



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE

CENTRO DE CIÊNCIAS DE SAÚDE

CURSO DE GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

**ESTUDO *IN VITRO* DA MICROINFILTRAÇÃO BACTERIANA EM MATERIAIS
RESTAURADORES PROVISÓRIOS**

ANDRE DE LIMA MARTINS

NATAL

2017



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS DE SAÚDE
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

**ESTUDO *IN VITRO* DA MICROINFILTRAÇÃO BACTERIANA EM MATERIAIS
RESTAURADORES PROVISÓRIOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Odontologia, da Universidade Federal do Rio Grande do Norte em cumprimento às exigências para conclusão.

Orientador: Prof. Dr. Fabio Roberto Dametto

NATAL

2017

Catálogo na Fonte. UFRN/ Departamento de Odontologia
Biblioteca Setorial de Odontologia “Profº Alberto Moreira Campos”.

Martins, André de Lima.

Estudo *in vitro* da microinfiltração bacteriana em materiais restauradores provisórios / André de Lima Martins. – Natal, RN, 2017.

31 f.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Roberto Dametto.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Ciências da Saúde. Departamento de Odontologia.

1. Infiltração dentária – Monografia. 2. Materiais restauradores – Monografia. 3. Antibacterianos – Monografia. I. Dametto, Fábio Roberto. I. Título.

RN/UF/BSO

Black D151

ANDRÉ DE LIMA MARTINS

ESTUDO IN VITRO DA MICROINFILTRAÇÃO BACTERIANA EM MATERIAIS
RESTAURADORES PROVISÓRIOS

Trabalho de conclusão de curso
apresentado ao Departamento de
Odontologia da Universidade de Federal
do Rio Grande do Norte.

APROVADO EM: __/__/

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Fábio Roberto Dametto
Orientador e presidente da banca
UFRN

Prof^a. Dr^a. Leticia Maria Menezes Nobrega
Membro
UFRN

Prof. Dr. Marcilio Dias Chaves de Oliveira
Membro
UFRN

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	8
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	10
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	15
3.1	MATERIAIS.....	15
3.2	PREPARO DOS DENTES.....	15
3.3	DIVISÃO DOS GRUPOS DE ESTUDO.....	16
3.4	METODOLOGIA.....	16
3.5	ANÁLISE DOS DADOS.....	23
4	RESULTADOS.....	24
5	DISCUSSÃO.....	26
6	CONCLUSÃO.....	29
	REFERÊNCIAS.....	30

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Professor Doutor Fábio Roberto Dametto por orientar o trabalho construído desde a escolha do tema; aos professores que se disponibilizaram a participar da banca examinadora; à Marcela Letícia da Silva Azevedo pelo auxílio no preparo dos materiais e nas fotos; ao meu pai Amaro Filho do Nascimento Martins e à minha mãe Adaisa Machado de Lima Martins por oferecerem condições para realização do trabalho; ao Departamento de Odontologia da UFRN pela disponibilização do laboratório multidisciplinar no preparo dos dentes e do laboratório de microbiologia me dando acesso por 23 dias consecutivos, inclusive em finais de semana e feriados; a Deus que me permitiu a concretização da pesquisa e aos funcionários da limpeza, essenciais para a manutenção de boas condições de trabalho no Departamento de Odontologia da UFRN.

RESUMO

Introdução: tendo em vista a variedade de materiais com a finalidade de selar os dentes durante ou ao termino de tratamentos endodônticos, fez-se necessário pesquisar o material que possui a menor infiltração bacteriana, fundamental ao sucesso do tratamento endodontico. **Metodologia:** Sete materiais foram testados contra infiltração microbiana marginal, sendo eles Bioplic®, Coltosol®, Ionoseal®, IRM®, Pulpo-San®, Vidrion R® e Villevie®. Foram utilizados 75 dentes bovinos hígidos e livres de trincas, sendo 10 selados com cada um dos sete materiais e 5 controles positivos. Foi feito preparo nas raízes dos dentes de modo a mimetizar câmaras pulpares e padronizado 4mm de material restaurador. Os dentes foram restaurados de acordo com a recomendação do fabricante de cada material, colados aos eppendorf após 24 horas da inserção do material com Superbonder e esmalte cosmético, aguardado mais 24 horas para colocar no conjunto cultura de E. faecalis em meio de cultura caldo de BHI no compartimento superior e solução de BHI estéril no compartimento inferior. A turbidez dos frascos foi analisada a cada 24hs por 21 dias e os dados foram interpretados através de teste não paramétrico de Kruskal Wallis, Post hoc com correção Bonferroni. **Conclusão:** todos os materiais sofreram infiltração bacteriana, no entanto Coltosol®, Villevie®, Bioplic®, Ionoseal® e Pulpo-san® tiveram melhores resultados em relação ao IRM® e Vidrion R®.

Palavras-Chaves: Infiltração dentária. Materiais restauradores. Antibacterianos.

1 INTRODUÇÃO

Entende-se que o selamento coronário é tão importante para o sucesso da terapia endodôntica quanto o próprio tratamento em si, podendo ser considerado parte integrante deste (ZANCAN et al., 2015). Além disso, o material restaurador temporário deve atuar como barreira à infiltração marginal, não permitindo a infecção ou reinfecção do sistema de canais radiculares e nem o comprometimento do curativo de demora (MIRANDA et al., 2008).

