por 4 mm de espessura foram incubados por um período de 72 horas seguido de medição dos halos de inibição com uma régua milimetrada e para o teste de inibição do crescimento a Densidade Óptica foi mensurada após 24, 48, 72 e 96 horas de incubação. A análise

estatística foi feita por meio da Análise de Variância a um fator e o pós teste de Tukey. Verificaram que todos os cimentos de ionômero de vidro apresentaram zonas de inibição em todos os tipos cepas, sendo que o Vitrebond foi o que produziu a maior zona de inibição e inibição do crescimento. Os autores sugeriram que os cimentos de ionômero de vidro podem ser utilizados, pois são capazes de promover um efeito antibacteriano reduzindo a microinfiltração em restaurações.

Fraga et al.¹⁷, 1996 estimaram o efeito inibitório de dois cimentos de ionômero de vidro modificados por resina fotopolimerizável (Vitremmer e Variglass VLC) e dois sistemas adesivos (Optibond e Syntac), em cepas de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus salivarius*, *Lactobacillus casei*, *Enterococcus faecalis*, *Fusobacterium nucleatum* e *Actinomyces viscosus*. Foi realizado o teste de difusão em ágar com corpos de prova com 6 mm de diâmetro e 5 mm de espessura. Estes corpos de prova foram incubados em placas de petri com BHI por 48 horas seguida da medição do diâmetro das zonas de inibição. Nenhum teste estatístico foi feito devido ao fato de os coeficientes de difusão dos materiais serem diferentes, portanto, uma comparação semiquantitativa foi realizada assim como a média e desvio padrão. O cimento de ionômero de vidro Vitremmer apresentou a maior zona de inibição frente a todas as cepas testadas. O Syntac e o Variglass VLC também apresentaram zonas de inibição, no entanto não foram maiores do que as do Vitremmer.

Syafiuddin et al.⁴⁰, em 1997, avaliaram o efeito anticariogênico de uma resina composta contendo um material antibacteriano (Apacider) ao redor das margens das restaurações de 18 pré-molares humanos recém extraídos. Foi realizada uma cavidade classe V em cada pré-molar nas superfícies lingual, vestibular ou mesial e distal abrangendo o esmalte e a dentina. A cavidade foi restaurada com a resina Clearfill SC com 1%, 2%, 5% ou 10% de Apacider. Restaurações com ionômero de vidro foram utilizadas como

controle positivo e restaurações com Clearfill SC sem Apacider foram consideradas como controle negativo. Os dentes humanos foram posicionados dentro de uma câmara que foi preenchida com BHI e inoculada com *Streptococcus mutans* por 20 dias. Os dentes e as lesões foram examinados através da macrofotografia. Observaram que nas restaurações contendo Apacider na concentração de 1%, 2% e 5% houve a formação de cárie em sua margem enquanto que naquelas com 10% de Apacider, não houve.

Carvalho et al.⁸, em 1998, verificaram o potencial antibacteriano de quatro cimentos de ionômero de vidro (Vidrion N, Vidrion R, Vitremer, Fuji II LC), uma resina composta (Tetric Ceram) e dois compômeros (Dyract e Compoglass). Foi realizado o teste de difusão em ágar com corpos de prova com 6 mm de diâmetro e 4 mm de espessura (n=20) em cepas de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus sobrinu* semeadas em BHI. Após o período de incubação de 24 horas, as zonas de inibição foram mensuradas por meio de uma régua milimetrada. O teste de difusão em ágar indicou que o Vitremer foi o único cimento de ionômero de vidro que apresentou zona de inibição efetiva. Os autores concluíram que a adição de resina ao cimento de ionômero de vidro não interferiu na reação ácido-base e nem na liberação de íons flúor em longo prazo, explicando dessa forma a formação de zonas de inibição no Vitremer. No entanto os autores chamaram a atenção para o fato de que o Vidrion N e o Vidrion R não apresentaram zonas de inibição neste estudo.

Hotta et al.²², em 1998, examinaram o efeito da habilidade de selamento, da atividade antibacteriana e da liberação dos íons metálicos de um material temporário experimental com várias proporções de zeolito de prata e zinco (Ag-Zn). Para isso, o material restaurador experimental foi inserido em uma cavidade cilíndrica de 2 mm de diâmetro por 2 mm de

profundidade feita em um material vitrocerâmico. Em seguida, 6 espécimes foram imersos em uma solução aquosa de 2% de fucsina básica a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por uma semana e depois disso, as margens das cavidades foram analisadas em microscópio. Para avaliar a atividade antibacteriana, 3 espécimes para cada grupo foram utilizadas. As cepas selecionadas foram de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus salivarius* e *Streptococcus sanguis*. Utilizaram o teste de contato direto onde as zonas de inibição foram medidas e classificadas por escores de 0 a 3. Para constatar a liberação de prata e de zinco, espécimes (4 mm de diâmetro por 8 mm de espessura) foram confeccionados e suspensos por um fio de nylon dentro de um frasco contendo água deionizada, onde permaneceram por 1, 2, 3 e 4, semanas sendo a quantificação feita com espectrofotometria de absorção atômica. Como resultado foi possível observar que não houve diferença estatisticamente significativa entre os espécimes ($p > 0,05$) quanto ao selamento marginal. Foi encontrada diferença significativa entre o controle (0% de zeólito de Ag-Zn) e as várias taxas de zeólito de Ag-Zn demonstrando que houve inibição do crescimento bacteriano do *Streptococcus mutans* e do *Streptococcus mitis*. Verificaram também que quanto maior a taxa de zeólito Ag-Zn incorporado, maior a liberação de prata e de zinco, entretanto após 1 semana, as taxas de liberação foram diminuindo. Os autores supõem que a incorporação de uma pequena quantidade de zeólito de Ag-Zn nos materiais temporários restauradores foi o suficiente para aplicação clínica. No entanto, sugerem ser ainda necessário mais estudos para averiguar outros potenciais efeitos dessa incorporação, como a biocompatibilidade e alteração de suas propriedades mecânicas.

Sarrani et al.³⁵, em 2002, preocupados com os efeitos colaterais pouco reportados na literatura do óxido de zinco e eugenol relataram em seu trabalho dois casos clínicos de reação adversa local do óxido de zinco e eugenol em um material restaurador temporário e em um cimento provisório.

No caso clínico 1, uma mulher de 40 anos se apresentou para uma consulta de rotina onde foi realizado forramento da cavidade do dente 27 com óxido de zinco e eugenol seguido de restauração em amalgama. Após 2 dias do procedimento observou-se o aparecimento de uma úlcera na mucosa bucal da região do dente 27. Inicialmente o diagnóstico de trauma mecânico foi feito, porém ao retornar para o tratamento endodôntico do mesmo dente e 48 horas após a colocação de um material temporário à base de óxido de zinco e eugenol, uma nova úlcera dolorosa reapareceu e não apresentou remissão. A paciente foi encaminhada à Universidade de Odontologia de Manchester onde foi possível fechar o diagnóstico de hipersensibilidade ao eugenol. Após o diagnóstico, a restauração provisória foi substituída por outra sem eugenol em sua formulação. No caso clínico 2, um homem de 53 anos foi ao dentista para a substituição de uma coroa fraturada no dente 11. O dentista removeu a coroa fraturada e posicionou uma coroa provisória com cimento provisório à base de óxido de zinco e eugenol. Duas semanas depois o paciente que já apresentava dor aguda na gengiva, eritema e destruição da papila interdental do dente 11 e 21, teve sua coroa definitiva cimentada. Como os sintomas não melhoraram, o paciente foi encaminhado à Universidade de Odontologia de Manchester. Após vários exames diagnosticou-se hipersensibilidade ao eugenol. Frente aos dois casos clínicos relatados, os autores concluíram que o eugenol não é um material odontológico biocompatível podendo causar reações alérgicas locais, até mesmo choques anafiláticos, e sugerem que materiais odontológicos que contenham eugenol em sua formulação devem ser utilizados com cautela.

Wambier et al.⁴², em 2002, avaliaram o efeito antibacteriano dos cimentos de óxido de zinco e eugenol, do cimento de ionômero de vidro resinoso e do diamino fluoreto de prata quando utilizados para a adequação do meio bucal. Participaram deste estudo 31 crianças na faixa etária de 3 a 5 anos de idade. Para inclusão no estudo, as crianças deveriam ter somente

dentes decíduos e pelo menos a presença de 3 lesões de cárie agudas em dentina. A saliva das 31 crianças foi coletada em 3 momentos distintos no intuito de se contar a quantidade de UFC/ml de *Streptococcus mutans* antes dos procedimentos odontológicos, 24 horas e 7 dias após o tratamento odontológico. Os grupos foram divididos de forma que 11 crianças receberam o tratamento com cimento de óxido de zinco, 10 crianças receberam tratamento com cimento de ionômero de vidro e mais 10 crianças receberam diamino fluoreto de prata. Foi encontrado que o grupo no qual foi utilizado o cimento de ionômero de vidro houve redução significativa de UFC/ml no período de 24 horas e se manteve por 7 dias enquanto que para os outros dois tratamentos isso não foi observado. Concluíram que os cimentos de ionômero de vidro apresentaram uma redução bacteriana efetiva.

Rego et al.³³, em 2003, objetivaram contar, em crianças, a quantidade de UFC/mL de *Candida spp* após a adequação do meio bucal com cimento de ionômero de vidro quimicamente ativado e cimento de óxido de zinco e eugenol. No total, 60 crianças com idade entre 4 a 10 anos que possuíam a *Candida spp* na cavidade oral participaram do estudo. Inicialmente essas crianças fizeram um bochecho com salina fosfatada tamponada e a seguir procedeu-se a contagem de UFC/ml de *Candida spp*. Após a contagem, os pacientes foram separados aleatoriamente em dois grupos: no grupo 1 as cavidades foram seladas com cimento de óxido de zinco e eugenol e no grupo 2 o material de escolha foi o cimento de ionômero de vidro. Uma semana após a adequação do meio bucal, outro bochecho foi realizado para posterior contagem e comparação das UFC/ml. Realizou-se o teste t Student com nível de significância de 5%. Os resultados mostraram que houve uma redução significativa na quantidade de *Candida spp* quando foi utilizado o cimento de óxido de zinco e eugenol ($p<0,000$) e cimento de ionômero de vidro ($p<0,000$) para a adequação do meio bucal. No entanto, a redução

encontrada para o cimento de ionômero de vidro foi menor do que para o de óxido de zinco e eugenol. Concluíram que a adequação do meio bucal diminuiu a quantidade de *Candida spp* na cavidade bucal provavelmente devido à remoção dos sítios de colonização da *Candida spp* sendo, portanto eficaz na prevenção de candidose.

Ciccione et al.¹¹, em 2004, testaram a capacidade antibacteriana, através do teste de difusão em ágar, de 5 cimentos de ionômero de vidro (Fuji II LC, Ketac-Fil, Ketac-Molar, Vidrion R, Fuji IX) e 4 resinas compostas (Ariston pHc, Degufill Mineral, Z100 e Compoglass). Os autores testaram também individualmente a capacidade antibacteriana do pó e do líquido dos cimentos de ionômero de vidro químico. As cepas utilizadas foram *Streptococcus mutans*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus sobrinus*. Os corpos de prova de 6 mm de diâmetro e 2 mm de espessura (n=18) foram confeccionados e após o período de incubação adequado para cada microrganismo, foi avaliada a presença ou ausência de zonas de inibição. Verificaram que apenas o Vidrion R demonstrou zonas de inibição em relação a todas as cepas testadas e que apenas o líquido dos cimentos de ionômero de vidro químico demonstrou atividade antibacteriana. Os autores concluíram que devido a liberação de fluoretos do Vidrion R e da característica ácida do líquido dos cimentos de ionômero de vidro químico, ambos apresentaram capacidade antibacteriana.

