

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**Centro de Desenvolvimento Tecnológico (CDTec)**  
**Curso de Engenharia de Materiais**



Trabalho de Conclusão de Curso

**Influência da Adição de Microesferas com Amoxicilina nas Propriedades de  
Agregado Trióxido Mineral**

**Fabio Rocha Bohns**

Pelotas, 2015

**Fabio Rocha Bohns**

**Influência da Adição de Microesferas com Amoxicilina nas Propriedades do Agregado Trióxido Mineral**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Centro de Desenvolvimento Tecnológico (CDTec) da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Materiais.

Orientador: Fabrício Aulo Ogliari  
Coorientador: Fabrício Mezzomo Collares

Pelotas, 2015

Fabio Rocha Bohns

Influência da Adição de Microesferas com Amoxicilina nas Propriedades do  
Agregado Trióxido Mineral

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado, como requisito parcial, para obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de Materiais, Centro de Desenvolvimento Tecnológico (CDTec), Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 04/12/2015

Banca Examinadora:

Prof. Dr Fabrício Aulo Ogliari (Orientador)  
Doutor em Odontologia pela Universidade Federal de Pelotas.

Prof. Dr César Henrique Zanchi  
Doutor em Odontologia pela Universidade Federal de Pelotas.

Prof. Dra Giana da Silveira Lima  
Doutora em Odontologia pela Universidade Federal de Pelotas.

**Dedico este trabalho à meus familiares, professores e amigos, tanto aos que estiveram sempre presentes quanto aos que já partiram.**

## Agradecimentos

Ao meu pai, por ser a pessoa que segurou as pontas, qualquer que fosse o motivo, e por aceitar minhas escolhas.

À minha mãe, por ter sido o espelho da minha decisão por fazer Bacharelado.

Às minhas irmãs, sobrinhas e avós, por terem partilhado momentos e por sempre serem ativas em suas opiniões.

À minha tia Neuza, por ter sido a melhor pessoa do mundo nesses últimos anos.

Aos meus primos por terem me aceitado em sua casa.

Aos meus amigos de fé, por terem me emprestado carteirinhas de ônibus (Thiago), carteirinha da UFRGS (Vinicius), aos fazedores de churrasco (Gabriel e Renata), à corretora do TCC (Talissa), ao que me mostrou a música (Giovani), aos que moraram comigo em Pelotas (Matheus, Marciel e Ricardo) e aos que dividiram flat comigo em Liverpool (Greg, Larissa, Bruno, Felipe e Ludimilla).

Aos companheiros nos jogos online e de tabuleiro.

Ao professor Fabrício Ogliari, por ter aceitado ser meu orientador.

Aos professores Fabrício Mezzomo e Vicente Leitune, por terem me recebido de braços abertos e me proverem ótimo ambiente de trabalho no LAMAD.

Aos colegas de LAMAD, principalmente à Bruna, Felipe, Karen, Isadora e Nélio, pela companhia, auxílios e dicas.

To my friends Alison Crossland, Matt Mackenzie, Sophie Cavannagh, Jake, Briony and Shu Wang.

À UFPel.

À UFRGS.

À University of Liverpool.

E, por fim, aos bons e maus professores por terem me ensinado ambos os lados da moeda.

Obrigado.

***“The flow of time is always cruel. Its speed seems different for each person, but no one can change it. A thing that does not change with time is a memory of younger days.”***

***(Sheik, 1998, Zelda Ocarina of Time)***

## Resumo

### **Influência da Adição de Microesferas com Amoxicilina nas Propriedades do Agregado Trióxido Mineral.**

O Agregado Trióxido Mineral é um cimento à base de silicato tricálcico, óxido de bismuto, silicato dicálcico, sulfato de cálcio e aluminato tricálcico. É comumente utilizado em odontologia em obturação apical, retrobturação, vedação de perfurações ou ápices abertos e capeamento de polpa. A amoxicilina é um antibiótico de baixo custo, largo espectro de ação, semi sintético, bactericida e hidrofílico. Como desvantagens, possui um elevado preço, relativamente elevado tempo de presa, dificuldades de manuseio. O objetivo do presente estudo é a proposição de uma razão pó/líquido de MTA que melhore o manuseio do material, adicionando 0-, 2,5- e 5% de microesferas com amoxicilina (em massa) e comparar com MTA com razão pó/líquido de 3/1 (em massa) sem adição das microesferas, avaliando a resistência à compressão, tempo de presa inicial e perfil de liberação de amoxicilina. A morfologia das microesferas de amoxicilina foram avaliadas por Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV). A alteração da razão pó/líquido causou uma melhora na espatulação do material, um decrescimo da resistência à compressão e aumento da média do tempo de presa inicial do MTA, porém, foi possível observar o aumento ou melhora da resistência à compressão conforme o aumento da porcentagem de amoxicilina no cimento. O teste de perfil de liberação de amoxicilina apenas demonstrou liberação do fármaco em 96h.

**Palavras-chave: Mineral Trióxido Agregado; Microesferas; Amoxicilina.**





## Abstract

### **Influence of the Addition of Amoxicillin Microspheres on the Mineral Trioxide Aggregate Properties.**

Mineral Trioxide Aggregate (MTA) is a cement-based material composed by tricalcium silicate, bismuth oxide, dicalcium silicate, calcium sulphate and tricalcium aluminate. MTA is commonly used in odontologic procedures as apical obturation, retrofilling, perforation and apical sealings and pulp capping. Amoxicillin is an antibiotic of low cost, broad action spectre, semi syntetic, bactericide and hydrophilic. As disadvantages, high cost, relatively high setting time and poor workability. The objective of the present study is altering the powder/liquid ratio to improve the workability of the material, adding 0-, 2.5- and 5% of amoxicillin (in mass) and compare to MTA 3/1 (in mass) powder/liquid ratio, evaluating the compression strength, initial setting time and amoxicillin release profile. The morphology of the amoxicillin microspheres were analyzed by Scanning Electron Microscope (SEM). Altering the powder/liquid ratio lead to an improvement of the workability, a decrease of the compression strength and an increase of the initial setting time of the samples, however, was observed that the compression strength between the groups with addition of amoxicillin microspheres were improved as the percentage of amoxicillin were increased. Also, the amoxicillin release profile showed values of release at 96 hours of testing.

