

ÓLEO ESSENCIAL DE “*Butia Capitata*” UMA ALTERNATIVA COMO ANTIBACTERIANO EM SISTEMAS ADESIVOS

**SONIA LUQUE PERALTA¹; LISIA LOREA VALENTE¹; EVANDRO PIVA²;
RAFAEL GUERRA LUND²**

¹Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Odontologia UFPel- solupe@gmail.com

²Professor do Programa de Pós-Graduação em Odontologia Universidade Federal de Pelotas -
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 das restaurações 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 em modelo microcosmos assim como a resistência de união.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais testados

Foram avaliadas duas marcas comerciais de adesivos: Clearfil Protect Bond/Kuraray(CPB), Clearfil SE Bond/Kuraray(CSEB) e Adper SE Plus/3M(AP), um sistema adesivo experimental livre de óleo (AC) e um sistema adesivo experimental contendo óleo essencial (EA).

2.2 Obtenção do óleo essencial de *Butia capitata*

Os frutos foram colhidos na safra de 2009 e imediatamente despulpados, 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 em modelo de microcosmos

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.

Para a coleta de saliva foi necessário um voluntário em ótimas condições de saúde. Em uma placa de cultura de 24 poços foi colado os discos com 0,5ml de saliva e incubados a 37°C por 30mn, logo foi aspirado a saliva e trocado por meio DMMEM com sacarose e incubados por 6h, seguidamente eram lavados e colocados em meio livre de sacarose e incubados por 18h, esse procedimento foi repetido por 3 dias.

Para a coleta de biofilme os discos foram lavados com solução salina e individualmente transferidos a eppendorfs contendo 1ml de solução de NaCl 0,9%. Os eppendorfs 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 ácido para determinar o número de microrganismos viáveis, Agar sangue para microrganismos totais, Mitis salivarius para *Streptococcus mutans*, Agar Rugosa para *Lactobacilos* (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).

2.4 Ensaio de microtração (Resistência de união à dentina)

Dentes bovinos foram escolhidos aleatoriamente em quantidade de dez dentes para cada grupo, a face lingual foi planejada e a superfície vestibular desgastada até exposição da dentina superficial, a padronização da superfície dentinária foi através do polimento das amostras por 60s, usando lixas impermeáveis de carvão de silício (SiC) com granulação #600.

A aplicação dos sistemas adesivos foi realizado conforme indicação dos fabricantes; através da aplicação dos primers com auxílio de um microbrush sob agitação constante por 10 segundos. Uma fina camada do componente adesivo foi aplicada uniforme sobre toda a superfície de dentina e fotoativada por 20s com aparelho LED com intensidade de 1400mW/cm².

As restaurações foram confeccionadas com compósito restaurador (Charisma[®] C2, Heraeus Kulzer, Hanau, Hesse, Alemanha), utilizando a técnica incremental e cada um dos incrementos foi fotoativado individualmente por 20s. Os dentes restaurados, foram armazenados em água destilada no interior de estufa por 24h a 37°C.

Após esse período as amostras foram seccionadas perpendicularmente à interface adesiva em duas direções, utilizando disco de corte diamantado

acoplado a cortadeira metalográfica de precisão (Isomet 1000 Precision Saw, Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, EUA), com velocidade de corte de 400 RPM.

Obteve-se, em média, oito palitos por dente, sendo que os espécimes provenientes de uma mesma amostra foram aleatorizados nos subgrupos, contendo entre 16 e 18 unidades cada grupo. Além da avaliação imediata, também foram guardados palitos para avaliação da longevidade. Os palitos tiveram área de secção transversal de aproximadamente 0,7mm² ($\pm 1,0$) cujas dimensões foram aferidas com um paquímetro digital (Digimatic Caliper 500-144B, Mitutoyo Sul Americana, Suzano, SP, Brasil) com precisão de 0,01mm para cálculo da área de união.

Em seguida, os palitos foram fixados em um dispositivo metálico com auxílio de um adesivo instantâneo à base de cianoacrilato (Super Bonder Gel, Loctite® Corp., Henkel Technologies, Diadema, SP, Brasil). Os corpos-de-prova foram tracionados até a fratura em uma máquina universal de ensaios mecânicos (DL 500, EMIC® Equipamentos e Sistemas de Ensaio, São José dos Pinhais, PR, Brasil) (fig 5), utilizando velocidade de 0,5mm/min e célula de carga de 100N.

O valor de resistência de união à microtração foi obtido em (MPa) de cada um dos corpos-de-prova, utilizando o programa Tesc (Versão Standard, EMIC® Equipamentos e Sistemas de Ensaio).

