

ATIVIDADE ANTIBIOFILME DE SCAFFOLDS DE NANOCELULOSE IMPREGNADOS COM ANTIMICROBIANOS PARA USO NA TERAPIA ENDODÔNTICA REGENERATIVA

Kressin FK; Stahelin IA; Souza Jr GR; de Almeida J

Universidade do Sul de Santa Catarina
Odontologia, campus Pedra Branca, fernandaaviladasilva@gmail.com

Introdução

A endodontia regenerativa está em constante evolução dentro da odontologia. Para seu êxito, três componentes são fundamentais: células-tronco, fatores de diferenciação celular e *scaffold*. Contudo, algumas dificuldades são encontradas, como infecção persistente nos canais radiculares e a citotoxicidade de antimicrobianos.

Objetivo

Avaliar a atividade antibiofilme de scaffolds tridimensionais de nanocelulose bacteriana (BNC) incorporados com clorexidina 0,12% (BNC/CHX), amoxicilina 1% (BNC/AMOX) e clindamicina 1% (BNC/CLI).

Métodos

Espécies microbianas

Enterococcus faecalis, *Actinomyces naeslundii*, *Streptococcus sanguinis*

Nanocelulose bacteriana (BNCs): (n=24)

Grupo 1: BNC convencional (BNCs/C) (controle)
Grupo 2: BNCs + clorexidina 0,12% (BNCs/CHX)
Grupo 3: BNCs + clindamicina 1% (BNCs/CLI)
Grupo 4: BNCs + amoxicilina 1% (BNCs/AMOX)

Formação do biofilme multiespécie

Membranas preparadas e standardizadas ($\varnothing = 5$ mm)
Placas incubado - 24 horas, 7 e 15 dias

Avaliação da atividade antibiofilme – teste de viabilidade celular bacteriana

- Lavadas com PBS
- Imersão em 2 mL PBS
- Sonicação 15 min/40 W
- Diluição 1:100
- Plaqueamento 100 μ L em ágar BHI
- Incubação 37°C
- Determinação UFC

Microscópio eletrônico de varredura

- Avaliação qualitativa da formação ou não do biofilme nas membranas
- Duas amostras por grupo, para cada período experimental

Microscopia confocal de varredura a laser

- Avaliar microrganismos viáveis e não viáveis aderidos à membrana
- Duas amostras de cada grupo, para cada período experimental

Análise estatística

- Testes Kruskal-Wallis e post hoc Dunn ($\alpha=5\%$)

