

LIGAS DE AMÁLGAMA: PRESENÇA DE MICRORGANISMOS E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA SOBRE CEPAS DE *Streptococcus mutans*

AMALGAM ALLOYS: PRESENCE OF MICROORGANISMS AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY IN *Streptococcus mutans* STRAIN

Erika Joseline de Almeida Barros
Andréa Moreira Jacobucci Bambace
Silvana Soléo Ferreira dos Santos

Departamento de Odontologia da Universidade de Taubaté

Antonio Olavo Cardoso Jorge

Departamento de Odontologia da Universidade de Taubaté
Faculdade de Odontologia de São José dos Campos - UNESP

RESUMO

O amálgama possui propriedades como alta resistência, durabilidade, baixo custo e atividade antimicrobiana principalmente pela presença de prata e mercúrio em sua composição. Espera-se também que ele seja isento de microrganismos, particularmente relacionados à cárie, doença periodontal, ou que possam causar doenças sistêmicas. O objetivo do presente trabalho foi verificar a ação antimicrobiana de algumas marcas comerciais de ligas de amálgama, com diferentes composições, sobre cepas de *Streptococcus mutans* isoladas da cavidade bucal humana e também verificar a presença de microrganismos nas limalhas utilizadas neste estudo. A atividade antimicrobiana das ligas foi verificada utilizando-se o método de difusão em placa. Para isto, foram confeccionados com técnica asséptica discos de amálgama com sete milímetros de diâmetro e dois de espessura, utilizando cinco marcas de limalhas. Estes discos foram colocados sobre a superfície de placas de Petri contendo meio BHI previamente semeado com cepas de *S. mutans*, este procedimento foi realizado uma segunda vez, com discos confeccionados no máximo uma hora antes do experimento. Para verificar a presença de microrganismos nas limalhas utilizadas, discos de amálgama confeccionados como os descritos anteriormente, foram semeados em caldo BHI e incubados em estufa com tensão de 5% de CO₂ a 37°C por 48h. Após o período de incubação, não foram observados halos de inibição para as 30 amostras de *S. mutans*, em nenhuma das cinco amostras de limalha, mesmo quando semeados imediatamente após sua confecção. Verificou-se contaminação da limalha em apenas uma marca comercial.

PALAVRAS-CHAVE: atividade antimicrobiana, *Streptococcus mutans*, contaminação, ligas de amálgama.

INTRODUÇÃO

A cárie dentária é uma doença multifatorial, infecciosa e transmissível dos tecidos mineralizados dos dentes, que resulta na perda localizada dos tecidos duros e acomete grande parte da população (JORGE, 1995). Para reparar os danos causados pela cárie, são utilizados vários materiais restauradores, dentre eles o amálgama, uma liga resultante da reação de um ou mais metais como a prata, o estanho, o cobre e algumas vezes o zinco, com o mercúrio (LEINFELTER; LEMONS, 1989). Este material possui propriedades como alta resistência, fácil manipulação, durabilidade, baixo custo (LEINFELTER; LEMONS, 1989; PHILIPS, 1993) e atividade antimicrobiana (BERGER et al., 1976; MORRIER et al., 1989).

O amálgama é um material bastante utilizado, principalmente nos países subdesenvolvidos devido a sua facilidade de manipulação e baixo custo. Embora seja eficiente, apresenta sérias limitações, como a remoção desnecessária de tecido vital sadio, coloração por difusão iônica e não é estético. Além disso, muitas são as

correntes contrárias a sua utilização devido à suposta toxicidade que este material pode proporcionar (CHAIN; BARATIERI, 1998).

A atividade antimicrobiana do amálgama tem sido atribuída principalmente à presença de prata e mercúrio em sua composição (MORRIER et al., 1998). Ele, como todos os outros materiais restauradores, deve ser isento de microrganismos, particularmente os relacionados à cárie, doença periodontal ou aqueles que possam causar doenças sistêmicas.

