



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS
MATERIAIS

INCORPORAÇÃO DE CLOREXIDINA NA HIDROXIAPATITA DOPADA COM
CÉRIO: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

Nome do Discente: Thátilla Wanessa da Silva Vieira

Nome do Orientador: Prof. Dr. Edson Cavalcanti da Silva Filho

Teresina - Piauí

2016

THÁTILA WANESSA DA SILVA VIEIRA

**INCORPORAÇÃO DE CLOREXIDINA NA HIDROXIAPATITA DOPADA COM
CÉRIO: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais da Universidade Federal do Piauí – UFPI, como requisito complementar à obtenção do título de Mestre em Ciência dos Materiais.

ORIENTADOR: PROF. DR. EDSON CAVALCANTI DA SILVA FILHO

Teresina-Piauí

2016

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Comunitária Jornalista Carlos Castello Branco
Serviço de Processamento Técnico

V657i Vieira, Thátilla Wanessa da Silva.

Incorporação de clorexidina na hidroxiapatita dopada com cério: avaliação da atividade antibacteriana / Thátilla Wanessa da Silva Vieira. -- 2016. 81 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Ciência dos Materiais) - Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2016.

" Orientação: Prof. Dr. Edson Cavalcanti da Silva Filho."

1. Fosfato de cálcio. 2. Hidroxiapatita. 3. Antisséptico. 4. Dopagem. I. Título.

CDD 615.239 9

THÁTILA WANESSA DA SILVA VIEIRA

**“INCORPORAÇÃO DE CLOREXIDINA NA HIDROXIAPATITA DOPADA
COM CÉRIO: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA”**

Dissertação submetida à coordenação do curso de Pós-graduação em Ciência dos Materiais da Universidade Federal do Piauí, como requisito para a obtenção do grau de Mestre em Ciência dos Materiais.

Aprovada em: 25/07/2016

Banca Examinadora:



Prof. Dr. Edson Cavalcanti da Silva Filho
Universidade Federal do Piauí
Orientador



Profa. Dra. Josy Antevéli Osajima
Universidade Federal do Piauí
Examinadora Interna



Prof. Dr. Cesar Antonio Viseras Iborra
Universidade de Granda/Espanha
Examinador Externo

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ

REITOR

Prof. Dr. José Arimatéia Dantas Lopes

VICE-REITOR

Prof^a. Dr^a. Nadir do Nascimento Nogueira

PRÓ-REITOR DE PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Helder Nunes da Cunha

DIRETORIA DO CENTRO DE TECNOLOGIA

Profa. Dra. Nícia Bezerra Formiga Leite

VICE-DIRETORA DO CENTRO DE TECNOLOGIA

Prof. Dr. Rafael Rocha Matias

**COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS
MATERIAIS**

Prof. Dr. Edson Cavalcanti da Silva Filho

**VICE-COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA
DOS MATERIAIS**

Prof. Dr. Bartolomeu Cruz Viana Neto

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família pelo amor, carinho e incentivo, imprescindíveis a realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

- ✓ Agradeço primeiramente a DEUS, pelo dom da vida, por me guiar e me dá sabedoria para progredir em minha carreira acadêmica;
- ✓ Aos meus pais, minha mãe Ana Moreira da Silva Vieira, ao meu pai Edivaldo da Silva Vieira e ao meu irmão Pedro Henrique, os quais me deram apoio e incentivo durante esta jornada;
- ✓ Ao meu marido Alisson Rodrigues pelo companheirismo, paciência;
- ✓ À todos meus familiares, avós, tios, por me proporcionar momentos alegres e renovadores;
- ✓ Aos meus sogros, Raimundo Nonato e Zélia Rodrigues pelo apoio e incentivo;
- ✓ Ao meu orientador, Prof. Dr. Edson Cavalcanti da Silva Filho, pela confiança em mim depositada, pela orientação e paciência;
- ✓ Aos professores Prof^ª. Dr^ª. Josy Osajima, Prof^ª. Dr^ª. Maria Rita de Moraes Chaves Santos, Prof^ª. Dr^ª. Carla Eiras, Prof. Dr. Luiz Júnior, Prof. Dr. José Milton Elias de Matos pelas contribuições diretas e indiretas para minha formação;
- ✓ Agradeço a todos os professores do programa de pós-graduação em Ciência dos Materiais pelos conhecimentos transmitidos;
- ✓ Aos amigos de projeto Carla Adriana, Ewerton, Marcos Pereira pela troca de conhecimentos, e pela grande parceria na etapa de experimentos;
- ✓ Aos amigos de grupo de pesquisa Alan Ícaro, Marcus Vinicius e Debora Aguiar, pelo companheirismo e contribuição para realização do trabalho;
- ✓ À todos do grupo de pesquisa pelo incentivo e momentos de descontração e confraternização;
- ✓ Aos funcionários e técnicos do LIMAV: Kelson, Kilson, Raimundo, Giselle, João, Elton Marks, Luciano, Heldeney e Edgar pela colaboração;