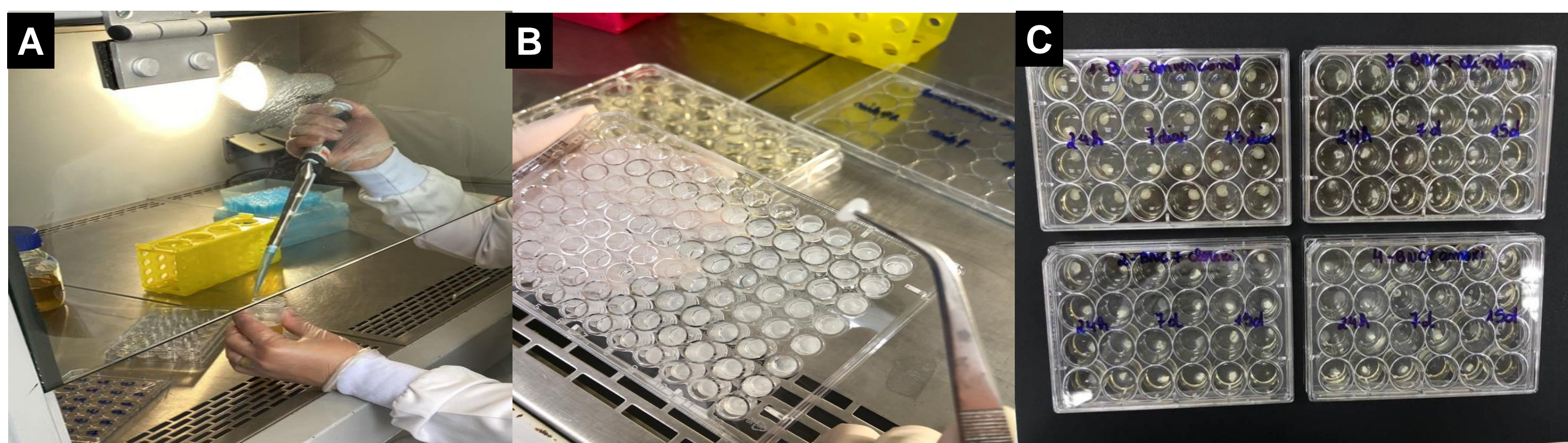


Figura 1. (A) Placas de cultura de 24 poços sendo preenchidas com 1,5 mL/poço de meio de crescimento, inoculado com a cultura multiespécie (B) BNCs sintetizadas e impregnadas com diferentes antimicrobianos. (C) Placas de cultura multiespécie com membranas dos grupos experimentais posicionadas nos poços.

Resultados

Tabela 1. Valores médios (log10) e desvio padrão (DP) de UFCs/mL correspondente às bactérias viáveis aderidas às membranas incorporadas com diferentes antimicrobianos, nos períodos de 24h, 7 e 14 dias.

Grupo	Log UFCs/mL \pm DP		
	24 horas	7 dias	15 dias
BNC/C	7,35 \pm 0,22 ^{aA}	8,08 \pm 0,04 ^{abA}	8,63 \pm 0,2 ^{bA}
BNC/CHX	7,04 \pm 0,22 ^{aA}	8,08 \pm 0,03 ^{bA}	8,49 \pm 0,23 ^{bA}
BNC/CLIN	6,05 \pm 0,21 ^{aB}	7,85 \pm 0,04 ^{bA}	8,33 \pm 0,24 ^{bA}
BNC/AMOX	4,04 \pm 0,18 ^{aC}	7,9 \pm 0,03 ^{Ba}	8,41 \pm 0,25 ^{bA}

Letras minúsculas diferentes na mesma linha e letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa.

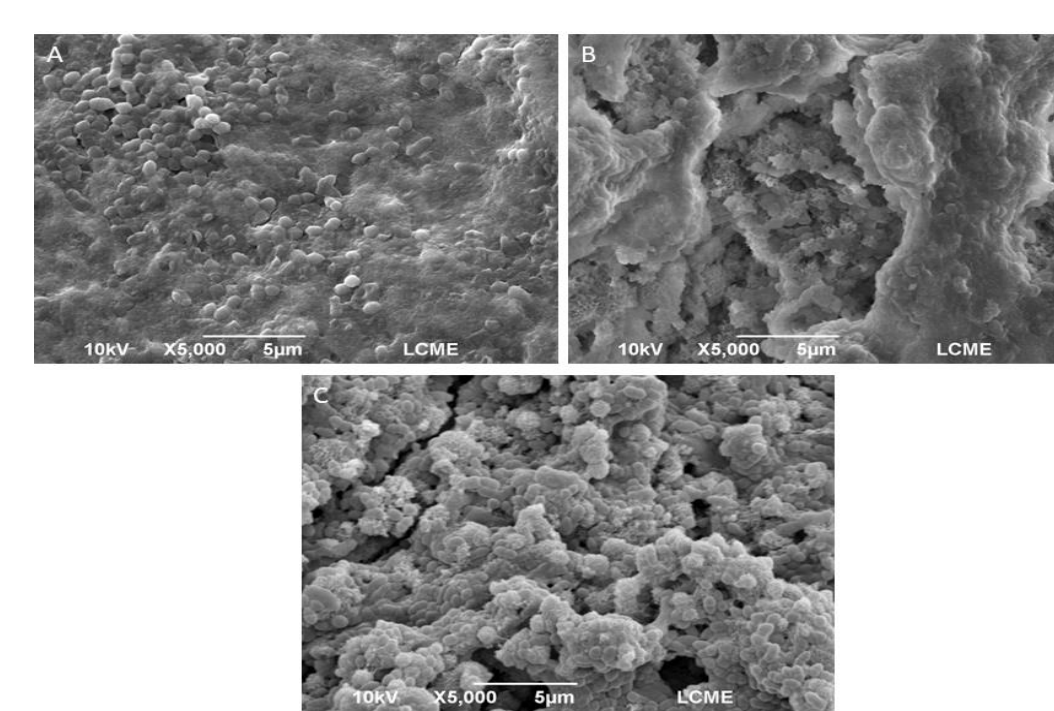


Figura 2. Fotomicrografias em MEV dos microrganismos aderidos as membranas do grupo controle nos períodos de 24h (a), 7 dias (b) e 15 dias (c).