O objetivo deste trabalho foi verificar a ação antimicrobiana de algumas marcas comerciais de ligas de amálgama, com diferentes composições, sobre cepas de *Streptococcus mutans* e verificar a presença de microrganismos em ligas de amálgama de diferentes marcas comerciais.

MATERIAL E MÉTODO

Para a verificação da inibição de crescimento bacteriano pelas ligas de amálgama, foram confeccionados discos de amálgama com sete milímetros de diâmetro e dois milímetros de espessura. Foram utilizadas cinco marcas de limalhas (quadro 1).

Quadro 1 - Procedência, marca comercial, lote e composição das limalhas utilizadas

MARCA COMERCIAL	FABRICAÇÃO	PROCEDÊNCIA	LOTE	COMPOSIÇÃO
Velvalloy	SS White	Rio de Janeiro/RJ	02175	*
Standalloy	Degussa	Guarulhos/SP	90172	70% Ag, 1% Zn, 3,3% Cu e 25,7 Sn
Duralloy	Degussa	Guarulhos/SP	030036	45% Ag, 0% Zn
Argent alloy	Rhoss	Duque de Caxias/RJ	170	45% Ag, 32% Cu e 23% Sn
Dispersalloy	Dentisplay	Petrópolis/RJ	50934	*

* O Fabricante não informa a composição da liga em sua bula

Para o preparo da liga de amálgama, cada limalha foi triturada com mercúrio em gral e pistilo esterilizado, em ambiente asséptico, nas proporções especificadas por cada fabricante. O amálgama foi condensado nas matrizes esterilizadas anteriormente preparadas e após sua cristalização foram retirados os discos, utilizando-se técnica asséptica.

Trinta cepas de *Streptococcus mutans*, coletados da cavidade bucal humana, pertencentes à Bacterioteca do Laboratório de Microbiologia da Universidade de Taubaté, foram reativados em caldo infuso-cérebro-coração (BHI - DIFCO) e semeados em ágar Mitis Salivarius Bacitracina Sacarose (MSBS – DIFCO). Após incubação por 24 horas a 37°C em estufa com tensão de 5% de CO₂, cada cepa foi diluída em 10mL de solução salina a 0,9%, esterilizada até atingir turvação equivalente ao tubo número um da escala de McFarland (3x10⁸ céls/mL). Cem microlitros desta diluição foram semeados em placa de Petri contendo ágar BHI, em duplicata. A seguir, foram colocados os discos de amálgama confeccionados 72h antes do experimento (armazenados assepticamente) e os discos confeccionados imediatamente antes do experimento (até 1 hora antes) na superfície do meio e incubados a 37°C em estufa com tensão de 5% de CO₂ por 24 horas.

Para a verificação da presença de microrganismos, discos de amálgama confeccionados seguindo a técnica descrita anteriormente, semeados em caldo BHI e incubados em estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas e mais 48 horas em estufa com tensão de 5% de CO₂. Das amostras que apresentaram turvação foi

semeado 0,1 mL em placa de Petri, contendo ágar sangue e incubadas novamente a 37°C em estufa com tensão de 5% de CO₂ por 24 horas. Após a incubação, as unidades formadoras de colônias (UFC) foram contadas, suas características descritas e feitos esfregaços que foram corados pelos métodos de Gram e Wirtz-Conklin.

RESULTADO

Não foram observados halos de inibição para as 30 amostras de *Streptococcus mutans* após o período de incubação, em nenhuma das 5 amostras de ligas de amálgama testadas, tanto para os discos confeccionados 72h antes quanto para os confeccionados até 1h antes do experimento.

