

**SISTEMAS ADESIVOS AUTOCONDICIONANTES EXPERIMENTAIS
CONTENDO ANTIBACTERIANO NATURAL**
**PERALTA, Sonia Luque¹; CARVALHO, Pedro Henrique A²; PIVA, Evandro³;
LUND, Rafael Guerra³**

¹Doutoranda em Materiais Dentários, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas (FO-UFPel)- solupe@gmail.com

²Aluno de graduação, bolsista PIBIT-FAPERGS, FOP-UFPel ; ³ Professor do Programa de Pós-Graduação em Odontologia - FO-UFPel – rafael.lund@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Os sistemas adesivos autocondicionantes apresentam como vantagens a simplificação da técnica e a redução da sensibilidade pós-operatória (TAY, 2000). No entanto, a cárie secundária permanece como principal razão para o fracasso da restauração em ensaios clínicos (KIDD, 2001), motivo pelo qual agentes antimicrobianos vêm sendo incorporados dentro dos sistemas adesivos como o glutaraldeído, 12-metacrilóil oxy dodecil piridínio (MDPB) e dimetil metacrilato de cloreto de amônia (DMAE-CB) (IMAZATO, 1998, SCHMIDLIM, 2004).

Óleos essenciais de plantas aromáticas são medicinais e utilizados como potenciais agentes antimicrobianos (HOLLEY, 2005). O uso de óleos essenciais como agentes antimicrobianos apresenta duas características principais: i) origem natural, o que significa mais segurança para os usuários e o meio ambiente; ii) baixo risco de desenvolver resistência microbiana, pois os óleos essenciais são misturas de vários compostos que, aparentemente, apresentam atividade antimicrobiana diferenciada, dificultando a adaptação de microrganismos (DAFERERA, 2003).

Dentre vários óleos essenciais que podem ser úteis como agentes antimicrobianos, encontra-se o óleo essencial da semente de *Butia capitata* que pode ter um considerável potencial em aplicações industriais, pois é rico em ácidos graxos de cadeia média e longa (ácidos: láurico, mirístico, caprílico, araquidônico, oléico e linoléico), e apresenta significativa atividade antimicrobiana contra bactérias orais (HUANG, 2010).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito antibiofilme de um adesivo experimental contendo um óleo essencial do caroço de *Butia capitata*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Materiais testados

Foram avaliadas duas marcas comerciais de adesivos: Clearfil Protect Bond/Kuraray(CPB) e Adper SE Plus/3M(AP), um sistema adesivo experimental livre de óleo (AC) e um sistema adesivo experimental contendo óleo essencial (AE). Na tabela 1, observa-se a formulação dos adesivos experimentais.

Tabela 1. Composição do primer e do bond dos sistemas adesivos experimentais autocondicionantes avaliados.

| | Composição | % massa |
|---------------|--|---------|
| <i>PRIMER</i> | HEMA-P | 30 |
| | HEMA | 30 |
| | Etanol | 20 |
| | Água | 20 |
| | Total | 100 |
| ADESIVO | Bis-GMA | 50 |
| | HEMA | 25 |
| | TEGDMA | 25 |
| | Óleo da semente de <i>Butia capitata</i> * | 1 |
| | Total | 100 |

Abreviaturas: HEMA: 2-hidroxietil metacrilato; MEP: metacrilóxiethyl dihidrogenio fosfato; Bis-MEP: bis-metacrilóxiethyl hidrogenio fosfato; Bis-GMA: bisfenol A glicidil dimetacrilato; TEGDMA: trietilenoglicol demetacrilato; HEMA: 2-hidroxietil metacrilato.
*No grupo AEO será acrescentado 1% de óleo da semente de *Butia capitata*, em detrimento da solução homogênea dos demais componentes do adesivo.

