

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DE UM CIMENTO ENDODÔNTICO CONTENDO ÓLEO DE COPAÍBA

CAROLINA SCHUSTER OURIQUES¹; ANDRESSA DA SILVA BARBOZA²; LARA RODRIGUES SCHNEIDER³; DANIELA COELHO DOS SANTOS⁴; EVANDRO PIVA⁵; RAFAEL GUERRA LUND⁶

¹Universidade Federal de Pelotas– cacaouriques@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas– andressahb@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – lara_schneider@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – danielacoelho.nutri@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – evpiva@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – rafael.lund@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O óleo de copaíba é obtido através da árvore *Copaifera sp.* (VEIGA JUNIOR et al., 2002). De acordo com SIMÕES et al. (2016), é um fitoterápico muito útil no norte do Brasil, principalmente na população amazônica, pois tem efeitos antibacterianos, antiinflamatórios, anestésicos, cicatrizantes e antineoplásicos.

Devido a sua alta atividade antimicrobiana, pesquisas têm sido realizadas na área odontológica, uma vez que foi comprovado que há atividade contra cepas de microrganismos que são responsáveis pela doença cárie e periodontal (BARDAJI et al., 2016). Embora existam muitos produtos odontológicos disponíveis no mercado, a maioria deles apresenta efeitos colaterais e citotoxicidade na região periapical (; PERASSI et al., 2008; CAMARGO et al., 2014).

Cimentos endodônticos são geralmente irritantes para os tecidos periapicais; portanto, eles podem inibir os processos de cura e, conseqüentemente, influenciar negativamente no sucesso dos tratamentos endodônticos. Embora existam cimentos endodônticos com características antimicrobianas no mercado, muitos deles são citotóxicos ou falham em biocompatibilidade (MOZAYENI et al., 2012).

Além disso, todos esses materiais ainda não apresentam características ideais, como o fluxo através da superfície da parede do canal, preencher todos os espaços entre o material e a dentina e aderir à dentina e à guta-percha. Assim, o desenvolvimento de novos cimentos endodônticos com propriedades físico-químicas e biológicas adequadas é crucial (GANDOLFI et al., 2008).

Outra finalidade do tratamento endodôntico é remover as bactérias através da limpeza, modelagem e preenchimento do sistema radicular, mas, infelizmente, bactérias residuais podem estar presentes em falhas endodônticas. Com base nisso, os cimentos para canal radicular precisam ter boa capacidade de vedação e atividade antimicrobiana pois os microrganismos e seus produtos são considerados os principais agentes etiológicos nas doenças endodônticas. A falha durante e após o tratamento endodôntico está ligada à presença de bactérias no canal radicular (KANGARLOU et al., 2016). Segundo Simões et al. (2016), o diterpeno de ácido copálico presente no óleo de resina de copaíba, mostrou atividade contra as linhagens de *S. mutans*. Além disso, o óxido fornece beta-cariofileno que age diretamente na inibição de fungos. Em ensaios antimicrobianos utilizando 19 cepas de patógenos orais, Bardaji et al. (2016) comprovaram que o óleo de copaíba possui boa atividade antimicrobiana em microrganismos envolvidos em cáries e doenças periodontais.

Alguns autores afirmam que os óleos de copaíba apresentam vantagens em relação à clorexidina, pois são compostos por diversas substâncias que podem ter

diferentes interações com a célula bacteriana, reduzindo a resistência de *S. mutans* (SIMÕES et al., 2016).

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar preliminarmente o desenvolvimento de um cimento endodôntico polimerizável com óleo de copaíba de *Copaifera reticulada* Dunke, com atividade antimicrobiana e características físico-químicas desejáveis para este material.

2. METODOLOGIA

Material e Reagentes

A resina de óleo de copaíba foi obtida no mercado e certificada por análises microbiológicas e análises físico-químicas (Copaíba da Amazônia, Guarujá- São Paulo). Este óleo foi extraído da reserva de desenvolvimento sustentável de Tupé, Amazonas, Brasil. O óleo de copaíba foi incorporado ao final do processo de formulação nas concentrações: 0% (material experimental, grupo controle negativo), 0,5% (C0,5), 1% (C1) e 2% (C2). Real Seal® (SybronEndo, Orange, EUA) foi a referência comercial de cimento endodôntico utilizada neste estudo. Matriz de metal bipartida (5 mm de diâmetro interno e 1 mm de altura) foi utilizada para a preparação das amostras. A fotoativação foi realizada em um lado por 40 segundos.