Os dados foram analisados estatisticamente após uma transformação logarítmica seguido do teste ANOVA.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

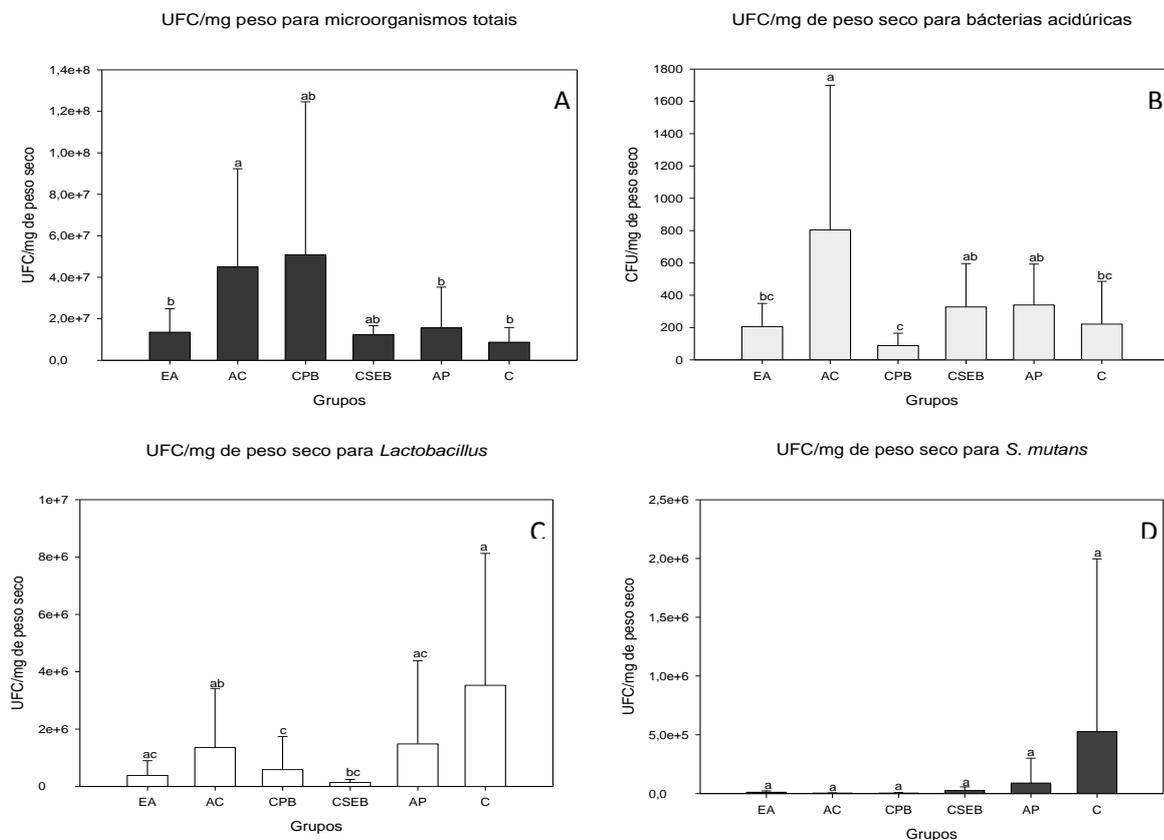


Figura 1 – Média \pm dp (UFC/mg) para efeito antibacteriano. Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p \geq 0,05$).

Na Figura 1A observa-se que a quantidade de microrganismos totais para o EA foi estatisticamente similar ao CPB que tem monômero antimicrobiano, na Figura 1B avaliação de bactérias acidúricas, o EA também foi similar ao CPB. Para os Lactobacilos os resultados entre EA e CPB foram similares. Na figura 1D podemos ver que todos os sistemas adesivos testados tiveram similares resultados.

Esses resultados achados podem ser explicados por que no EA tem a presença de um óleo essencial que na sua composição tem ácidos graxos que como é sabido tem efeitos antimicrobianos (HUANG, 2010). No CPB é pela presença do monômero o MDPB que tem efeitos antimicrobianos comprovados (IMAZATO, 2006; XIAO, 2009).