Cassanho et al.⁹, em 2005, avaliaram a atividade antibacteriana dos cimentos de ionômero de vidro (Vidrion) e do cimento de óxido de zinco e eugenol (ZOE) contra a *Candida albicans*. Espécimes com 0,5 mm de diâmetro por 0,3 mm de altura de cimento de ionômero de vidro e de cimento de óxido de zinco e eugenol foram confeccionados e colocados em tubos contendo uma solução de meio de cultura e *Candida albicans*. Os espécimes ficaram neste meio por um período de 24 horas, 48 horas e 7 dias para posterior plaqueamento e contagem de UFC/ml. A análise estatística utilizada

foi o teste de Kruskal-Wallis e o teste de Dunn para os espécimes incubados pelo período de 24 horas. Para os períodos de incubação correspondentes a 48 horas e 72 horas, utilizaram a ANOVA two-way e o pós-teste de Tukey. Observaram que em todos os períodos de incubação estudados (24, 48 horas e 7 dias) o cimento de óxido de zinco e eugenol foi capaz de inibir o crescimento de *Candida albicans* quando comparado com o cimento de ionômero de vidro ($p < 0,000$). Conclui-se que o ZOE foi mais efetivo sobre a *Candida albicans* do que o cimento de ionômero de vidro.

Duque et al.¹² em 2005 estudaram a atividade antibacteriana de dois cimentos de ionômero de vidro convencionais (Fuji IX e Ketac Molar) e um cimento de ionômero de vidro modificado por resina (Vitrebond) em cepas de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Actinomyces viscosus*. Para o controle positivo foi utilizado um papel absorvente embebido em clorexidina 0,2%. A atividade antibacteriana foi verificada utilizando-se o teste de difusão em ágar com meio de cultura BHI e após 24 horas de incubação as zonas de inibição foram mensuradas. A análise estatística executada foi o teste de Kruskal-Wallis e de Mann-Whitney, com nível de significância de 5%. Os autores verificaram que todos os cimentos de ionômero de vidro estudados apresentam zonas de inibição sendo o Vitrebond o que exibiu maior atividade antibacteriana.

Nelson Filho, Silva²⁹, em 2005, descrevem 8 procedimentos clínicos que os profissionais devem realizar na fase de adequação do meio bucal, enfatizando que a etapa de “escavação em massa e selamento” é apenas uma etapa da adequação do meio bucal e não constitui o procedimento de adequação do meio bucal em si. Essas fases são: interrupção da cadeia de infecção da cavidade bucal por microrganismos cariogênicos; instruções de higiene bucal (controle mecânico do biofilme); aplicação de agentes antibacterianos; escavação e selamento em massa das lesões cariosas;

instruções de dieta; 6) fluorterapia; 7) extração de raízes residuais; e 8) remoção de iatrogenia.

Rossi et al.³⁴, em 2005, avaliaram os níveis salivares de *Streptococcus mutans* e de *Streptococcus sobrinus* em crianças, antes e após a adequação do meio bucal. Participaram 18 crianças com idade entre 4 e 9 anos, que apresentavam um alto risco para cárie e presença de no mínimo 4 lesões de cárie com cavitação. Uma coleta inicial da saliva foi realizada para a quantificação dos níveis salivares e em seguida foi feito os procedimentos de adequação bucal que consistiram em instrução de higiene oral e de dieta e escavação em massa e selamento da cavidade com cimento de ionômero de vidro Vidrion R. Os pacientes foram instruídos a retornarem 7, 14 e 21 dias após os procedimentos odontológicos para novas coletas de saliva. Foi observado que houve uma redução significativa dos níveis de *Streptococcus mutans* do baseline para 7, 14 e 21 dias sugerindo que os procedimentos de adequação do meio bucal são efetivos quando se diz respeito a redução de microrganismos cariogênicos.

Beyth et al.⁵, em 2006, fizeram um estudo no qual avaliaram as propriedades antibacterianas e as propriedades físicas de resinas compostas e adesivos com a incorporação de 1% de nanopartículas de polietilenoamina de amônia quaternária (PEI). O teste de resistência à flexão foi aplicado aos espécimes (25 x 2 x 2 mm) de resina composta com Filtek Flow, Z250 e adesivo Single Bond para verificar as propriedades físicas dos materiais restauradores com 1% de PEI incorporado. Para avaliar a atividade antibacteriana, o teste de contato direto, o teste de difusão em ágar e o possível efeito de dissolução dos materiais das resinas compostas com nanopartículas foram realizados. A análise estatística realizada foi a ANOVA one-way e o pós-teste de Tukey. Um forte efeito antibacteriano pôde ser observado nos 2 tipos de resina composta e no adesivo contendo as nanopartículas de PEI porém, nenhuma zona de inibição foi detectada em

qualquer uma das amostras testadas ($p>0,05$). A incorporação de 1% de nanopartículas de PEI não afetou a resistência à flexão das resinas e adesivos comerciais testadas neste estudo ($p>0,05$). Concluíram que as nanopartículas de PEI quando incorporadas às resinas, em baixa concentração, exibiram forte atividade antibacteriana sem alterar suas propriedades mecânicas originais, podendo, portanto, serem usadas para prevenir a formação de biofilme e da cárie secundária.

Pina et al.³⁰, em 2006, focando na nanotecnologia objetivaram traçar um panorama, através de levantamento bibliográfico por meio de livros, páginas eletrônicas e artigos, e identificar as possibilidades de utilização da nanotecnologia e da nanobiotecnologia. Foi constatado pelos autores que de 1988 até 2003 a quantidade de artigos e citações sobre a nanotecnologia vem aumentando exponencialmente, o que demonstra o grande interesse da classe acadêmica em se estudar e publicar sobre tal tema. Esse fato também pode ser observado na quantidade de patentes relacionadas à nanotecnologia mostrando também o interesse por parte do setor produtivo. Os autores ressaltaram que devido ao novo mercado aberto pelas possibilidades da nanotecnologia, haverá em um futuro próximo a falta de profissionais da área e conseqüentemente parcerias entre universidades e empresas serão feitas. Concluíram que o interesse pela nanotecnologia e pela nanobiotecnologia vem crescendo tanto no setor empresarial quanto no acadêmico e que no Brasil os investimentos ainda são discretos quando comparado com os EUA e a União Européia.

Atta et al.³, em 2008, apresentaram um caso clínico sobre o tratamento da doença cárie. A paciente do gênero feminino, com 13 anos, se apresentou à Faculdade de Odontologia de Bauru insatisfeita com o seu sorriso. Após anamnese e exame clínico e radiográfico verificou-se a presença de cáries profundas, gengivite e biofilme. Na primeira sessão foi realizada orientação quanto à higiene bucal e à alimentação, profilaxia e

aplicação de uma solução antibacteriana à base de iodo, a qual foi reaplicada após 3 e 5 dias. Nas sessões seguintes foi realizada a escavação em massa utilizando-se cimento de ionômero de vidro. Depois de restabelecida a saúde bucal da paciente, foi realizado o tratamento restaurador definitivo com resina composta. Concluíram que a cárie é uma doença contínua que se não interrompida, progride levando a tratamentos restauradores mais complexos e que antes destes tratamentos deve-se restabelecer o equilíbrio do meio bucal diminuindo a quantidade de bactérias e modificando os hábitos de higiene e alimentares do paciente.

Beyth et al.⁴, em 2008, testaram a biocompatibilidade e o efeito antibacteriano de uma resina composta modificada pela incorporação de 1% e 2% de nanopartículas de polietilenoamina de amônia quaternária (PEI). Os espécimes foram confeccionados a partir da resina composta Filtek Flow, testados com as cepas de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* e *Staphylococcus epidermidis* e envelhecidos por um período correspondente a 48 horas, 1 e 4 semanas. Realizou-se o teste de difusão em ágar e do contato direto. Os resultados foram analisados por meio da ANOVA one-way e do pós-teste de Tukey. A biocompatibilidade da resina modificada foi averiguada através da viabilidade de macrófagos e da secreção de citocinas TNF α . Concluíram que a incorporação de nanopartículas de PEI em baixas concentrações resultou em uma significativa diminuição no crescimento de todos os microrganismos testados não afetando a biocompatibilidade da resina testada.

Garbin et al.¹⁸, em 2008, visando descrever os principais aspectos da técnica restauradora atraumática (ART) realizaram uma revisão de literatura. Levantamento bibliográfico nas bases de dados BBO, Liliacs e MedLine foi feito empregando os descritores: ART, cimentos de ionômero de vidro, avaliação clínica, indicação, contra-indicação e estudos longitudinais. Somente os artigos relevantes entre 1991 e 2005 foram selecionados a partir

do resumo e a seguir uma posterior avaliação foi feita para seleção dos artigos de acordo com o objetivo deste estudo. Após citação de vários autores relatando os bons resultados alcançados pelos cimentos de ionômero de vidro com tempo de avaliação clínica variando de seis meses a 3 anos, notou-se que o ART não atende às necessidades restauradoras de todas as cavidades. Concluíram que este método, embora seja viável, possui eficácia apenas quando sua indicação for correta, sugerindo maiores estudos e avaliações visando o aprimoramento do método.

Hernández-Sierra et al.²⁰, em 2008, compararam e avaliaram o efeito bactericida e bacteriostático de nanopartículas de óxidos metálicos sobre o *Streptococcus mutans* objetivando encontrar a concentração necessária de nanopartículas para a aplicação clínica. Para este estudo foram utilizadas nanopartículas de prata, zinco e ouro e foram realizados os testes para concentração mínima inibitória (MIC) e para a concentração mínima bactericida (MBC) que foram analisados pela ANOVA. Os resultados mostram que houve uma diferença significativa entre: prata x ouro ($p=0,00004$), a prata x zinco ($p=0,03$) e o ouro x zinco ($p=0,003$). No entanto, os autores discutiram que a nanopartícula de prata necessitou de uma menor concentração para inibir o *Streptococcus mutans* quando comparada com as outras nanopartículas, sugerindo que as nanopartículas de prata podem ser mais efetivas para o controle do *Streptococcus mutans*.

Huang et al.²⁴, em 2008, investigaram o efeito das nanopartículas de óxido de zinco (ZnO) sobre a superfície química das membranas bacterianas das cepas de *Streptococcus agalactiae* e do *Staphylococcus aureus*. Para os testes microbiológicos, a bactéria e as nanopartículas de ZnO com diferentes concentrações (de 10^{-1} a 10^{-4} M) foram cultivadas em placas de ágar sólido e incubadas de um dia para o outro a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ e em seguida, o número de colônias foi contado. As células inoculadas foram estimadas a 200 UFC por placa, e as placas de ágar sólido sem ZnO foram usadas como

controle. Verificaram que as células bacterianas foram danificadas após o contato com as nanopartículas de óxido de zinco concluindo-se que essas nanopartículas podem ser um efetivo agente biocida.

Jones et al.²⁶, em 2008, estimaram o efeito antibacteriano de nanopartículas de óxido de zinco (ZnO) frente a um amplo espectro de microrganismos. Para isso, os autores estudaram 6 cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Escheria coli*, *Enterococcus faecalis* e *Bacillus subtilis* e utilizaram 6 nanopartículas de óxidos metálicos: MgO, TiO₂, Al₂O₃, CuO, CeO₂ e o ZnO. Verificaram que 4 nanopartículas (MgO, TiO₂, CuO, CeO₂) não mostraram inibição de crescimento significativa enquanto que o ZnO mostrou significativa inibição do crescimento das bactérias. Como o Al₂O₃ é altamente tóxico para a maior parte das células vivas não foi dada continuidade dos estudos com essa nanopartícula. Os autores sugeriram que as nanopartículas de ZnO tem potencial para um agente bacteriostático podendo ter aplicações no desenvolvimento de agentes derivados utilizados para o controle da infecção.

Lima et al.²⁹, em 2008, em revisão de literatura, afirmaram que a técnica restauradora atraumática preserva mais as estruturas sadias do dente quando, comparada com a técnica restauradora convencional. Segundo os autores, essa técnica apresenta boa eficácia, minimiza o uso de anestesia local, reduz o grau de desconforto, aumenta as chances de intervenção precoce e de preservação das estruturas dentárias afetadas e causa mínima sensibilidade operatória e pós-operatória. Ressaltam também o seu baixo custo, facilitando o atendimento às populações carentes desprovidas de energia elétrica. Enfatizam que esse procedimento possibilita a criação de um ambiente favorável que detenha o processo da doença cárie através da mínima intervenção gerando, dessa forma, uma estratégia de promoção de saúde bucal que visa levar o tratamento odontológico às populações não assistidas. Concluíram que essa técnica é uma alternativa

viável de tratamento da cárie em saúde coletiva podendo ser aplicada a toda a população, principalmente àquelas que não possuem acesso.

