

AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DE DOIS CIMENTOS CIRÚRGICOS COMERCIAIS

LUCIANA DOMINGUES CONCEIÇÃO¹; ANDRÉ LINDEMANN²; RAFAEL GUERRA LUND³; EVANDRO PIVA⁴; FABRÍCIO OGLIARI⁵; FÁBIO RENATO MANZOLLI LEITE⁶

¹Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas – ludconceicao@hotmail.com

²Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas – andrelindemann@hotmail.com

³Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas – rafael.lund@gmail.com

⁴Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas – evpiva@gmail.com

⁵Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas – ogliari@gmail.com

⁶Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas – leite.fabio@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Devido à exposição de áreas cruentas após cirurgias, é recomendada a utilização de um cimento cirúrgico periodontal (CCP) a fim de reduzir o sangramento pós-operatório, proteger a área da ferida, proporcionar maior conforto para o paciente e evitar a formação excessiva de tecido de granulação. Basicamente, os materiais odontológicos recomendados para recobrimentos gengivais são classificados de acordo com o tipo de reação de presa: ácido-base ou polimerização.

O CCP deve apresentar superfície lisa, não ser irritante à mucosa, conservar a flexibilidade para suportar distorção e deslocamento sem fraturar, possuir adesão aos tecidos dentais e estabilidade dimensional suficiente para prevenir infiltração de saliva e acúmulo de placa (RUBINOFF; GREENER; ROBINSON, 1986). Além disso, precisa inibir o crescimento bacteriano sobre a ferida e possuir sabor agradável.

Recentemente, formulações a base de monômeros foram introduzidas no mercado contendo na sua composição resinas acrílicas e dimetacrilato de uretano, como alternativas ao eugenol (ALPAR et al., 1999). Assim, há necessidade de estudos a respeito dos diferentes monômeros utilizados, e sobre a efetividade dos cimentos em reduzir o desconforto pós-operatório.

Porém há escassez de publicações sobre a biocompatibilidade dos CCP. Assim, o objetivo deste estudo foi comparar a biocompatibilidade, propriedade antibacteriana e sorção e solubilidade dos cimentos Periobond[®] e Barricaid[®].

2. METODOLOGIA

2.1 Preparo dos corpos de prova

Os corpos-de-prova foram confeccionados com 5,5mm de diâmetro e 1 mm de altura, esterilizados por radiação gama. Em seguida, foram imersos em 1 mL de meio Dulbecco (DMEM) por 24h, 72h e 7 dias para condicionar o meio (eludato).

2.2 Ensaio Biológico

A linhagem de fibroblastos 3T3/NIH, armazenadas do Laboratório de Cultivo Celular da FO-UFPEL, foi cultivada em garrafa de cultivo celular. Para o ensaio de compatibilidade celular foi utilizado o ensaio de micronúcleos (MN). As células foram semeadas em placas e adicionadas lamínulas de 13mm de diâmetro, onde as células ficaram aderidas. Foram adicionadas 4×10^4 células em 400µl de meio de cultura (DMEM) com 10% de soro fetal (SFB) acrescido de antibiótico. As placas ficaram em repouso em incubadora a 37°C por 24h. Após, o meio foi substituído em

três poços por 360µL do eludato do Barricaid[®], com adição de 40µL de SFB e outros três poços por 360µL do eludato do Periobond[®]. Além desses, a outros três poços, denominados controles negativos, adicionados 400µL de novo meio de cultivo. Então, a placa foi novamente levada à incubadora por mais 24h.

Em seguida, as células foram fixadas com 300µL de solução de metanol e ácido acético (3:1) e levadas ao freezer -20°C por 30 minutos. O protocolo utilizado para fixação e coloração foi adaptado (FERNANDEZ et al., 2010). A solução foi removida e adicionado ácido clorídrico 1N por 10 minutos em estufa de 60°C. Foi removido o ácido clorídrico e adicionado novamente por mais 5 minutos. O poço foi lavado com 1mL de água (2 passagens de 5 minutos) e as lamínulas secas. As lamínulas foram coradas com o reagente de Schiff 1mL/poço, por duas horas à temperatura ambiente em ambiente escuro. As lamínulas foram montadas em lâminas histológicas com Entellan, após 24h de secagem.

Os MN foram visualizados em microscópio óptico em aumento de 400x em lâminas não identificadas. Os ensaios foram realizados independentemente três vezes. Os dados foram digitados em software adequado (SigmaStat 3.5) e aplicado o teste ANOVA, seguido de Tukey para a comparação de múltiplos grupos.