Nos tratamentos endodônticos realizados por cirurgiões dentistas podem ser observados a utilização de diversos materiais com composições diferentes e, portanto propriedades distintas. O material selador temporário ideal deve apresentar propriedades como bom selamento marginal, mínima porosidade, estabilidade dimensional, resistência à abrasão e compressão, ser de fácil inserção e remoção, biocompatibilidade, baixo custo, estética, baixa solubilidade e atividade antimicrobiana (ZANCAN et al., 2015).

A dificuldade de escolha do material provisório deve-se à ampla variedade de produtos disponíveis no comércio odontológico e também à seleção daquele que apresente as propriedades exigidas para um bom material selador (MARANHÃO, KLAUTAU e LAMARÃO 2007). Ao longo dos anos, inúmeros produtos considerados restauradores provisórios foram lançados no mercado odontológico como o IRM®, Cavit®, Coltosol®, Vidrion R® e Bioplic®. (COUTO et al., 2010) e o lançamento de novos materiais no mercado dificulta ainda mais sua escolha.

A verificação da qualidade dos seladores temporários inclui uma diversidade de metodologias, muitas delas com resultados contraditórios (COUTO et al. 2010), mostrando a necessidade de novas pesquisas com metodologias que consigam ter uma boa padronização dos testes e a melhor capacidade de comparar as propriedades dos materiais com a melhor mimetização das condições bucais.

Em vista a abundancia de materiais que podem ser empregados com a finalidade de selar o sistema de canais radiculares como material para forrar a câmara pulpar ao termino da obturação e impedir a reinfecção dos canais; ou como restaurador temporário com a finalidade de manter a medicação intracoronária ou intraradicular e impedir a contaminação ou reinfecção dos canais, fez-se necessário a pesquisa para verificar a hipótese de em algum material não aconteça infiltração e avaliar os intervalos para infiltrar, caso aconteça.

2 REVISÃO DE LITERTURA:

Os seladores coronários são divididos em quatro grupos: cimentos pré-manipulados, à base de óxido de zinco e eugenol, cimentos de ionômero de vidro e foto ativados. Os cimentos pré-manipulados absorvem água durante o período de presa, causando expansão quando em contato com a umidade, permitindo boa adaptação às paredes marginais, mas possuem baixa resistência a mastigação (Ex: Cimpat, Coltosol e Cavit). Já os cimentos a base de óxido de zinco e eugenol possuem melhor tenacidade, escoamento e biocompatibilidade, mas possuem menor resistência à compressão (Ex: IRM e Pulpo-San). Os cimentos a base de ionômero de vidro possuem o diferencial de realizarem adesão química com os tecidos duros do dente (Ex: Maxxion R, Vidrion R e Vitremer). Os cimentos fotoativados adquirem consistência borrachosa após fotoativação e absorvem água da saliva, sofrendo uma leve expansão e contribuindo para uma boa capacidade seladora (Ex: Bioplic e Ionoseal) (ZANCAN et al. 2015).

Bitencourt, Britto e Nabeshima (2010) comparam a qualidade do selamento periférico de quatro materiais restauradores provisórios e concluíram que o Cimpat rosa® e o Bioplic® são materiais favoráveis no selamento coronário durante o tratamento endodôntico. O estudo in vitro foi realizado com cinquenta e dois molares superiores, dois dentes para o grupo controle-negativo, dois foram o grupo controle-positivo, os outros quarenta e oito dentes foram separados aleatoriamente em quatro grupos experimentais com doze dentes cada e restaurados cada um com um material provisório. O grupo I foi restaurado com Bioplic®, o grupo II com Cimpat Rosa®, o grupo III com IRM® (Dentsply), e o grupo IV com guta-percha. A raiz e os ápices dos dentes foram selados com esmalte e todas as amostras foram imersas em azul de metileno a 2% e mantidos a 37° por 72 horas. Depois os dentes foram lavados em água corrente, incluídos em gesso, seccionados longitudinalmente e a infiltração linear foi medida em milímetros através de uma lupa e uma régua. Foi aplicada análise estatística com teste de Kruskal Wallis e teste de Dunn. Os grupos III e IV sofreram maior infiltração em relação aos grupos I e II com diferença significativa entre os grupos.

No entanto, Seixas et al. (2008) avaliaram ex vivo a microinfiltração marginal coronária de restauradores provisórios usados em endodontia e concluíram que, apesar de os restauradores provisórios Villevie® e Bioplic® sofrerem menor infiltração, nenhum material impediu totalmente a infiltração marginal coronária. Foi feito preparo químico-mecânico em caninos uniloculares humanos. Os dentes foram impermeabilizados e foi introduzido em cada canal radicular um cone de papel absorvente e, na câmara pulpar, uma mecha de algodão impregnada com solução alcoólica de dimetilgloxima 1%. Os dentes foram restaurados com os diferentes materiais e divididos nos seguintes grupos: grupo I - Vidrion R®; grupo II - Cavit W®; Grupo III - Villevie®; grupo IV - Bioplic®; o controle positivo não recebeu nenhum tipo de restaurador provisório e o grupo controle negativo foi restaurado com Cavit W®. Em seguida, todos os dentes foram imersos em solução de sulfato de níquel 5% e submetidos à ciclagem térmica por 72 horas para posterior secção e fixação da coloração avermelhada do complexo Ni-dimetilgloxima. A infiltração marginal foi mensurada seguindo-se uma tabela de escores pré-estabelecidos por Pécora et al. (1986). Os dados foram submetidos ao teste estatístico não paramétrico de Kruskal-Wallis e mostraram que os restauradores provisórios Villevie® e Bioplic® sofreram menor infiltração, seguidos pelo Cavit W® e, por último, o Vidrion R®.

