

FERNANDA FRAGOSO FERREIRA DE MELO

**Resposta tecidual a tubos de dentina irrigados com nanopartícula de prata na
concentração de 23ppm ou hipoclorito de sódio a 2,5%**

ARAÇATUBA – SP

2011

FERNANDA FRAGOSO FERREIRA DE MELO

**Resposta tecidual a tubos de dentina irrigados com nanopartícula de prata na
concentração de 23ppm ou hipoclorito de sódio a 2,5%**

Trabalho de Conclusão de Curso como
parte dos requisitos para a obtenção do
título de Bacharel em Odontologia da
Faculdade de Odontologia de Araçatuba,
Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho”.

Orientador: Prof. João Eduardo Gomes Filho

ARAÇATUBA – SP

2011

Dedicatória

Dedico este trabalho aos meus pais, Rosa e José Luiz, à minha Avó Maria, e às minhas irmãs, Christina, Julia e Giovanna pelo carinho e, constante presença e apoio nos bons e maus momentos, por sempre me fazer sentir perto de todos mesmo muito distante de casa, e incansável apoio ao longo dos últimos seis anos.

Agradecimentos

Ao Professor João Eduardo por ter dado a oportunidade e satisfação de orientar em meu trabalho de conclusão de curso, quem ensinou e contribuiu ao meu conhecimento intelectual e científico.

Aos meus amigos Luana Godoy, Sara Pacanaro, Fernando Silva e Karina Tendoro por ter nos tornado uma equipe durante os trabalhos realizados em laboratório. À Simone Watanabe e Professor Luciano Cintra, por seu apoio e auxílio durante o processo de elaboração deste trabalho.

À Ermelinda e Nelci pelo auxílio na confecção das lâminas e as técnicas de laboratório no desenvolvimento do projeto.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pela concessão de bolsa de iniciação científica e pelo apoio financeiro para a realização da pesquisa.

À Universidade Estadual Paulista, pela oportunidade de realização do curso de graduação.

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis”. ***José de Alencar***

MELO, FFF. Resposta tecidual a tubos de dentina irrigados com nanopartícula de prata na concentração de 23ppm ou hipoclorito de sódio a 2,5%. Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2011.

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar a resposta tecidual frente ao implante de tubos de dentina irrigados com dispersão de nanopartículas de prata ou hipoclorito de sódio a 2,5% em tecido subcutâneo de ratos. Foram utilizados 30 ratos, os quais receberam individualmente dois implantes de tubos de dentina bovina irrigados com dispersão de nanopartículas de prata na concentração 23ppm, hipoclorito de sódio a 2,5%, ou soro fisiológico, este último como controle. Os períodos de avaliação foram de 7 e 30 dias. Após cada período pós-operatório, 15 animais foram sacrificados e os tubos de dentina juntamente com o tecido que o circunda foram removidos, fixados e processados para análise em microscopia de luz, com inclusão em glicol metacrilato, cortes seriados de 3 μ m e coloração por HE. O critério de avaliação foi de 0: nenhuma ou poucas células e nenhuma reação; 1: menos de 25 células e reação leve; 2: entre 25 e 125 células e reação moderada; 3: 125 ou mais células e severa reação. Cápsula fibrosa foi considerada fina quando < 150 μ m e espessa quando > 150 μ m. Necrose foi registrada como presente ou ausente. Os dados obtidos foram analisados pelo teste Kruskal Wallis. Nos três grupos observou-se uma fina cápsula fibrosa e infiltrado inflamatório discreto principalmente no período de 30 dias. Este estudo concluiu que a dispersão de Nanopartículas de Prata foi biocompatível quando comparada com a solução de Hipoclorito de Sódio, mas outros estudos são necessários para melhor analisar as propriedades deste material e confirmar os dados observados.

Palavras-chave: Biocompatibilidade. Nanopartícula de prata. Solução Irrigadora.

MELO, FFF. Tissue response to dentine tubes irrigate with 23ppm silver nanoparticles or 2.5% sodium hypochlorite. UNESP - São Paulo State University, Araçatuba, 2011.

Abstract

The aim of this study was to evaluate the tissue response to implanted dentine tubes irrigated with silver nanoparticles dispersion or 2.5% sodium hypochlorite. Thirty rats will individually received two dentine tubes irrigated with 23ppm silver nanoparticles dispersion, 2.5% sodium hypochlorite or saline as controle. The observation periods were 7 and 30 days. After each period of time, fifteen animals were killed and the tubes and surrounding tissue removed, fixed and prepared to be analyzed in light microscope with glycol methacrylate embedding, 3 μm serial cutting and HE staining. Scores were defined as follows: 0, none or few inflammatory cells, no reaction; 1, <25 cells, mild reaction; 2, 25 to 125 cells, moderate reaction; 3, >125 cells, severe reaction. Fibrous capsule was categorized as “thin” when thickness was < 150 μm and “thick” at > 150 μm . Necrosis and formation of calcification were recorded. The data were statistically analyzed using Kruskal Wallis test. All groups showed a thin fibrous capsule and mild inflammatory infiltrate specially on the 30th day. This study concluded that the dispersion of silver nanoparticles was biocompatible when compared with sodium hypochlorite solution, but further studies are needed to better analyze the properties of this material and confirm the data observed.

Key words: Biocompatibility. Silver nanoparticles. Irrigating solution.