- ✓ Aos meus colegas da Turma de Mestrado: Ariane, Avilnete, Carla, Fernando, Marcos Guilherme, Marcos Araújo, José, Joany, Joyce, pela amizade, companheirismo e colaborações;
- ✓ Aos meus amigos Esley, Iara, Marli, Lorena, Tuanny, Aline, Janaína companhia, conselhos, amizade e estima.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	iv
LISTA DE TABELAS	vi
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	vii
RESUMO	ix
ABSTRACT	x
1. INTRODUÇÃO	1
REFERÊNCIAS	4
CAPÍTULO 1 - MODIFICAÇÃO DA HIDROXIAPATITA PARA APLICAÇÕES BIOMÉDICAS: UM ESTUDO PROSPECTIVO	
1. INTRODUÇÃO	9
2. PARTE EXPERIMENTAL	13
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
3.1. ARTIGOS PESQUISADOS	14
3.2. PATENTES DEPOSITADAS	26
4. CONCLUSÃO	29
CAPÍTULO 2 - INCORPORAÇÃO DE CÉRIO (Ce^{3+}) NA HIDROXIAPATIA POR DOPAGEM PARA APLICAÇÃO ANTIBACTERIANA	
1. INTRODUÇÃO	37
2. PARTE EXPERIMENTAL	41
2.1. MATERIAIS E REAGENTES	41
2.2. SÍNTESE DA HIDROXIAPATITA	41
2.3. SÍNTESE DA HIDROXIAPATITA DOPADA COM Ce^{3+}	41
2.4. INCORPORAÇÃO DA CLOREXIDINA	42
2.5. CARACTERIZAÇÕES	43

2.5.1. Difractometria de Raios X (DRX)	43
2.5.2. Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	43
2.5.3. Análise térmica.....	44
2.5.4. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e Espectroscopia de energia dispersiva (EDS)	44
2.6. TESTE ANTIBACTERIANO	44
2.6.1. Cepas Bacterianas	44
2.6.2. Preparo do Inoculo	44
2.6.3. Teste do Contato Direto	45
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
3.1. CARACTERIZAÇÃO DA HIDROXIAPATITA E DAS HIDROXIAPATITAS DOPADAS	47
3.1.1. Difractometria de Raios X	47
3.1.2. Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	50
3.1.3. Análise térmica.....	52
3.1.4. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e Espectroscopia de energia dispersiva (EDS)	54
3.1.5. Teste antibacteriano.....	56
3.2. CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAS COM CLOREXIDINA	61
3.2.1. Adsorção.....	61
3.2.2. Difractometria de Raios X	62
3.2.3. Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	63
3.2.4. Análise térmica.....	66
3.2.5. Teste antibacteriano.....	67

3.2.6. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e Espectroscopia de energia dispersiva (EDS)	70
4. CONCLUSÃO	72
5. REFERÊNCIAS	73

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1 - MODIFICAÇÃO DA HIDROXIAPATITA PARA APLICAÇÕES

BIOMÉDICAS: UM ESTUDO PROSPECTIVO

- Figura 1 - Projeção da célula unitária da hidroxiapatita..... 19
- Figura 2 - Comparação da parede celular as bactérias Gram-negativa e Gram-negativa..... 21