**Key-words: Aggregate Trioxide Mineral; Microspheres; Amoxicillin.**

## Lista de Figuras

Figura 1	<i>Flowchart</i> dos métodos de caracterização das amostras.	22
Figura 2	Imagem de Microscopia Eletrônica de Varredura.....	24

### Lista de Tabelas

Tabela 1	Composições e proporções de cimento/líquido utilizadas no trabalho.....	21
Tabela 2	Média (desvio padrão) dos valores de tempo de presa inicial.....	22
Tabela 3	Médias de tração diametral (Pa) e análise estatística (ANOVA + Tukey).....	22
Tabela 4	Pesagem das amostras antes e depois do ensaio de liberação de amoxicilina.....	23
Tabela 5	Taxa de liberação de amoxicilina nos períodos de 2, 6, 12, 24, 48, 72 e 96h.....	23

### Lista de Abreviaturas e Siglas

MTA	Agregado Trióxido Mineral ( <i>Mineral Trioxide Aggregate</i> );
HPWMTA	Agregado Trióxido Mineral Branco de Alta Pureza ( <i>High Purity White Mineral Trioxide Aggregate</i> );
DAP	Pasta Antibiótica Dupla;
TAP	Pasta Antibiótica Tripla;
MEV	Microscópio Eletrônico de Varredura;
ASTM	<i>American Society for Testing and Materials</i> ;
ISO	<i>International Organization for Standardization</i> ;
0%MTAA	Agregado Trióxido Mineral + 0% (em massa) de Amoxicilina;
2,5%MTAA	Agregado Trióxido Mineral + 2,5% (em massa) de Amoxicilina;
5%MTAA	Agregado Trióxido Mineral + 5% (em massa) de Amoxicilina;
poli(MMA-co-MAA)	Copolímero de ácido metacrílico e metilmetacrilato;
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência ( <i>High Potential Liquid Chromatography</i> );
SBF	Fluido Corporal Simulado ( <i>Simulated Body Fluid</i> );
UV	Ultra Violeta.

**Lista de Símbolos**

°C	Grau Celsius;
mm	Milímetros;
g	Gramas;
L	Litro;
W	Watt;
k	Kilo ( $10^3$ );
Pa	Pascal ( $N/m^2$ );
P	Força (N);
N	Newton;
D	Diâmetro ( $mm^2$ );
C	Resistência à Compressão;
$\pi$	Constante (3,1415...)

## Sumário

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>2 METODOLOGIAS.....</b>	<b>17</b>
2.1 Preparo das microesferas de amoxicilina.....	18
2.2 Tempo de presa.....	18
2.3 Perfil de Liberação de Amoxicilina.....	19
2.4 Tração Diametral.....	20
2.5 Caracterização das Microesferas.....	21
2.6 Análise de Dados.....	21
<b>3 RESULTADOS.....</b>	<b>23</b>
<b>4 DISCUSSÃO.....</b>	<b>26</b>
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>29</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>30</b>

## 1 INTRODUÇÃO

MTA é um cimento composto majoritariamente por silicato tricálcico, óxido de bismuto, silicato dicálcico, sulfato de cálcio e aluminato tricálcico. Seu uso em odontologia tem sido amplamente estudado para aplicações em obturação apical, retrobturação, vedação de perfurações ou ápices abertos e capeamento de polpa (VAN NOORT, 2010). Como vantagens, possui elevadas propriedades de selamento marginal, bioatividade e biocompatibilidade (KIM, 2015), sendo esse último devido ao seu pH alcalino ( $\text{pH} \approx 12,5$ ), que confere propriedades próximas às de cimentos à base de hidróxido de cálcio (VAN NOORT, 2010). Também, devido a sua baixa toxicidade, quando comparado aos cimentos à base de óxido de zinco e eugenol, tem elevada propensão de induzir deposição óssea com baixa resposta inflamatória (VAN NOORT, 2010). As desvantagens estão em seu elevado tempo de presa, dificuldade de manuseio (KIM, 2015) e (CAMILLERI, 2009), perda de coloração (KIM, 2015), baixa resistência à compressão quando comparado aos materiais de mesma finalidade (CAMILLERI, 2009), alto custo e sensibilidade à variações de manuseio (SONG, 2012). O material alvo de estudo é HPWMTA-Angelus (Angelus, Londrina, PR, Brasil) com adição de microesferas de amoxicilina. (SCHAFFAZICK, 2003) reporta que a utilização de fármacos em forma de microesferas é mais vantajosa pois acarreta em uma distribuição mais seletiva do medicamento, causando um aumento no índice terapêutico (SCHAFFAZICK, 2003). Além disso, as microesferas têm a capacidade de liberar fármacos, podem ser biocompatíveis com células e tecidos quando sintetizadas a partir de materiais também biocompatíveis ou biodegradáveis e possuem alta estabilidade e proteção contra fatores causadores de degradação (luz e pH) (MORA-HUERTAS, 2010). A principal causa de patologias relacionadas ao periápice dentário é a infecção dos tecidos periradiculares por bactérias. Para uma eficiente obtenção de um prognóstico, existe a necessidade de remover as bactérias presentes nos tecidos periradiculares e na raiz da dentina por meio da aplicação de fármacos bactericidas (HOSHINO, 1996). É reportado que a utilização de uma TAP composta de ciprofloxacina, metronidazol e minociclina tem boas propriedades antimicrobianas quando usada em raiz de dentinas infectadas (NAGAS, 2015) e (ACKAY, 2014). Devido ao fato de a minociclina causar uma visível descoloração dos dentes (TOPÇOUGLU, 2014), novas formulações foram testadas sem a presença do