2.3 Ensaio Microbiológico

Foi avaliado o efeito antimicrobiano dos CCP pelo ensaio de inibição da formação de biofilme em modelo multicultura de *S. mutans*. O inóculo das cepas de *E. faecalis* 1 e 0,5 para *S. mutans* UA159 de densidade ótica, respectivamente, com comprimento de onda de 650nm foi padronizado a partir da avaliação de turbidez no aparelho de espectrofotômetro. As bactérias foram cultivadas e crescidas anaerobicamente em meio ágar BHI, a 37°C, por 24h. O meio utilizado para o desenvolvimento dos biofilmes foi o TSB suplementado com 1% de sacarose. Para avaliar o efeito antimicrobiano utilizou-se placa de cultura que continha suportes metálicos para manter os discos do material suspensos. Os biofilmes foram cultivados anaerobicamente a 37°C, por 72h, sendo que a cada 24h os espécimes foram lavados com solução salina e o meio trocado por novos meios de cultura.

Os discos com biofilme formado por 72h e expostos à solução de sacarose 1% foram transferidos para um tubo plástico com 1mL de solução salina. Foram sonicados por 30s a 7W para dispensar o biofilme, e realizadas diluições seriadas de 10^{-1} a 10^{-7} . As amostras foram plaqueadas em meios ágar tríptico de soja (TSA), para *E. Faecalis* e ágar mitis salivarius para *S. mutans*. As placas foram incubadas a 37°C, por 24h, simulando as condições orais. Após incubação, foi realizada a contagem das Unidades Formadoras de Colônias (UFC). Os resultados foram submetidos a análise ANOVA e teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

2.4 Ensaio de Sorção e Solubilidade

Este ensaio foi baseado nas especificações da International Standards Organization (ISO): 4049:2000 (exceto para a dimensão dos espécimes). As análises foram feitas em duplicata e houve repetitividade e reprodutibilidade. Os espécimes foram pesados em balança analítica digital e levados ao dessecador com sílica a 37°C. Diariamente foram feitas pesagens até estabilização de massa seca (**m1**). Após, foram mensurados diâmetro e espessura com paquímetro digital. Com os valores médios foi realizado o cálculo de raio: $R = Dm/2$ e volume $V = R^2h$ que posteriormente foram utilizados para cálculos de sorção e solubilidade.

Após os corpos foram armazenados em água deionizada por 7 dias, quando tiveram novamente suas massas de massa úmida (**m2**) mensuradas. Para obtenção

de **m3**, os espécimes foram levados novamente ao dessecador com sílica a 37°C e pesados diariamente até estabilização de massa. Os resultados foram submetidos à análise ANOVA 1 via e teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Genotoxicidade

A frequência de MN pode variar dependendo do tipo celular utilizado. Neste estudo, o grupo controle mostrou uma baixa frequência, assim como os demais grupos, não havendo diferença estatística entre eles (Figura 1).

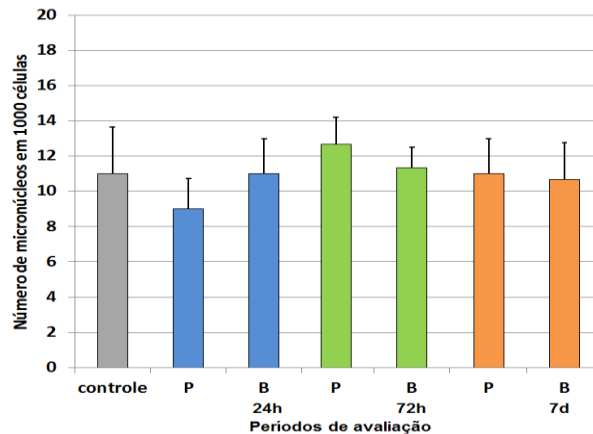


Figura 1 – Ensaio de genotoxicidade. Número de células micronucleadas por grupo após a exposição ao eludato de 24h, 72h e 7 dias de cada produto.

3.2 Ensaio Microbiológico

Em termos de quantidade de bactérias totais viáveis na superfície do CCP, observa-se que no Barricaid[®] houve maior adesão, seguido pelo Periobond[®], embora não tenha havido diferença estatística entre os grupos. A fim de avaliar o potencial antimicrobiano dos CCP foi determinada a quantidade de bactérias viáveis de micro-organismos totais e *E. faecalis*. Não houve diferença estatística entre os grupos, embora o Barricaid[®] tenha os melhores resultados quanto aos *E. faecalis* anaeróbicos e micro-organismos totais (Figura 2A e 2B).