Ensaio Antimicrobiano

As cepas de referência usadas neste estudo foram escolhidas com base em seus efeitos patológicos em odontologia e incluíram: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*, *C. parapsilosis* e *C. famata*.

Determinação da concentração mínima inibitória (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM)

Este teste avaliou a atividade antimicrobiana do óleo bruto comercial de copaíba. A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada em triplicata pela técnica de microdiluição em caldo (CIM). O teste de sensibilidade foi realizado em placas de 96 poços e o óleo de copaíba foi misturado em etanol na concentração de 0,5 g / mL. Em seguida, as bactérias aeróbicas e microaerofilas foram incubadas por 24h, e as leveduras por 48h. *S. mutans* foi incubado com Microaerobac® (Probac do Brasil Produtos Bacteriológicos Ltda, São Paulo, Brasil) por 24h também. O controle positivo foi a mistura: inóculo microbiano e meio de cultura, e o grupo controle negativo foi o óleo com o meio de cultura. O MBC foi definido como a menor concentração da amostra, na qual não ocorreu crescimento bacteriano. As experiências foram realizadas em triplicata.

Caracterização de cimentos de resina experimentais

A caracterização de compósitos experimentais foi baseada na *International Organization for Standardization* (ISO) 6876 (2012) indicada para materiais de selagem do canal radicular (endodôntico).

Escoamento

O volume de $0,05 \pm 0,005$ mL do cimento foi preparado e distribuído em placa de vidro de dimensões 40 x 40mm com aproximadamente 5mm de espessura. O disco de cimento formado foi medido em seu maior e menor diâmetro por meio de um paquímetro digital com precisão de 0,01 mm. As experiências foram realizadas em triplicata.

Estabilidade dimensional

Matrizes bipartidas de silicone foram usadas para obter amostras cilíndricas medindo 3mm de altura por 5mm de diâmetro. Após a manipulação, o cimento foi inserido dentro da matriz e fotopolimerizado. Posteriormente os espécimes foram

medidos com um paquímetro digital. Em seguida, foram armazenados por 30 dias em eppendorfs com 1,5 mL de água destilada, a uma temperatura de 37 ° C. Após esse período, uma nova avaliação do comprimento foi realizada. As experiências foram realizadas em triplicata

Grau de conversão por espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

O grau de conversão do cimento endodôntico experimental foi avaliado pelo Espectrofotômetro Infravermelho de Transformada de Fourier.

Tempo de presa

A determinação do tempo de presa foi realizada utilizando um penetrador com peso de 200g. O tempo de presa de cada cimento foi estabelecido calculando o tempo médio decorrido desde a mistura até que o penetrador não deixou um recuo na superfície das amostras.

Radiopacidade

Foram realizadas radiografias das amostras de cada grupo experimental (o cimento sem óleo e os com 0,5%, 1% e 2% de concentração de óleo de copaíba), as quais foram processadas com o software do VistaScan Plus. Essas imagens foram exportadas para o software Photoshop CC® e a radiopacidade dos cimentos e os degraus da cunha de alumínio foram medidos utilizando a ferramenta histograma. Para que o cimento desenvolvido cumpra a especificação ISO, a radiopacidade do material deve ser igual ou superior à radiopacidade de 3 mmAl.

Teste de contato direto modificado (mDCT)

Neste teste, foram utilizadas cepas de *Enterococcus faecalis* (ATCC 4083) e *Staphylococcus aureus* (ATCC19095).

Análise estatística

Os testes foram submetidos à ANOVA e teste de Tukey. Todos os testes estatísticos foram realizados com nível de significância de 5% e foram realizados utilizando-se o software SPSS®, versão 22 (IBM Corporation, Armonk, Nova York, EUA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a avaliação do MIC e do MBC, as cepas usadas neste teste foram sensíveis à resina de óleo de copaíba. *E. faecalis*, *S. mutans*, *C. albicans*, *C. parapsilosis* e *C. famata* foram sensíveis a concentrações mínimas utilizadas (4,88µg / mL) neste teste. Dessa forma, a resina de óleo de copaíba foi bactericida e fungicida.