Vasconcelos et al.⁴¹, em 2008, tiveram como objetivo avaliar a atividade antibacteriana de um novo cimento odontológico utilizado para a adequação do meio bucal onde foi associado o óxido de zinco (ZnO), o hidróxido de cálcio e óleo resina de *Copaifera multijuga* Hayne. As cepas utilizadas foram a de *Streptococcus mutans* e a de *Streptococcus sanguinis* para a determinação da concentração inibitória mínima nos períodos de 24 horas e 48 horas, e os grupos foram alocados da seguinte forma: G1 - Óleo resina de *Copaifera multijuga* Hayne + óxido de zinco + hidróxido de cálcio; G2 - Óxido de zinco; G3 - Hidróxido de cálcio; G4 - Óleo-resina de *Copaifera multijuga* Hayne. Um controle positivo foi realizado apenas com o meio de cultura e a suspensão bacteriana, assim como um controle negativo foi composto apenas pelo meio de cultura. Os dados foram analisados através de estatística descritiva. Concluíram que o cimento proposto demonstrou atividade antibacteriana e, portanto pode ser um material promissor para a adequação do meio bucal. No entanto, ainda são necessárias pesquisas para estudar as inúmeras propriedades do material.

Yudovin-Farber et al.⁴⁵, em 2008, fizeram um estudo sobre a composição da superfície química de uma resina composta com 1% de nanopartículas de polietilenoamina de amônia quaternária e sua biocompatibilidade por meio de estudos de toxicidade local in vivo. O teste de contato direto foi utilizado com cepa de *Streptococcus mutans* e espécimes de resina composta Filtek Flow preparadas com 1% de PEI sendo depois envelhecidas por 1 semana e analisadas por meio da ANOVA one-way e pós-teste de Tukey. Para avaliar a citotoxicidade os autores implantaram, em um grupo de ratos Wistar machos, 2 discos de resina composta (5 mm de diâmetro e 1,2 mm de espessura) não modificados do lado esquerdo e 2 espécimes com 1% e 2% de PEI do lado direito. O segundo grupo de ratos

teve implantado 2 espécimes com concentração de 4% e 5% de PEI no lado esquerdo, e 2 espécimes de resina composta na concentração de 20% e 100% de PEI do lado direito. Após 8 dias de implantação, os ratos foram sacrificados e os tecidos com os polímeros foram levados para análise histopatológica. A análise química da superfície foi realizada por meio da espectroscopia fotoeletrônica de raios X. Foi demonstrado que as amostras possuem potencial similar de diminuição bacteriana. Verificou-se, através das imagens de microscopia fluorescente, uma distribuição homogênea das partículas de PEI na resina composta. Para a citotoxicidade, a análise histopatológica mostrou boa tolerância dos implantes com 1% e 2% de PEI sendo o seu grau de reação tecidual com formação capsular comparável com aquele dos implantes sem nanopartículas de PEI (controle). Isso pode sugerir que não houve reação adversa com a aplicação da resina modificada e nem evidências de reação inflamatória. No entanto, as maiores concentrações de PEI resultaram em intolerância moderada evidenciada por áreas de necrose e acúmulo de inflamação. Conclui-se que a incorporação da nanopartícula do PEI na resina composta a 1% foi compatível e resultou em um forte efeito antibacteriano sobre *Streptococcus mutans* sem causar danos.

Ahn et al.¹, em 2009, compararam as características superficiais, as propriedades físicas e a atividade bacteriana de adesivos experimentais, contendo partículas de sílica e nanopartículas de prata com os adesivos convencionais. Para a pesquisa foram utilizados dois adesivos ortodônticos, o Transbond XT e o Fuji II LC e três concentrações diferentes de adesivo experimental com partículas de sílica e 0 ppm, 250 ppm e 500 ppm de prata. Para a caracterização da superfície foram feitos espécimes em forma de discos (10 mm x 2 mm). Utilizou-se Microscópio Confocal à Laser para analisar a rugosidade da superfície e o ângulo de contato para avaliar a energia livre de superfície, sendo cada teste repetido 5 vezes para cada 3

espécimes do grupo. Para analisar as propriedades físicas, os adesivos foram aplicados na face vestibular de pré-molares humanos recém extraídos, armazenados por 24 horas em água deionizada e em seguida submetidos ao teste de resistência ao cisalhamento. O mesmo pesquisador analisou a superfície do esmalte, por meio de um microscópio, para atribuir escores de 0 a 3 ao remanescente de adesivo presente na superfície do esmalte. Para examinar a atividade bacteriana foram utilizadas cepas de *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus* e os testes de adesão estreptocócica aos adesivos com saliva humana, teste de determinação do efeito adesivo no crescimento bacteriano e o teste de difusão em ágar. O estudo demonstrou que a incorporação de nanopartículas de prata aumentou a rugosidade superficial, no entanto a energia de superfície livre dos adesivos experimentais foi próxima a dos adesivos comerciais. Foi observado também que não houve diferença na resistência ao cisalhamento entre os adesivos. O teste de atividade bacteriana indicou que teve efeito significativo na adesão bacteriana a cepa bacteriana utilizada e o tipo de adesivo, sendo que o *Streptococcus mutans* aderiu aos adesivos mais do que o *Streptococcus sobrinus* e os adesivos experimentais apresentaram menor adesão bacteriana do que os outros testados. Apesar disso, não houve halo de inibição presente no teste de difusão de disco. Os autores concluíram que a incorporação de nanopartículas de prata nos adesivos foi bem sucedida assim como os adesivos experimentais contendo nanopartículas de prata podem prevenir a desmineralização do esmalte em torno dos brackets sem alteração significativa de suas propriedades físicas.

Bürgers et al.⁷, em 2009, avaliaram in vitro o potencial antibacteriano da adição de nanopartículas de prata à resinas compostas em *Streptococcus mutans*. Vinte espécimes (10 mm de diâmetro e 2 mm de espessura) foram preparados com resina composta contendo 0%, 0,3% e 0,6% de prata. Foram realizadas análises de rugosidade superficial utilizando um

perfilômetro, de hidrofobicidade, da aderência estreptocócica utilizando ensaio de biofluorescência e da viabilidade da aderência bacteriana através da microscopia de fluorescência. Realizou-se o teste de Kruskal-Wallis e de Mann-Whitney, com nível de significância de 5%. Encontraram maior aderência estreptocócica na resina composta sem adição de prata. Notaram também uma porcentagem significativamente maior de células mortas na resina com 0,3% e 0,6% ($p < 0,001$) e diferença estatisticamente significativa entre a mediana do ângulo de contato da água do compósito sem prata, do compósito com 0,3% de prata e do com 0,6% de prata ($p < 0,001$). Concluíram que a adição de micropartículas de prata à resina composta aumentou a sua hidrofobicidade e reduziu o número de aderência estreptocócica. Simultaneamente houve diminuição na porcentagem de células mortas e inativas na superfície da resina sem a adição da prata assim como diminuição efeito bactericida.

Liu et al.²⁸, em 2009, investigaram as propriedades antibacterianas das nanopartículas de óxido de zinco (ZnONP) contra a *Escherichia coli* O157:H7 e estudaram o modo de ação dessas nanopartículas sobre as bactérias. Por meio do teste antibacteriano, células bacterianas foram inoculadas em placas de ágar triptose de soja (TSA) que continham diversas concentrações da ZnONP (0, 3, 6, 12 mmol 10^{-1}). Por meio da microscopia eletrônica de varredura, foram examinadas as mudanças morfológicas das células de *Escherichia coli* antes e após o tratamento com ZnONP. A microscopia eletrônica de transmissão caracterizou o tamanho das nanopartículas e estudou a ação bactericida da ZnONP. Os autores relataram que a eficácia das ZnONP na inibição do crescimento bacteriano é dependente da concentração da nanopartícula, do seu tamanho e do seu formato. No que diz respeito ao seu modo de ação, os autores acreditam que o mecanismo antibacteriano da ZnONP pode estar relacionado com a destruição dos lipídeos e das proteínas na membrana celular da bactéria

causando o extravasamento do conteúdo celular. Concluíram que as nanopartículas de óxido de zinco têm o potencial para ser considerada um agente antibacteriano efetivo.

Silva, Mendes ³⁷, em 2009 objetivaram, por meio de um levantamento na literatura, rever as perspectivas dos pesquisadores da ART, no controle da doença cárie, através da abordagem de sua aplicabilidade. A metodologia utilizada foi um levantamento de pensamentos e dizeres na literatura, disponível em periódicos, revistas e na base de dados Scielo a partir de 2000. De acordo com os autores, a ART é uma técnica de baixo custo, fácil de ser empregada em locais de difícil acesso que consiste na abordagem odontológica que usa apenas instrumentos manuais para remover o tecido cariado amolecido, interrompendo dessa forma o processo da doença cárie. Os autores enfatizam que embora a técnica seja simples, faz-se necessária a sua correta indicação. A técnica consiste em remover todo o esmalte e dentina amolecida e sem suporte seguido pelo selamento da cavidade com materiais provisórios. Do ponto de vista dos autores, a ART surge como uma variável da adequação do meio, usando cimentos de ionômero de vidro apropriados que liberam flúor e auxiliam na prevenção de lesões de cárie secundárias. Concluíram que a ART atua como importante estratégia no controle da doença cárie em nível coletivo minimizando as necessidades de tratamentos clínicos da população.

Spencer et al.³⁸, em 2009, testaram se o óxido de zinco (ZnO) incorporado a um agente de união ortodôntico exibe atividade antibacteriana e verificaram a duração do possível efeito antibacteriano e suas propriedades adesivas. O óxido de zinco foi incorporado ao cimento de ionômero de vidro Fuji Ortho LC na concentração de 0% (controle negativo), 13% e 23,1% para a realização do teste de difusão em ágar e uma quarta mistura foi realizada com adesivo ortodôntico à base de resina fotopolimerizável (TransBond XT). Para o teste de resistência ao cisalhamento, 30 incisivos bovinos decíduos

com brackets colados com o Fuji Ortho LC (com 0%, 13% e 23,1% de ZnO) à superfície do esmalte foram utilizados. Observaram que a resistência ao cisalhamento diminuiu com o aumento da concentração do ZnO, no entanto, a diferença das misturas está no limite da significância, sem diferença estatisticamente significativa ($p=0,055$). O teste de difusão em ágar mostrou que houve diferença significativa para a atividade antibacteriana ($p<0,001$) exceto entre o controle negativo e a Transbond XT ($p=0,294$). Os autores encontraram que o aumento na concentração de ZnO promove um aumento na atividade antibacteriana e diminuição na resistência ao cisalhamento.

Beyth et al.⁶, em 2010, analisaram in vivo o efeito antibacteriano de resinas compostas com adição de nanopartículas de polietilenoamina de amônia quaternária. Para este estudo foram selecionados dez adultos que utilizaram um dispositivo oral (aparelho) no arco superior por 4 horas, no qual foi adicionado 1% do polímero sintetizado à resina composta em formato de disco no lado direito, e do lado esquerdo apenas a resina composta. Para avaliar o potencial antibacteriano foram utilizados o microscópio confocal à laser e a microscopia eletrônica de varredura. Através dos resultados obtidos pelo microscópio confocal à laser, foi possível observar que na superfície da resina composta a maioria das células bacterianas eram viáveis e na superfície da resina composta com 1% de PEI ficou evidente que a maioria das células bacterianas não estavam viáveis. A microscopia eletrônica de varredura revelou um biofilme estável com numerosas células bacterianas para a resina composta enquanto que, para a resina composta com 1% de PEI, um biofilme com poucas bactérias com membranas celulares claras. Concluíram que a incorporação de nanopartículas de PEI à resina composta exibiu significativa atividade antibacteriana in vivo assim como potente espectro antibacteriano contra as bactérias salivares.