Resistência de união à dentina (24horas e 6 meses)

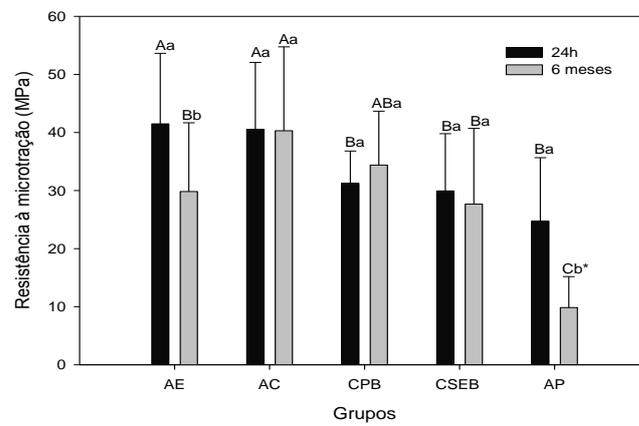


Figura 2 – Média±dp (MPa) para resistência de união. Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p \geq 0,05$).

Na Figura 2 Observamos os resultados de Resistencia de união quando avaliados após 24h o EA teve um dos maiores valores, já quando avaliados após 6 meses houve uma diminuição nos valores, porem ainda teve melhores resultados que outros sistemas adesivos existentes no mercado.

A diminuição nos valores de μ TBS após 6 meses poderia ser por causa que o óleo é uma substancia que foi mecanicamente mistura e não tem ligações químicas com os monômeros, o que levaria com o passar do tempo a degradação das redes poliméricas em presença da agua.

4. CONCLUSÕES

É possível a utilização de óleos essenciais como antimicrobianos em sistemas adesivos, no entanto as propriedades mecânicas foram diminuídas após 6 meses de avaliação. Podendo ser incorporados em outros produtos odontológicos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIRES, C.P.; DEL BEL CURY, A.A.; TENUTA, L.M.A.; KLEIN, M.I.; KOO, H.; DUARTE, S.; et al. Effect of sucrose and starch on dental biofilm formation and on dentin remineralization. **Caries Research**, Suíça, v.5, n.42, p.380-386, 2008.

- DAFERERA, D.J.; ZIOGAS, B.N.; POLISSIOU, M.G. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. **Crop Protection**, Inglaterra, v.1, n.22, p.39-44, 2003.
- HERIGSTA, B.; HAMILTON, M.; HEERSINK, J. How to optimize the drop plate method for enumerating bacteria. **Journal of Microbiological Methods**, Países Baixos, v.2, n.44, p.121-129, 2001.
- HOLLEY, R.A.; PATEL, D. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. **Food Microbiology**, Inglaterra, v.4, n.22, p.273–292, 2005.
- HUANG, C.B.; GEORGE, B.; EBERSOLE, J.L. Antimicrobial activity n-6, n-7 and n-9 fatty acids and their esters for oral microorganisms. **Archives of Oral Biology**, Inglaterra, v.8, n.55, p.555-560, 2010.
- IMAZATO, S.; IMAI, T.; RUSSELL, R.R.B.; 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**, EUA, v.4, n.39, p.511–515, 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**, Inglaterra, v.6, n.22, p.527-532, 2006.
- KIDD, E.A. Diagnosis of secondary caries. **Journal of Dental Education**, EUA, v.10, n.65, p.997-1000, 2001.
- LI, F.; CHAI, Z.G.; SUN, M.N.; WANG, F.; MA, S.; ZHANG, L.; et al. Anti-biofilm effect of dental adhesive with cationic monomer. **Journal of Dental Research**, EUA, v.4, n.88, p.372-376, 2009.
- MEIERS, J.C.; MILLER, G.A. Antibacterial activity of dentin bonding systems, resin-modified glass ionomers and polyacid-modified composite resins. **Operative Dentistry**, EUA, v.6, n.21, p.257-264, 1996.
- TAY, F.R.; CARVALHO, R.; SANO, H.; PASHLEY, D.H. Effect of smear layers on the bonding of self-etching primer to dentin. **Journal of Adhesive Dentistry**, Inglaterra, v.2, n.2, p.99-116, 2000.
- VAN LANDUYT, K.L.; SNAUWAERT, J.; DE MUNCK, J.; PEUMANS, M.; YOSHIDA, Y.; POITEVIN, A.; et al. Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. **Biomaterials**, Inglaterra, v.26, n.28, p.3757–3785, 2007.
- XIAO, Y.H.; MA, S.; CHEN, J.H.; CHAI, Z.G.; LI, F.; WANG, Y.J. Antibacterial activity and bonding ability of an adhesive incorporating an antibacterial monomer DMAE-CB. **Journal of Biomedical Material Research Part B: Appl Biomater**, EUA, v.2, n.90B, p.813-817, 2009.