Já Parron et al. (2014) preferiram testar in vitro a infiltração marginal microbiana em selamento coronário duplo utilizando o *Enterococcus faecalis* e concluíram que a associação entre os cimentos restauradores provisórios como o não impediu nem diminuiu a infiltração marginal de *E. faecalis*, sendo fundamental a realização da restauração definitiva com brevidade. Utilizou 36 dentes pré-molares humanos hígidos, fez o acesso coronário e o preparo químico-mecânico com sistema rotatório Protaper e irrigação com hipoclorito de sódio 1%. Os grupos experimentais foram restaurados da seguinte forma: Grupo I – Bioplic®; Grupo II: Bioplic® + Coltosol®; Grupo III: MaxxionR®; Grupo IV: MaxxionR® + Coltosol®; Grupo V - Coltosol®, o grupo controle positivo ficou sem material restaurador. Tubos Eppendorf® com as pontas cortadas foram adaptados às raízes internamente aos tubos, com dois terços

das raízes para fora dos tubos. Os conjuntos raiz/tubo Eppendorf® foram selados com as tampas de borracha de vidros de penicilina e esterilizados em óxido de etileno. Nos frascos de vidro, foram introduzidos 7 ml de meio Brain Heart Infusion (BHI estéril) e mantidos 24 horas em estufa. Após esse intervalo, em câmara de fluxo laminar, os conjuntos raiz/tubo Eppendorf®/tampa de borracha foram acoplados aos frascos de vidro. O Grupo controle possuiu seis dentes abertos, sem material restaurador provisório, e não instrumentados. Todos os conjuntos foram incubados em estufa bacteriológica a 37 °C e, a cada sete dias, a suspensão de microrganismos da câmara superior do Eppendorf® foi renovada. A capacidade de cada grupo em impedir a infiltração bacteriana ao longo do tempo foi avaliada através da completa infiltração bacteriana até o periápice. Para isso, foi realizada a observação visual da ocorrência de turvação do meio de cultura presente no tubo em contato com o ápice dentário. As leituras foram realizadas a cada 24 horas, durante 30 dias, e anotados os dias em que cada um dos espécimes mudava sua turbidez. O Qui-quadrado foi o teste estatístico escolhido.

KAMPFER et al. (2007) avaliaram a hipótese de que as células *Enterococcus faecalis* de origem alimentar pudessem contaminar os canais radiculares infiltrando pelo material restaurador temporário e concluiu que existe forte suspeita de a hipótese ser confirmada. A metodologia foi baseada em um ambiente bucal simulado sob mastigação para verificar a capacidade de um sulfato de cálcio (Cavit W) em evitar a passagem de *E. faecalis* de um queijo através do acesso endodôntico. Os preparos foram feitos em molares superiores humanos e padronizados em classe I. As cavidades foram cheias com Cavit em 16 dentes com 2mm de espessura e em 16 dentes com 4 mm. Cavidades de acesso vazias serviram como controle positivo. O controle negativo possuiu 8 dentes preenchidos com um material composto fotopolimerizável. Um queijo com células viáveis de *E. faecalis* foi colocado na oclusal dos dentes nos testes e nos controles, que foram subsequentemente submetidos a 680 cargas de mastigação por dia por 1 semana num dispositivo mastigador perfundido com saliva artificial a 37°C. O vazamento de *E. faecalis* do queijo para o câmara pulpar foi avaliado por cultura em um canamicina ágar azida aesculin e comparados entre os grupos usando o teste exato de Fisher. A

aplicação de 4 milímetros de Cavit impediu o vazamento de *E. faecalis* significativamente melhor do que o correspondente pedido de 2 mm. Os resultados atuais fundamentam a suspeita que a microbiota derivada de alimentos poderia entrar no sistema de canais radiculares através de uma infiltração coronária.

Macedo, Nabeshima e Britto (2009) avaliaram o selamento marginal do Cimpat® rosa em comparação com IRM® (Dentsply) e concluiu que o Cimpat® rosa obteve resultados mais satisfatórios contra a infiltração marginal. Vinte dentes foram selados com IRM® e em outros vinte com Cimpat® rosa e um dente foi utilizado como controle negativo. Todos os dentes foram submersos em azul de metileno a 1% e mantidos a 37°C por 48hs. Após este período o algodão foi analisado, através de scores pré-estabelecidos (0=pouca coloração; 1=média coloração; 2= alta coloração). Das 20 amostras de óxido de zinco, 4 tiveram pouca coloração; 12 média e 4 alta. Por sua vez, das 20 amostras de Cimpat® rosa, 12 tiveram pouca coloração, 4 média e 4 alta. Os dados foram submetidos ao teste estatístico de U de Mann-Whitney, o que mostrou uma diferença significativa ao nível de 5%.

Ferraz et al. (2009) verificaram a microinfiltração coronária do Bioplic® (Biodinâmica), do IRM® (Dentsply) e de Coltosol® (Vigodent) e concluíram que o todos os materiais testados apresentaram infiltração coronária, mas o Bioplic® associado ao condicionamento ácido apresentou os menores índices de infiltração. Foram usados quarenta pré-molares inferiores íntegros, extraídos, divididos em quatro grupos: Grupo I - Bioplic® (Biodinâmica) associado a sistema adesivo; Grupo II - Bioplic®; Grupo III - IRM® (Dentsply); Grupo IV - Coltosol® (Vigodent). Os dentes foram imersos em solução de Rodamina B 1% e armazenados em estufa a 37°C por 24 horas, procedendo-se à ciclagem térmica por sete dias. Após esse período foi realizada secção longitudinal dos dentes no sentido vestibulo-lingual, a infiltração foi medida em milímetros e analisada estatisticamente através da ANOVA e teste de Tukey, com um nível de significância de 5%.