Chibinsk, Wambier¹⁰, em 2010, avaliaram dois protocolos clínicos de adequação do meio bucal, um com a aplicação de cariostático e outro com

aplicação de cariostático e selamento cavitário com cimento de óxido de zinco e eugenol, durante a fase preparatória do meio bucal. Para isso, 28 crianças, entre 3 e 4 anos, foram selecionadas de acordo com os critérios: atividade de cárie e presença de pelo menos 3 lesões cavitadas em molares decíduos. Não participaram do estudo as crianças que não apresentaram atividade de cárie, que possuísem dentes com comprometimento pulpar, menos que 3 lesões cavitadas e crianças que faziam uso de terapia antibiótica ou com problemas sistêmicos. Amostras de saliva estimulada foram coletadas e plaqueadas e, após essa etapa, as crianças foram aleatoriamente distribuídas em dois grupos de tratamento: Grupo 1 - aplicação de diaminofluoreto a 10%, Grupo 2 - aplicação de diaminofluoreto a 10% associado a selamento cavitário com óxido de zinco e eugenol. Em seguida foi realizada a coleta de saliva 24 horas e 7 dias após conclusão dos tratamentos para posterior contagem de UFC/ml do *Streptococcus mutans*. Os autores concluíram que os dois tratamentos foram capazes de reduzir o crescimento de *Streptococcus mutans*, sendo que essa redução se manteve até 7 dias apenas no grupo 2.

Sevinç, Hanley³⁶, em 2010, observaram o efeito da mistura de nanopartículas de óxido de zinco à compósitos comerciais sobre o biofilme e sobre as células planctônicas do *Streptococcus sobrinus*. Para este estudo foram confeccionados corpos de prova de resina composta microhíbrida e nanoparticuladas com a incorporação de 1% de prata, 10% de dióxido de titânio, 10%, 5%, 1% de ZnONP, 1% de ZnO não polarizado e 1% de ZnO polarizado. Os testes utilizados foram contagem de UFC/ml, testes de concentração mínima inibitória e concentração mínima bactericida, contagem de células viáveis no terceiro dia de formação de biofilme do *Streptococcus oralis*, *Streptococcus gordonii* e *Actinomyces naeslundii*, inibição pelo contato direto das resinas utilizando microscópio eletrônico de varredura e microscópio confocal à laser. A atividade bacteriostática e a atividade

antibacteriana dos compósitos com nanopartículas de óxido de zinco foi avaliada através de medidas cinéticas de crescimento bacteriano e teste de difusão do disco assim como foi feita a avaliação dos componentes liberados da resina composta com nanopartículas. Para a análise estatística foram utilizados os testes não paramétricos de de Kruskal-Wallis, Mann-Whitney e Wilcoxon com nível de significância de 5%. Os autores verificaram que houve uma redução significativa de até 80% da contagem bacteriana no compósito que continha 10% de nanopartícula de ZnO quando comparado com os compósitos não modificados ($p=0,000$). Foi verificado também que a concentração mínima inibitória para os compósitos com nanopartículas de óxido de zinco suspensas em cultura planctônica de *Streptococcus sobrinus*, foi de $50 \mu\text{l ml}^{-1}$. Os compósitos com 10% de ZnO demonstraram menor formação de biofilme após 1 dia de crescimento anaeróbico das três espécies de microrganismos, no entanto não reduziram significativamente o crescimento após 3 dias de formação de biofilme. Os autores concluíram que inicialmente as resinas com nanopartículas de ZnO apresentaram efeito antibacteriano, no entanto após o período de um mês, esse efeito não se manteve indicando que não houve liberação suficiente de zinco proveniente das nanopartículas de ZnO.

Elsaka et al.¹³, em 2011, estudaram as propriedades físicas e antibacterianas de um cimento de ionômero de vidro convencional com a incorporação de 3%, 5% e 7% de nanopartícula de dióxido de titânio em cepas de *Streptococcus mutans*. As propriedades físicas foram testadas por meio da resistência à fratura, à flexão, à microtração e à compressão, microdureza e tempo de presa. A atividade antibacteriana foi verificada por meio do teste de contato direto. Foi realizada Análise de Variância a um fator e pós-teste de Tukey para a avaliação das propriedades físicas. Para o teste antibacteriano utilizaram Análise de Variância a dois fatores e pós-teste de Tukey. O nível de significância adotado foi de 5%. Os autores observaram

que o cimento de ionômero de vidro na concentração de 3%, 5% e 7 % de nanopartícula de dióxido de titânio teve efeito antibacteriano eficaz ($p<0,001$), no entanto, na concentração de 5% e 7% as propriedades físicas foram afetadas ($p<0,05$). Pode-se concluir que o cimento de ionômero de vidro com 3% de nanopartícula de dióxido de titânio pode ser um material restaurador com atividade antibacteriana promissor.

Fan et al.¹⁴, em 2011, demonstraram a síntese de nanopartículas de prata (Ag), in situ, e verificaram a existência de um efeito antibacteriano efetivo. Utilizaram resinas quimicamente ativadas associadas a concentrações de 0 (controle negativo), 0,2% e 0,5 % de nanopartículas de Ag com *Streptococcus mutans*, por cinco dias, para verificar o efeito inibitório dos discos de resina com Ag. Os autores utilizaram um estudo piloto prévio onde uma resina fotopolimerizável na concentração de 0,2% de Ag foi utilizada para comparar os resultados. Para averiguar a liberação da prata, discos foram imersos em água deionizada por um período de 1 e 4 dias, 1, 2 e 4 semanas. Os autores concluíram que houve um efeito antibacteriano da resina propriamente dita, porém sendo necessário novos estudos para investigar melhor as propriedades mecânicas, de liberação in vitro e efeito antibacteriano in vitro no intuito de se buscar uma série de antibacterianos que podem vir a prevenir a cárie secundária.

Xie et al.⁴³, em 2011, avaliaram a influência na atividade antibacteriana e nas propriedades mecânicas da adição de 1%, 3%, 5%, 7%, 10% e 20% do sal de polietilenoamina de amônia quaternária ao cimento de ionômero de vidro Fuji II LC. Testes de resistência à compressão e à tração diametral foram conduzidos para verificar as propriedades mecânicas. Para a atividade antibacteriana utilizou-se o teste do contato direto. Utilizaram Análise de Variância a um fator com pós-teste de Tukey. O nível de significância adotado foi de 5%. A adição do sal de polietilenoamina de amônia quaternária ao cimento de ionômero de vidro exibiu atividade

antibacteriana significativa ($p < 0,05$) enquanto que diminuiu sua resistência à compressão ($p < 0,05$). Concluíram que o cimento de ionômero de vidro proposto pode ser um material restaurador clinicamente atraente por oferecer atividade antibacteriana maior do que o cimento de ionômero de vidro convencional. Ressaltaram que futuros estudos devem ser conduzidos no sentido de melhorar sua resistência à compressão.

Xu et al.⁴⁴, em 2011, propuseram o desenvolvimento do primeiro compósito dental com nanopartículas de fosfato de cálcio amorfo. Testaram também se a combinação desse compósito com partículas de vidro estético produziria resinas compostas fotopolimerizáveis com alto nível de liberação de cálcio e de fosfato. Os autores utilizaram como controle uma resina com baixo nível de liberação de flúor, a Heliomolar, um ionômero de vidro modificado por resina, o Vitremer, e outro controle consistindo de vidro de fluoraluminosilicato. Foi utilizado também o compósito com nanopartículas de fosfato de cálcio amorfo (NACP) combinado com partículas de vidro nas seguintes concentrações: 0% de NACP com 75% de vidro; 10% de NACP com 65% de vidro; 15% de NACP com 60% de vidro e 20% de NACP com 50% de vidro. Testes de resistência à flexão e módulo de elasticidade foram realizados. Para avaliar a liberação de íons cálcio e íons fosfato, os corpos de prova foram imersos em soluções com pH de 4, 5,5 e 7 com leituras feitas com 1, 3, 7, 14, 21 e 28 dias utilizando espectrofotômetro. A análise estatística utilizada foi a ANOVA one-way e two-way e pós-teste de Tukey. Os autores observaram que quanto maior o nível de nanopartículas de fosfato de cálcio amorfo, maior a liberação de íons ($p < 0,05$) e quanto menor o pH maior a liberação de íons ($p < 0,05$). O pH não influenciou nas propriedades mecânicas do compósito ($p > 0,05$). Os autores concluíram que o novo compósito de NACP possui resistência à flexão e módulo de elasticidade igual ou superior àqueles existentes no mercado e que não possuem liberação de flúor. As nanopartículas que apresentam alta área de

superfície permitiram que a resina apresentasse maior nível de liberação de flúor com um nível menor de partícula. De acordo com os autores, os nanocompósitos foram “inteligentes” e conseguiram aumentar a liberação de íons em pH ácido.

Ferreira et al.¹⁶, em 2012, investigaram a atividade antiaderente dos cimentos de ionômero de vidro puros e de cimentos de ionômero de vidro associados à clorexidina a 2% e à tintura de *Schinus terebinthifolius* (Aroeira). Os espécimes confeccionados (6 mm de diâmetro e 3 mm de espessura) foram alocados em tubos contendo uma solução composta pelo meio de cultura em caldo e pela suspensão bacteriana de *Streptococcus mutans* e de *Streptococcus oralis* por 24 horas para verificação da aderência de células bacterianas e posterior contagem de UFC/ml. Os autores observaram que a adição de clorexidina ao cimento de ionômero de vidro conferiu inibição do crescimento bacteriano, porém alterou as suas propriedades mecânicas. Concluíram que a clorexidina e a tintura de aroeira associada ao cimento de ionômero de vidro potencializam a atividade antiaderente dos materiais restauradores contra *Streptococcus mutans* e o *Streptococcus oralis* e sugeriram que testes mais específicos são necessários para avaliar a atividade antiaderente do cimento de ionômero de vidro frente ao *Streptococcus mutans* e ao *Streptococcus oralis*.

Hojati et al.²¹, em 2013, avaliaram as propriedades físicas e mecânicas e a atividade antibacteriana de uma resina flow (Heliomolar Flow) com a incorporação de 1%, 2%, 3%, 4% e 5% de nanopartícula de óxido de zinco em cepas de *Streptococcus mutans*. Para avaliar a atividade antibacteriana foi realizado teste de difusão em ágar, contato direto com meio de cultura BHI e a microscopia eletrônica de varredura. Para as propriedades mecânicas, os testes de força e módulo de flexão e compressão foram executados. Para a propriedade de união, testes de resistência ao micro cisalhamento e para as propriedades de cura, testes de

grau de conversão e profundidade de cura foram executados. Os dados foram submetidos a Análise de Variância a um fator e pós-teste de Tukey. O nível de significância adotado foi de 5%. Os resultados demonstraram que quanto maior a concentração de nanopartícula, maior foi sua atividade antibacteriana, porém as maiores concentrações afetaram as propriedades mecânicas e físicas da resina flow. Concluíram que a resina flow com 1% de nanopartícula de óxido de zinco foi capaz de inibir o crescimento do *Streptococcus mutans* sem afetar as propriedades mecânicas e físicas da resina estudada.

Hotwani et al.²³, em 2013, estudaram o efeito antibacteriano de um cimento de ionômero de vidro modificado por resina (Fuji II LC) e de um giômero (Beautiful II) em cepas de *Streptococcus mutans*. O teste de difusão em ágar foi executado e a clorexidina a 0,2% foi utilizada como controle positivo. Após 24, 48 horas e 7 dias as zonas de inibição foram medidas. A análise estatística foi realizada por meio da Análise de Variância com nível de significância de 5%. Observaram que os dois materiais testados exibiram atividade antibacteriana a qual diminuiu ao longo de 7 dias. No entanto, houve diferença significativa entre os dois cimentos materiais ($p < 0,05$). Os autores concluíram que o giômero e o cimento de ionômero de vidro modificado por resina foram eficazes para inibir o crescimento bacteriano, no entanto, mais estudos precisam ser conduzidos.