CAPÍTULO 2 - INCORPORAÇÃO DE CÉRIO (Ce³⁺) NA HIDROXIAPATIA POR

DOPAGEM PARA APLICAÇÃO ANTIBACTERIANA

- Figura 1 - DRX da hidroxiapatita (HAp) sintetizada pelo método de co-precipitação 47
- Figura 2 - DRX da HAp, HAp-Ce-1,75, HAp-Ce-2,5, e HAp-Ce-5 49
- Figura 3 - FTIR da HAp, HAp-Ce-1,75, HAp-Ce-2,5 e HAp-Ce-5 50
- Figura 4 - Curva (TG) e DSC da hidroxiapatita 52
- Figura 5 - TG da HAp, HAp HAp-Ce-75, HAp-Ce-2,5 e HAp-Ce-5 53
- Figura 6- Imagens obtidas através do MEV e das amostras HAp, HAp-Ce-1,75, HAp-Ce-2,5 e HAp-Ce-5 55
- Figura 7 – Os resultados do EDS das amostras: HAp, HAp-Ce-1,75, HAp-Ce-2,5, e HAp-Ce-5 56
- Figura 8 - Efeito inibitório das amostras HAp, HAp-Ce-1,75, HAp-Ce-2,5, e HAp-Ce-5 sobre cepas padrão de *S. aureus* (ATCC 25923) 57
- Figura 9 - Efeito inibitório das amostras HAp, HAp-Ce-1,75, HAp-Ce-2,5, e HAp-Ce-5 sobre cepas padrão de *S. aureus* (ATCC 25923) 57
- Figura 10 - Efeito inibitório das amostras HAp, HAp-Ce-1,75, HAp-Ce-2,5, e HAp-Ce-5 sobre cepas padrão de *E. coli* (ATCC 25922). 58
- Figura 11 - Efeito inibitório das amostras HAp, HAp-Ce-1,75, HAp-Ce-2,5, e HAp-Ce-5 sobre cepas padrão de *E. coli* (ATCC 25922) 59
- Figura 12 - Isotermas de adsorção da HApCHX na HAp e na HApCe0,5 %. 61
- Figura 13 – DRX da hidroxiapatita pura (HAp), HAp/CHX 1 e HApCe/CHX 1 63
- Figura 14 - FTIR dos biocompósitos HAp/CHX nas diferentes concentrações 64
- Figura 15 - FTIR dos biocompósitos HApCe/CHX nas diferentes concentrações 65
- Figura 16 - TG das amostras HAp, HAp/CHX2 e HApCe/CHX 66
- Figura 17 - Efeito inibitório dos materiais HAp/CHX1, HAp/CHX2 e HApCe/CHX1 sobre cepas padrão de *S. aureus* (ATCC 25923) 69

Figura 18- Efeito inibitório dos materiais HAp/CHX1, HAp/CHX2 e HApCe/CHX1 sobre cepas padrão de <i>E. coli</i> (ATCC 25922).....	69
Figura 19 - Imagens obtidas através do MEV e das amostras: hidroxiapatita HAp /CHX2 e HApCe/CHX1	70

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1 - MODIFICAÇÃO DA HIDROXIAPATITA PARA APLICAÇÕES BIOMÉDICAS: UM ESTUDO PROSPECTIVO

Tabela 1 - Quantidade de artigos encontrado no banco de dados Scopus.....	14
Tabela 2 - Quantidade de artigos encontrado no banco de dados Web of Science	15
Tabela 3 - Quantidade de artigos encontrado no banco de dados Scielo	15
Tabela 4 - Comparação entre os bancos de dados	17
Tabela 5 - Classificação dos artigos encontrados	17
Tabela 6 - Relação dos materiais sintetizados nos artigos.....	18
Tabela 7 - Artigos estudados	25
Tabela 8 - Quantidade de patentes encontradas nos bancos de patentes EPO, USPTO e INPI	26
Tabela 9 - Quantidade de patentes depositadas no INPI, utilizando as palavras em português	27
Tabela 10 - Características das patentes encontradas.....	28