Veloso et al. (2008) avaliou a infiltração microbiana em Coltosol, IRM e Vidrion R após preparo para retentores intrarradiculares e concluiu que os materiais restauradores temporários e a medicação intracanal não previnem a penetração de microrganismos até o ápice radicular. Utilizaram quarenta e dois dentes humanos anteriores superiores. Os dentes foram preparados e obturados com guta-percha e Sealapex utilizando a técnica da condensação lateral, mantendo 4mm de remanescente apical de obturação. Foi usada pasta de hidróxido de cálcio para preencher o espaço criado para os pinos, deixando um espaço de 4mm na cervical para ser preenchido pelos materiais testados. O controle negativo possuiu seis dentes impermeabilizados o controle positivo seis dentes não obturados. Um teste de infiltração microbiana (MLT) com uma câmara dividida em duas partes foi usado neste ensaio. A infiltração microbiana foi verificada diariamente durante 90 dias. Os dados obtidos foram analisados pelos testes de Kruskal-Wallis e de Mann-Whitney e os materiais permitiram infiltração microbiana entre 19 e 89 dias.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo é um ensaio laboratorial controlado randomizado. Foram utilizados 75 dentes bovinos hígidos unirradiculares, livres de cárie e de trincas.

3.1 MATERIAIS

Os materiais restauradores provisórios estão dispostos no quadro 1.

Quadro 1- Materiais com os respectivos fabricantes e composições químicas.

Materiais	Fabricantes	Composição
Bioplic®	Biodimâmica	Resina do grupo dos metacrilatos
Coltosol®	Contene	Óxido de zinco e sulfato de zinco
Villevie®	Villevie	Óxido de zinco
IRM®	Dentsply	Óxido de zinco e eugenol
Pulpo-San®	SS White	Óxido de zinco e eugenol
Ionoseal®	Voco	Compósito de Ionômero de vidro fotopilomerizável.
Vidrion R®	SS White	Ionômero de vidro

3.2 PREPARO DOS DENTES

Os dentes tiveram suas raízes cortadas 2 mm abaixo da junção amelocementária (Figura 1. A) e posteriormente preparadas câmaras na superfície interna das raízes com 4 mm de profundidade para padronizar a espessura de material a ser utilizado no selamento e impedir a obturação do canal radicular além dos 4 mm (Figura 1. C). Os dentes foram padronizados no formato de tronco cônico com 7mm de altura e encaixados em eppendorf®

cortados (Figura 1. D). Todo o preparo foi realizado com brocas carbide cirúrgicas 702.



Figura 1. A

Corte radicular.



Figura 1. B

Visão da secção da

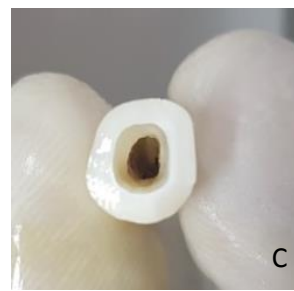


Figura 1. C

Preparo do anteparo
no interior da raiz.



Figura 1. D

Ajuste dos
preparos nos
eppendorf®.

3.3 DIVISÃO DOS GRUPOS

Uma vez preparados, estes foram divididos em nove grupos, sendo sete grupos experimentais e dois grupos controle, sendo eles: Grupo I - Coltosol (n=10), Grupo II – Villevie (n=10), Grupo III – IRM (n=10), Grupo IV – Pulpo-San(n=10), Grupo V – Vidrion R (n=10), Grupo VI - Ionoseal (n=10), Grupo VII - Bioplic (n=10) e Grupo VIII - controle Positivo (n=05)

3.4 METODOLOGIA

Tubos tipo Eppendorf® tiveram suas pontas cortadas e os segmentos de raízes adaptadas internamente nos tubos, deixando a metade do segmento de dente o mais próximo possível da borda do tubo cortado. Posteriormente, frascos de penicilina com suas respectivas tampas de borracha foram preparados. Nas tampas foram confeccionados orifícios que encaixam o conjunto Eppendorf®/dente.

Os conjuntos foram autoclavados e os materiais foram inseridos nas cavidades antes da colagem conforme orientação dos fabricantes. A figura 2 mostra um grupo de teste para um material sendo preparado em campo estéril.

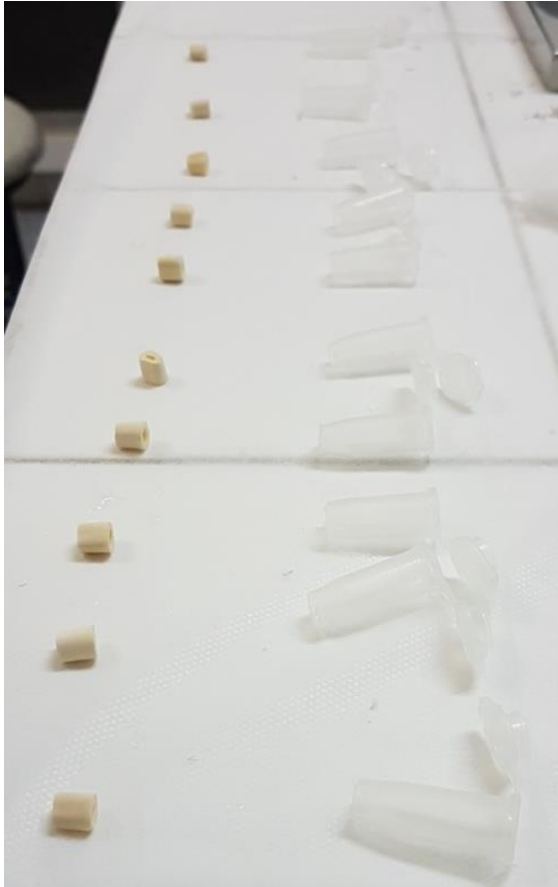


Figura 2.