Lista de Figuras

Figura 1A	Tricotomia da região dorsal	15
Figura 1B	Anti-sepsia com iodo 5%	15
Figura 1C	Incisão	15
Figura 1D	Divulsão	15
Figura 1E	Tubo sendo levado em posição	15
Figura 1F	Sutura	16
Figura 2	Esquema ilustrativo do local de implantação do tubo de dentina em tecido conjuntivo subcutâneo e sua relação com estruturas anexas	16
Figura 3 A,B	Nanopartícula de Prata 23 ppm 7 dias	20
Figura 3 C,D	Nanopartícula de Prata 23 ppm 30 dias	20
Figura 3 E,F	Hipoclorito de Sódio 2,5% 7 Dias	20
Figura 3 G,H	Hipoclorito de Sódio 2,5% 30 dias	20
Figura 3 I,J	Soro 7 dias	20
Figura 3 K,L	Soro 30 dias	20

Lista de Tabelas

Tabela 1 -	Definição dos grupos experimentais	17
Tabela 2 –	Resultados dos grupos experimentais	18

Sumário

Introdução	10
Proposição	13
Materiais e métodos	14
Resultados	18
Discussão	22
Conclusão	24
Referências	25
Anexos	31

Introdução

O papel essencial dos microrganismos no desenvolvimento das patologias pulpares e periapicais tem sido demonstrado em modelos animais e em humanos (Kakehashi et al., 1965; Moller et al., 1981; Sundqvist, 1992). A eliminação dos microrganismos de canais infectados se mostra muitas vezes como uma tarefa extremamente difícil. Inúmeros métodos foram descritos para se tentar eliminar os microrganismos do sistema de canais radiculares, incluindo técnicas de instrumentação, regimes de irrigação e medicamentos intra-canal.

A literatura não evidencia que a instrumentação mecânica isoladamente seja capaz de eliminar completamente as bactérias do sistema de canais radiculares (Bystrom & Sundqvist, 1981) em função de sua complexa anatomia (Hess, 1925; Peters et al., 2001). É possível acreditar que qualquer remanescente pulpar deixado no sistema de canais radiculares possa servir como nutriente bacteriano e manter um estado patológico, bem como, impedir que os medicamentos e irrigantes atinjam seu máximo poder bactericida, sendo necessário o estudo constante de novas alternativas de soluções e técnicas de irrigação que consigam eliminar o máximo de microrganismos do endodonto.

Das soluções irrigadoras indicadas para casos de necrose e contaminação pulpar, as soluções de hipoclorito de sódio são as mais utilizadas, devido a sua ação antimicrobiana (Jeansonne et al., 1994; Kuruvilla et al., 1998; Estrela et al., 2003; Gomes et al., 2001; Siqueira et al., 2000; Gordon et al., 1981) e capacidade de dissolução de tecido orgânico (Gordon et al., 1981; Yang et al., 1995). Embora essas propriedades sejam importantes, o hipoclorito de sódio provoca severa reação inflamatória no tecido subcutâneo e periapical (Gomes-Filho et al., 2008; Kuruvilla et al., 1998) que pode resultar em complicações quando injetado acidentalmente nos tecidos (Ehrich et al., 1993; Hülsmann et al., 2000). A citotoxicidade do hipoclorito de sódio está provavelmente relacionada ao pH alcalino e a formação de ácido hipocloroso (HOCl), quando em contato com os tecidos (Gomes-Filho et al., 2008; Estrela et al., 2002).

Recentemente, tem se dado ênfase à nanopartícula de prata como um agente antimicrobiano. Nanotecnologia envolve a criação e manipulação de materiais em nano escala para criar produtos que exibam novas propriedades podendo ter um impacto na vida humana e no ecossistema. A prata é um metal conhecido por seu largo espectro antimicrobiano contra

bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, fungos, protozoários e certos vírus (Balazs et al., 2004), incluindo cepas antibiótico-resistentes (Melaiye, 2005; Stobie et al., 2008) e *S. aureus* e *Enterococcus* (Jia et al., 2007; Roe et al., 2008) comuns na flora do canal radicular. Pode ser usado para reduzir infecções no tratamento de áreas queimadas (Parikh et al., 2005; Ulkur et al., 2005), para prevenir a colonização bacteriana em dispositivos médicos (Panáček et al., 2006; Rupp et al., 2004; Samuel & Guggenbichler, 2004; Strathmann & Wingender, 2004; Ohashi et al., 2004; Bosetti et al., 2002), bem como, em fibras de tecidos (Panáček et al., 2006; Imazato et al., 1998) e para o tratamento de água (Chou et al., 2005).

Entretanto, a prata nos diversos modos de aplicação deve ser utilizada com cautela, uma vez que sua toxicidade é dependente da concentração. (Braydich-Stolle et al. 2007), avaliaram a suscetibilidade de uma linhagem de espermatogônias de camundongos em um modelo *in vitro* para avaliar a nanotoxicidade da prata. Observaram que a concentração de nanopartículas de prata entre 5 g/mL e 10 g/mL induziram necrose ou apoptose das células. Além disso, o acúmulo de metais pesados no meio ambiente tem sido considerado inapropriado (Harrison et al. 2007), embora, a prata não tenha sido considerada como o mais prevalente dos metais pesados (Harrison et al. 2007). As nanopartículas exercem stress oxidativo e podem causar severa peroxidação lipídica em tecido cerebral de peixes (Oberdörster, 2004).

Poucos trabalhos relatam a relação das nanopartículas com seus efeitos biológicos em modelos *in vivo*. Nanopartículas de prata e micropartículas de prata foram implantadas em músculo de ratos para observação da biocompatibilidade e observou-se um bom comportamento aos 7 e 14 dias com ambas as partículas, entretanto, aos 30 dias a resposta não foi satisfatória principalmente para a nanopartícula (Chen et al., 2007). A biocompatibilidade e toxicidade da nanopartícula de prata foram consideradas dose-dependente em modelo de embriões de peixes (Lee et al., 2007). Watari et al. (2009), relataram a importância do tamanho, da forma e das características físicas das partículas para a sua reatividade tecidual, observando que a transição da bioreatividade das partículas ocorre nos tamanhos críticos de 100 μm , 10 μm e 200 nm. O tamanho foi determinado como inespecífico, ou seja, independe do material e quando menor de 10 μm tem um efeito pronunciado para as células, estimulando a fagocitose celular e inflamação tecidual. Quando a partícula era menor que 200 nm, tornava-se menos estimulativa e o reconhecimento pelo sistema imune era deficiente, podendo invadir diretamente o meio interno pela respiração ou sistema digestório e se difundir por todo o

corpo. Assim, ganha importância o estudo das nanopartículas com relação aos seus efeitos biológicos nos diferentes modos de aplicação.

