

AVALIAÇÃO DE DIFERENTES PROCESSOS DE ESTERILIZAÇÃO PARA HIDROXIPATIA MICROESTRUTURADA

GUILHERME WENDLANT¹; DANIEL JOSÉ FILIZOLA DE OLIVEIRA²; SONIA
 LUQUE PERALTA³; HÉLLEN DE LACERDA OLIVEIRA⁴; EVANDRO PIVA⁵

¹Universidade Federal de Pelotas, guilherme.wendlant@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas, dfilizola@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas, solupe@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas, hellen.loli@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas, evpiva@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Frequentemente há necessidade de utilização de enxertos ósseos em cirurgias da área médica e odontológica. Enxertos autógenos são uma ótima alternativa, entretanto a necessidade de procedimento cirúrgico adicional e possíveis complicações relacionadas à área doadora tais como disponibilidade de tecido, limitam sua utilização. Como alternativa, as pesquisas progredem na área de biomateriais, dentre estes, cerâmicas e polímeros que apresentem propriedades biológicas adequadas a utilização como substitutos ósseos.

Dentre os materiais utilizados, a hidroxiapatita se destaca devido a sua similaridade composicional e biológica com a fase inorgânica do osso humano (GOUVEIA, 2008). As pesquisas relacionadas a este material vêm avançando também quanto a seu uso em engenharia tecidual através de sua combinação a *scaffolds*. Para que um biomaterial possa ser testado in vivo, são necessários testes preliminares que garantam segurança na sua aplicabilidade. Um fator relevante é que os biomateriais estejam isentos de microrganismos patológicos, ou seja, necessitam ser passíveis de esterilização.

Existem vários métodos de esterilização que demonstram bons resultados variando conforme os tipos de materiais. Buscando elucidar qual método seria adequado para uma esterilização satisfatória de amostras de hidroxiapatita microestruturada (desenvolvidas através do método de *Pechini*, também chamado de método dos precursores poliméricos (PAGANOTTO; ULLMANN; PIVA, 2010), as quais podem ser utilizadas como reforço em *scaffolds*) o presente trabalho tem como objetivo analisar e comparar, por meio de teste microbiológico de cultura bacteriana, a eficiência de diferentes métodos de esterilização para este material.

2. METODOLOGIA

Primeiramente foram selecionados 4 métodos de esterilização divididos nos seguintes grupos:

- G1 – Autoclave;
- G2 – Estufa;
- G3 – Raios gama ;
- G4 – Luz ultravioleta.

Definidos os métodos de esterilização, uma quantidade de 480mg de hidroxiapatita de um mesmo lote de produção foi distribuída em 16 partes iguais (30mg/amostra), sendo utilizada 4 amostras para cada tipo de esterilização (n=4). Após os procedimentos de esterilização, cada amostra (30mg de hidroxiapatita) foi colocada em um tubo de ensaio contendo 4ml de caldo de *Brain Heart Infusion* (BHI). Após, estes foram homogeneizados no Vortex (Figura 1 e 2), para então

serem levados à estufa a 37°C por 24h.



Figura 1: Amostras em caldo BHI

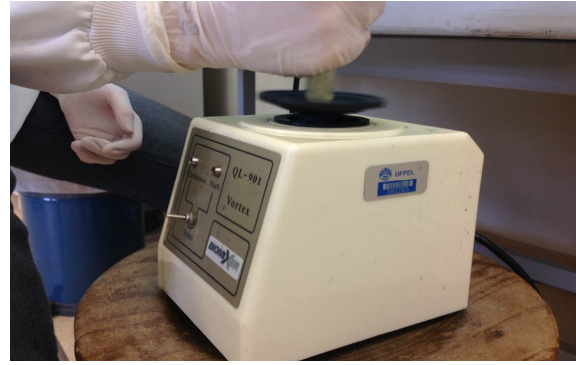


Figura 2: Amostra sob homogeneização

Decorrido o período, 20µl do conteúdo de cada tubo foi plaqueado em meio BHI Agar por duplicata e depois as placas foram levadas para estufa a 37°C por 24h (Figura 3). Metade das placas foram incubadas em ambiente de microanaerofilia, conforme mostra a Figura 4.