2.2. Obtenção do óleo essencial de *Butia capitata*

Os frutos foram colhidos na safra de 2009 e imediatamente despolidos, para separação do caroço (endocarpo). As sementes (“caroços”) do “butiá” foram separadas da polpa, lavadas com água destilada e secas em estufa de circulação de ar a uma temperatura de 40°C por 7 dias. Posteriormente, a casca da semente (“caroço”) foi quebrada a fim de se obter a amêndoa.

Em um balão de 250 ml, foram adicionados aproximadamente 200 ml de hexano (MERCK) e, no mesmo, foi adaptado um extrator acompanhado de um cartucho com 25g de amêndoa munida de manta de aquecimento. O sistema ficou em refluxo por 3h e, após esse período, o solvente foi removido com auxílio de um evaporador rotativo. A amostra foi seca e o óleo obtido foi armazenado sob proteção da luz a uma temperatura de 20°C por 7 dias, até a realização do ensaio antimicrobiano.

2.3. Efeito anti-biofilme de *Streptococcus mutans* UA159

A partir de dentes incisivos bovinos, foram obtidos discos de esmalte de 6mm de diâmetro e 2mm de espessura com a ajuda de uma máquina furadeira. Os discos foram esterilizados conforme metodologia descrita por Ccahuana & Cury (2010). Depois, foram aplicados os sistemas adesivos (Primer e Bond) nos espécimes e estes foram suspensos verticalmente em suportes adaptados a placas de 24 poços.

Após a reativação de cepas de *Streptococcus mutans* 100µL, o inóculo foi transferido para 50ml de UTYEB contendo 1% de sacarose homogeneizado e 2mL dessa solução foi dispensada em cada poço da placa de cultura. Diariamente, os discos de esmalte eram transferidos para um meio novo de UTYEB contendo 1% de sacarose e o pH do meio de cultura era determinado. Os biofilmes foram desenvolvidos por 72h.

2.3.1. Coleta de biofilme

Os discos foram lavados com solução salina e individualmente transferidos a *ependorfs* contendo 1ml de solução de NaCl 0,9%. Os *ependorfs* foram sonicados a 15W por duas vezes com os discos de esmalte. Para a viabilidade bacteriana, alíquotas de 100µl da suspensão foram diluídas em 0.9% NaCl em séries até 10^{-7} , duas gotas de 20µl de cada diluição foram inoculadas em ágar BHI para determinar o número de microrganismos viáveis (HERIGSTA, 2001). As placas foram incubadas por 48h a 37°C em ambiente de 5-10% de CO₂ (Anaerobac - Probac do Brasil produtos Bacteriológicos Ltda., Santa Cecília, SP, Brazil), em jarras anaeróbicas (Probac do Brasil produtos Bacteriológicos Ltda). As UFC foram contadas e os resultados foram expressos em UFC por mg de biofilme seco (AIRES, 2008).

Os dados foram analisados estatisticamente após uma transformação ao expoente 0,3 com o teste ANOVA e como teste complementar Tukey, no programa estatístico Sigma stat 3.5.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A Fig. 1 mostra que o adesivo Adper SE Plus (AP) teve maior efeito antimicrobiano e, também, foi possível observar que o adesivo experimental teve desempenho similar quando comparado com o CPB e C.