Considerando-se que, embora as nanopartículas estejam sendo atualmente amplamente usadas na tecnologia moderna, há uma falta de informações a respeito das implicações de produtos que as contenham na saúde humana e no meio ambiente. Considerando-se ainda que não existam trabalhos na literatura avaliando a utilização da nanopartícula de prata em etapas do tratamento endodôntico, principalmente como solução irrigadora final após o preparo biomecânico. O objetivo deste estudo foi avaliar a resposta tecidual frente ao implante de tubos de dentina irrigados com dispersão de nanopartículas de prata a 23ppm em comparação ao hipoclorito de sódio a 2,5% em tecido subcutâneo de ratos.

Proposição

O objetivo deste estudo foi avaliar a resposta tecidual frente ao implante de tubos de dentina irrigados com dispersão de nanopartículas de prata 23 ppm em comparação ao hipoclorito de sódio a 2,5% em tecido subcutâneo de ratos.

Materiais e métodos

Materiais Experimentais

Foram empregados a dispersão de nanopartículas de prata (KHEMIA EQUIPAMENTOS TECNOLÓGICOS DE EFLUENTES LTDA., empresa de desenvolvimento e pesquisa, Cidade Universitária, São Paulo, Estado de São Paulo) na concentração de 23ppm e Hipoclorito de Sódio a 2,5% (Apoticário, Araçatuba, São Paulo.)

Teste de Biocompatibilidade

Para a realização deste trabalho, foram utilizados 30 ratos albinos Wistar, machos, entre 4 – 6 meses de idade, pesando 250 – 280g, sendo provenientes do biotério da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, UNESP. O Protocolo experimental seguiu critérios e passos de estudos previamente realizados (Gomes-Filho, 2001; Gomes-Filho et al, 2008a; Gomes-Filho et al, 2008b; Gomes-Filho et al, 2009).

Os animais foram mantidos em ambientes com temperatura entre 22°C e 24°C, com ciclo de Luz controlada (12 horas claro e 12 horas escuro) e em gaiolas coletivas, contendo seis ratos por gaiola.

No interior das gaiolas havia cama de serragem, a qual foi trocada diariamente. Esses animais foram alimentados antes e durante todo o período experimental, com ração sólida triturada e água “ad libitum”, exceto nas primeiras 12 horas pré e pós-operatórias.

Foram utilizados 60 tubos de dentina preparados a partir de raízes de dentes bovinos uniradiculares e com ápices completos. Para tanto, as coroas foram seccionadas a 7 mm do ápice radicular com auxílio de torno elétrico e disco diamantado, os remanescentes apicais foram alargados até a lima K #35, sobreinstrumentados 2mm além do forame apical e uma broca de Gates-Glidden nº2 foi utilizada em toda a extensão do tubo. Uma broca EndoZ (Dentsply Maillefer, Baillagues, Switzerland) foi utilizada para dar acabamento e deixar as paredes de dentina com aproximadamente 0,5mm conferida com régua endodôntica. Os tubos foram irrigados durante o preparo com hipoclorito de sódio e ao final inundados com EDTA a 17% para remover a “smear layer”. Os tubos foram autoclavados e mantidos em grau cirúrgico até o experimento.

Os tubos foram irrigados com 2 ml de dispersão de nanopartículas de prata a 23ppm, hipoclorito de sódio a 2,5% ou solução fisiológica (grupo controle) e implantados no tecido subcutâneo de ratos.

Foram empregados como sedativo Dopaser (Laboratórios Calier AS, Barcelona – Espanha), a base de xilazina (relaxante muscular, analgésico e sedativo) na dosagem de 10mg/Kg de peso corporal e como anestésico o Vertanacol (Fort Dodge, Iowa – EUA), a base de cloridrato de ketamina a 5% na dosagem de 25mg/Kg de peso corporal.

Para a realização das intervenções cirúrgicas, os animais foram inicialmente pesados, sedados com injeção intramuscular de Dopaser, e em seguida anestesiados com Vertanacol. O período de trabalho com cada animal não ultrapassou 5 minutos e para não haver necessidade de complementação anestésica.

Após a anestesia, foi feita a tricotomia da região dorsal e a lavagem da área com a finalidade de se evitar contaminação do campo cirúrgico pela presença de pêlos. A anti-sepsia da área desprovida de pêlos foi efetuada esfregando por dois minutos com gaze em solução de iodo 5%.

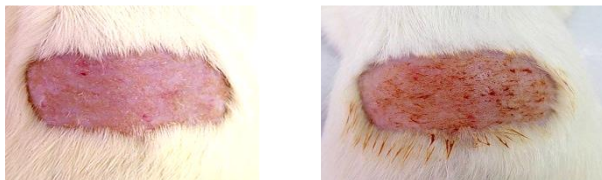


Fig. 1A Tricotomia da região dorsal Fig. 1B- Anti-sepsia com iodo 5%

Em seguida, iniciou o procedimento cirúrgico, fazendo-se uma incisão com lâmina de bisturi número 15, no dorso do animal, (tendo a coluna vertebral como linha média de marcação).