Em caldo BHI, verificou-se a turvação somente para a limalha da marca Standalloy (Degussa), lote nº 90172, após a incubação de 48 horas em estufa com tensão de 5% de CO₂. Foram observadas sete morfologias de colônias diferentes de microrganismos, sendo cinco colônias de bacilos Gram-positivos não esporulados, uma amostra de coco Gram-positivo, uma de bacilo Gram-positivo esporulado e uma amostra de cocobacilo Gram-negativo (Quadro 2).

Quadro 2 - Resultado obtido quanto à contaminação das ligas de amálgama

AMOSTRA	TURVAÇÃO EM CALDO BHI	CARACTERÍSTICA DE COLÔNIA EM ÁGAR SANGUE						Nº DE UFC/mL	MORFOLOGIA E COLORAÇÃO	PRESENÇA DE ESPOROS
		φ mm	forma	textura	borda	cor	brilho			
Standalloy	6x10 ⁸ cels/mL	4	circular plana	lisa	regular	branca	brilhante	20	cocobacilo Gram-negativo	não
		5	circular convexa	lisa	regular	amarela	brilhante	30	coco Gram-positivo em cacho	não
		3	circular convexa	lisa	regular	rosa	opaca	10	bacilo Gram-positivo	não
		0,5	puntiforme convexa	lisa	regular	laranja	opaca	10	bacilo Gram-positivo	não
		0,5	puntiforme convexa	lisa	regular	branca	opaca	10	bacilo Gram-positivo	sim
		1	circular convexa	lisa	regular	rosa escuro	brilhante	10	bacilo Gram-positivo	não
		0,5	puntiforme plana	lisa	regular	rosa claro	brilhante	30	bacilo Gram-positivo	não

DISCUSSÃO

A inibição de cepas de microrganismos por metais é conhecida na microbiologia, moedas de prata colocadas em superfícies de meios de cultura semeados com bactérias, são capazes de produzir halos de inibição de crescimento (PELCZAR JUNIOR; CHAN; KRIEG, 1997).

A atividade antimicrobiana das ligas de amálgama pode variar de acordo com o material que compõe a liga e o microrganismo alvo, fato demonstrado por Morrier et al. (1998), no qual o amálgama da marca Synalloy (Denotaria) – liga rica em cobre (sem fase g₂), teve maior atividade antimicrobiana sobre *Streptococcus mutans* do que sobre *Actinomyces viscosus*, e o amálgama da marca Cavex Avalloy DP (Cavex) – limalha com partículas esféricas e convencionais (amálgama de fase dispersa), teve inibição de crescimento semelhante para ambas espécies bacterianas.

No presente trabalho, o amálgama que não contém fase g_2 (Argentalloy – Rhos) e o de fase dispersa (Dispersalloy – Dentsply) não apresentaram efeito inibitório para as bactérias testadas, resultado semelhante ao de Morrier et al. (1998).

A atividade antimicrobiana das ligas de amálgama pode ser classificada como alta, intermediária ou ausente (MORRIER et al., 1998). No presente trabalho, as ligas utilizadas não inibiram o crescimento de *Streptococcus mutans*.

O amálgama de superfície polida é menos susceptível ao acúmulo de placa bacteriana (PASIN; FICHAMN, 1978) e diminui a liberação de íons metálicos tóxicos ao organismo (LEIRSKAR, 1974).

Aumento da atividade antimicrobiana foi observado em amostras de amálgama não polidas, possivelmente devido à crescente liberação de mercúrio pela superfície (FERRACANE et al., 1987). No presente trabalho, não obtivemos efeito inibitório das ligas de amálgama mesmo utilizando-as não polidas.

De acordo com Morrier et al. (1998), as ligas de amálgama têm sua toxicidade para bactérias reduzida significativamente após 24 horas. Em um primeiro estágio, os discos utilizados no presente trabalho foram confeccionados 72h antes da semeadura, e não apresentaram atividade antimicrobiana, foi então repetido o experimento, tomando-se cuidado para realizar o cultivo imediatamente após a confecção das amostras de amálgama, no entanto também não foram observadas atividades inibitórias por nenhuma das sete marcas de limalhas. Devemos considerar que a divergência nos resultados pode ser decorrente das diferentes metodologias aplicadas, pois nenhum dos estudos citados utilizou o método de difusão em placa.

CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos concluímos que:

- Nenhuma das amostras de limalha testadas apresentaram atividade inibitória sobre as cepas de *Streptococcus mutans*, quando submetidos ao método de difusão em meio de cultura sólido.
- A limalha da marca Standalloy - Degussa (lote: nº 90172- fabricação 09/99) foi a única liga que apresentou contaminação bacteriana.

ABSTRACT

The amalgam has properties as high resistance, durability, low cost and antimicrobial activity mainly by the presence of silver and mercury in its composition. It should be free of microorganisms; in particular those related to caries, periodontal disease or related to any systemic disease. The aim of this study was to verify the antimicrobial action of some amalgam alloys, with different compositions, on *Streptococcus mutans* strains isolated from the oral cavity and verify the presence of microorganisms in the alloys used at this study. The antimicrobial activity of the amalgam alloy was verified by the plate diffusion method, using discs of amalgam alloy with seven millimeters of diameter and two millimeters of thickness, made under aseptic technique using five alloys brands. Those discs were put on the surface of Petri plates containing agar BHI (DIFCO) seeded with strains of *Streptococcus mutans*. This procedure was performed for a second time using discs made one hour before the experiment. To verify the presence of microorganism in the alloys, discs of amalgam made as described before, were seeded at BHI broth and incubated for 48h. After the period of incubation no inhibition halo was observed for the 30 strains of *Streptococcus mutans*, at the five alloys brand, even when they were seeded immediately after made. The brand Standalloy (Degussa – lote 90172) was contaminated by bacteria.

KEY WORDS: antimicrobial action, *Streptococcus mutans*, contamination, amalgam alloys

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

BERGER, T. J. et al. Electrically generated silver ions: Quantitative effects on bacterial and mammalian cells. *Antimicrob Agents Chemother*, v. 9, p. 357-358, 1976.

CHAIN, M. C.; BARATIERI, L. M. *Restaurações estéticas com resina composta em dentes posteriores*, 1. ed. São Paulo: Artes Médicas-EAP-APCD, 1998. p. 3-7.

FERRACANE, J. L. et al. Time-dependent dissolution. *J Dent Rev*, v. 66, p. 1331-1335, 1987.

JORGE, A. O. C. *Microbiologia bucal*. 1. ed. São Paulo: Livraria Editora Santos, 1995. p. 50-64.

LEINFELTER, K. F.; LEMONS, E. J. *Clinica restauradora-materiais e técnicas*. 1. ed. São Paulo: Livraria Editora Santos, 1989. p. 1-50.

LEIRSKAR, J. On the mechanism of cytotoxicity of silver and copper amalgams in a cell culture system. *J Dent Scand*, v.82, p.74-81, 1974.

MORRIER, J. J. et al. Antibacterial properties of five dental amalgams: an in vitro study. *Dent Mater*, v. 5, p. 310-313, sept, 1989.

MORRIER, J. J. et al. Antimicrobial activity of amalgams, alloys and their elements and phases. *Dent Mater*, v. 14, p. 150-157, mar, 1998.

ORSTAVIK, D. Antibacterial proprieties of and elements release from some dental amalgams. *Acta Odontol Scand*, v. 43, p. 231-239, 1985.

PASIN, D; FICHAMN, D. M. O polimento do amálgama. *Rev Fac Odont S Paulo*, v. 16, n. 2, p. 137-142, jul-dez, 1978.

PELCZAR JUNIOR, M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. *Microbiologia Conceitos e Aplicações*, v. 1, 2. ed. São Paulo: Makron Books, 1996. p. 217.

PHILLIPS, R. W. *Skinner Materiais Dentários*, 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. p. 176-207