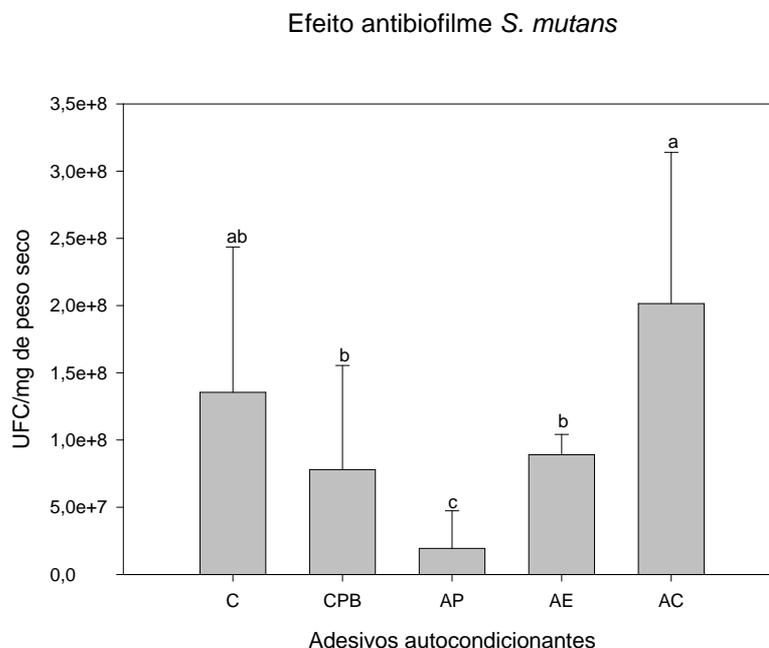


FIGURA 1. Resultado da quantidade de Unidades formadoras de colônias (UFC)/mg de peso seco dos diferentes sistemas adesivos auto condicionantes testados.

Diversos estudos têm mostrado que o efeito antimicrobiano depende da formulação do sistema adesivo dental (IMAZATO, 1998; XIAO, 2009). No entanto, não só os produtos antimicrobianos podem exercer esse efeito, mas também o pH baixo devido à presença de monômeros citotóxicos (EMILSON, 1993; MEIERS,

1996). Fabricantes são muitas vezes relutantes em revelar a informação completa de seus produtos (VAN LANDUYT, 2007), o que torna difícil a comparação com produtos comerciais dos sistemas adesivos. Por esta razão, o presente estudo avaliou dois adesivos experimentais (um contendo óleo e o outro livre de óleo) e, também considerou marcas comerciais como referências.

Há muitos estudos que avaliam a atividade antimicrobiana de sistemas adesivos por meio do teste de difusão em ágar ou contato direto (FEUERSTEIN, 2007; PARADELLA, 2009). Entretanto, poucos estudos avaliam o efeito antimicrobiano desses materiais em modelos *in vitro* de biofilmes (IMAZATO, 2006; LI, 2009). Este estudo é o primeiro a avaliar o efeito antibiofilme dos sistemas adesivos em um modelo *in vitro* estático com cepas padronizadas de *S. mutans* UA 159. Esta espécie foi utilizada por ser considerado um dos microrganismos mais cariogênicos que compõe o biofilme dental (LOESCHE 1986).

Observa-se que o AE foi estatisticamente diferente ao AC e apresentou efeito antimicrobiano. Este efeito pode ser atribuído ao óleo essencial das sementes de *Butia capitata*, que é rico em ácidos graxos como o ácido oléico, ácido láurico dentre outros (FARIA, 2008). Dentre os ácidos graxos antimicrobianos, o ácido láurico tem demonstrado maior potencial antimicrobiano (NAKATSUJI 2009). No entanto, estudos adicionais são necessários, para demonstrar que esses ácidos graxos podem ser biomoléculas isoladas ou adjuvantes no tratamento de infecções orais e doenças associadas, como por exemplo, cárie dentária e doença periodontal.

4. CONCLUSÕES

O adesivo experimental contendo óleo essencial de *Butia Capitata* teve efeito similar às marcas comerciais.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIRES, CP; Del BEL Cury, AA; TENUTA, LMA; KLEIN, MI; KOO, H; DUARTE, S; et al. Effect of sucrose and starch on dental biofilm formation and on dentin demineralization. **Caries Research**, v.5, n.42, p.380-6, 2008.

DAFERERA, DJ; ZIOGAS, BN; POLISSIOU, MG. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. **Crop Protection**, v.1, n.22, p.39-44, 2003.

EMILSON, CG; BERGENHOIZ, G. Antibacterial activity of dentinal bonding agents. **Quintessence**, v.7, n.24, p.511-5, 1993.