Fig.1C- Incisão
levado em posição

Fig.1D- Divulsão

Fig.1E- Tubo sendo

Após a divulsão do tecido subcutâneo foi criada uma bolsa do lado direito e outra do lado esquerdo da linha média e cada bolsa recebeu 1 tubo levado em posição com auxílio de pinça reta.

Assim, cada animal recebeu dois implantes de tubos de dentina que receberam o mesmo tratamento. O tecido foi suturado com fio de seda (4,0) não reabsorvível e anti-sepsia final foi realizada com solução de iodo 5%.

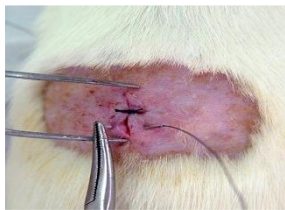


Fig. 1F- Sutura

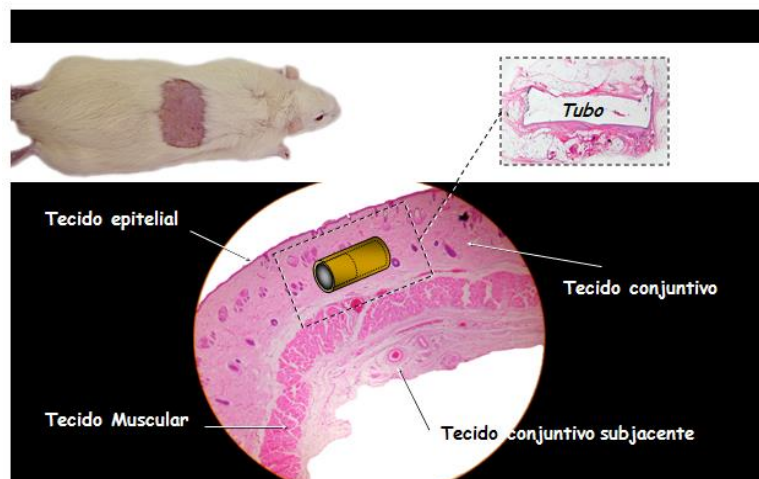


Fig. 2. Esquema ilustrativo do local de implantação do tubo de dentina em tecido conjuntivo subcutâneo e sua relação com estruturas anexas.

Os animais foram acompanhados até se recuperarem da anestesia antes de retornarem ao biotério.

Grupos Experimentais

Os grupos experimentais e controle foram definidos da seguinte maneira:

		n
Grupo 1:	Nanopartícula de prata a 23 ppm	10
Grupo 2:	Hipoclorito de sódio 2,5 %	10
Grupo 3:	Soro fisiológico (grupo controle)	10

Tabela 1: Definição dos Grupos Experimentais

Os períodos de avaliação foram de 7 e 30 dias. A cada tempo experimental, cinco animais foram sacrificados por meio de uma dose excessiva de anestésico (cloridrato de ketamina). Após o sacrifício, foi realizada novamente uma tricotomia da região dorsal, e anti-sepsia da área com solução de iodo 5%. Logo após, foi realizada uma nova incisão com lâmina de bisturi número 15, tendo a coluna vertebral como linha média de marcação, os tubos foram localizados e removidos juntamente com os tecidos que os envolvem e foram fixados em solução formalina 10% pH 7. A descalcificação das peças foi feita com uso de solução de ácido fórmico e citrato de sódio e foram processadas e incluídas em glicol metacrilato (GMA) (Gomes-Filho et al, 2001), cortadas seriadamente em 3 μ m para serem coradas com hematoxilina e eosina.

A análise histomorfológica qualitativa do processo inflamatório consistiu na descrição dos fenômenos inflamatórios observados microscopicamente nos cortes teciduais representativos de cada grupo e tempos pós-operatórios.

A análise quantitativa foi realizada por meio da atribuição de escores, graduando a importância dos fenômenos microscópicos observados separadamente. Foi realizada a determinação das condições microscópicas das estruturas examinadas, em itens distintos, e avaliadas sob a forma de escores de 0 a 3, para resposta inflamatória. Cápsula fibrosa foi considerada fina quando $< 150\mu$ m e espessa quando $> 150\mu$ m. Necrose foi registrada como presente ou ausente (American National Standards Institute, 1979; Costa et al, 2000; Federation Dentaire International, 1980; Ozbas et al, 2003; Yaltirik et al, 2004; Gomes-Filho

et al, 2009). Possibilitando, dessa maneira, dados objetivos para uma análise estatística posterior com teste de Kruskal Wallis.

Resultados

O critério de avaliação histológica foi de 0 a 3 em função da quantidade de células inflamatórias, a cápsula fibrosa foi considerada fina ou espessa e necrose foi registradas como presente ou ausente. Os resultados foram analisados estatisticamente pelo teste Kruskal Wallis.

Escore (E)

0 – Nenhuma reação = nenhuma ou pouca célula.

1 – Leve = menos de 25 células.

2 – Moderado = 25-125 células.

3 – Severo = 125 ou mais células.