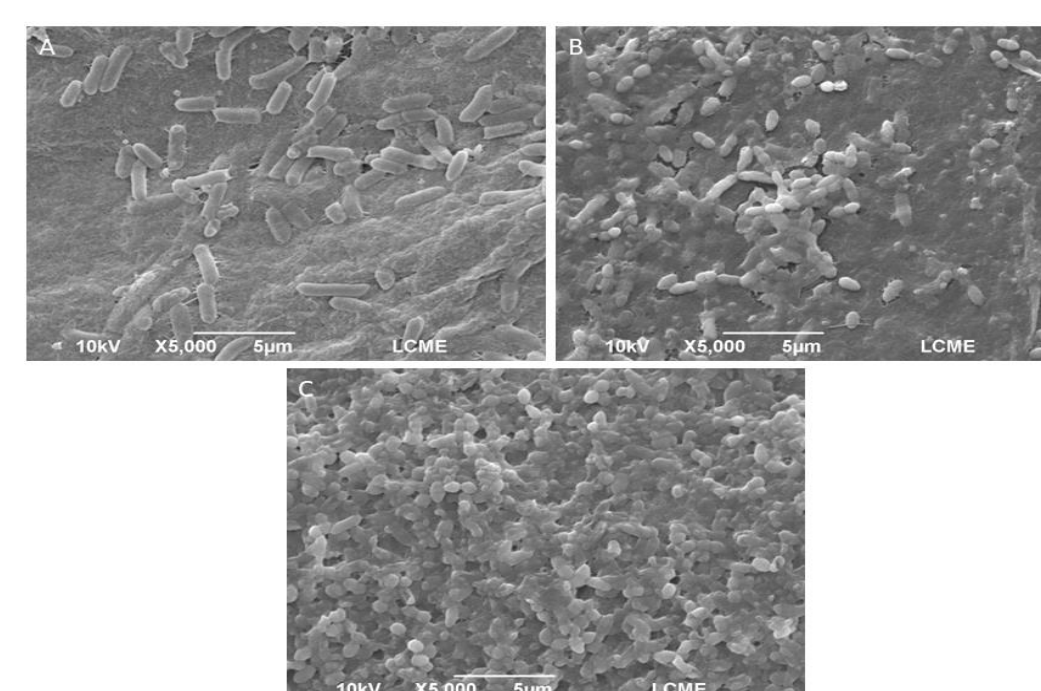


Figura 3. Fotomicrografias em MEV dos microrganismos aderidos as membranas incorporadas com clorexidina nos períodos de 24h (a), 7 dias (b) e 15 dias (c).