antimicrobiano descolorante (DAP), ou substituindo aminociclina por outro fármaco também antimicrobiano, por exemplo a amoxicilina e a cefroxadina (HOSHINO, 1996) e (TOPÇOUGLU, 2014). A amoxicilina é um antibiótico semi-sintético, beta-lactâmico, oralmente absorvido, bactericida e de amplo espectro (RAVAL, 2010), cuja ação se deve à inibição da síntese da parede celular (BAER, 2010). São os antimicrobianos mais comumente utilizados em infecções odontológicas devido a sua eficácia histórica, baixa toxicidade e baixo custo (PINHEIRO, 2004). Estudos mostraram que famílias de *E. faecalis* apresentaram susceptibilidade às penicilinas, pois houve morte entre 90 a 95% das amostras (FONTANA, 1990). O objetivo do presente estudo é propor uma nova metodologia de mistura do MTA com amoxicilina nas proporções de 0%, 2,5% e 5%, por meio da substituição em massa, que mantenha ou melhore o manuseio do material, usando como referência os dados expostos na EN ISO 6876; 2012, tomando como parâmetro principal a diminuição das proporções (em massa) de cimento/água, indicada pela empresa fabricante de  $1g_{(MTA)}/0,3g_{(água\ destilada)}$ , e comparar suas propriedades compressivas, antimicrobianas e tempo de presa com a nova formulação. Testes de taxa de liberação de amoxicilina também serão feitos a título de comprovação da liberação das microesferas de amoxicilina, além de MEV para visualizar a forma e o tamanho das microesferas produzidas.



## 2 METODOLOGIAS

Inicialmente, testes utilizando a proporção indicada por (ARRUDA, 2012) foram realizados a fim de avaliar o manuseio e espatulação do MTA em duas proporções: A) 0,12g de MTA misturados a 90µL e B) 0,114g de MTA misturados com 0,006g de amoxicilina e 90µL (x=90µL). Para a mistura sem adição de amoxicilina (A), tanto a espatulação quanto o manuseio tiveram resultado positivo, enquanto, para a mistura descrita em B, não foi possível obter um material homogêneo, e sim um composto particulado, seco e imiscível. Para adequar o material aos critérios da EN ISO 6876; 2012 (que cita os requerimentos dos materiais seladores de canais de raízes utilizados em endodontia, para uma correta avaliação do tempo de trabalho e tempo de presa), 10µL de água foram adicionados, até que fosse constatada a viabilidade de espatulação de 5% (em massa) de microesferas com amoxicilina no cimento à base de MTA (método de tentativa e erro). Quando constatada a inviabilidade de mistura do cimento com o volume de água destilada recém adicionado, a amostra foi descartada e uma nova mistura foi realizada utilizando a adição de mais 10µL de H<sub>2</sub>O, de acordo com o somatório (1)

$$\sum_{k=0}^n x + 10n \quad [\mu\text{L}] \quad (1)$$

Quando foi atingido o volume de 140µL de água destilada, o MTA com 5% (em massa) de microesferas, apresentou boa resposta de manuseio, espatulação e homogeneidade. A partir deste ponto, foi assumido que para menores quantidades de fármaco e mesmo volume de água destilada, a espatulação, homogeneidade e manuseio seguiriam inalterados ou teriam uma melhor resposta. Um *flowchart* com as caracterizações realizadas no material pode ser encontrado na imagem 1. A tabela 1 mostra as razões pó/líquido utilizadas nas amostras A, B, C e D. As quantidades foram aumentadas proporcionalmente para que fosse possível a confecção de três corpos de prova para cada grupo.

## 2.1 Preparo das microesferas de amoxicilina

As microesferas contendo amoxicilina foram preparadas a partir da solubilização, sob agitação magnética a 37°C, de 3g do Eudragit® S100, copolímero de poliácido com polimetilmetacrilato (poli(MMA-co-MAA)), em 200mL de acetona. Em seguida, a amoxicilina (0,3g) foi adicionada, formando uma suspensão. Essa solução foi, então, submetida ao processo de atomização em mini spray dryer B-290 (Buchi, Flawi, Suíça), em sistema fechado. A temperatura de entrada do equipamento foi mantida em 60°C, e a de saída em cerca de 40°C, o fluxo foi de 40%, e a aspiração de 100%.

## 2.2 Tempo de presa

Em quatro matrizes de silicona foram feitos três perfurações vazadas de um lado a outro, medindo em média 1,67mm de profundidade e 8,96mm de diâmetro (n=3). Foram produzidas pastilhas de quatro concentrações diferentes nomeadas de A, B, C e D (0,50g de MTA + 170µL H<sub>2</sub>O<sub>destilada</sub>; 0,50g de MTA + 580µL H<sub>2</sub>O<sub>destilada</sub>; 0,4875g de MTA + 0,0125g de amoxicilina + 580µL H<sub>2</sub>O<sub>destilada</sub>; e 0,475g de MTA + 0,025g de amoxicilina + 580µL H<sub>2</sub>O<sub>destilada</sub>, respectivamente) foram pesadas em uma balança analítica (Shimadzu AUW220C) com cinco casas após a vírgula, homogenizadas manualmente em copo de béquer e adicionadas à água destilada. Uma tira de poliéster foi posta sob as matrizes, de modo que ocupasse todo o diâmetro dos orifícios, e, então, a matriz foi apoiada em uma placa de vidro devidamente limpa e identificada com o tipo e a proporção de fármaco utilizado nas amostras. Após 60s de espatulação, o material foi posto nos orifícios da matriz até completo preenchimento, e uma força de 11N foi aplicada ao material por 60s para que o total preenchimento do orifício fosse assegurado. As amostras foram postas em estufa (Soc. Fabre Ltda. São Paulo, SP, Brasil) à 37°C e, a cada 60s, as amostras eram retiradas, e três marcações com uma agulha de Gilmore de massa 100g, ponta com diâmetro de 2mm e comprimento de 11mm foram feitas em diferentes pontos objetivando medir o tempo de presa inicial das amostras. O tempo de presa inicial é o tempo contado desde a manipulação das amostras até o momento em que a agulha de Gilmore é apoiada e solta sobre a superfície da amostra sem causar nenhuma indentação (ASTM C 266).