Tratamento	7 dias (escore)	30 dias (escore)
Solução Fisiológica (grupo controle)	1	1
Hipoclorito de Sódio 2,5 %	1	1
Nanopartícula de Prata 23 ppm	1	1

Tabela 2 : Resultados dos grupos experimentais

Nanopartícula de prata 23ppm

Nos períodos de 7 e 30 dias houve um infiltrado celular inflamatório leve composto de linfócitos e macrófagos e uma fina cápsula fibrosa perto do tubo de dentina. (Fig.3A, 3B, 3C e 3D)

Hipoclorito de sódio 2.5%

Nos períodos de 7 e 30 dias houve um infiltrado inflamatório leve com poucas células inflamatórias crônicas composto por linfócitos, macrófagos e fibroblastos. E uma fina cápsula fibrosa perto do tubo. (Fig. 3E, 3F, 3G e 3H)

Solução Fisiológica- Controle

Nos períodos de 7 e 30 dias houve um infiltrado celular inflamatório leve composto por linfócitos e macrófagos. Uma fina cápsula fibrosa perto do tubo. (Fig.3I, 3J, 3K e 3L)

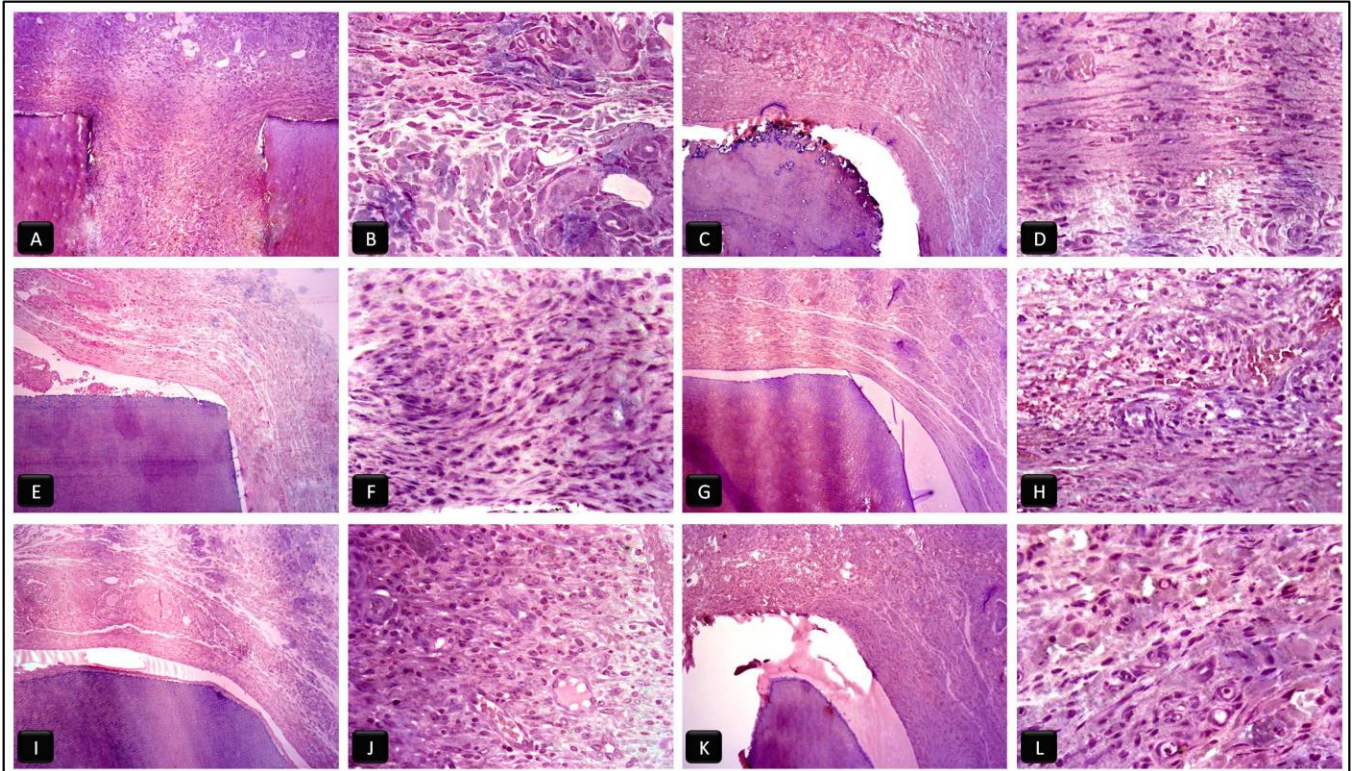


Figura 3 A,B: Nanopartícula de Prata 23 ppm em 7 dias: Cápsula fibrosa fina e infiltrado celular inflamatório leve consistindo de linfócitos e macrófagos (hematoxilina e eosina, 10x e 40x respectivamente),

Figura 3 C,D: Nanopartícula de Prata 23 ppm em 30 dias: Tecido mais organizado com poucas células inflamatórias (hematoxilina e eosina, 10x e 40x respectivamente).

Figura 3 E,F: Hipoclorito 2,5% em 7 dias: Cápsula fibrosa fina e infiltrado celular inflamatório leve consistindo de linfócitos e macrófagos (hematoxilina e eosina, 10x e 40x respectivamente)

Figura 3 G,H: Hipoclorito 2,5% em 30 dias: Tecido mais organizado com poucas células inflamatórias (hematoxilina e eosina, 10x e 40x respectivamente).

Figura 3 I,J: Soro em 7 dias: Cápsula fibrosa fina e infiltrado celular inflamatório leve consistindo de linfócitos e macrófagos (hematoxilina e eosina, 10x e 40x respectivamente),

Figura 3 K,L: Soro em 30 dias: Tecido mais organizado com poucas células inflamatórias (hematoxilina e eosina, 10x e 40x respectivamente).

Discussão

Comparando os grupos nos períodos de 7 e 30 dias, não houve diferença estatisticamente significativa ($P < 0,05$) entre os escores dos diferentes grupos (pontuação mediana, 1).

Biofilmes são definidos como comunidades de bactérias que colonizam as superfícies em um ambiente aquoso. A formação de biofilme ocorre como resultado de uma sequência de eventos: fixação da superfície microbiana, proliferação celular, produção de matriz e adesão (Gomes-Filho et al, 2010; Monteiro et al, 2009).