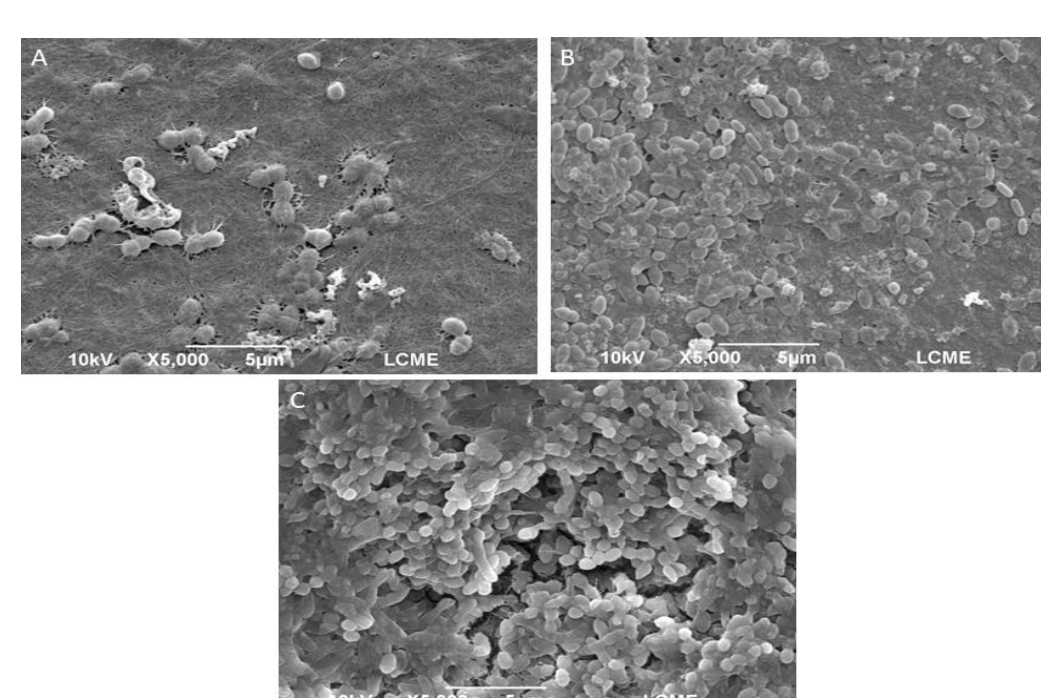


Figura 4. Fotomicrografias em MEV dos microrganismos aderidos as membranas incorporadas com clindamicina nos períodos de 24h (a), 7 dias (b) e 15 dias (c).

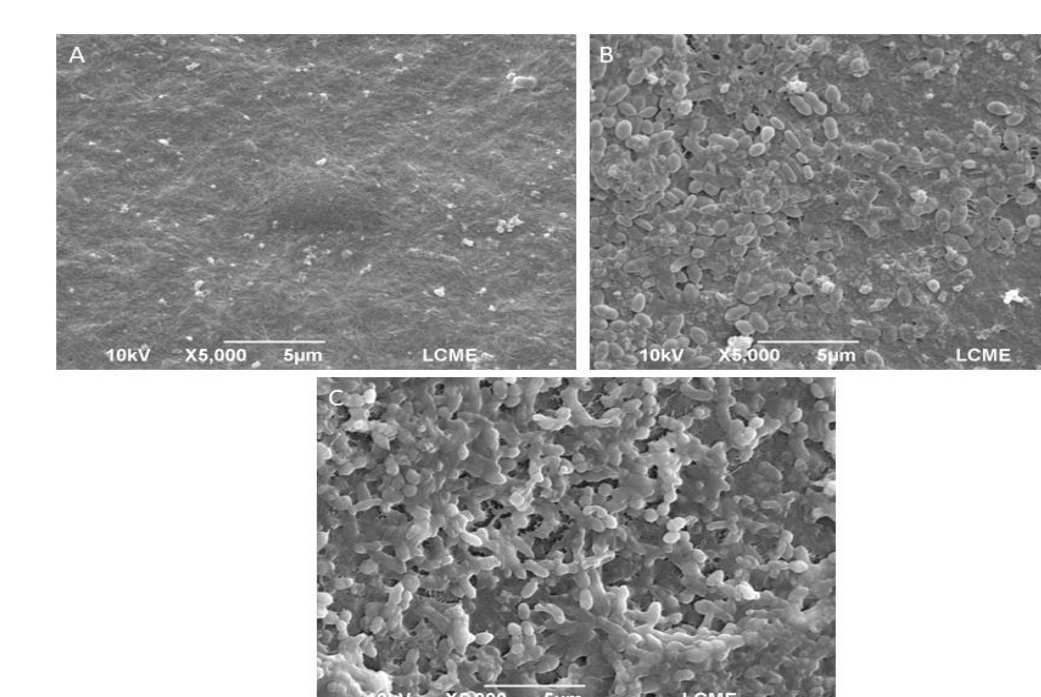


Figura 5. Fotomicrografias em MEV dos microrganismos aderidos as membranas incorporadas com amoxicilina nos períodos de 24h (a), 7 dias (b) e 15 dias (c).