### 2.3 Perfil de Liberação de Amoxicilina

Em uma matriz de silicona foram feitos quatro perfurações vazadas de um lado a outro, cada um de profundidade de 2,50mm e diâmetro 5,50mm (n=4). Em uma balança analítica (Shimadzu AUW220C) com cinco casas após a virgula, foram pesados 0,2375g de MTA e 0,0125g de microesferas de amoxicilina (grupo de maior concentração). Uma micropipeta foi então utilizada para adicionar 290  $\mu$ L de água destilada em um vidro relógio diferente. Em uma placa de vidro de formato retangular foi posta uma tira de poliéster, e sobre esta se colocou a matriz de silicona, com finalidade de isolar as amostras da placa de vidro. O MTA e a amoxicilina foram postos em um vidro béquer, tampados com papel alumínio preso com elástico e agitados mecanicamente de modo empírico, a fim de homogenizar os pós. Quando não foi mais possível distinguir a amoxicilina do MTA, foi adicionada água destilada e então realizada a espatulação do material em vidro relógio. O cimento foi posto nas matrizes, tomando-se cuidado para que todo o volume dos quatro furos fosse preenchido. Então foi posta outra tira de poliéster na parte superior das amostras para evitar contato com a placa de vidro de mesmas dimensões da usada anteriormente. Um peso de 11N foi utilizado para pressionar a amostras por 60s a fim de que a superfície das amostras não apresentasse falhas. O peso, a placa de vidro e a tira de poliéster foram retirados e o conjunto matriz/amostras foi levado para a estufa (Soc. Fabre Ltda. São Paulo, SP, Brasil) a 37°C por 24h.

As pastilhas foram numeradas de 1 a 4 e retiradas das matrizes com a ajuda de um bisturi, em seguida foram pesadas em balança analítica (Shimadzu AUW220C) e guardadas em Eppendorfs igualmente numerados. Subsequentemente, as amostras foram postas, com a ajuda de pinças, em membranas artificiais de acetato de celulose com poros de 0,46 $\mu$ m da Millipore®, previamente hidratadas com água destilada por 30min. As membranas foram presas em ambos os lados por grampos, sendo que o mais submerso continha uma pequena área de metal para interação magnética com um peixinho, causando a rotação do sistema. A membrana de celulose tem o objetivo de auxiliar na saída seletiva do fármaco, evitando, assim, que o polímero que o envolve também escape

e altere o resultado da caracterização. Após a certificação de que se encontrava lacrado pelos grampos, o sistema foi imerso em 80 mL de SBF e mantido em banho em agitação (Quimiserv, EH4basic, Kika® WERKE). A coleta de 1mL do líquido SBF em agitação será feita em intervalos predeterminados (2, 6, 12, 24, 48, 72 e 96h) para análise, sendo que, nos mesmos intervalos, 1mL do mesmo líquido será repostado para evitar a mudança de concentração do meio. Todos os intervalos de coleta foram postos em potes de vidro devidamente nomeados e posteriormente analisados por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC Perkin Elmer series 200, Perkin Elmer, Waltham, EUA) equipado com UV/VIS.

#### 2.4 Tração Diametral

Em quatro tiras de silicona previamente moldadas, foram feitos três furos vazados de 1,67mm de profundidade e diâmetro médio 8,96mm (n=3). As matrizes foram postas sobre tiras de poliéster e o conjunto foi colocado sobre uma placa de vidro e identificadas com a composição de cada uma. Em balança analítica (Shimadzu AUW220C) foram pesados o MTA e as microesferas de amoxicilina, para posterior adição de água. Na placa A, foram escritos números de 1 a 3 e adicionados 0,50g de MTA + 170 $\mu$ L H<sub>2</sub>O<sub>destilada</sub>; na placa B, foram escritos números de 4 a 6 e adicionados 0,50g de MTA + 580 $\mu$ L H<sub>2</sub>O<sub>destilada</sub>; na placa nomeada C, foram escritos números de 7 a 9 e adicionados 0,4875g de MTA + 0,0125g de amoxicilina + 580 $\mu$ L H<sub>2</sub>O<sub>destilada</sub>; e, na placa D, foram escritos números de 10 a 12 e adicionados 0,475g de MTA + 0,025g de amoxicilina + 580 $\mu$ L H<sub>2</sub>O<sub>destilada</sub>. Em todas as matrizes uma força de 11N foi aplicada por 60s logo após a inserção do material nos devidos buracos para assegurar amostras sem defeitos de superfície. Após a desaplicação da força, todas as placas foram levadas à estufa (Soc. Fabre Ltda. São Paulo, SP, Brasil) a 37°C por 24h.

Em uma máquina de ensaios compressivos (Shimadzu, EZTest 500N), as pastilhas foram postas, com a ajuda de uma pinça, de maneira que seu diâmetro tivesse a posição vertical. A máquina foi calibrada automaticamente e os ensaios foram realizados na velocidade de compressão de 1mm/min, sendo os valores finais de resistência à compressão calculados por meio da fórmula **(2)**:

$$C = 4P/\pi D^2 \quad [\text{Pa}] \quad (2)$$

## 2.5 Caracterização das Microesferas

As características morfológicas das microesferas de amoxicilina foram determinadas por MEV (JSM 6060, Jeol, Tokyo, Japão) com voltagem de 15 kW.

## 2.6 Análise de Dados

Para as análises de imagens e microscopia eletrônica de varredura, foram feitas análises descritivas do material.

Para os testes de tempo de presa inicial e compressão, foram feitas análises estatísticas ANOVA de uma via e Tukey.