A Infecção endodôntica é uma infecção de biofilmes-mediada, e o sucesso do tratamento endodôntico depende da efetiva eliminação do biofilme bacteriano a partir do sistema de canais radiculares (Annie Shrestha et al, 2010). Resistência de placa bacteriana a substâncias presentes, como o hipoclorito de sódio e clorexidina é devido a fatores inerentes e microbiológica da complexa anatomia do sistema de canais radiculares (Annie Shrestha et al, 2010). E o modo de crescimento bacteriano do biofilme é um dos processos adaptativos que permitem que as bactérias sobrevivam no ambiente em nutrientes semelhantes aos canais radiculares tratados (Annie Shrestha et al, 2010; Kishen et al, 2008).

Nanopartículas exibem maior atividade antibacteriana, como resultado de suas policatiônicas / polianiónico natureza com maior área superficial e densidade de carga, resultando em maior grau de interação com a célula bacteriana .

Agentes antimicrobianos de prata foram estudados como uma estratégia alternativa para a redução da adesão bacteriana e impedir a formação de biofilmes. Experimentos antibacteriano tem demonstrado que a prata é efetiva contra uma ampla gama de células bacterianas e biofilmes maduros, no entanto, a concentração é um fator importante.

O presente trabalho sugere que a prata elementar e nanopartícula de prata em polímeros podem constituir eficazes biomateriais antimicrobianos para uma variedade de aplicações promissoras (Gomes-Filho et al, 2010; Monteiro et al, 2009).

O objetivo deste estudo foi avaliar a biocompatibilidade da dispersão de Nanopartícula de prata, para possível uso como uma solução de irrigação no tratamento de

canal, já que não há nenhum estudo sobre este material no domínio endodôntico. Dispersão de nanopartículas de prata foi comparado com a solução de hipoclorito de sódio pois é amplamente utilizado como irrigante endodôntico.

Os metais têm sido usados durante séculos como agentes antimicrobianos e compostos de prata têm sido amplamente estudados em comparação com outros metais, por causa de suas ações antibacteriana, antifúngica e antiviral (Monteiro et al,2009; Allaker ,2010; Elechiguerra et al, 2005). O uso de íons de prata tem sido considerada para uma série de aplicações biomédicas, incluindo, dentro da área odontológica, como um componente antibacteriano em compósitos odontológicos (Allaker, 2010; Herrera et al, 2001). A prata também é conhecido por apresentar uma forte afinidade com zeólita, um material poroso cristalinas de silicato de alumínio hidratado, que pode ligar até 40% de íons de prata dentro de sua estrutura zeólita. A prata foi incorporada à condicionadores de tecido, resinas acrílicas, e bochechos (Allaker,2010; Kawahara et al,2000; Casemiro et al,2008). Nanopartículas de prata, isolado ou como um composto com outros agentes, tem mostrado resultados positivos, especialmente como agentes antimicrobianos (Allaker, 2010; Rai et al,2009).

No presente estudo, os tubos irrigados com hipoclorito de sódio ou nanopartícula de prata induziram uma resposta inflamatória leve no início e a ligeira redução após 30 dias semelhante a estudos prévios (Gomes-Filho et al,2008; Gomes- Filho et al, 2010). O hipoclorito de sódio é um dos irrigantes endodônticos mais populares e amplamente utilizado devido à sua atividade antibacteriana e capacidade de dissolver os restos de tecido necrótico(Siqueira et al,1997; Gomes-Filho et al, 2010). O efeito antimicrobiano do hipoclorito de sódio resultado da formação do ácido hipocloroso (HOCl), quando em contato com resíduos orgânicos. HOCl exerce seu efeito pela oxidação dos grupos sulfidríla no âmbito dos sistemas de enzimas bacterianas, assim interrompendo o metabolismo microbiano (Siqueira et al,1997; Gomes-Filho et al, 2010).

Concluiu que a dispersão de nanopartícula de prata foi biocompatível quando comparado com a solução de hipoclorito de sódio, e que a dispersão nanopartícula de prata teve efeito antimicrobiano quando usado em tubos de dentina, mas outros estudos são necessários para melhor analisar o comportamento deste material e confirmar os dados observados.

Conclusão

Este estudo concluiu que a dispersão de Nanopartículas de Prata foi biocompatível quando comparada com a solução de Hipoclorito de Sódio, mas outros estudos são necessários para melhor analisar as propriedades deste material e confirmar os dados observados.

Referências

1. American National Standards Institute/Revised American National Standards Institute American Dental Association Document No. 41 For recommended standard practices for biological evaluation of dental materials (1979). New York, NY: Am National Standards Institute.
2. Annie Shrestha, Shi Zhilong, Neoh Koon Gee, Anil Kishen. Nanoparticulates for Antibiofilm Treatment and Effect of Aging on Its Antibacterial Activity. *J Endod* 2010;36:1030–1035.
3. Balazs DJ, Triandafillu K, Wood P, Chevolut Y, van Delben C, Harms H, et al. Inhibition of bacterial adhesion on PVC endotracheal tubes by RF-oxygen glow discharge, sodium hydroxide and silver nitrate treatments. *Biomaterials* 2004;25:2139–51.
4. Bosetti M, Massè A, Tobin E, Cannas M. Silver coated materials for external fixation devices: in vitro biocompatibility and genotoxicity. *Biomaterials* 2002;23:887–92.
5. Braydich-Stolle L, Hussain S, Schlager JJ, Hofmann MC. In vitro cytotoxicity of nanoparticles in mammalian germline stem cells. *Toxicol Sci* 2005;88:412–9.
6. Bystrom A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scand J Dent Res* 1981 89: 321-328.
7. Casemiro LA, Gomes-Martins CH, Pires-de-Souza FdeC, Panzeri H (2008). Antimicrobial and mechanical properties of acrylic resins with incorporated silver-zinc zeolite - Part 1. *Gerodontology* 25:187-194.
8. Chen D, Xi T, Bai J. Biological effects induced by nanosilver particles: in vivo study. *Biomed Mater*. 2007 Sep;2(3):S126-8.
9. Chou WL, Yu DG, Yang MC. The preparation and characterization of silverloading cellulose acetate hollow fiber membrane for water treatment. *Polym Adv Technol* 2005;16:600–7.
10. Costa CAS, Teixeira HM, Nascimento ABL, Hebling J (). Biocompatibility of two current adhesive resins. *J of Endodon* 200026:512–6.