Atividade antimicrobiana

Os resultados do teste de contato direto modificado contra *E. faecalis* mostram que a o cimento endodôntico comercial revelou melhor atividade antimicrobiana em 1 hora, mas em 24h todos os cimentos contendo óleo de copaíba igualam sua atividade a do Real Seal®. Os resultados do teste de contato direto contra *S. aureus* revelam que em 1h, os cimentos com óleo de copaíba não mostraram atividade antibacteriana, mas em 24h os cimentos em concentrações de 0,5% e 1% obtiveram melhores resultados, excedendo o Real Seal®.

Propriedades físico-químicas

Não houve diferença significativa entre os grupos testados quanto à estabilidade dimensional e quanto ao escoamento. O tempo de presa do cimento contendo óleo de copaíba foi significativamente maior que a do comercial.

Sobre o grau de conversão, houve diferença estatística entre todos os cimentos. O cimento contendo óleo de copaíba a 2% apresentou maior valor que os demais. O grau de conversão em cimento comercial mostrou-se menor.

Houve diferença estatística significativa ($p < 0,0001$) na radiopacidade dos diferentes materiais experimentais avaliados. O cimento experimental sem óleo e o material com 1% de concentração de copaíba apresentaram maiores valores de radiopacidade em relação ao material com 2% de concentração de copaíba. O cimento com 0,5% de concentração de copaíba possuía uma radiopacidade intermediária. No entanto, mesmo os materiais com os maiores valores de densidade apresentaram menor radiopacidade quando comparados com a cunha de grau de alumínio de 3 mmAl, que é o mínimo recomendado para selantes, segundo a norma ISO 6876.

4. CONCLUSÕES

A incorporação de óleo de copaíba a 0,5% aumentou o efeito antibacteriano do cimento endodôntico experimental em 24h em relação ao cimento sem óleo e ao cimento comercial. No entanto, a radiopacidade não está de acordo com os padrões ISO 6876. Assim, são necessários mais estudos nessa área, como ensaio de citotoxicidade e ajustes nesta formulação para melhorar as características físico-químicas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARDAJÍ, D.K.R; da SILVA, J.J.M; BIANCHI, T.C; EUGÊNIO, D.S; de OLIVEIRA, P.F; LEANDRO L.F. *et al.* Copaífera reticulata oleoresin: chemical characterization and antibacterial properties against oral pathogens. **Anaerobe**, v. 40, p. 18-27, 2016
- CAMARGO, C.H.R; OLIVEIRA, T.R; SILVA, G.O; RABELO, S.B; VALERA, M.C; CAVALCANTI, B.N. Setting time affects in vitro biological properties of root canal sealers. **Journal of endodontics**, v. 40, n. 4, p. 530-533, 2014.
- GANDOLFI, M.G; PAGANI, S; PERUT, F; CIAPETTI, G; BALDINI, N; MONGIORGI, R. *et al.* Innovative silicate-based cements for endodontics: a study of osteoblast-like cell response. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 87, n. 2, p. 477-486, 2008.
- KANGARLOU, A; NESHANDAR, R; MATINI, N; DIANAT, O. Antibacterial efficacy of AH Plus and AH26 sealers mixed with amoxicillin, triple antibiotic paste and nanosilver. **Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects**, v. 10, n. 4, p. 220, 2016.
- MOZAYENI, M.A; MILANI, A.S; MARVASTI, L.A; ASGARY, S. Cytotoxicity of calcium enriched mixture cement compared with mineral trioxide aggregate and intermediate restorative material. **Australian Endodontic Journal**, v. 38, n. 2, p. 70-75, 2012.
- PERASSI, F.T; PAPPEN, F.G; BONETTI-FILHO, I; LEONARDO, R.L; YKEDA, F; RAMALHO, L.T.O. Estudo morfológico da resposta tecidual a quatro cimentos endodônticos. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 37, n. 2, p. 117-124, 2008.
- SIMÕES, C.A.C.G; CONDE, N.C.O; VENÂNCIO, G.N; MILÉRIO, P.S; BANDERIA, M.F; VEIGA JUNIOR, V.F. Suppl-1, M6: Antibacterial activity of copaiba oil gel on dental biofilm. **The Open Dentistry Journal**, v. 10, p. 188, 2016.
- VEIGA JUNIOR, V.F; PINTO, A.C. O gênero *Copaífera* L. **Quim. Nova**, v. 25, n. 2, p. 273-286, 2002.