CAPÍTULO 2 - INCORPORAÇÃO DE CÉRIO (Ce^{3+}) NA HIDROXIAPATIA POR DOPAGEM PARA APLICAÇÃO ANTIBACTERIANA

Tabela 1 - Comparação entre as posições dos picos (2θ) da ficha cristalográfica de referência e da HAp sintetizada.....	48
Tabela 2 - Valores do tamanho médio dos cristalitos sintetizados.....	49
Tabela 3 - Atribuição das bandas de FTIR presentes nos espectros da HAp	51
Tabela 4 – Perda de massa da HAp, HAp HAp-Ce-75, HAp-Ce-2,5 e HAp-Ce-5.....	54
Tabela 5 - Resultados da incorporação da Clorexidina na HAp.....	62
Tabela 6 - Resultados da incorporação da Clorexidina na HApCe/CHX.....	62
Tabela 7 - TG da HAp pura e da HAp dopada com cério 0,5% 1,75% e 5.....	67
Tabela 8 - Efeito inibitório dos biocompositos sobre cepas padrão de <i>S. aureus</i> (ATCC 25923) e <i>E. coli</i> (ATCC 25922).....	68

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ATCC = American Type Culture Collection

ATP = Adenosine triphosphate

BHI = Brain heart infusion

β -TCP = Beta fosfato tricálcio

CHX = Clorexidina

C1 = concentração inicial

C2 = concentração do sobrenadante

CMI = Concentração mínima inibitória

DNA = Deoxyribonucleic acid

DRX = Difratoograma de raio X

DSC = Differential scanning calorimetry

EDS = Energy Dispersive X-ray Spectroscopy

EPO = European patent office

ERO = espécies reativas do oxigênio

FEG = Field emission gun

FTIR = Infravermelho com transformada de Fourier

FWHM = Full width at half maximum

HAp = Hidroxiapatita

HApCe = Hidroxiapatita dopada com cério

HAp/CHX = Hidroxiapatita pura com clorexidina incorporada

HApCe/CHX = Hidroxiapatita dopada com estrôncio e com clorexidina incorporada

INPI = Instituto nacional de propriedade intelectual

JCPDS-ICCD = Joint Committee on Powder Diffraction Standards – International Center of Diffraction Data

LPM = Laboratório de microbiologia

MEV = Microscopia Eletrônica de Varredura

MH = Mueller-Hinton

N_1 = Média aritmética das unidades formadoras de colônia das placas de controle

N_2 = Média aritmética das unidades formadoras de colônias de cada material testado

rpm = rotações por minuto

SAM = Sílica amorfa mesoporosa

SBF = Simulated body fluid

TCP = Fosfato tricálcio

TG = Termogravimetria

USPTO = United States Patent and Trademark

UFC = Unidade formadora de colônia

UV-vis = Ultravioleta – visível

X_s = tamanho do cristalito

η = Efeito inibitório

μm = micrômetro

λ = comprimento de onda

RESUMO

A hidroxiapatita é o fosfato de cálcio mais estudado dentre os fosfatos devido a suas propriedades, e principalmente, por sua grande semelhança a fase mineral do osso, tendo sido muito utilizada em enxertos ósseos. Nesse trabalho realizou-se inicialmente um estudo prospectivo através de buscas em artigos e patentes que contenham informações sobre a hidroxiapatita dopada com cério e associada a um antisséptico. A síntese da hidroxiapatita pura (HAp) e dopada com 1,75%, 2,5% e 5,0% do íon Cério (Ce^{3+}) ocorreu pelo método de co-precipitação. Fez-se a adsorção de clorexidina (CHX) na HAp e hidroxiapatitas dopadas (HApCe). Os materiais obtidos foram caracterizados pelas técnicas de DRX (Difração de Raio-X), FTIR (Espectroscopia infravermelho por transformada de Fourier), TG (termogravimetria) e MEV-EDS (Microscopia eletrônica de varredura acoplado a espectroscopia de energia dispersiva), e para determinar a quantidade de CHX incorporada utilizou o UV-Vis. A capacidade antibacteriana dos materiais foi avaliada pelo teste de contato direto. As bactérias testadas foram a *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. O DRX, FTIR, TG e MEV-EDS, confirmaram a existência da fase desejada, a dopagem com 5% de cério melhorou a atividade da HAp contra as bactérias testadas, principalmente contra a cepa *S. aureus* apresentando uma melhora de 42,86%. Com a adsorção da clorexidina na HApCe sua atividade foi potencializada chegando a 100% para todos os microrganismos testados. Portanto, o biomaterial HApCe/CHX apresenta-se como um produto promissor para aplicações biomédicas.