11. Ehrlich DG, Brian JD Jr, Walker WA. Sodium hypochlorite accident: inadvertent injection into the maxillary sinus. *J Endod* 1993;19:180-2.
12. Elechiguerra JL, Burt JL, Morones JR, Camacho-Bragado A, Gao X, Lara HH, *et al.* (2005). Interaction of silver nanoparticles with HIV-1. *J Nanobiotechnol* 3:6.
13. Estrela C, Estrela CR, Barbin EL, Spanó JC, Marchesan MA, Pécora JD. Mechanism of action of sodium hypochlorite. *Braz Dent J* 2002;13:113-7.
14. Estrela C, Ribeiro RG, Estrela CR, Pécora JD, Sousa-Neto MD. Antimicrobial effect of 2% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine tested by different methods. *Braz Dent J* 2003;14:58-62.
15. Federation Dentaire International Recommended standart practices for biological evaluation of dental materials. Federation Dentaire International Commission on Dental Materials, Equipment, and Therapeutics. (1980) Part 4.11: Subcutaneous implantation test. *International Dental Journal* 30:173-4.
16. Gomes BP, Ferraz CC, Vianna ME, Berber VB, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J* 2001;34:424-8.
17. Gomes Filho JE, Gomes BPF, Zaia AA, Novaes PD, Souza Filho FJ. Glycol Methacrylate: An alternative method for embedding subcutaneous implants. *J Endodon* 2001;27:266-8.
18. Gomes-filho JE, Aurélio KG, Costa MMTM, Bernabé PFE. Comparison of the biocompatibility of different root canal irrigants. *J Appl Oral Sci* 2008;16:137-44.
19. Gomes-Filho JE, Bernabé PFE, Nery MJ, Otoboni-Filho JA, Dezan-Júnior E, Costa MMTM, Faria MD, Watanabe S, Gomes AC. Reaction of rat connective tissue to a new calcium hydroxide-based sealer. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008;106:71-6.
20. Gomes-filho JE, Defaria M, Bernabe P, Nery M, Otobonifilho J, Dezanjunior E, Demoraescosta M, Cannon M. Mineral Trioxide Aggregate but not Light-cure Mineral Trioxide Aggregate Stimulated Mineralization. *J Endodon* 2008;34:62-65.
21. Gomes-Filho, J.E.; Watanabe, Simone; BERNABÉ, Pedro Felício Estrada; COSTA, Mariana Teixeira de Moraes. A Mineral Trioxide Aggregate sealer stimulated mineralization. *J Endodon* 2009;2:256-60.
22. Gordon TM, Damato D, Christner P. Solvent effect of various dilutions of sodium hypochlorite on vital and necrotic tissue. *J Endod* 1981;7:466-9.

23. Harrison JJ, Ceri H, Turner RJ. Multimetal resistance and tolerance in microbial biofilms. *Nat Rev Microbiol* 2007;5:928–38.
24. Herrera M, Carrion P, Baca P, Liebana J, Castillo A (2001). In vitro antibacterial activity of glass-ionomer cements. *Microbios* 104:141-148.
25. Hess, W. Anatomy of root canals of the teeth of the permanent dentition. Sons and Danielson Ltd, 1925.
26. Hülsmann M, Hahn W. Complications during root canal irrigation--literature review and case reports. *Int Endod J* 2000;33:186-93.
27. Imazato S, Ehara A, Torii M, Ebisu S. Antibacterial activity of dentine primer containing MDPB after curing. *J Dent* 1998;26:267–71.
28. Jeansonne MJ, White RR. A comparison of 2.0% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigants. *J Endod* 1994;20:276-8.
29. Jia H, Hou W, Wei L, Xu B, Liu X. The structures and antibacterial properties of nano-SiO₂ supported silver/zinc-silver materials. *Dent Mater.* 2008 Feb;24(2):244-9.
30. João Eduardo Gomes-Filho, Fernando Oliveira Silva, Simone Watanabe, Luciano Tavares Angelo Cintra, Karina Vanessa Tendoro, Luana Godoy Dalto, Sara Vieira Pacanaro, Carolina Simonetti Lodi, and Fernanda Fragoso Ferreira de Melo. Tissue reaction to silver nanoparticles dispersion as an alternative irrigating solution. *J Endod* 2010;36:1698–1702.
31. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposure of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1965 18: 340-348.
32. Kawahara K, Tsuruda K, Morishita M, Uchida M (2000). Antibacterial effect of silver-zeolite on oral bacteria under anaerobic conditions. *Dent Mater* 16:452-455.
33. Kishen A, Shi Z, Shrestha A, Neoh KG. An investigation on the antibacterial and antibiofilm efficacy of cationic nanoparticulates for root canal disinfection. *J Endod* 2008;34:1515–20.
34. Kuruvilla JR, Kamath MP. Antimicrobial activity of 2.5% sodium hypochlorite and 0.2% chlorhexidine gluconate separately and combined, as endodontic irrigants. *J Endod* 1998;24:472-6.