Tabela 1 – Composições e proporções de cimento:água utilizadas no trabalho

Amostra	Composição/Proporção
A	MTA (cimento/H <sub>2</sub> O)
B	MTA (cimento/H <sub>2</sub> O)
C	MTA + 2,5% de Microesferas com Amoxicilina
D	MTA + 5% de Microesferas com Amoxicilina

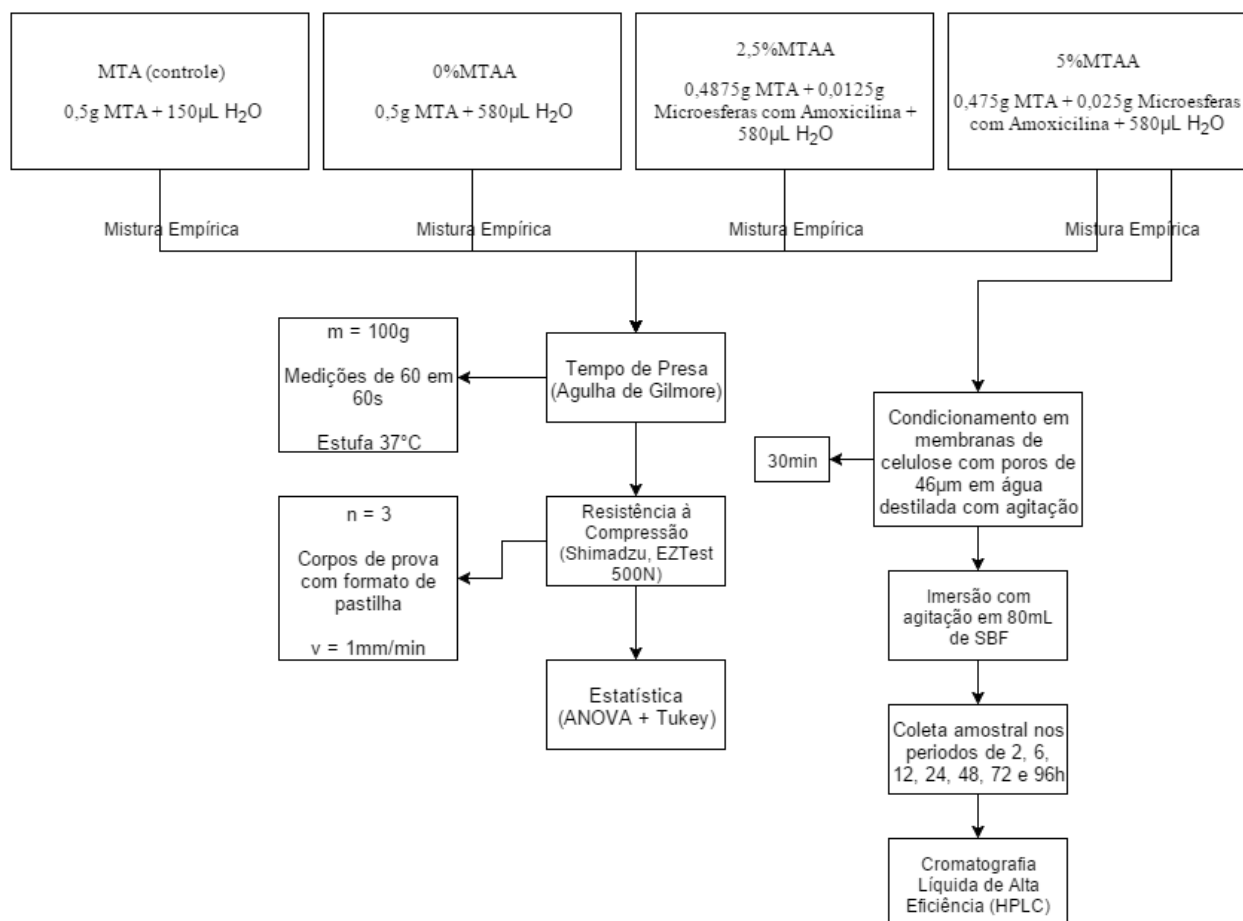


Figura 1 – *Flowchart* dos métodos de caracterização das amostras.

Fonte: elaborado pelo autor.

### 3 RESULTADOS

A tabela 2 mostra os valores de tempo de presa inicial realizados com agulha de Gilmore e desvio padrão para todas as amostras de MTA. A diferenciação dos grupos se dá pela composição das amostras.

Tabela 2 – Média (desvio padrão) dos valores de tempo de presa inicial.

Amostra	Média Tempo de Presa Inicial (s)	ANOVA + Tukey
A (MTA)	805(48)	A
B (0%MTA)	1433(83)	B
C (2,5%MTAA)	1516(33)	B
D (5%MTAA)	1417(99)	B

Letras diferentes indicam diferença estatística significativa na mesma coluna ( $p < 0,05$ ).

A figura 1 mostra três imagens de MEV, com ampliações diferentes, A, B e C das microesferas de amoxicilina produzidas por solubilização com agitação magnética.

Os valores obtidos nos testes de compressão para todas as amostras estão contidos na tabela 3 e análises estatísticas ANOVA e Tukey estão também representadas.

A tabela 4 mostra os valores encontrados na pesagem, antes e depois do ensaio de liberação de amoxicilina, das amostras de MTA de maior concentração de amoxicilina que precederam o teste de perfil de liberação. Os resultados da liberação de amoxicilina podem ser encontrados na tabela 5.

Tabela 3 – Médias de resistência à compressão (Pa) e análise estatística (ANOVA + Tukey)

Amostra	Médias Resist. à Compressão (Desvio Padrão) [kPa]	ANOVA + Tukey
A	116,720(30,47)	A
B	*1	*1
C	57,550(13,00)	B
D	74,220(22,61)	AB

Letras diferentes indicam diferença estatística significativa na mesma coluna ( $p < 0,05$ ).

<sup>1</sup> Falha prematura dos corpos de prova.

Tabela 4 – Tabela com a pesagem das amostras antes e depois do ensaio de liberação de amoxicilina

Amostra	Antes (g)	Depois (g) <sup>1</sup>
1	0,0469	*
2	0,0455	*
3	0,0505	*
4	0,0532	*

Tabela 5 - Taxa de liberação de amoxicilina nos periodos de 2, 6, 12, 24, 48, 72 e 96h

Periodos de Coleta (h)	Liberação de Amoxicilina (%)
2	0,00
6	0,00
12	0,00
24	0,00
48	0,00
72	0,00
96	16,68

<sup>1</sup> Impossibilidade de obter dados devido à consistência pastosa encontrada após os testes.