Grupo de dentes para inserção de material restaurador

Coltosol: colocado nas cavidades compressão digital e removido o excesso localizado fora da cavidade (figura 3. A e 3. B).



Figura 3. A

Material sendo inserido



Figura 3. B

Após remoção do excesso de material

Villevie: foi inserido como o coltosol, embora apresente consistência diferente (figuras 4. A e 4. B).

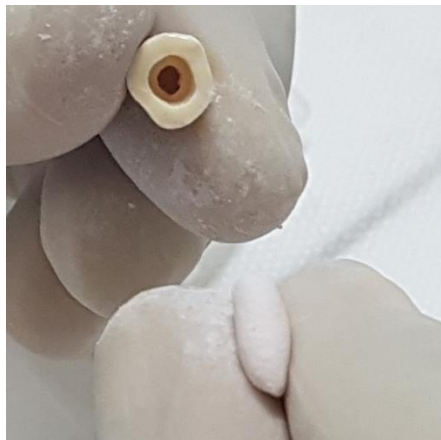


Figura 4. A

Antes da inserção



Figura 4. B

Após remoção do excesso do material

IRM: espatulação realizando pressão e incorporação de pó até sair da consistência pastosa e inserção nos dentes (figuras 5. A, 5. B, 5. C e 5. D).

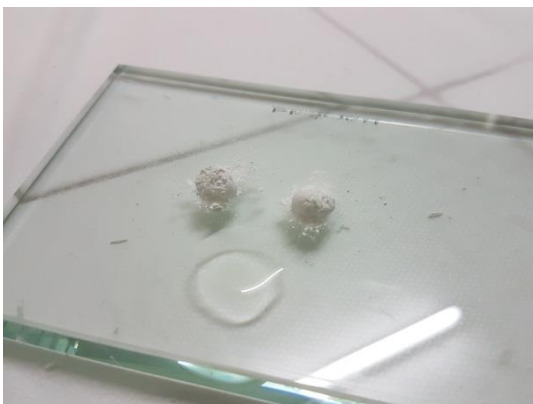


Figura 5. A



Figura 5. B

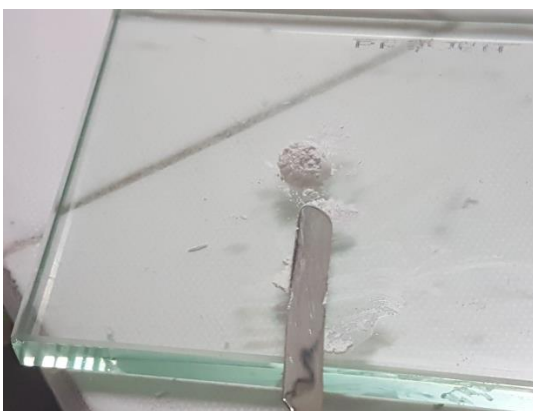


Figura 5. C



Figura 5. D

Pulpo-san: espatulado e inserido nas cavidades, as bordas dos dentes foram limpas com álcool após inserção do material para não prejudicar a colagem (figura 6).

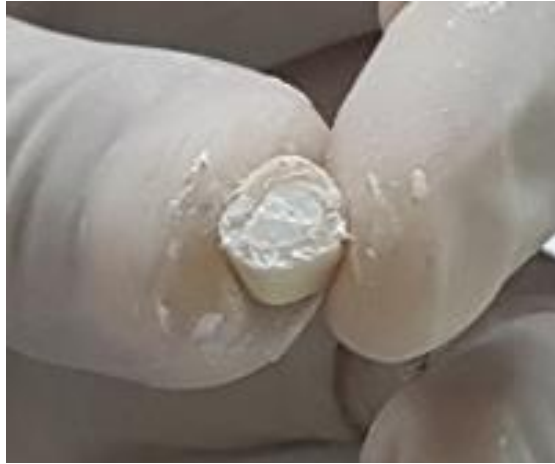


Figura 6.

Pulpo-san inserido em dente com material na lateral.

Ionômero de vidro: condicionado com ácido poliacrílico nunca utilizado, lavado com água destilada autoclavada, aplicado o ionômero de vidro e protegido com vaselina (figuras 7. A, 7. B, 7. C e 7. D).



Figura 7. A

Ácido poliacrílico nunca utilizado sendo colocado em microbrush.

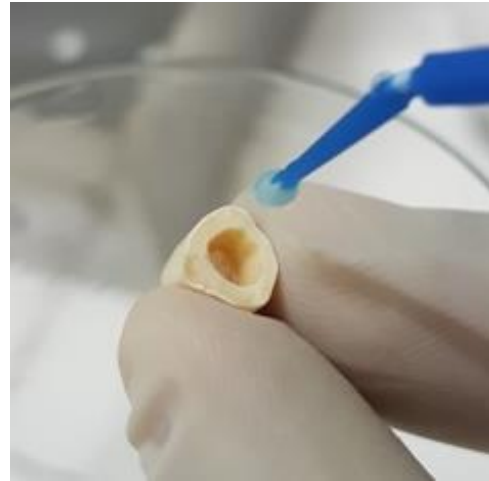


Figura 7. B

Condicionamento com ácido poliacrílico.