Prabhakar et al.³¹, em 2013, verificaram a influência da adição de 1% e de 2% de uma mistura de dois antibióticos (ciprofloxacino e metronidazol) ao cimento de ionômero de vidro convencional Fuji IX sobre suas propriedades físicas, habilidade de liberação de flúor e propriedades antibacterianas em cepas de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus casei*. Foi realizado o teste de difusão em ágar em meio de cultura BHI, com corpos de prova de 10 mm de diâmetro e 2 mm de espessura ($n=15$) onde após 48 horas e 7 dias seus respectivos halos de inibição foram mensurados. Para a

análise das propriedades antibacterianas foi realizada a Análise de Variância a um fator, pós-teste de Tukey e o *t-Student* pareado. Para verificar a liberação de flúor, os espécimes de 10 mm de diâmetro e 2 mm de espessura (n=10) foram alocados em recipientes fechados com água destilada e após o período de 24 horas e 7 dias a quantidade de flúor foi medida. A análise estatística utilizada foi o teste de Kruskal Wallis, de Mann Whitney e de Wilcoxon. Para avaliar as propriedades físicas do cimento de ionômero de vidro, foram executados os testes de resistência ao cisalhamento com espécimes de 3 mm de diâmetro por 4 mm de espessura confeccionadas sobre a dentina oclusal de molares permanentes humanos (n=10), o teste de resistência à compressão no qual foram utilizadas 10 espécimes com 4 mm de diâmetro por 6 mm de espessura e o teste de tempo de presa com espécimes de 10 mm de diâmetro por 5 mm de espessura. Foi realizada a Análise de Variância a um fator e teste de Bonferroni. Para a avaliação da microinfiltração, foi confeccionado uma cavidade classe V com 4 mm de diâmetro e 2 mm de profundidade na face vestibular de pré-molares (n=15) seguida de restauração com os cimentos de ionômero de vidro estudados. Os espécimes passaram por termociclagem, foram imersos em azul de metileno e seccionados para avaliação da microinfiltração. A análise estatística realizada foi o teste de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney. O nível de significância adotado para todos os testes foi de 5%. Os autores observaram que a zona de inibição assim como a liberação de flúor do cimento de ionômero de vidro com 2% da mistura dos antibióticos foi significativamente maior ($p<0,05$) do que o cimento de ionômero de vidro convencional e com 1%. No entanto as propriedades físicas da mistura com 2% foram diminuídas ($p<0,05$). Concluíram que o cimento de ionômero de vidro adicionado de 1% de ciprofloxacino e metronidazol demonstrou atividade antibacteriana satisfatória e liberação melhorada de flúor sem que propriedades físicas fossem afetadas drasticamente.

3 PROPOSIÇÃO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antibacteriana de diferentes concentrações de nanopartículas de óxido de zinco incorporadas a um cimento de ionômero de vidro quimicamente ativado e um modificado por resina fotopolimerizável sobre o biofilme de *Streptococcus mutans* com diferentes tempos de maturação.

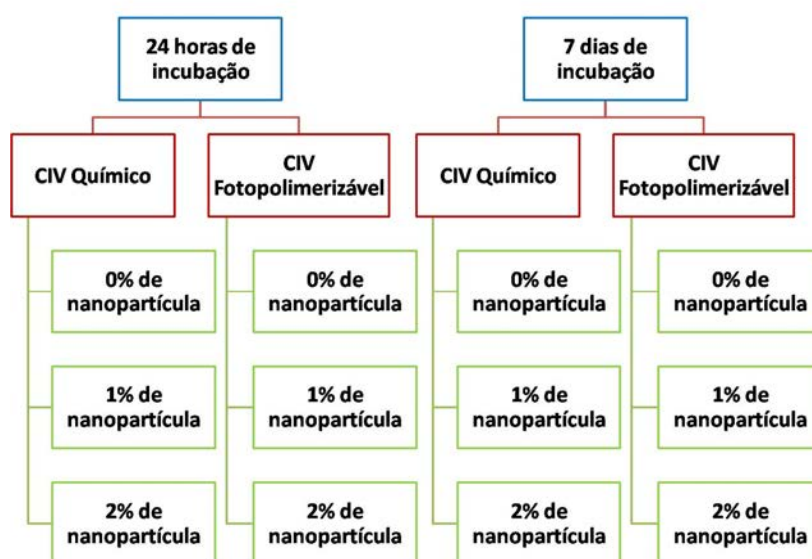
4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 Delineamento Experimental e Variáveis de Estudo

Trata-se de estudo experimental do tipo laboratorial duplo cego. Dois cimentos de ionômero de vidro foram avaliados, um quimicamente ativado e outro modificado por resina fotopolimerizável. Para cada material, duas variáveis independentes foram consideradas: a incorporação de nanopartículas de óxido de zinco (3 níveis: sem nanopartículas, com 1% de nanopartículas em peso e 2% de nanopartículas em peso) e o período de maturação do biofilme de *Streptococcus mutans* (2 níveis: 24 horas e 7 dias). Como variável dependente considerou-se a capacidade antibacteriana analisada por meio do número de UFC/ml, cujos valores foram transformados em logaritmo de base 10. Realizou-se também análise da morfologia das células bacterianas.

Para a realização do estudo foram confeccionados 108 corpos de prova os quais foram em 12 grupos experimentais (n=9) como mostra a Figura 1.

Figura 1 – Organograma dos grupos experimentais



4.2 Materiais

Foram utilizadas nanopartículas de óxido de zinco (20 nm) desenvolvidas pelo Grupo de Crescimento de Cristais e Materiais Cerâmicos do Instituto de Física de São Carlos-USP (Universidade de São Paulo).

O cimento de ionômero de vidro quimicamente ativado utilizado foi o Fuji II (GC America) enquanto o cimento de ionômero de vidro modificado por resina fotopolimerizável foi o Fuji II LC (GC America).

4.3 Confeção dos corpos de prova

Foi realizada a pesagem tanto do pó do óxido de zinco quanto dos cimentos utilizados. Para a obtenção das proporções adequadas do pó dos cimentos de ionômero de vidro e das nanopartículas de óxido de zinco, inicialmente foi pesada a quantidade de pó dos cimentos de ionômero de vidro necessária para preenchimento da colher-medida de pó presente no kit dos materiais. A partir disso, realizou-se uma regra de três, considerando-se a quantidade de pó dos cimentos pesada como 100%, para obtenção da quantidade de pó de nanopartícula de óxido de zinco que deveria ser pesada de acordo com a concentração de 1% e 2%. Após a pesagem, a manipulação dos cimentos ocorreu de acordo com as instruções do fabricante.

Os corpos de prova foram confeccionados usando uma matriz metálica de 4 mm de diâmetro e 2 mm de espessura^{2,25}. Para os corpos de prova com cimento de ionômero de vidro quimicamente ativado, após a inserção do mesmo na matriz foi posicionado uma tira de poliéster, uma placa de vidro e um peso de 1 kg para permitir o escoamento do excesso do material deixando a superfície lisa e padronizada. Após o processo de geleificação, o conjunto tira de poliéster/placa de vidro/peso foi removido.

Para os corpos de prova confeccionados com o cimento de ionômero de vidro modificado por resina fotopolimerizável os mesmos procedimentos foram realizados, ou seja, inserção do material, colocação da tira de poliéster, placa de vidro e peso. Após 30 segundos, o peso e a placa de vidro foram removidos e o cimento foi fotopolimerizado com aparelho de luz LED Rádii Plus (SDI, Austrália) com densidade de potência de 1500 mW/cm².

Após sua confecção todos os corpos de prova foram distribuídos aleatoriamente, por meio da técnica simples de aleatorização, e embalados separadamente em papel grau cirúrgico, de acordo com o grupo experimental pertencente, para serem esterilizados com gás de óxido de etileno (ACECIL Ind Ltda, Campinas/SP, Brasil.) O processo de esterilização com gás de óxido de etileno levou 2 dias para ser concluído. Após isso, foi necessário um intervalo de 15 dias antes do início do experimento para que nenhum resíduo do gás de óxido de etileno permanecesse sobre a superfície dos corpos de prova.

4.4 Microrganismo

Foi utilizada neste estudo a cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 fornecida pela Fundação FioCruz (Departamento de Microbiologia, Laboratório de Materiais de Referência, Setor de Bactérias de Referência localizados na Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde – INCQS, Av. Brasil, 4365 – Manguinhos, Cep: 21045-900, Rio de Janeiro, RJ, Brasil).

4.5 Reativação da espécie

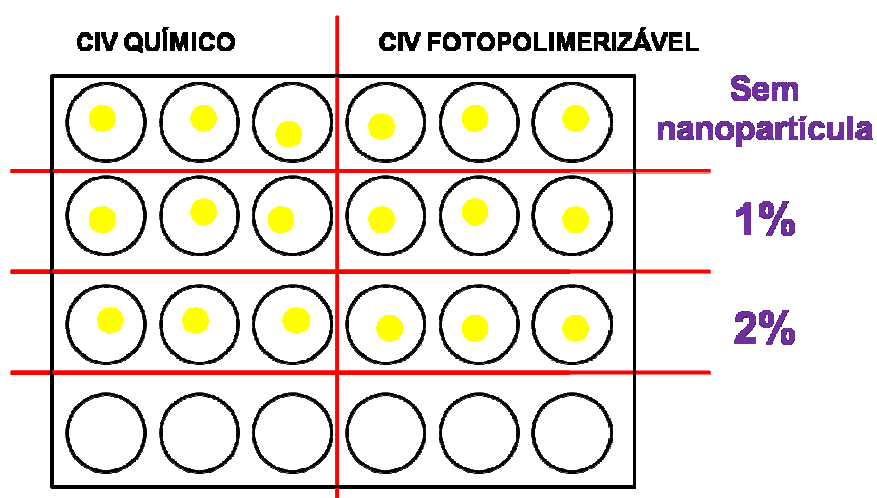
O *Streptococcus mutans* foi reativado em 5 ml de meio de cultura BHI (Brain Heart Infusion) e mantido em ambiente de microaerofilia à 37°C ±1 por 18 horas. Após o crescimento, a suspensão foi centrifugada a 3000 rpm por

15 min (centrífuga Excelsa II, modelo 206-BL, FANEM) e as células lavadas duas vezes com solução salina estéril. O produto final foi suspenso em BHI caldo e a turbidez do material foi ajustada à absorbância de 0,15 lida em 600nm (espectrofotômetro FEMTO) que corresponde a uma suspensão para solução estoque de 10^8 células/mL⁻¹.

4.6 Formação do biofilme bacteriano in vitro sobre os corpos de prova

Previamente os corpos de prova foram distribuídos em placas de microtitulação (24 poços) contendo 1000 µl de BHI e suspensão bacteriana de *Streptococcus mutans* (Figura 2). Todos os corpos de prova ficaram submersos no meio de cultura e foram incubados a 37°C ±1 por 24 horas e 7 dias em ambiente de microaerofilia (Permution®, Curitiba/PR, Brasil).

Figura 2 - Esquema de distribuição dos corpos de prova para a formação do biofilme in vitro.



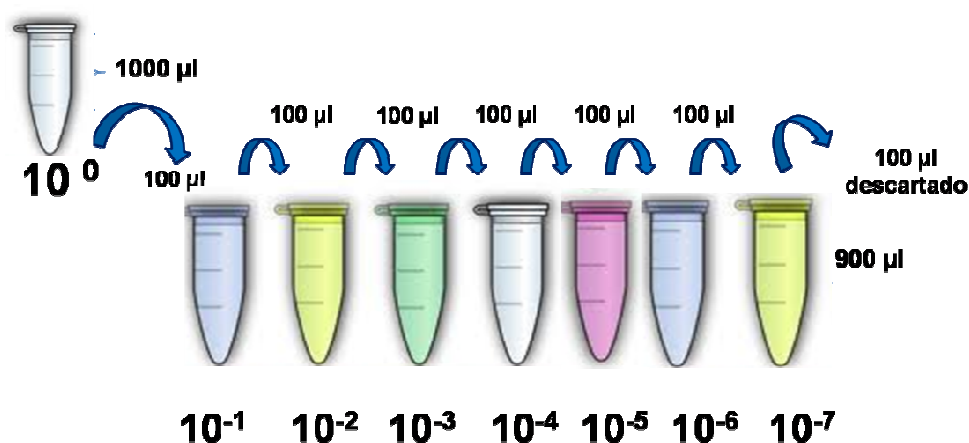
4.7 Teste antibacteriano

Após a formação do biofilme bacteriano, a suspensão de cada poço foi aspirada e os corpos de prova foram lavados três vezes com 1000 µl de PBS (Tampão Fosfato Alcalino) estéril, sendo esse procedimento repetido 3 vezes, com o intuito de remover as células bacterianas não aderidas.