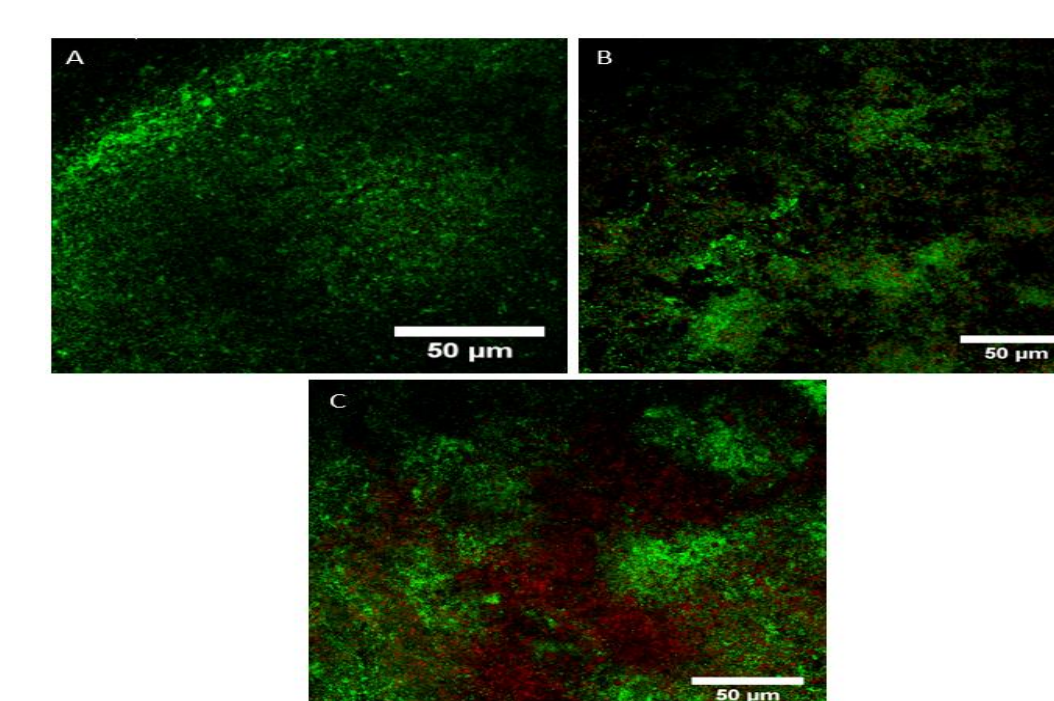


Figura 6. Fotomicrografias em Confocal dos microrganismos aderidos as membranas do grupo controle nos períodos de 24h (a), 7 dias (b) e 15 dias (c).

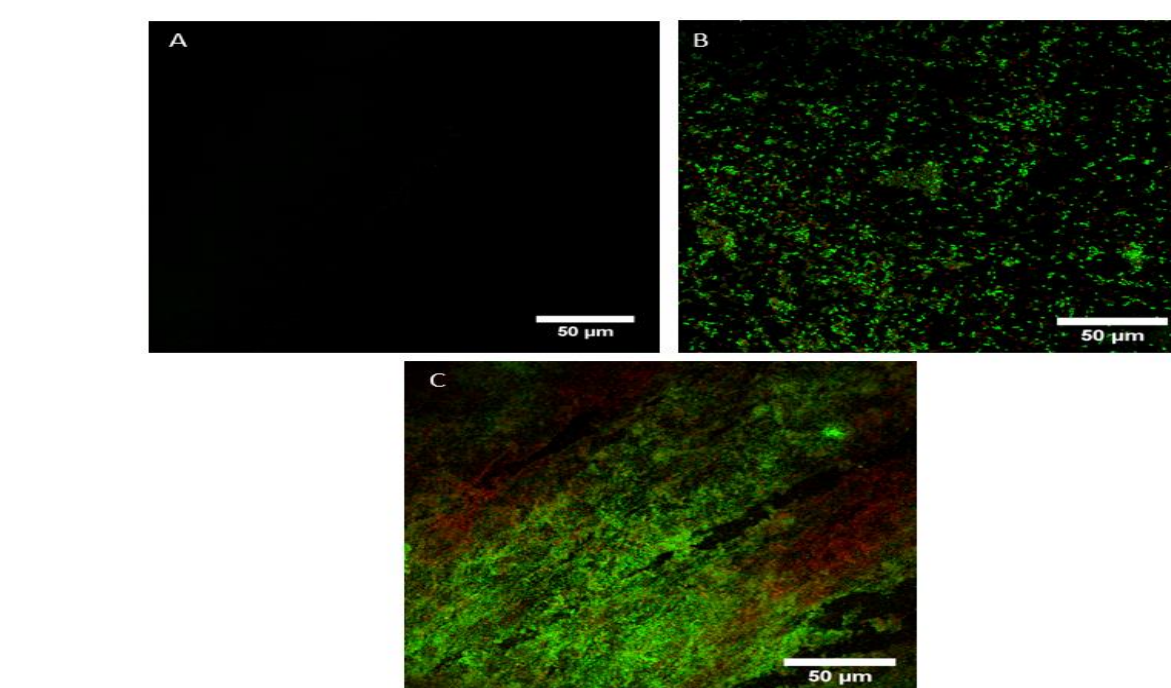


Figura 7. Fotomicrografias em Confocal dos microrganismos aderidos as membranas incorporadas com clorexidina nos períodos de 24h (a), 7 dias (b) e 15 dias (c).