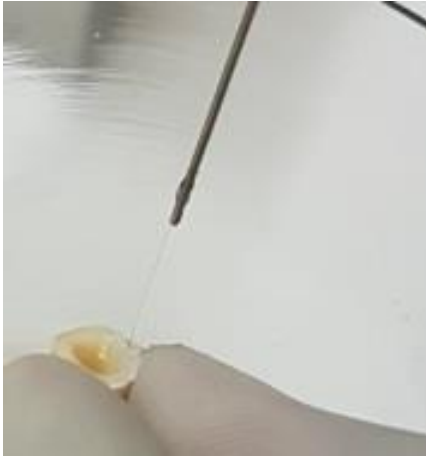


Figura 7. C

Lavagem com água autoclavada.



Figura 7. D

Inserção do ionômero nos dentes.

Bioplic: colocado na cavidade sem condicionamento nem sistema adesivo e fotoativado por 40 segundos (figuras 8. A, 8. B e 8. C).



Figura 8. A

Inserção do Bioplic® na cavidade.



Figura 8. B

Remoção do excesso.



Figura 8. C

Fotoativação.

Ionoseal: Inserido com ponteira sem condicionamento e sistema adesivo e fotoativado por 20 segundos (figuras 9. A e 9. B).

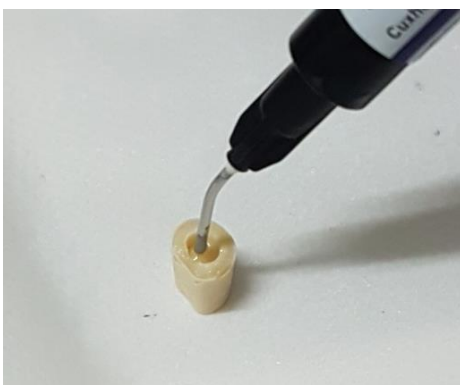


Figura 9. A

Inserção do Ionoseal® na cavidade.



Figura 9. B

Fotoativação.

Uma vez restaurados, foi dado intervalo de 48hs para presa total dos materiais antes da colocação do meio de cultura com as bactérias. Nas primeiras 24hs os dentes restaurados ficaram em estufa a 37° C (figura 10). Foi feita a colagem e o conjunto ficou mais 24hs aberto dentro de uma estufa desligada, mas com a porta fechada para facilitar a evaporação dos solventes do esmalte, mas evitar contaminação.



Figura 10.

Dentes com materiais, encaixados nos eppendorf® e posteriormente colocados na estufa.

Os frascos foram preenchidos com uma quantidade de meio de cultura Brain Heart Infusion (BHI estéril) e ajustado o volume de solução estéril para garantir que as pontas dos dentes ficassem submersas na solução estéril e os conjuntos foram acoplados nas tampas de borracha dos frascos de penicilina (figura 11).



Figura 11.

Experimento pronto para receber

Na porção dentro do frasco tipo eppendorf, foi colocado 0,5 mL de suspensão bacteriana preparada previamente com o microrganismo *Enterococcus faecalis* (figura 12. B), semeado 48hs antes em Ágar Sangue (figura 12. A) e 24hs antes passado para soro de BHI.

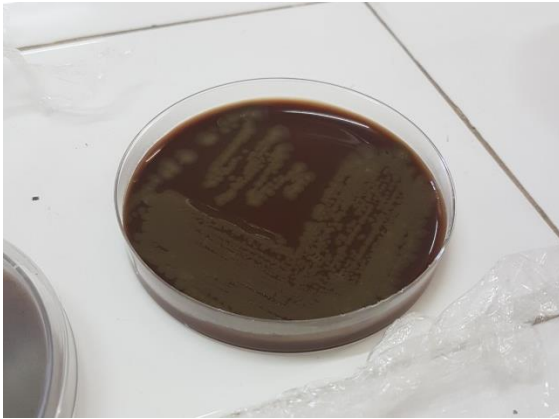


Figura 12. A

E. faecalis proliferado na placa de Ágar Sangue



Figura 12. B

E. faecalis em caldo de BHI

Todos os espécimes ficaram incubados em estufa bacteriológica a 37°C. A cada 24 horas foi observado todos os tubos e anotado o dia da mudança de turbidez do BHI estéril de cada frasco durante 21 dias. Nos compartimentos superiores dos dentes foi feita renovação do meio de cultura, remoção de 0,3ml do BHI contaminado e reposição do mesmo volume com BHI estéril, além de verificação da viabilidade dos microrganismos nos dias 5, 10 e 17 no decorrer do experimento e constatado que em todas as verificações estavam viáveis. A figura 13 mostra alguns frascos contendo o BHI turvo e outros límpidos de um grupo testado.



Figura 13.

Grupo sendo analisado com alguns frascos contaminados e outros estéreis no decorrer do experimento.

4.5 Análise de dados

Os dados foram obtidos analisando a mudança de turbidez do meio de cultura por observação visual. A análise estatística selecionada foi a não paramétrica de Kruskal Wallis.