FARIA, J.P; ARELLANO, D.B; GRIMALDI, R; Da SILVA, L.C.R; VIEIRA, R.F; Da SILVA, D.B; Agostini-Costa, T.S. [Chemical characterization of nut of *Butia capitata* var *capitata*]. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.2, n.30, p.549-552, 2008.

FEUERTEIN, O; MATALOM, S; SLUTZKY, H; WEISS, E. Antibacterial properties of self-etching dental adhesive systems. *The Journal of American Dental Association*, v.3, n.138, p.349-54, 2007

HERIGSTA, B; HAMILTON, M; HEERSINK, J. How to optimize the drop plate method for enumerating bacteria. **J Microbiol Methods**, v.2, n.44, p.121-9, 2001.

HOLLEY, RA; PATEL, D. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. **Food Microbiology**, v.4, n.22, p.273–292, 2005.

HUANG, CB, GEORGE, B; EBERSOLE, JL. Antimicrobial activity n-6, n-7 and n-9 fatty acids and their esters for oral microorganisms. **Archives of Oral Biology**, v.8, n.55, p.555-560, 2010.

IMAZATO, S; IMAI, T; RUSSELL, RRB; TORRI, M; EBISU, S. Antibacterial activity of cured dental resin incorporating the antibacterial monomer MDPB and an adhesion promoting monomer. **Journal of Biomedical Material Research**, v.4, n.39, p.511–5, 1998.

IMAZATO, S; KURAMOTO, A; TAKAHASHI, Y; ENISU, S; PETERS, C. In vitro antibacterial effects of the dentin primer of Clearfil Protect Bond. **Dental Materials** v.6, n.22, p.527-532, 2006.

KIDD, EA. Diagnosis of secondary caries. *Journal of Dental Education*, v.10, n.65, p.997-1000, 2001.

LI, F; CHAI, ZG; SUN, MN; WANG, F; MA, S; ZHANG, L et al. Anti-biofilm effect of dental adhesive with cationic monomer. **Journal of Dental Research** v.4, n.88, p.372-6, 2009.

LOESCHE, WJ. Role of *Streptococcus mutans* in a human dental decay. **Microbiological Reviews** v.4, n.50, p.353-80, 1986.

MEIERS, JC; MILLER, GA. Antibacterial activity of dentin bonding systems, resin-modified glass ionomers and polyacid-modified composite resins. **Operative Dentistry**, v.6, n.21, p.257-64, 1996.

NAKATSUJI, T; KAO, MC; FANG, JY; ZOUBOULIS, CC; ZHANG, L; GALLO, RL, et al. Antimicrobial property of lauric acid against *Propionibacterium acnes*: its therapeutic potential for inflammatory acne vulgaris. **The Journal of Investigation Dermatology**, v.10, n.129, p.2480-8, 2009

PARADELLA, TC, KOGA ITO, CY; JOORGE, AO. In vitro antibacterial activity of adhesive systems on *Streptococcus mutans*, **The Journal of Adhesive Dentistry**, v.2, n.11, p.95-99, 2009.

SCHMIDLIN, PR; ZEHNDER, M; GOHRING, TN; WALTIMO, TM. Glutaraldehyde in bonding systems disinfects dentin in -vitro. **Journal of Adhesive Dentistry** v.4, n.1, p.61–4, 2004.

TAY, FR; CARVALHO, R; SANO, H; PASHLEY, DH. Effect of smear layers on the bonding of self-etching primer to dentin. **Journal of Adhesive Dentistry** v.2, n.2, p.99-116, 2000.

VAN LANDUYT, KL, SNAUWAERT, J; De MUNCK, J; PEUMANS, M; YOSHIDA, Y; POITEVIN, A et al. Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. **Biomaterials**, v.26, n.28, p.3757–3785, 2007

XIAO, YH; MA, S; CHEN, JH; CHAI, ZG; LI, F; WANG, YJ. Antibacterial activity and bonding ability of an adhesive incorporating an antibacterial monomer DMAE-CB. **Journal of Biomedical Material Research Part B: Appl Biomater** v.2, n.90B, p.813-7, 2009.