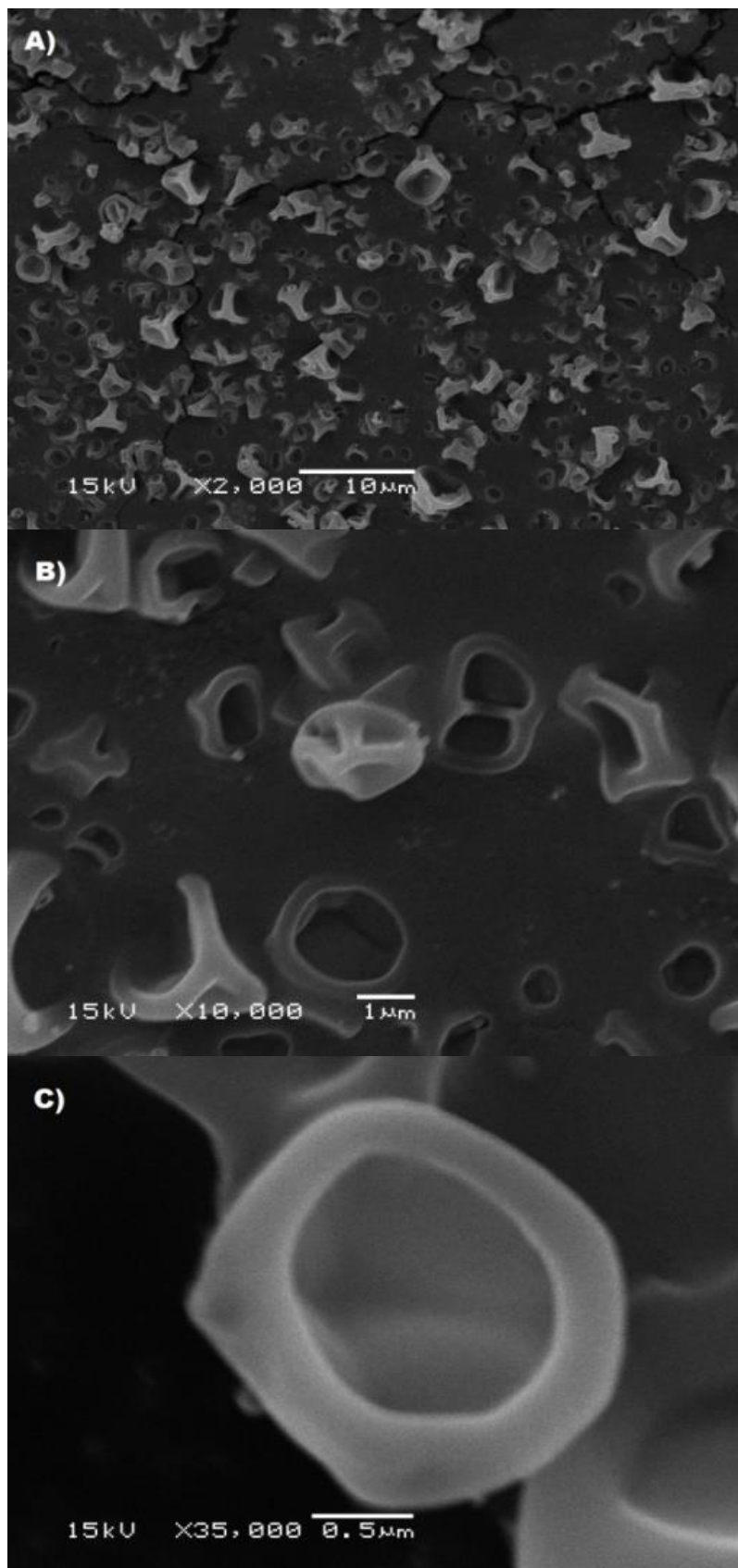


Figura 2 – Imagem de MEV das microsferas de amoxicilina. A) Imagem com aproximação de x2000; B) Imagem com aproximação de x10000; C) Imagem com aproximação de x35000.

Fonte: elaborado pelo autor.

## 4 DISCUSSÃO

Durante um tratamento de sistema de canais radiculares, é muito importante, para eficácia do procedimento, reduzir as bactérias presentes nas regiões radiculares e periradiculares (*Enterococcus Faecalis*). A utilização de fármacos como carga em cimentos utilizados para essa finalidade permite a redução de microorganismos em um nível compatível com a saúde local durante os procedimentos clínicos (HOSHINO, 1996). A figura 1 mostra três imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura do fármaco, em que o diâmetro das micropartículas de amoxicilina variam entre 2µm e 5µm. Além disso, é possível observar que as microesferas possuem um formato bicôncavo, que se assemelha muito à uma hemácia invertida (célula anucleada presente no sangue). O envólucro polimérico age como uma cápsula protetora da amoxicilina contra a degradação por luz e pH (MORA-HUERTAS, 2010), além de ser um agente causador da liberação prolongada e de concentrações constantes do fármaco. O método de liberação da amoxicilina das microesferas se dá por degradação, difusão ou bioerosão do polímero, possibilitando a ação do mesmo nas regiões próximas à aplicação (MUSYANOVYCH, 2014).

Os efeitos de uma maior quantidade de líquido, assim como os efeitos da adição de amoxicilina no tempo de presa do MTA, foram avaliados como passo seguinte. Diminuir o tempo de presa do cimento é um ponto chave para uma melhor adequação do material aos usos clínicos, porque afeta diretamente o tempo que contaminantes do ambiente bucal tem para agir durante os procedimentos, permite que um material restaurador seja colocado sobre a região com maior segurança e diminui o período de *wash-out* do cimento (BER, 2007).

De acordo com os dados mostrados na tabela 2, os grupos B, C e D não possuem diferença estatística entre si e tiveram as médias dos seus tempos de presa iniciais maiores que o grupo A. (FILHO, 2012) reporta que a adição de substâncias pode interferir no mecanismo de hidratação do cimento, aumentando o tempo de presa. Então, tanto a razão cimento/líquido e a adição das microesferas, foram fatores fundamentais pelos quais todos os grupos apresentaram um

tempo de presa mais elevado se comparados ao grupo A. O valor de tempo de presa inicial do MTA encontrado no presente estudo (amostra A) é parecido com os tempos de presa encontrados por (BORTOLUZZI, 2009) e (FILHO, 2012), porém é diferente do reportado por (GANDOLFI, 2009). O processo realizado pelo autor para confecção das amostras difere do presente estudo nas dimensões das matrizes e no tipo de armazenamento e marca do MTA. Esses fatores podem ser os responsáveis pela diferença encontrada.