Figura 3: Amostras em estufa



Figura 4: Amostras em microanaerofilia

Passado esse período, foi efetuada a avaliação da presença de microrganismos aeróbicos e anaeróbicos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir do cultivo das amostras em placas de Petri, foi possível coletar os dados para então ser realizada a análise estatística. Os dados obtidos foram tabulados e foi realizada a análise estatística Kruskal Wallis. Os resultados demonstraram que não houve diferença estatística significativa entre os métodos utilizados. Visto que o crescimento bacteriano só ocorreu em apenas uma região de uma placa, em um dos métodos de esterilização (Estufa) utilizados na pesquisa (Figura 5).

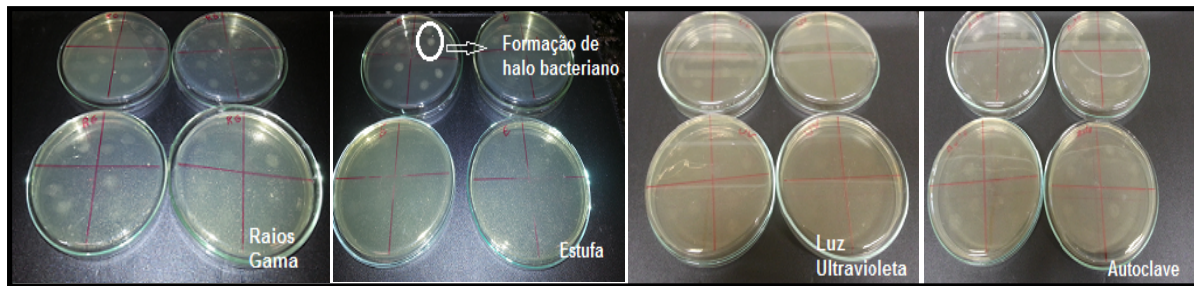


Figura 5: Demonstração de crescimento bacteriano em um único ponto.

Esta contaminação ocorrida, não se mostrou suficiente para que o método de esterilização por estufa fosse considerado ineficiente. No entanto, encontra-se na literatura que todos os métodos de esterilização utilizados no presente trabalho, exceto aquele realizado por raios gama, podem modificar a estrutura por aquecimento, excesso de umidade ou mesmo pela remoção de partículas de água do material, alterando sua consistência inicial (LOPES, 2012), o que será investigado na continuidade do presente trabalho.

4. CONCLUSÕES

Podemos concluir que para a esterilização das partículas de hidroxiapatita pode ser utilizado qualquer um dos métodos testados, mas há a necessidade de maiores estudos para avaliação do impacto de tais métodos na estrutura do biomaterial.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

GOUVEIA, D.S.; **Obtenção de pós nanométricos de hidroxiapatita sintetizados com magnésio utilizando ultra-som**. 2008. 140f. Tese (Doutorado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Materiais) – Doutorado em Materiais, Autarquia associada a Universidade de São Paulo.

LOPES, J. F. S.; **Avaliação da biocompatibilidade da hidroxiapatita nanoparticulada no subcutâneo de ratos**. 2012. 129f. Tese (Doutorado em Ciências da Reabilitação) – Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais, Universidade de São Paulo.

PAGANOTTO, G. F.; ULLMANN, M. A. I. ; PIVA, E. P. Síntese e caracterização de hidroxiapatita pelo processo de réplica através do método de pechini. **19º Congresso de Iniciação Científica da UFPel**, 2010. Disponível em: http://www.ufpel.edu.br/cic/2010/cd/pdf/EN/EN_01567.pdf