Após a lavagem, os corpos de prova foram retirados dos poços com pinças esterilizadas e colocados em tubo Falcon com 5 mL de PBS. Os tubos foram agitados com auxílio de agitador “Vortex” por 1 minuto e imersos em água dentro de uma cuba ultrassônica por 8 minutos (Digital Ultrasonic Cleaner, produzida pela Kondortech, com força de limpeza de 160 W). Esse procedimento foi realizado para desagregar o biofilme e liberar as células bacterianas que estavam aderidas nos corpos de prova para a contagem de células viáveis da solução resultante.

O método utilizado para contagem foi o das diluições seriadas, onde a partir da solução inicial, da qual se queria conhecer o número de células, foram produzidas várias diluições, seguido de plaqueamento das diluições (semeadura sobre meio de cultura sólido) e contagem de UFC presentes nas placas. A partir da suspensão resultante após a desagregação do biofilme, suspensão essa considerada inicial para o procedimento de contagem foram feitas 7 diluições, 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} e 10^{-7} para cada poço de cada grupo investigado. Da solução inicial 100µl, foi inoculado em 900µl de PBS originando a diluição 10^{-1} , e depois de um ependorf para o outro 100µl, pois em cada ependorf havia 900 µl de PBS, sendo originadas assim as demais diluições (Figura 3).

Figura 3 - Diluição seriada do biofilme desagregado dos corpos de prova.



De cada diluição foi pipetado 25µL sobre meio de cultura apropriado (ágar sacarose) contido em placas de Petri (90x15ml) divididas em 4 quadrantes. Este inóculo foi espalhado sobre a superfície deste meio com auxílio de alça de Drigalsky sempre da maior diluição para a menor.

Após a distribuição das diferentes diluições nas placas, as mesmas foram incubadas em estufa a 37°C (± 1 °C) em atmosfera de microaerofilia como descrito por 24 horas, para que ocorresse a multiplicação bacteriana a ponto de surgirem colônias visíveis a olho nu. Cada colônia visível correspondeu a uma UFC após ocorrência da multiplicação celular ao longo do tempo. Para a contagem e cálculo do número de UFC/mL foi utilizada a diluição que apresentou de 30 a 300 colônias. O número de UFC/mL foi determinado por meio da Equação 1.

$$\text{UFC/mL} = \frac{c \times 10^n}{q} \quad (1)$$

Onde:

c = média do número de colônia

n = valor absoluto da diluição na qual as colônias foram contadas

q = quantidade pipetada para cada diluição nas sementeiras das placas, em mL (q = 0,025)

4.8 Análise da morfologia do biofilme por microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A observação microscópica da aderência e formação de biofilme de *Streptococcus mutans* sobre a superfície dos corpos de prova foi realizada para todos os grupos. Os procedimentos para incubação e o tempo de maturação do biofilme foram os mesmos em relação ao teste antibacteriano. A seguir, os corpos de prova foram colocados nos poços de uma placa de microtitulação de 24 poços e imersos em solução de glutaraldeído a 2,5% durante 15 minutos para a fixação dos microrganismos, seguida da desidratação gradual em série de álcool (15, 30, 50, 70, 90 e 100%), por 15 minutos cada. Os corpos de prova foram colados em suporte metálico para

observação. Como os corpos de prova analisados não apresentavam condutividade elétrica, para esta fixação foi empregado adesivo condutor, necessário para garantir um caminho condutivo. Em seguida eles foram metalizados, cobertos com ouro, com o mesmo objetivo de torná-los condutivos. Na observação por MEV foi utilizado o microscópio eletrônico de varredura - MEV LEO, modelo 440 (Leica-Zeiss, Alemanha).

4.9 Análise Estatística

A calibração do pesquisador que fez a contagem das UFC/ml foi realizada em estudo piloto, com o intuito de se obter a confiabilidade das medidas obtidas intra-examinador. Para tanto, o pesquisador examinou em duplicata as fotografias de 20 placas inoculadas com *Streptococcus mutans*, com intervalo de uma semana entre as avaliações. A concordância intra-examinador foi estimada por meio do Coeficiente de Correlação Intraclassa (ρ), sendo o grau de concordância classificado segundo a proposta de Fermanian¹⁵ (1984). Para realização do experimento definitivo a concordância intra-examinador deveria ser classificada no mínimo como “Boa”. Neste estudo o valor de concordância obtido foi classificado como “Excelente” ($\rho = 0,99$).

A análise de dados foi conduzida de forma independente para os dois tipos de cimento de ionômero de vidro. O nível de significância adotado para tomada de decisão foi de 5%.

Para o cimento de ionômero de vidro quimicamente ativado o pressuposto de normalidade foi atendido em cinco dos seis grupos estudados (Teste de Shapiro Wilk: $p \geq 0,067$). O pressuposto de homocedasticidade foi atendido (Teste de Levene: $p = 0,087$).

Para o cimento de ionômero de vidro modificado por resina fotopolimerizável o pressuposto de normalidade foi atendido em cinco dos seis grupos (Teste de Shapiro Wilk: $p \geq 0,066$). O pressuposto de

homocedasticidade foi atendido (Teste de Levene: $p=0,576$). Realizou-se Análise de Variância a dois Critérios (tempo e concentração de nanopartícula).

5 RESULTADO

Os resultados serão apresentados segundo o tipo de cimento de ionômero de vidro.

5.1 Cimento de ionômero de vidro quimicamente ativado

A média e o desvio padrão dos valores de $\log_{10}$ UFC/mL referente ao cimento de ionômero de vidro quimicamente ativado segundo o tempo de maturação e a concentração de nanopartículas podem ser observadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Medidas de resumo dos valores de $\log_{10}$ (UFC/mL) do cimento de ionômero de vidro quimicamente ativado segundo o tempo de maturação do biofilme e a concentração de nanopartícula. Araraquara, 2014.

Concentração de nanopartícula	Período de Incubação		Total
	24 horas	7 dias	
0%	8,74±1,41	8,22±1,52	8,48±1,45
1%	8,47±1,29	8,66±1,78	8,57±1,51
2%	8,48±1,36	8,39±2,02	8,43±1,67
Total	8,56±1,31	8,42±1,73	

A Tabela 2 mostra o resumo da Análise de Variância para o cimento de ionômero de vidro quimicamente ativado.

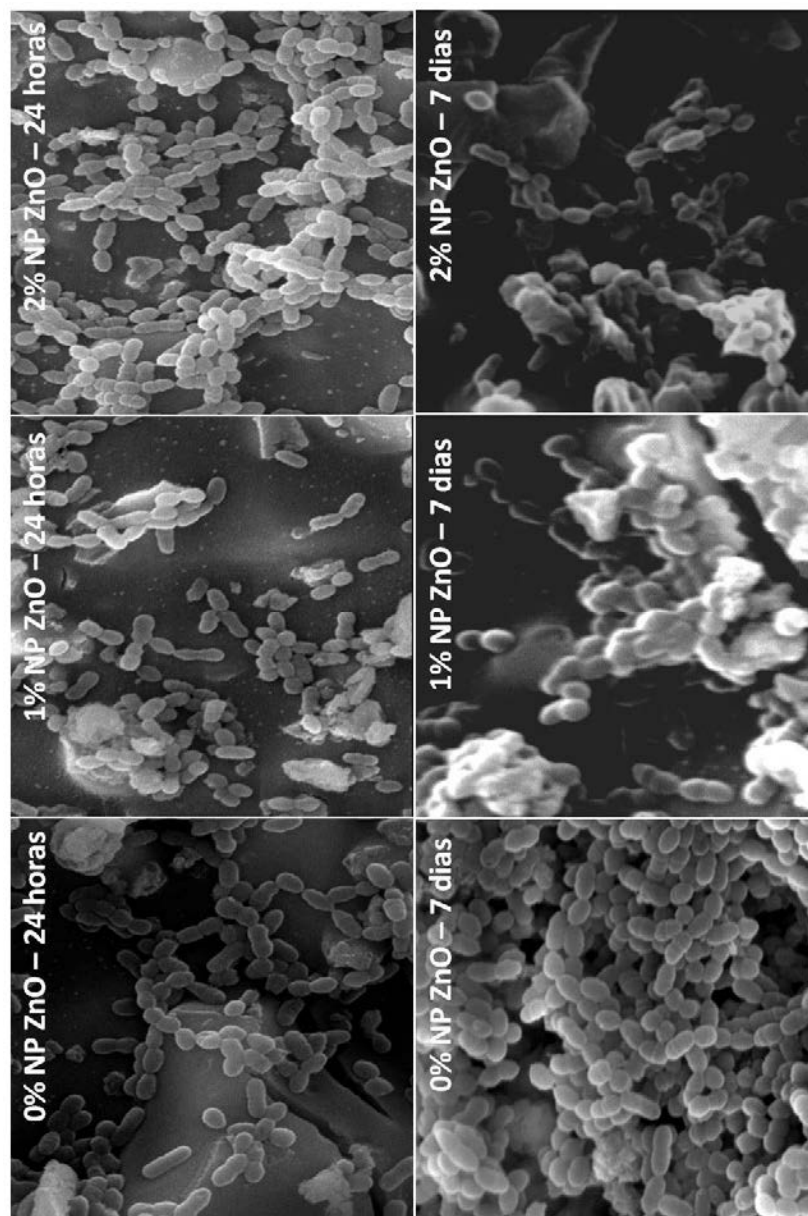
Tabela 2 - Resumo da Análise de Variância a dois critérios para análise dos valores de $\log_{10}$ UFC/mL encontrados no cimento de ionômero quimicamente ativado (tempo de maturação do biofilme-tempo e a concentração de nanopartícula-nano). Araraquara, 2014.

Fonte de Variação	SQ	gl	QM	F	<i>p</i>
Tempo	0,272	1	0,272	0,108	0,744
Nano	0,172	2	0,086	0,034	0,966
Tempo x Nano	1,126	2	0,563	0,224	0,800
Resíduo	120,635	48	2,513		

Observa-se diferença não significativa para os fatores tempo de maturação do biofilme e concentração de nanopartícula, bem como para a interação entre os mesmos.

As imagens obtidas pela Microscopia Eletrônica de Varredura estão apresentados na Figuras 4.

Figura 4 - Cimento de ionômero de vidro quimicamente ativado com diferentes concentrações de nanopartículas (0,1% e 2% em peso) e tempo de maturação do biofilme (24 horas e 7 dias): material observado pela MEV (10.000X). Araraquara, 2014.



Pode-se observar que não houve alteração na morfologia das células bacterianas (membrana celular e manutenção do conteúdo extra celular) em função da concentração de nanopartículas e do tempo de maturação do biofilme.

5.2 Cimento de ionômero de vidro modificado por resina fotopolimerizável

A média e o desvio padrão dos valores de $\log_{10}$ UFC/mL referente ao cimento de ionômero de vidro modificado por resina fotopolimerizável segundo o tempo de maturação e a concentração de nanopartículas podem ser observadas na Tabela 3.

Tabela 3 - Medidas de resumo dos valores de $\log_{10}$ (UFC/ml) obtidos após avaliação do cimento de ionômero de vidro modificado por resina fotopolimerizável segundo o tempo de maturação do biofilme e a concentração de nanopartícula. Araraquara, 2014.

Concentração de nanopartícula	Período de Incubação		Total
	24 horas	7 dias	
0%	8,87±1,02	9,23±1,10	9,04±1,04
1%	8,26±1,18	9,17±0,98	8,72±1,15
2%	8,27±1,05	9,07±1,41	8,69±1,29
Total	8,48±1,08	9,15±1,13	

A Tabela 4 apresenta o resumo da Análise de Variância para o cimento de ionômero de vidro modificado por resina fotopolimerizável.