Apesar de serem mais comuns os testes de resistência à flexão em pesquisas envolvendo Agregado Trióxido Mineral (BASTURK, 2014) e (DOS REIS, 2005), ensaios de resistência à compressão foram executados no material, pois também são de grande valor para avaliação dos efeitos de aditivos nas propriedades de cimentos (BER, 2007). O excesso de hidratação é um fator crucial para a alteração das propriedades biológicas, químicas e físicas de materiais como MTA. Além do mais, o endurecimento do MTA é alterado pelo procedimento utilizado na mistura, pela quantidade de água, pela pressão de compactação, umidade, temperatura (BASTURK, 2014), tamanho das partículas e ar trancado dentro das amostras (BOUYARMANE, 2015). É reportado ainda por (BOUYARMANE, 2015) que, apesar de uma maior proporção de líquido/pó causar uma maior liberação de hidróxido de cálcio, a quantidade de água deve ser limitada devido a dificuldade de compactação do material no momento de construir os corpos de prova. Pela tabela 3, pode-se afirmar que as amostras A e D, assim como as amostras C e D, não possuem diferença entre elas. É possível observar também que o valor mais alto para as médias se deu no grupo de amostras A, que tem maior proporção cimento/líquido (proporção indicada pelo fabricante). As amostras representadas por B não apresentaram valor de resistência à compressão por terem fraturado durante o manuseio realizado anteriormente ao ensaio. O caráter hidrofílico da amoxicilina, contribui para a absorção da água (BOUYARMANE, 2015). A não presença do fármaco, aliada à alta proporção líquido/pó, causou a queda da capacidade de absorção de água do cimento, propiciando a fragilização pelo excesso de líquido (BOUYARMANE, 2015). Todos os grupos de amostras do presente estudo apresentaram valores de resistência à compressão inferiores aos encontrados por (TORABINEJAD, 1995). Como possíveis causas dos diferentes resultados entre os trabalhos, podemos citar o processo de mistura, a proporção pó/líquido e a diferença nas dimensões dos corpos de prova.

Em análises *in vitro*, a liberação do fármaco de dentro do envólucro polimérico depende de fatores como: dessorção do fármaco na superfície da das microesferas, da difusão do fármaco nas partículas, difusão do fármaco através das paredes das microcápsulas e de processos como difusão e erosão (SCHAFFAZICK, 2003). Além disso, é reportado por (MORA-HUERTAS, 2010) que a velocidade e quantidade de substâncias liberadas de microcápsulas, estão fortemente atreladas ao método de preparação das mesmas, concentração do fármaco, características físico-químicas (como solubilidade em óleo/água) e parâmetros do teste de liberação (tempo de contato e pH). A tabela 5 mostra que para as primeiras seis coletas realizadas no material (2, 6, 12, 24, 48 e 72h), não houve liberação da amoxicilina. Para o período de 96h, houve a liberação de 16,68%. A não liberação do fármaco nos períodos de coleta iniciais (de 2 a 72h) pode ser devido ao tempo de exposição aliado ao alto pH típico do MTA (VAN NOORT, 2010). Como descrito por (MORA-HUERTAS, 2010), as características físico-químicas, tempo de contato e pH do meio em que o material é aplicado/caracterizado vão ser fundamentais para uma maior ou menor taxa de liberação do fármaco.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O MTA é um material cimentício que reúne ótimas propriedades, como: biocompatibilidade, elevado pH, bioatividade, ótimo selamento marginal e baixa toxicidade. Como desvantagens é possível apontar seu elevado tempo de presa e características de manuseio. A adição de fármacos em materiais utilizados em odontologia é eficaz no combate às bactérias, promovendo um maior índice terapêutico. A amoxicilina é um fármaco de baixo custo, bactericida, de amplo espectro e absorvível oralmente. Além do mais, possui a vantagem de não promover a descoloração do material, se comparada a sua aplicação à minociclina. A nova formulação com uma maior proporção líquido/pó se mostrou viável para manuseio em todas as proporções (com ou sem adição de amoxicilina). Dentro das limitações do trabalho, pode-se constatar que a resistência à compressão encontrada na literatura não se assemelha à encontrada no grupo A (sem adição de microesferas). Os grupos B, C e D apresentaram menor resistência à compressão se comparadas àquelas encontradas na literatura, porém é possível a observação de um aumento da resistência conforme se aumenta a carga de amoxicilina, pelo fato de as microesferas também serem hidrofílicas. O tempo de presa inicial da nova formulação é mais alto que o relatado pela bibliografia devido à utilização de uma maior quantidade de água para mistura. O método de perfis de liberação se mostrou eficaz para a avaliação da liberação da amoxicilina do MTA para elevados períodos de tempo (96h). Estava prevista a avaliação do caráter antimicrobiano de corpos de prova de 5%MTAA, porém, por uma questão de logística, não obtivemos tempo hábil para tal.

## REFERÊNCIAS

ACKAY, M.; ARSLAN, H.; YASA, BILAL.; KAVRIK, F.; YASA, E. Spectrophotometric Analysis of Crown Discoloration Induced by Various Antibiotic Pastes Used in Revascularization. **Journal of Endodontics**. v. 40, p. 845-848, 2014.

ARRUDA, R. A. A.; CUNHA, R. S.; MIGUITA, K. B.; SILVEIRA, C. F. M.; DE MARTIN, A. S.; PINHEIRO, S. L.; ROCHA, D. G. P.; BUENO, C. E. S. Sealing ability of mineral trioxide aggregate (MTA) combined with distilled water, chlorhexidine, and doxycycline. **Journal of Oral Science**. v. 54, n. 3, p. 233-239, 2012.

BAER, J.; MAKI, J. S. In Vitro Evaluation of the Antimicrobial Effect of Three Endodontic Sealers Mixed with Amoxicillin. **Journal of Endodontics**. v. 36, n. 7, p. 1170-1173, 2010.