Palavras-Chave: Fosfato de cálcio, dopagem, antisséptico.

ABSTRACT

Hydroxyapatite is the most studied form of calcium phosphate because of its properties, mainly its great similarity with the mineral phase of bone, having been used in bone grafts. This work was carried out initially a prospective study by research articles and patents containing information on hydroxyapatite doped with cerium and an associate antiseptic. No records were found articles and deposits patent containing the five words referring to the objective of this work. The synthesis of pure and doped HAp with 1.75%, 2.5% and 5,0% of the cerium ions (Ce^{3+}) was done by co-precipitation method. There was the adsorption of chlorhexidine (CHX) in HAp and hydroxyapatites doped. The materials were characterized by techniques XRD (X-ray Diffraction), FTIR (Fourier Transform-Infrared Spectroscopy), TG (Thermogravimetry) and SEM -EDS (Scanning Electron Microscopy coupled with Energy Dispersive Spectroscopy) and to determine the amount of incorporated CHX used UV-Vis (Ultraviolet-visible spectroscopy). The antibacterial ability of materials was evaluated by direct contact test. Were tested bacteria *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The XRD, FTIR , TG and SEM-EDS confirmed the presence of the desired phase, the doping with 5 % cerium of HAp improved activity against such bacteria tested , particularly against *S. aureus* a strain presenting an improvement of 42.86 % . With adsorption chlorhexidine HApCe its activity was potentiated reaching 100% for all tested microorganisms. Therefore, the HApCe/CHX biomaterial is shown as a promising product for biomedical applications.

Keywords: Calcium phosphate, doping, antiseptic.

1. INTRODUÇÃO

A perda total ou parcial de um órgão ou uma parte do corpo pode causar transtornos a vida social do indivíduo e até mesmo provocar distúrbios psicológicos. Com o avanço da medicina moderna, a expectativa de vida humana tem aumentado e com isso surge a necessidade de resolver os problemas relacionados a reconstrução de tecidos e órgãos, a tratamento doenças devido ao envelhecimento ou causadas por traumas de acidentes ou quedas (Zavaglia & Silva, 2016).

Um dos problemas a ser enfrentado é a infecção óssea, a osteomielite é uma inflamação que atinge os ossos, sendo causada por microrganismos, estes geralmente são bactérias, que levam à destruição do osso (osteólise) e está muitas vezes associada com um implante ortopédico. O agente patogénico causador mais prevalente em casos de infecção óssea é a bactéria Gram-positiva *Staphylococcus aureus* (Inzana, et. al, 2016).

Essas preocupações têm contribuído para a busca de novos biomateriais. De acordo com o Instituto Nacional de Saúde Americana, biomaterial é qualquer substância ou a combinação de substâncias, diferente de drogas, sintéticas ou de origem natural, que pode ser usado por qualquer período de tempo, aumenta ou substitui parcial ou totalmente qualquer tecido, órgão ou função, a fim de manter ou melhorar a qualidade de vida do indivíduo.

Os biomateriais são geralmente divididos em quatro classes principais de materiais: cerâmicas, metais, polímeros e compósitos (Parida, Behera & Mishra, 2012). As cerâmicas têm sido amplamente utilizadas no campo da engenharia biomédica e para aplicações clínicas. Podem ser de uma forma natural ou de origem sintética e podem ser sintetizados com diferentes formas, tamanhos de poro, porosidades ou topografias. A hidroxiapatite (HA), é um exemplo de material cerâmico, está entre os biomateriais sintéticos mais comumente estudados para aplicações biomédicas, principalmente como substituto

ósseo, devido a sua semelhança com fosfatos de cálcio naturais presentes na fase mineral do osso (García-Gareta, Coathup, & Blunn, 2015).

A HAp tem a capacidade de se submeter a enorme distorção da rede cristalina, uma vez que acomoda os cátions e os ânions com tamanhos diferentes do Ca^{2+} e PO_4^{3-} , essa flexibilidade da sua estrutura a torna capaz de acomodar a metade de todos os elementos da tabela periódica (Uskoković, 2015). Essa peculiaridade permite que, suas propriedades biológicas, mecânicas e físico-química sejam melhoradas (Kataoka, Shiba, & Tagaya, 2005).