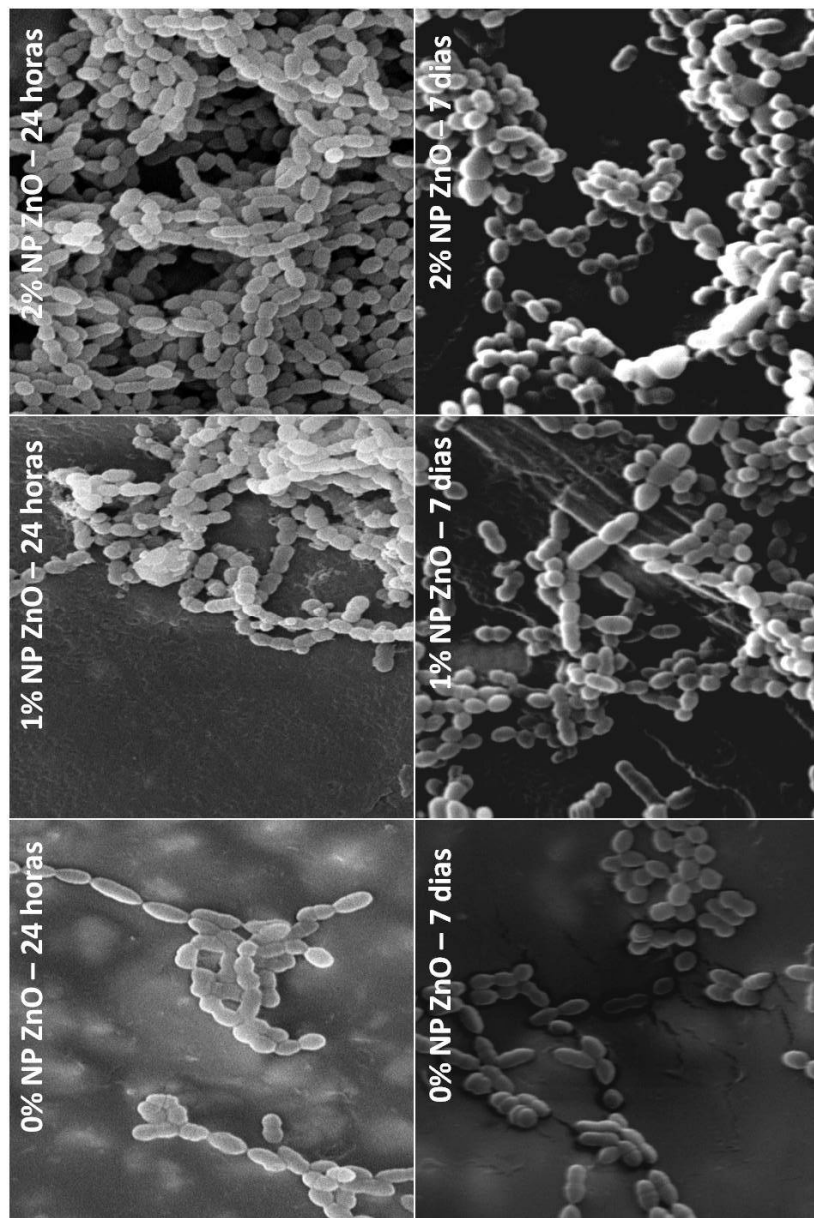
Tabela 4 - Resumo da Análise de Variância a dois critérios para análise do cimento de ionômero de vidro modificado por resina fotopolimerizável segundo o tempo de maturação do biofilme e a concentração de nanopartícula. Araraquara, 2014.

Fonte de Variação	SQ	gl	QM	F	<i>p</i>
Tempo	6,155	1	6,155	4,778	0,034
Nano	1,468	2	0,734	0,570	0,570
Tempo x Nano	0,724	2	0,362	0,281	0,756
Resíduo	59,260	46	1,288		

Observa-se diferença significativa na contagem de UFC/mL para o fator tempo de maturação do biofilme. Dessa forma, observou-se que a média do valor de $\log_{10}$ (UFC/ml) foi significativamente menor nos espécimes incubados pelo tempo de 24 horas.

Os resultados obtidos pela Microscopia Eletrônica de Varredura estão apresentados na Figura 5.

Figura 5 - Cimento de Ionômero de Vidro modificado por resina fotopolimerizável com diferentes concentrações de nanopartículas (0,1% e 2% em peso) e tempo de maturação do biofilme (24 horas e 7 dias): material observado pela MEV (10.000X). Araraquara, 2014



Pode-se observar que não houve alteração na morfologia das células bacterianas em função da concentração de nanopartículas e do tempo de maturação do biofilme.

6 DISCUSSÃO

A cárie dental ainda acomete grande parte da população sendo considerada um problema de saúde pública^{24,29,34}. Por ser uma doença transmissível, de caráter infeccioso, no qual diversos fatores etiológicos estão envolvidos²⁰, o seu tratamento requer uma abordagem preventiva²³ por meio de procedimentos que não apenas interfiram na sua instalação, mas também em sua recidiva⁸.

Dentro desta perspectiva, a busca por um material restaurador ideal, com características antibacterianas⁸, tem levado ao desenvolvimento de materiais ou à modificação daqueles já existentes. Materiais com propriedades antibacterianas podem evitar que bactérias residuais continuem sua atividade metabólica, além de impedir que novas bactérias alcancem a interface dente/restauração^{12,19,23}. Neste sentido Prabhakar et al.³¹ (2013), advogam que como os cimentos de ionômero de vidro são amplamente utilizados em procedimentos de adequação do meio bucal e em tratamentos restauradores atraumáticos deve-se buscar a melhoria de suas propriedades antimicrobianas. Elsaka et al.¹³ (2013) reforçam ainda que benefícios terapêuticos podem ser conseguidos quando se combina agentes antimicrobianos aos cimentos de ionômero de vidro.

Assim, neste estudo propôs-se associar nanopartículas de óxido de zinco a dois tipos de cimento de ionômero de vidro com o intuito de ampliar seu potencial antimicrobiano sobre o biofilme de *Streptococcus mutans*. Pôde-se observar que tanto para o cimento de ionômero de vidro quimicamente ativado quanto para o modificado por resina fotopolimerizável, a concentração de nanopartículas de óxido de zinco utilizada (1% e 2% em peso) não foi capaz de aumentar o seu potencial antibacteriano (Tabelas 2 e 4 e Figuras 2 e 3).

Sevinç, Hanley³⁶ (2010) observaram que a concentração de 1% de nanopartículas de óxido de zinco associado à resina composta também não foi suficiente para inibir o crescimento bacteriano do biofilme de *Streptococcus sobrinus*, o qual é considerado mais resistente do que o *Streptococcus mutans*, enquanto que nas concentrações de 5% e 10% a inibição bacteriana foi observada. Spencer et al.³⁸ (2009) encontraram que a associação de 13% e 23,1% de nanopartícula de óxido de zinco ao cimento de ionômero de vidro modificado por resina fotopolimerizável foi capaz de promover atividade antibacteriana sobre a cepa de *Streptococcus mutans*, porém o aumento na concentração de nanopartículas promoveu uma diminuição na resistência à união do mesmo. Hojati et al.²¹ (2013) ao avaliarem as propriedades antibacterianas, físicas e mecânicas de uma resina composta tipo flow contendo nanopartículas de óxido de zinco (0%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%) verificaram que o aumento na concentração de nanopartículas diminuiu significativamente o número de UFC/mL de *Streptococcus mutans* ($p < 0,05$), sendo que nas concentrações de 4% e 5% de nanopartículas de óxido de zinco houve inibição total de formação de colônias. Entretanto, nas resinas com maior concentração de nanopartículas houve diminuição na profundidade de polimerização.

Os resultados obtidos neste estudo podem ser explicados pela própria característica do material restaurador selecionado, bem como pela concentração de nanopartículas de óxido de zinco utilizadas.

No que diz respeito ao material selecionado, estudos^{12,17,19,23,32,38-40,43} relataram que o cimento de ionômero de vidro apresenta atividade antibacteriana sobre o *Streptococcus mutans*. Este cimento é considerado cariostático e antibacteriano devido à liberação de flúor e ao seu baixo pH^{8,11,13,17,19,32,38,40,43}. O flúor muda o ecossistema da placa bacteriana, afeta uma variedade de funções enzimáticas vitais da célula bacteriana pela inibição da enolase, fosfatase, pirofosfatase interferindo em alguma etapa do

metabolismo ou até levando à morte celular^{12,23}. A queda de pH do cimento de ionômero de vidro ocorre pela reação ácido-base durante o processo de geleificação, promovendo a acidez no meio, criando condições insustentáveis para o crescimento bacteriano¹⁹. Vale ressaltar também que um dos componentes do cimento de ionômero de vidro é o zinco, o qual também reforça sua atividade antimicrobiana³².

Com relação às nanopartículas de óxido de zinco sabe-se que elas podem alterar ou causar danos à membrana da célula bacteriana, resultando em perda do conteúdo extra-celular e eventualmente morte da célula bacteriana²⁸ pela liberação de espécies de oxigênio ativo e pela interação nanopartícula e bactéria causadas por forças eletrostáticas²¹. Este efeito não foi observado neste estudo quando da análise do *Streptococcus mutans* na Microscopia Eletrônica de Varredura, independente da concentração utilizada. Assim acredita-se que a concentração utilizada (1% e 2%) não tenha sido suficiente para aumentar a atividade antibacteriana dos cimentos de ionômero de vidro testados. Spencer et al.³⁸ (2009) observaram que o efeito antibacteriano das nanopartículas de óxido de zinco foi dependente de sua concentração no material restaurador testado de forma que um aumento de 78% na sua concentração resultou em uma diminuição de 56% das zonas de inibição. Hernández-Sierra et al.²⁰ (2008) verificaram a necessidade de maior concentração de nanopartículas de óxido de zinco para inibição do desenvolvimento das cepas de *Streptococcus mutans* quando comparado às nanopartículas de prata. Huang et al.²⁴ (2008) também observaram que baixas concentrações de nanopartículas de óxido de zinco não foram capazes de levar a qualquer dano celular. Liu et al.²⁸ (2009) encontraram maior efeito inibitório das nanopartículas de óxido de zinco sobre a *Escherichia coli* com o aumento da concentração das nanopartículas. Hojati et al.²¹ (2013) também constataram relação direta entre o aumento na

concentração da nanopartícula de óxido de zinco e aumento da atividade antimicrobiana do material restaurador resultante.

Além da relação concentração das nanopartículas de óxido de zinco e atividade antibacteriana sobre o *Streptococcus mutans*, outro fator observado neste estudo foi a relação atividade antibacteriana e tempo de maturação do biofilme. Chama a atenção o fato de apenas o cimento de ionômero de vidro modificado por resina fotopolimerizável ter apresentado diferença significativa em relação ao período de maturação do biofilme, havendo no período de 7 dias maior quantidade UFC/ml do que em 24 horas ($p=0,034$). Sevinç, Hanley³⁶ (2011) também verificaram que compósitos contendo 10% de nanopartículas de óxido de zinco após múltiplos ciclos de crescimento do biofilme não apresentaram uma atividade antibacteriana tão efetiva quanto a obtida inicialmente. Hojati et al.²¹ (2013) observaram no teste de envelhecimento que as propriedades antibacterianas da resina flow associada a nanopartículas de óxido de zinco (1% a 5%) também reduziu de 48 horas para 7 dias de incubação. Apesar de não ter procedido à adição de nanopartículas nos materiais avaliados em seu estudo, Hotwani et al.²³ (2013) obtiveram que a atividade inibitória do biofilme de um giômero e de um cimento de ionômero de vidro modificado por resina foi decrescendo gradualmente até 7 dias sendo a inibição máxima obtida em 24 horas.

Pode-se observar que os trabalhos que apresentaram diminuição da atividade antimicrobiana com o tempo^{21,23,36} utilizaram apenas material resinoso e cimento de ionômero de vidro modificado por resina fotopolimerizável. De acordo com Beyth et al.⁶ (2006), Yudovin-Farber⁴⁵ (2008), Bürgers et al.⁷ (2009) e Sevinç, Hanley³⁶ (2010), os materiais resinosos fotopolimerizáveis, os quais contém monômeros em sua formulação, apresentam maior potencial de adesão e crescimento do *Streptococcus mutans* na sua superfície. Segundo Duque et al.¹² (2005) a principal diferença na composição entre o cimento de ionômero de vidro

convencional e o modificado por resina é a adição de monômeros hidrolíticos ao líquido do cimento modificado por resina. Portanto, pode-se sugerir que o cimento de ionômero de vidro modificado por resina avaliado neste estudo, por também possuir monômeros em sua composição, tenha ficado mais susceptível ao crescimento bacteriano com o passar do tempo.