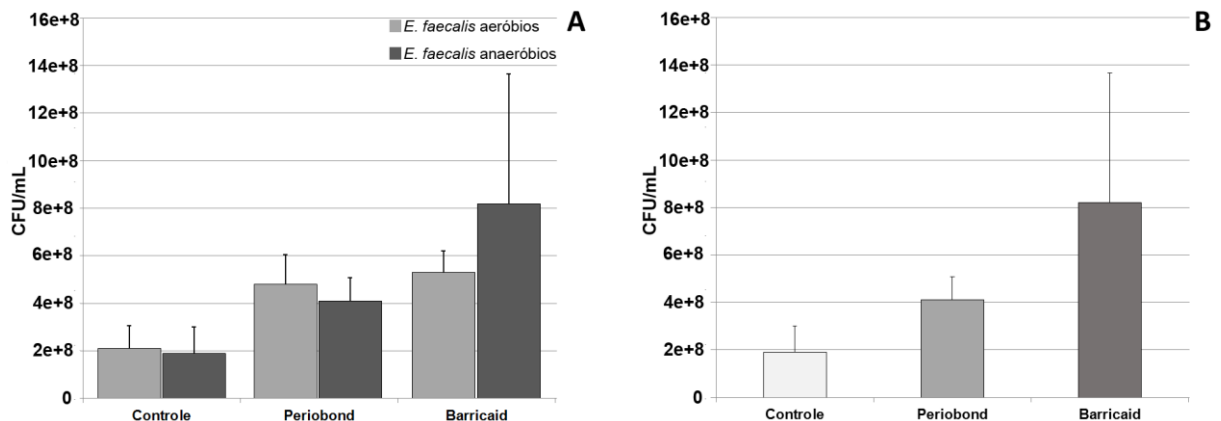


Figura 2 – (A) Contagem de *E. faecalis* em corpos de prova confeccionados com Periobond e Barricaid. (B) Contagem de micro-organismos totais em corpos de prova confeccionados com Periobond e Barricaid.

3.3 Sorção e Solubilidade

Em relação à sorção houve diferença estatística entre Periobond[®] e Barricaid[®] ($P < 0,001$). Em relação à solubilidade não houve diferença estatística entre os grupos ($P = 0,072$).

Tabela 1 – Sorção e solubilidade, média e desvio padrão em $\mu\text{g}/\text{mm}^3$ ($n=10$)

Grupos	Sorção	Solubilidade
Periobond [®] ($n=10$)	426,0 (240,9) ^a	6,7 (23,6)
Barricaid [®] ($n=10$)	83,5 (29,8) ^b	4,3 (1,7)

Grupos com letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significantes ($P < 0,001$).

O resultado da sorção se deve ao Periobond[®] ser um sal e possuir ligações iônicas facilitando sua interação com outros líquidos como no caso a água, sorvendo uma maior quantidade dela. Já o Barricaid[®] é um material polimérico de formulação equivalente e formado por ligações do tipo covalentes, diminuindo sua interação com a água e, conseqüentemente sua sorção.

Corroborando com nossos achados a respeito CCP Barricaid[®], VON FRAUNHOFER e ARGYROPOULOS (1990), encontraram valores menores de solubilidade para esse cimento, comparado com outros dois de presa química (Coe-Pak e PerioCare). Além disso, seus achados indicaram que o Barricaid[®] tem vantagens em sua manipulação em relação aos tradicionais.

4. CONCLUSÕES

Os CCPs revelaram comportamentos semelhantes entre eles, o que demonstra que os cimentos analisados não são genotóxicos. Além disso, o Barricaid[®] foi o que apresentou melhor desempenho quanto à sorção e solubilidade em água e um efeito antimicrobiano similar aos outros grupos, pressupondo bom comportamento clínico do novo cimento em relação a essa propriedade.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALPAR, B.; GUNAY, H.; GEURTSSEN, W.; LEYHAUSEN, G. Cytocompatibility of periodontal dressing materials in fibroblast and primary human osteoblast-like cultures. **Clinical Oral Investigations**, v.3, n.1, p.41-48, 1999.

FERNANDEZ, M. R.; CARVALHO, R. V.; OGLIARI, F. A.; BEIRA, F. A.; ETGES, A.; BUENO, M. Cytotoxicity and genotoxicity of sodium percarbonate: a comparison with bleaching agents commonly used in discoloured pulpless teeth. **International Endodontics Journal**, v.43, n.2, p.102-108, 2010.

RUBINOFF, C. H.; GREENER, E. H.; ROBINSON, P. J. Physical properties of periodontal dressing materials. **Journal of Oral Rehabilitation**, v.13, n.6, p.575-586, 1986.

VON FRAUNHOFER, J. A.; ARGYROPOULOS, D. C. Properties of periodontal dressings. **Dental Materials**, v.6, n.1, p.51-55, 1990.