4 RESULTADOS

Grupos Dias	Grupo1- Coltosol	Grupo2- Villevie	Grupo3- IRM	Grupo4- Pulposan	Grupo5- Vidrion R	Grupo6- Ionoseal	Grupo7- Bioplic	Grupo 8- Controle +
	7	8	2	7	1	4	5	1
	6	14	2	8	1	2	3	1
	2	1	6	8	1	6	2	1
	9	1	1	1	1	4	2	1
	1	1	1	1	1	1	2	1
	4	1	1	1	1	2	1	
	4	9	1	8	1	1	1	
	5	7	1	2	1	2	4	
	10	6	1	2	1	4	2	
		11	1	1	1	2	2	

Tabela 1 – Os valores dos Algarismos representam os dias em que o BHI ficou turvo em cada frasco e as posições dos Algarismos representam a localização do frasco no experimento.

Os valores foram avaliados estatisticamente com significância de 5%. O teste de normalidade apontou que as amostras não apresentam uma distribuição normal, desta forma foi realizado o teste não paramétrico de Kruskal Wallis. Este demonstrou haver diferença significativa entre os grupos ($p=0,0003$). Desta forma, aplicou-se o *Post hoc* com Correção de Bonferroni, cujo resultados estão destacados na tabela 2.

Tabela 2 – Grupos seus respectivos Posto médio,

Grupos	Posto Médio*
G1 - Coltosol	54,66 a
G2 - Vilevie	48,15 a
G3 - IRM	27,15 bc
G4 – Pulposan	42,35 ac
G5 - Vidrion R	18,00 b
G6 - Ionoseal	42,70 ac
G7 - Bioplic	40,95 ac
G8 – Controle +	18,00 b

*Letras desiguais representam diferença estatisticamente significativa ($p<0,05$)

Observa-se na Tabela 2 que os melhores resultados foram os grupos G1 e G2. Estes não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si ($p=0,5$). Estes também não apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p>0,05$) dos grupos G4, G6 e G7. No entanto, o grupo G3

apresentou o mesmo comportamento que o grupo G4, G5, G6, G7 e G8, sem diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$). Desta forma, os piores resultados encontrados foram relativos aos grupos G3 e G5, uma vez que estes foram os grupos que não apresentaram diferença significativa do grupo G8, controle positivo.

5 DISCUSSÃO

A microinfiltração bacteriana foi a metodologia escolhida para a pesquisa em detrimento de outros tipos de infiltração existentes na literatura como a infiltração por corantes porque o tamanho das partículas de corantes são menores que o tamanho das bactérias (VELOSO et al. 2008). Além disso, existe a possibilidade de o corante tornar-se incolor como azul de metileno na forma oxidada quando entra em contato com materiais a base de óxido de zinco e cimentos de óxido de zinco e eugenol ou quando o PH fica alcalino, ocorre hidrólise do pigmento e também se torna incolor. O efeito bactericida de alguns materiais como o do eugenol em materiais a base de oxido de zinco e eugenol já é levado em consideração em metodologias que utilizam a micro infiltração bacteriana e assim conseguimos identificar melhor a capacidade de proteção dos materiais contra infecção ou reinfecção dos canais radiculares (ZANCAN et al., 2015).

Na escolha dos materiais a serem testados contra infiltração microbiana foi levado em conta a existência de quatro grupos de materiais com essa finalidade: cimentos monocomponentes, à base de óxido de zinco e eugenol, cimentos de ionômero de vidro e foto ativados e pelo menos um de cada grupo esteve presente nos testes com a finalidade de comparar os resultados de cada material entre os testados, mas também as semelhanças entre materiais do mesmo grupo.

O dispositivo utilizado na metodologia foi escolhido a fim de verificar infiltração bacteriana em materiais restauradores provisórios, no entanto, não foi feito com dentes humanos, pois existiu a necessidade de utilização de dezenas de dentes uniradiculares, hígidos, livre de trincas e selecionados pela largura das raízes com o intuito de uma boa adaptação nos Eppendorf®, no entanto com dentes humanos a seleção se torna muito mais difícil pela dificuldade em encontrar dentes em ótimas condições. Os dentes bovinos puderam ser utilizados no lugar dos dentes humanos porque as dentinas escleróticas bovina e humana apresentam micromorfologia semelhante, embora a humana apresente maior microdureza que a bovina (CASTANHO et

al., 2011). Nos preparos, os segmentos de dentes bovinos submetidos aos materiais e microrganismos foram removidos o tecido de revestimento interno para garantir que apenas a dentina fosse alvo do experimento assim como a maior interface de dentes humanos submetidos aos materiais restauradores provisórios.

A análise da turbidez dos frascos foi feita sempre no mesmo horário a cada dia para evitar interferência nos resultados, podendo ter erro máximo próximo de um dia, pois em alguns dispositivos o meio de cultura estéril pode ter sido contaminado pouco tempo após a verificação, além disso, a contaminação só pode ser percebida algum tempo depois porque é necessário o crescimento bacteriano no soro de BHI estéril suficiente para ser percebido visualmente.

O *E. Faecalis* foi o microrganismo escolhido porque uma vez que atinge o sistema de canais radiculares necróticos, parecem sobreviver tanto como monoinfectantes como em contaminação com outra microbiota e resistem às mudanças ambientais induzidas por um enchimento de raiz. Apesar de não ser um colonizador bucal, é comumente encontrado dentro ou sobre diferentes tipos de alimentos para consumo bruto como queijo, produtos à base de carne, azeitonas e vegetais e podem chegar aos canais necróticos (KAMPFER et al., 2007). Outra consideração do mesmo autor foi que a espessura de 4mm de material parece ser suficiente para proteger de forma eficaz a maioria dos sistemas de canais radiculares em comparação com 2mm de espessura de material

Os materiais pesquisados por Parron et al. (2014) permitiram infiltração microbiana entre 5 e 30 dias, no entanto no estudo de Lucena et al. (2013) ,que avaliou os estudos de microinfiltração bacteriana, encontrou intervalos de infiltração entre 19 e 89 dias. Esperava-se um intervalo de infiltração menor em escala para os materiais estudados para os testes com dentes bovinos porque a microdureza é proporcional à adesão e, portanto inversamente proporcional à infiltração bacteriana (CASTANHO et al. 2011).