BASTURK, F. B.; NEKOOFAR, M. H.; GUNDAY, M.; DUMMER, P. M. Effect of Various Mixing and Placement Techniques on the Flexural Strength and Porosity of Mineral Trioxide Aggregate. **Journal of Endodontics**. v. 40, p. 441-445, 2014.

BER, B. S.; HATTON, J. F.; STEWART, G. P. Chemical Modification of ProRoot MTA to Improve Handling Characteristics and Decrease Setting Time. **Journal of Endodontics**. v. 33, p. 1231-1234. 2007.

BORTOLUZZI, E. A.; BROON, N. J.; BRAMANTE, C. M.; FELIPPE, W. T.; FILHO, M. T.; ESBERARD, R. M. The Influence of Calcium Chloride on the Setting Time, Solubility, Disintegration, and pH of Mineral Trioxide Aggregate and White Portland Cement with a Radiopacifier. **Journal of Endodontics**. v. 35, p. 550-554, 2009.

BOUYARMANE, H.; EL HAMBALI, I.; EL KARBANE, M.; RAMI, A.; SAOIABI, A.; SAOIABI, S.; MASSE, S.; CORADIN, T.; LAGHZIZIL, A. Parameters influencing ciprofloxacin, ofloxacin, amoxicillin and sulfamethoxazole retention by natural and converted calcium phosphates. **Journal of Hazardous Materials**. v. 291, p. 38-44, 2015.

CAMILLERI, J. Evaluation of Selected Properties of Mineral Trioxide Aggregate Sealer Cement. **Journal of Endodontics**. v. 35, p. 1412-1417, 2009.

DOS REIS, R. F.; BORGES, P. C.; Alternative Methodology for Flexural Strength Testing in Natural Teeth. **Braz Dent J**. v. 16, n. 1, p. 45-49, 2005.

FILHO, M. T.; MORALES, V.; DA SILVA, G. F.; BOSSO, R.; REIS, J. M. S. N.; DUARTE, M. A. H.; TANOMARU, J. M. G. Compressive Strength and Setting Time of MTA and Portland Cement Associated with Different Radiopacifying Agents. **ISRN Dentistry**. v. 2012, p. 4, 2012.

FONTANA, R.; BOARETTI, M.; GROSSATO, A.; TONIN, E. A.; LLEÒ, M. M.; SATTA, G. Paradoxical Response of *Enterococcus faecalis* to the Bactericidal Activity of Penicillin Is Associated with Reduced Activity of One Autolysin. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v. 34, n. 2, p. 314-320, 1990.

GANDOLFI, M. G.; IACONO, F.; AGEE, K.; SIBONI, F.; TAY, F.; PASHLEY, D. H.; PRATI, C. Setting time and expansion in different soaking media of experimental accelerated calcium-silicate cements and ProRoot MTA. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** v. 108, p. 39-45, 2009.

HOSHINO, E.; KURIHARA-ANDO, N.; SATO, I.; UEMATSU, H.; SATO, M.; KOTA, K.; IWAKU, M. In-vitro antibacterial susceptibility of bacteria taken from infected root dentine to a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline. **International Endodontic Journal.** v. 29, p. 125-130, 1996.

KIM, R. J. Y.; KIM, M. O.; LEE, K. S.; LEE, D. Y.; SHIN, J.H. An in vitro evaluation of the antibacterial properties of three mineral trioxide aggregate (MTA) against five oral bacteria. **Archives of Oral Biology.** v. 60, p. 1497-1502, 2015.

MORA-HUERTAS, C. E.; FESSI, H.; ELAISSARI, A. Polymer-based nanocapsules for drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics.** v. 385, p. 113-142, 2010.

MUSYANOVYCH, A.; LANDFESTER, K. Polymer Micro- and Nanocapsules as Biological Carriers with Multifunctional Properties. **Macromolecular Bioscience.** v. 14, p. 458-457, 2014.

NAGAS, E.; CEHRELI, Z. C.; UYANIK, M. O.; VALLITTU, P. K.; LASSILA, L. V. J. Effect of several intracanal medicaments on the push-out bond strength of ProRoot MTA and Biodentine. **International Endodontic Journal.** p. 1-5, 2015.

PINHEIRO, E. T.; GOMES, B. P. F. A.; DRUCKER, D. B.; ZAIA, A. A.; FERRAZ, C. C. R.; SOUZA-FILHO, F. J. Antimicrobial susceptibility of *Enterococcus faecalis* isolated from canals of root filled teeth with periapical lesions. **International Endodontic Journal.** v. 37, p. 756-763, 2004.

RAVAL, J. A.; PATEL, J. K.; PATEL, M. M. Formulation and in vitro characterization of spray dried microspheres of amoxicillin. **Acta Pharm.** v. 60, p. 455-465, 2010.

SCHAFFAZICK, S. R.; GUTERRES, S. S.; FREITAS, L. L.; POHLMANN, A. R.; Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química Nova.** v. 26, n. 5, p. 726-737, 2003.

SONG, M.; KIM, E. A Prospective Randomized Controlled Study of Mineral Trioxide Aggregate and Super Ethoxy-Benzoic Acid as Root-end Filling Materials in Endodontic Microsurgery. **Journal of Endodontics.** v. 38, n. 7, p. 875-879, 2012.

TOPÇOUĞLU, H. S.; ARSLAN, H.; AKÇAY, M.; SAYGILI, G.; ÇAKICI, F.; TOPÇOUĞLU, G. The Effect of Medicaments Used in Endodontic Regeneration Technique on the Dislocation Resistance of Mineral Trioxide Aggregate to Root Canal Dentin. **Journal of Endodontics.** v. 40, n. 12, p. 2041-2044, 2014.

TORABINEJAD, M.; HONG, C. U.; MCDONALD, F.; FORD, T. R. P. Physical and Chemical Properties of a New Root-End Filling Material. **Journal of Endodontics**. v. 21, n. 7, p. 349-343, 1995.

VAN NOORT, Richard. **Introdução aos Materiais Dentários**. 4.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. 168-169 p.