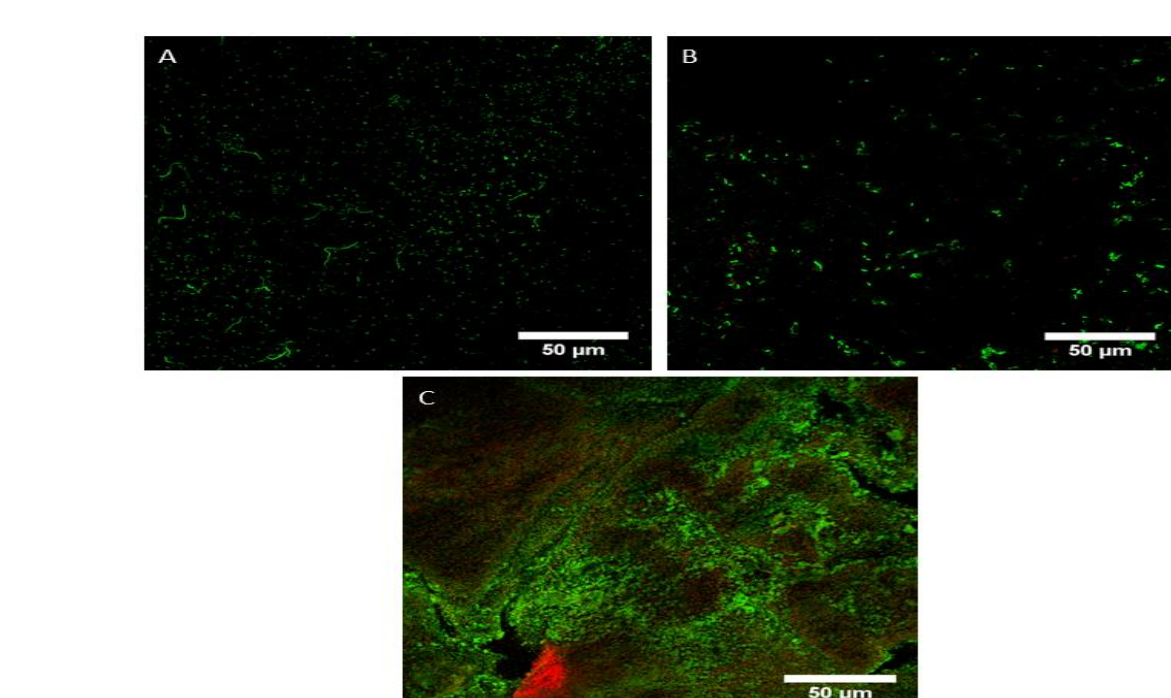


Figura 8. Fotomicrografias em Confocal dos microrganismos aderidos as membranas incorporadas com clindamicina nos períodos de 24h (a), 7 dias (b) e 15 dias (c).