35. Lee KJ, Nallathamby PD, Browning LM, Osgood CJ, Xu XH. In vivo imaging of transport and biocompatibility of single silver nanoparticles in early development of zebrafish embryos. *ACS Nano*. 2007 Sep;1(2):133-43.
36. Melaiye A, Youngs WJ. Silver and its application as an antimicrobial agent. *Expert Opin Ther Pat* 2005;15:125–30.
37. Moller AJ, Fabricius L, Dahlen G et al. Influence on periapical tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. *Scand J Dent Res* 1981 89: 475-484.
38. Monteiro DR, Gorup LF, Takamiya AS, Ruvollo-Filho AC, Barbosa DB. The growing importance of materials that prevent microbial adhesion: antimicrobial effect of medical devices containing silver. *Int J Antimicrob Agents* 2009;34:103–10.
39. Oberdörster E. Manufactured nanomaterials (fullerenes, C60) induce oxidative stress in the brain of juvenile Largemouth Bass. *Environ Health Perspect* 2004;112:1058.
40. Ohashi S, Saku S, Yamamoto K. Antibacterial activity of silver inorganic agent YDA filler. *J Oral Rehabil* 2004;31:364–7.
41. Ozbas H, Yaltirik M, Bilgic B, Issever H () Reactions of connective tissue to compomers, composite and amalgam root-end filling materials. *Int Endod J* 2003;36:281-7.
42. Panáček A, Kvítek L, Pucek R, Kolár M, Vecerová R, Pizúrová N, et al. Silver colloid nanoparticles: synthesis, characterization, and their antibacterial activity. *J Phys Chem B* 2006;110:16248–53.
43. Parikh DV, Fink T, Rajasekharan K, Sachinvala ND, Sawhney APS, Calamari TA, et al. Antimicrobial silver/sodium carboxymethyl cotton dressings for burn wounds. *Text Res J* 2005;75:134–8.
44. Peters OA, Laib A, Gohring TN et al. Changes in root canal geometry after preparation assessed by high resolution computed tomography. *J Endod* 2001 27: 1-6.
45. R. P. Allaker. The use of nanoparticles to control oral biofilm formation. *J Dent Res* 2010;25:01-13.
46. Rai M, Yadav A, Gade A (2009). Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnol Adv* 27:76-83.

47. Roe D, Karandikar B, Bonn-Savage N, Gibbins B, Rouillet JB. Antimicrobial surface functionalization of plastic catheters by silver nanoparticles. *J Antimicrob Chemother.* 2008 Apr;61(4):869-76.
48. RuppME, Fitzgerald T, Marion N, Helget V, Puumala S, Anderson JR, et al. Effect of silver-coated urinary catheters: efficacy, cost-effectiveness, and antimicrobial resistance. *Am J Infect Control* 2004;32:445–50.
49. Samuel U, Guggenbichler JP. Prevention of catheter-related infections: the potential of a new nano-silver impregnated catheter. *Int J Antimicrob Agents* 2004;23(Suppl. 1):S75–8.
50. Siqueira JF Jr, Machado AG, Silveira RM, Lopes HP, Uzeda M. Evaluation of the effectiveness of sodium hypochlorite used with three irrigation methods in the elimination of *Enterococcus faecalis* from the root canal in vitro. *Int Endod J* 1997;30:279–32.
51. Siqueira JF Jr, Rocas IN, Favieri A et al. Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% sodium hypochlorite. *J Endod* 2000;26:331-334.
52. Stobie N, Duffy B, McCormack DE, Colreavy J, HidalgoM,McHale P, et al. Prevention of *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation using a low-temperature processed silver-doped phenyltriethoxysilane sol–gel coating. *Biomaterials* 2008;29:963–9.
53. Strathmann M, Wingender J. Use of an oxonol dye in combination with confocal laser scanning microscopy to monitor damage to *Staphylococcus aureus* cells during colonisation of silver-coated vascular grafts. *Int J Antimicrob Agents* 2004;24:234–40.
54. Sundqvist G. Ecology of the root canal flora. *J Endod* 1992 18: 427-430.
55. Ulkur E, Oncul O, Karagoz H, Yeniz E, Celikoz B. Comparison of silver-coated dressing (Acticoat), chlorhexidine acetate 0.5% (Bactigrass), and fusidic acid 2% (Fucidin) for topical antibacterial effect in methicillin-resistant staphylococcicontaminated, full-skin thickness rat burn wounds. *Burns* 2005;31:874–7.
56. Watari F, Takashi N, Yokoyama A, Uo M, Akasaka T, Sato Y, Abe S, Totsuka Y, Tohji K. Material nanosizing effect on living organisms: non-specific, biointeractive, physical size effects. *J R Soc Interface.* 2009 Jun 6;6 Suppl 3:S371-88.

57. Yaltirik M, Ozbas H, Bilgic B, Issever H. Reactions of connective tissue to mineral trioxide aggregate and amalgam. *Journal of Endodontics* 2004;30:95-9.
58. Yang SF, Rivera EM, Baumgardner KR, Walton RE, Stanford C. Anaerobic tissue-dissolving abilities of calcium hydroxide and sodium hypochlorite. *J Endod* 1995;21:613-6.

Anexos

Certificado da Aprovação da Comissão de Ética na Experimentação Animal



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Araçatuba



COMISSÃO DE ÉTICA NA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
(CEEA)

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto **"RESPOSTA TECIDUAL A TUBOS DE DENTINA IRRIGADOS COM NANOPARTÍCULAS DE PRATA A 23ppm OU HIPOCLORITO DE SÓDIO A 2,5%"** sob responsabilidade do **Prof. Ass.Dr. João Eduardo Gomes Filho** e colaborador **Fernanda Fragoso Ferreira de Melo** está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela CEEA em 26/11/2009 de acordo com o protocolo 2009-008035.

Araçatuba, 26 de Novembro de 2009

Prof.ª Adj. Tereza Cristina Cardoso da Silva
Presidente da CEEA- FOA/UNESP