No experimento, o Coltosol® e Villevie® pareceram ser a categoria de materiais que mais se destacou seguida da categoria dos fotoativados: Bioplic® e Ionoseal®; e o Pulpo-San®, o grupo do ionômero de vidro sofreu sinérese nas primeiras 24 horas de presa do material na estufa provavelmente porque o ambiente do material ficou seco e quente e não houve proteção do material pelo lado que ficou virado para dentro dos frascos, logo não deve ter seus resultados comparados e confrontados com os resultados da literatura. Já o grupo do IRM® obteve o pior resultado válido. A diferença nos resultados entre o Pulpo-San® e o IRM® provavelmente se deve a proporção maior de eugenol na espatulação do Pulpo-San® e, portanto maior poder bactericida.

Biterncourt, Britto e Nabeshima (2010), Seixas et al. (2008) e Macedo, Nabeshima e Britto (2009) apresentaram resultados semelhantes porque ambos concluíram que o Bioplic® e cimentos pré-manipulados obtiveram selamento melhor em relação ao ionômero de vidro, IRM® e guta percha. No entanto Ferraz, Carvalho, Cangussu *et al.* (2009) sugeriram novos tipos de selamento ao realizar ataque ácido ao selar com Bioplic® e obter melhores resultados em relação ao Coltosol®. Faz-se necessário, portanto, a realização de novas pesquisas com os materiais resinosos submetidos a ataque ácido com ou sem sistema adesivo para verificar a capacidade de selamento sem o prejuízo da facilidade de remoção, tão importante para os materiais restauradores provisórios.

6 CONCLUSÃO

O *E. faecalis* infiltrou em todos os materiais restauradores provisórios e contaminou o meio de cultura estéril, no entanto os materiais do grupo dos cimentos à base de óxido de zinco: Coltosol e Villevie, o grupo dos fotoativados: Ionoseal® e Bioplic® parecem ser os melhores contra microinfiltração bacteriana.

REFERÊNCIAS

- BITENCOURT, Paloma Mariana Ramos; BRITTO, Maria Leticia Borges; NABESHIMA, Kleber Keiti. Comparação da qualidade de selamento periférico de diferentes materiais restauradores provisórios. **Revista de Odontologia da Universidade Cidade de São Paulo**, v. 22, n. 3, 223-228, 2010.
- CASTANHO, Gisela Muassab et al. Micromorphological and hardness analyses of human and bovine sclerotic dentin: a comparative study. **Brazilian Oral Research**, v. 25, n. 3, p. 274-279, 2011.
- COUTO, Paulo Henrique Amêndola et al.. Avaliação in vitro da microinfiltração coronária em cinco materiais seladores temporários. usados em endodontia. **Arquivo Brasileiro de Odontologia**, v. 6, n. 2, 78-88, 2010.
- FERRAZ, Eduardo Gomes et al. Selamento de cimentos provisórios em endodontia. **Revista Gaúcha de Odontologia, Porto Alegre**, v. 57, n. 3, p. 323-327, 2009.
- KAMPFER, J. et al. Leakage of food-borne *Enterococcus faecalis* through temporary fillings in a simulated oral environment. **International Endodontic Journal**, v. 40, 471-477, 2007.
- LUCENA, C. et al. Potential errors and misuse of statistics in studies. **International Endodontic Journal**, v 46, 323-331, 2013.
- MACEDO, Renata Gomez; NABESHIMA, Kleber Keiti; BRITTO, Maria Leticia Borges. Microinfiltração do óxido de zinco e eugenol e do Cimpat® rosa como restaurador provisório. **Arquivo Brasileiro de Odontologia**, v. 5, n. 2, 49-52, 2009.
- MARANHÃO, Kalena de Melo; KLAUTAU, Eliza Burlamaqui; LAMARÃO, Suely Maria Santos. Estudo in vitro da infiltração coronária em selamentos endodônticos provisórios. **Revista de Odontologia da UNESP**. v. 36, n. 1, 91-96, 2007.
- MIRANDA, Rosana Belchior et al. Avaliação da infiltração marginal observada em cinco cimentos utilizados como seladores temporários. **Revista Sul-Brasileira de Odontologia**, v. 5, n. 3, p. 34- 37, 2008.
- PARRON, Lauren Fernanda et al. Infiltração marginal microbiana em selamento coronário duplo. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 43, n. 6, p. 409-413, 2014.
- SEIXAS, Fábio Heredia et al. Avaliação ex vivo da microinfiltração marginal coronária de restauradores provisórios usados em endodontia. **Revista da Faculdade de Odontologia UPF**, v. 13, n. 3, p. 31-35, 2008.

VELOSO, Heloisa Helena et al. Infiltração microbiana em materiais restauradores temporários após preparo para retentores intrarradiculares. **Revista Odonto Ciência**. V. 23, n. 2, 187-191, 2008.

ZANCAN, Rafaela Fernandes et al. Seladores coronários temporários usados em endodontia: revisão de literatua. **SALUSVITA, Bauru**, v. 34, n. 2, p. 353-370, 2015.