Assim, este trabalho tem como objetivo efetuar um estudo sobre a incorporação de antissépticos a hidroxiapatita dopada com metal cério e que apresente propriedades biológicas, por meio da elaboração de um estudo prospectivo bem de ensaios experimentais. Os biomateriais obtidos foram caracterizados pelas técnicas de difração de raios X (DRX), Espectroscopia na região do Infravermelho (FTIR), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) acoplado a Espectroscopia de energia dispersiva (EDS) e Termogravimetria (TG), e a atividade antibacteriana foi testada contra Cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Escherichia coli* ATCC 25922. A pesquisa foi dividida em 5 partes principais, sendo elas: Introdução, 1º capítulo, 2º capítulo, Considerações finais e Perspectivas. Na introdução apresenta-se uma visão geral do trabalho realizado, destacando a importância do tema com a justificativa para a realização deste, o desenvolvimento, os objetivos e a aplicação que o biomaterial possui.

O primeiro capítulo apresenta uma revisão bibliográfica, realizada através de um estudo prospectivo da incorporação de antissépticos a hidroxiapatita dopada com o metal cério para aplicação antimicrobiana.

O segundo capítulo é um artigo técnico-científico que descreve os procedimentos experimentais de síntese de HAp dopada com cério e a incorporação de CHX na hidroxiapatita dopada com cério (HApCe), assim como os testes para verificar sua possível

aplicação com atividade antimicrobiana. As considerações finais sintetizam os resultados obtidos, bem como as perspectivas para a continuidade da pesquisa.

CAPÍTULOS I E II - RESTRITOS

4. CONCLUSÃO

O estudo da incorporação do íon metálico Ce^{3+} na estrutura da HAp mostrou-se favorável a junção de um biomaterial com um metal com propriedades antibacterianas. A caracterização dos materiais através das técnicas DRX, FTIR, e TG confirmam a síntese da HAp e a incorporação do metal no material, mostrando que a incorporação do metal não alterou a estrutura da HAp. As imagens do MEV mostraram que amostras dopadas que apresentam morfologia irregular arredondada e formação de aglomerados de partículas e o EDS confirmou a incorporação do metal no material. Testes antibacterianos de contato direto contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* mostraram a eficácia dos materiais sintetizados onde os materiais dopados apresentaram melhores resultados de inibição mostrando que o Ce^{3+} presente na proporção de 5%, melhorou a atividade inibitória quando comparado ao material não dopado.

A análise das caracterizações mostrou que a incorporação da CHX ocorreu sem proporcionar alteração na estrutura da HAp e HApCe. O estudo das isotermas de adsorção mostraram uma redução na adsorção do fármaco nos materiais dopados com cério. Os testes antibacterianos frente *S. aureus* e *E. coli* mostraram que HApCe apresentou resultados de 100% de inibição contra as duas bactérias com 0,096% de CHX incorporada. Já HAp apresentou 100% de inibição com 0,226% de clorexidina incorporada.

5. REFERÊNCIAS

- Aina, V., Lusvardi, G., Annaz B. Gibson I. R., Imrie F. E., Malavasi G., Menabue L., Cerrato G., Martra G. (2012). Magnesium- and strontium-co-substituted hydroxyapatite: the effect of doped ions on the structure and chemico-physical properties. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 23, 2867–2879.
- Agrawal K., Singh G., Puri D., Prakash S. (2011). Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite Powder by Sol-Gel Method for Biomedical Application. *Journal of Minerals & Materials Characterization & Engineering*, 10, 727-734.
- Babenko L.P., Zholobak N.M., Shcherbakov A.B., Voychuk S.I., Lazarenko L.M, Spivak M.Ya. (2012). Antibacterial activity of cerium colloids against opportunistic microorganisms *in vitro*. *Mikrobiol Z*, v, 74, 54-62.
- Bellis, C. A., Nobbs, A. H., O’Sullivan, D. J., Holder, J. A., Barboura, M. E. (2016). Glass ionomer cements functionalised with a concentrated paste of chlorhexidine hexametaphosphate provides dose-dependent chlorhexidine release over at least 14 months. *Journal of Dentistry*, 45, 53–58.
- Best, S. M.; Porter, A. E.; Thian, E. S.; Huang, J. (2008). Bioceramics: past, present and for the future. *Journal of the European Ceramic Society*, 28, 1319-1327.
- Ciobanu C. S.; Iconaru, S. L.; Coustumer, P. L.; Constantin. L. V.; Predoi, D. (2012). Antibacterial activity of silver-doped hydroxyapatite nanoparticles against gram-positive and gram-negative bacteria. *Nanoscale Research Letters*, 7, p.324.
- Ciobanun G., Bargan A. M., Luca C. (2015). New cerium (IV)-substituted hydroxyapatite nanoparticles: Preparation and characterization. *Ceramics International*, 41, 12192–12201.