A avaliação da atividade antibacteriana sobre o *Streptococcus mutans* deve ser a primeira propriedade a ser analisada quando se propõe um material restaurador com características antibacterianas. Se a atividade antibacteriana for satisfatória, propriedades mecânicas e físicas devem ser avaliadas antes que o material tenha aplicabilidade. Os resultados obtidos no presente estudo podem nortear o desenvolvimento de futuros materiais restauradores que associam o cimento de ionômero de vidro às nanopartículas de óxido de zinco pois permitiu a constatação de que pequenas concentrações dessas nanopartículas não melhoraram as propriedades antibacterianas do cimento de ionômero de vidro. Assim, futuros estudos devem ser conduzidos em busca de novos materiais utilizando-se maiores concentrações de nanopartículas de óxido de zinco.

7 CONCLUSÃO

Conclui-se que:

1 A adição de nanopartículas de óxido de zinco em diferentes concentrações não alterou a atividade antibacteriana do cimento de ionômero de vidro quimicamente ativado e do modificado por resina fotopolimerizável;

2 O biofilme de *Streptococcus mutans* formado sobre o cimento de ionômero de vidro modificado por resina fotopolimerizável após 7 dias de maturação apresentou maior volume de células bacterianas.

8 REFERÊNCIA*

1. Ahn SJ, Lee SJ, Kook JK, Lim BS. Experimental antimicrobial orthodontic adhesives using nanofillers and silver nanoparticles. *Dent Mater*. 2009; 25(2): 206-13.
2. American National Standards Institute/American Dental Association. Specification nº 96 for dental water-base cements. Chicago. 2005. [acesso em 2013 Nov 21]. Disponível em: <http://www.ada.org/830.aspx#96>.
3. Atta MT, Louro RL, Vieira IM. Controle do ecossistema bucal previamente ao tratamento restaurador definitivo. *Rev Gaucha Odontol*. 2008; 56(1): 219-24.
4. Beyth N, Hour-Haddad Y, Baranes-Hadar L, Yudovin-Farber I, Domb AJ, Weiss EI. Surface antimicrobial activity and biocompatibility of incorporated polyethylenimine nanoparticles. *Biomaterials*. 2008;29(31):4157-63.
5. Beyth N, Yudovin-Farber I, Bahir R, Domb AJ, Weiss E. Antibacterial activity of dental composites containing quaternary ammonium polyethylenimine nanoparticles against *Streptococcus mutans*. *Biomaterials*. 2006; 27(21): 3995-4002.
6. Beyth N, Yudovin-Farber I, Perez-Davidi M, Domb AJ, Weiss EI. Polyethyleneimine nanoparticles incorporated into resin composite cause cell death and trigger biofilm stress in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010; 107(51): 22038-43.
7. Burgers R, Eidt A, Frankenberger R, Rosentritt M, Schweikl H, Handel G, et al. The anti-adherence activity and bactericidal effect of microparticulate silver additives in composite resin materials. *Arch Oral Biol*. 2009; 54(6): 595-601.
8. Carvalho CAT, Melhado RDM, Shimizu MT, Unterkircher CS, Araujo MAM. Estudo comparativo da ação antibacteriana in vitro de materiais restauradores e forradores – Cimentos de ionômero de vidro, resinas e compômeros. *Rev Odontol Unesp*. 1998; 27(1): 241-9.

* De acordo com o manual da FOAr/UNESP, adaptadas das normas Vancouver. Disponível no site: <http://www.foar.unesp.br/#/biblioteca/manual>

9. Cassanho ACA, Fernandes AM, Oliveira LD, Carvalho CAT, Jorge AOC, Koga-Ito CY. In vitro activity of zinc oxide-eugenol and glass ionomer cements on *Candida albicans*. Braz Oral Res. 2005; 19(2): 134-8.
10. Chinbinski ACR, Wambier DS. Avaliação clínica dos níveis salivares de estreptococos mutans na fase preparatória do meio bucal em pré-escolares. Int J Dent. 2010 ;9(2): 68-73.
11. Ciccone JC, Verri MP, Navarro MFL, Salvador SL, Palma-Dibb RG. Avaliação in vitro do potencial antimicrobiano de diferentes materiais restauradores. Mater Res. 2004; 7(2): 231-4.
12. Duque C, Negrini TC, Hebling J, Spolidorio DM. Inhibitory activity of glass-ionomer cements on cariogenic bacteria. Oper Dent. 2005; 30(5): 636-40.
13. Elsaka SE, Hamouda IM, Swain MV. Titanium dioxide nanoparticles addition to a conventional glass-ionomer restorative: influence on physical and antibacterial properties. J Dent. 2011; 39(9): 589-98.
14. Fan C, Chu L, Rawls HR, Norling BK, Cardenas HL, Whang K. Development of an antimicrobial resin – a pilot study. Dent Mater. 2011; 27(4): 322-8.
15. Fermanian J. Measure de l'accord entre deux juges: cas quantitative. . Rev Epidemiol Sante Publique. 1984; 32(6): 408-13.
16. Ferreira GLS, Freires IA, Castro RD, Alves LA. Atividade antiaderente de cimentos de ionômero de vidro puros e associados à clorexidina 2% e à *Shinus terebinthifolius*. Rev Odontol Br Cent. 2012; 21(56): 415-20.
17. Fraga RC, Siqueira JF, Uzeda M. In vitro evaluation of antibacterial effects of photo-cured glass ionomer liners and dentin bonding agents during setting. J Prosthet Dent. 1996; 76(5): 483-6.
18. Garbin CAS, Sundfeld RH, Santos KT, Cardoso JD. Aspectos atuais do tratamento restaurador atraumático. RFO. 2008; 13(1): 25-9.
19. Garib TM, Rosa OPS, Rocha RSS. Ação antimicrobiana de cimentos de ionômero de vidro restauradores. Rev Fac Odontol. Bauru. 1993; 1(1/4): 1-5.
20. Hernandez-Sierra JF, Ruiz F, Pena DCCP, Martinez-Gutiérrez F, Martínez AE, Guillén AJP, et al. The antimicrobial sensitivity of *Streptococcus mutans* to nanoparticles of silver, zinc oxide and gold. Nanomedicine. 2008; 4(3): 237-40.

21. Hojati ST, Alaghemand H, Hamze F, Babaki FA, Rajab-Nia R, Rezvani MB, et al. Antibacterial, physical and mechanical properties of flowable resin composites containing zinc oxide nanoparticles. *Dent Mater*. 2013; 29(5): 495-505.
22. Hotta M, Nakajima H, Yamamoto K, Aono M. Antibacterial temporary filling materials: the effect of adding various ratios of Ag-Zn-Zeolite. *J Oral Rehabil*. 1998; 25(7): 485-9.
23. Hotwani K, Thosar N, Baliga S, Bundale S, Sharma K. Antibacterial effects of hybrid tooth colored restorative materials against *Streptococcus mutans*: An in vitro analysis. *J Conserv Dent*. 2013; 16(4): 319–22.
24. Huang Z, Zheng X, Yan D, Yin G, Liao X, Kang Y, et al. Toxicological effect of ZnO nanoparticles based on bacteria. *Langmuir*. 2008; 24(8): 4140-4.
25. International Organization for Standardization. ISO 9917-1. Water-based cements - Part 1: Power/liquid acid-base cements. Geneva: ISO; 2007. [acesso em 2013 Nov 21]. Disponível em: http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=45818
26. Jones N, Ray B, Ranjit KT, Manna AC. Antibacterial activity of ZnO nanoparticle suspensions on a broad spectrum of microorganisms. *FEMS Microbiol Lett*. 2008; 279(1): 71-6.
27. Lima DC, Saliba NA, Moimaz SAS. Tratamento restaurador atraumático e sua utilização em saúde pública. *Rev Gaucha Odontol*. 2008; 56(1): 75-9.
28. Liu Y, He L, Mustapha A, Li H, Hu ZQ, Lin M. Antibacterial activities of zinc oxide nanoparticles against *Escheria coli* O157:H7. *J Appl Microbiol*. 2009; 107(4): 1193-201.
29. Nelson Filho PN, Silva LAB. Adequação do meio bucal. In: Assed S, editor. *Odontopediatria: bases científicas para a prática clínica*. São Paulo: Artes Médicas; 2005.
30. Pina KV, Pinto LR, Moratori RB, Souza CG, Barbastefano RG. Nanotecnologia e nanobiotecnologia: estado da arte, perspectivas de inovação e investimentos. *Rev Gestão Ind*. 2006; 2(1): 115-25.
31. Prabhakar AR, Prahlad D, Kumar SR. Antibacterial activity, fluoride release, and physical properties of an antibiotic- modified glass ionomer cement. *Pediatr Dent*. 2013; 35(5): 411-5.

32. Prati C, Fava F, Di Gioia D, Selighini M, Pashley DH. Antibacterial effectiveness of dentin bonding systems. *Dent Mater.* 1993; 9(6): 338-43.
33. Rego MA, Koga-Ito CY, Jorge AO. Effects of oral environment stabilization procedures on counts of *Candida* spp. in children. *Pesqui Odontol Bras.* 2003; 17(4): 332-6.
34. Rossi M, Rossi A, Queiroz AM, Azevedo RVP, Ito IY, Nelson Filho PN. Adequação do meio bucal e seu efeito sobre a microbiota salivar cariogênica. *JBP Rev Ibero-am Odontopediatr Odontol Bebe.* 2005; 8(43): 210-7.
35. Sarrami N, Pemberton MN, Thornhill MH, Theaker ED. Adverse reactions associated with the use of eugenol in dentistry. *Br Dent J.* 2002; 193(5): 257-9.
36. Sevinç BA, Hanley L. Antibacterial activity of dental composites containing zinc oxide nanoparticles. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2010; 94(1): 22–31.
37. Silva MAM, Mendes CAJ. O tratamento restaurador atraumático em saúde pública e o custo dos materiais preconizados. *Rev APS.* 2009; 12(3): 350-6.
38. Spencer CG, Campbell PM, Buschang PH, Cai J, Honeyman AL. Antimicrobial effects of zinc oxide in an orthodontic bonding agent. *Angle Orthod.* 2009; 79(2): 317-22.
39. Svanberg M, Mjor IA, Orstavik D. Mutans streptococci in plaque from margins of amalgam, composite and glass-ionomer restorations. *J Dent Res.* 1990; 63(3): 861-4.
40. 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(15): 1051-7.
41. Vasconcelos KRF, Veiga Júnior VF, Rocha WC, Bandeira MFCL. Avaliação in vitro da atividade antibacteriana de um cimento odontológico à base de óleo-resina de *Copaifera multijuga* Hayne. *Rev Bras Farmacogn.* 2008; 18(Supl): 733-8.
42. Wambier DS, Simionato MRL, Bandeira LR, Adimari LAW. Avaliação de três materiais utilizados na fase preparatória do meio bucal. *JBP.* 2002; 5(25): 230-4.

43. Xie D, Weng Y, Guo X, Zhao J, Gregory RL, Zheng C. Preparation and evaluation of a novel glass-ionomer cement with antibacterial functions. *Dent Mater.* 2011; 27(5): 487-96.
44. Xu HHK, Moreau JL, Sun L, Chow LC. Nanocomposite containing amorphous calcium phosphate nanoparticles for caries inhibition. *Dent Mater.* 2011; 27(8): 762-9.
45. Yudovin-Farber I, Beyth N, Nyska A, Weiss EI, Golenser J, Domb AJ. Surface characterization and biocompatibility of restorative resin containing nanoparticles. *Biomacromolecules.* 2008; 9(11): 3044-50.

Autorizo a reprodução deste trabalho
(Direitos de publicação reservado ao autor)
Araraquara, 20 de março de 2014

Mariana Florian Bell