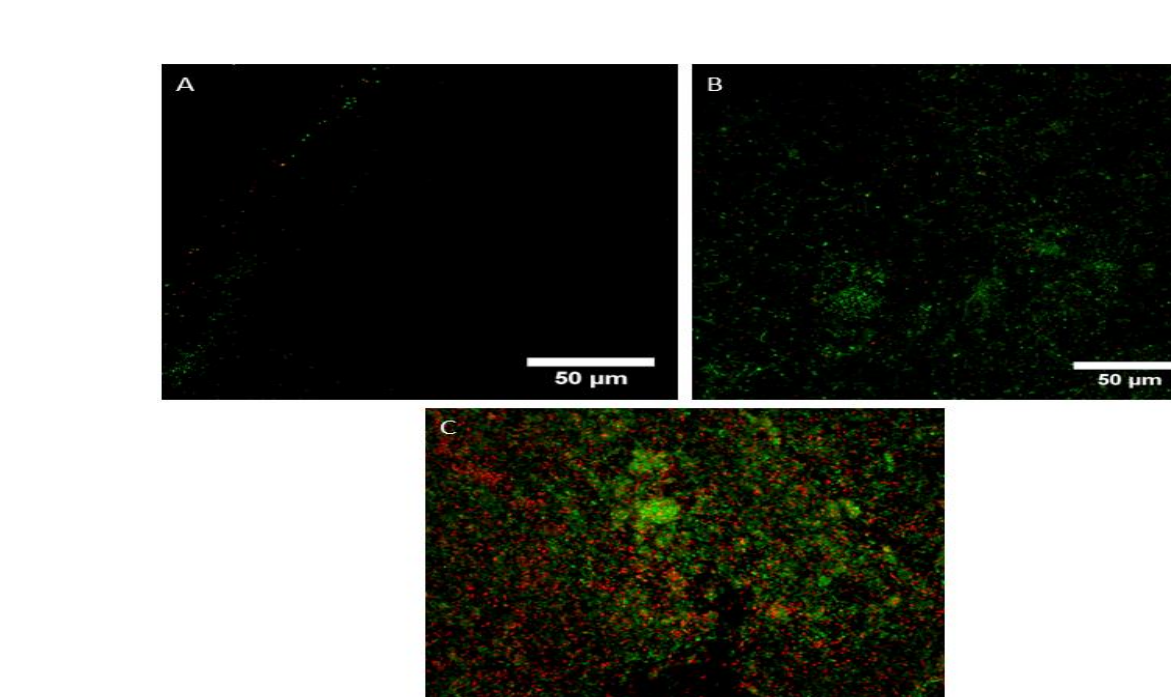


Figura 9. Fotomicrografias em Confocal dos microrganismos aderidos as membranas incorporadas com amoxicilina nos períodos de 24h (a), 7 dias (b) e 15 dias (c).

Referencial Bibliográfico

American Association of Endodontic. Considerations for regenerative procedures [Internet]. Available at: <http://www.aae.org/clinical-resources/regenerative-endodontics/considerations-for-regenerative-procedures.aspx>. 2015.

Matoug-Elwerfelli M, Nazzari H, Duggal M, El-Gendy R. What the future holds for regenerative endodontics: novel antimicrobials and regenerative strategies. Eur Cell Mater 2021.

Althumairy RI, Teixeira FB, Diogenes A. Effect of dentin conditioning with intracanal medicaments on survival of stem cells of apical papilla. J Endod 2014.

Sequeira DB, Oliveira AR, Seabra CM, Palma PJ, Ramos C, Figueiredo MH, et al. Regeneration of pulp-dentin complex using human stem cells of the apical papilla: in vivo interaction with two bioactive materials. Clin Oral Investig. 2021;25(9):5317-5329.

Cesca K. Sistema de liberação de fármaco desenvolvido em matriz de nanocelulose bacteriana para o tratamento da recidiva de câncer de mama. [Tese]. Florianópolis [SC]: Universidade Federal de Santa Catarina; 2016.

Kichler V, Teixeira LS, Prado MM, Colla G, Schuldt DPV, Coelho BS, et al. A novel antimicrobial-containing nanocelulose scaffold for regenerative endodontics. Restor Dent Endod 2021.

Bottino MC, Kamocki K, Yassen GH, Platt JA, Vail MM, Ehrlich Y, et al. Bioactive nanofibrous scaffolds for regenerative endodontics. J Dent Res 2013.

Di Santi BT, Ribeiro MB, Endo MS, Gomes BPF de A. Avaliação da suscetibilidade antimicrobiana de bactérias anaeróbicas facultativas isoladas de canais radiculares de dentes com insucesso endodôntico frente aos antibióticos de uso sistêmico. Rev odontol UNESP [Internet]. 2015.

Ruparel NB, Teixeira FB, Ferraz CC, Diogenes A. Direct effect of intracanal medicaments on survival of stem cells of the apical papilla. J Endod 2012.

Conclusão

BNC/AMOX demonstrou atividade antibiofilme eficiente contra *E. faecalis*, *A. naeslundii* e *S. sanguinis* em 24h. Contudo, ao longo do período experimental, todas as membranas permitiram o crescimento bacteriano.



Apoio Financeiro: Próciência