Dastjerdi, R., Montazer, M. (2010). A review on the application of inorganic nano-structured materials in the modification of textiles: focus on anti-microbial properties. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 79, 5–18.

Diaz-Visurraga, J., Gutierrez, C., Plessing, C. von, Garcia, A. (2011). Metal nanostructures as antibacterial agentes. in *Science against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances*, A. Mendez-Vilas, Ed., Formatex, Badajoz, Spain, 2011.

Dorozhkin, S.V. (2010). Bioceramics of calcium orthophosphates. *Biomaterials*, 31, 1465-1485.

Dorozhkin, S. V. (2009). Calcium orthophosphates in nature, biology and medicine. *Materials*, 2, 399–498.

Dourado, E. R. (2006). Preparação e caracterização de hidroxiapatita nanoestruturada dopada com estrôncio. Dissertação (mestrado em física) Centro Brasileiro de Pesquisa físicas, Rio de Janeiro, 128.

Duarte L. C , Juchem P. L , Pulz G. M. , Brum T. M. M. , Chodur N., Liccardo A., Fischer A. C., Acauan R. B. (2003) Aplicações de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Sistema de Energia Dispersiva (EDS) no Estudo de Gemas: exemplos brasileiros. *Pesquisas em Geociências*, 30, 3-15.

Elliott, J. C. (1994) *Structure and Chemistry of Apatites and Other Calcium Orthophosphates*. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, 1st edition.

Feitosa G. T. (2013). Hidroxiapatitas associadas com clorexidina – Interação e atividade antimicrobiana. Dissertação de mestrado em Ciência dos Materiais. Universidade Federal do Piauí.

Gopi D., Ramya S., Rajeswari D., Karthikeyan P., Kavitha L. (2014). Strontium, cerium co-substituted hydroxyapatite nanoparticles: Synthesis, characterization, antibacterial activity towards prokaryotic strains and in vitro studies. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 451, 172–180.

Hu, Y., Du, Y., Jiang, H., Jiang, G. (2014). Cerium promotes bone marrow stromal cells migration and osteogenic differentiation via Smad1/5/8 signaling pathway. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 7, 5369-5378.

Kannan, S., Goetz-Neunhoeffler, F., Neubauer, J., Ferreira, J. M. F. (2008). Ionic substitutions in biphasic hydroxyapatite and β -tricalcium phosphate mixtures: structural analysis by Rietveld refinement. *Journal of the American Ceramic Society*, 91, 1–12.

Kaygili O., Dorozhkin S. V., Keser S. (2014). Synthesis and characterization of Ce-substituted hydroxyapatite by sol–gel method. *Materials Science and Engineering C*, 42, 78-82.

Kawabata, K.; Yamamoto, T.; Kitada, A. (2011). Substitution mechanism of Zn ions in β -tricalcium phosphate. *Physica B: Condensed Matter*, 406, 890-894.

Kolmas, J., Groszyk, E., & Kwiatkowska-Różycka, D. (2014). Substituted Hydroxyapatites with Antibacterial Properties. *BioMed Research International*, 2014, 1-15.

Lai, G.J.; Shalumon, K.T.; Chen, J.P. (2015). Response of human mesenchymal stem cells to intrafibrillar nanohydroxyapatite content and extrafibrillar nanohydroxyapatite in biomimetic chitosan/silk fibroin/nanohydroxyapatite nanofibrous membrane scaffolds. *International Journal of Nanomedicine*, 10, 567-584.

Liao, C.J.; Lin, F.H.; Chen K.S.; Sun J.S. (1999). Thermal decomposition and reconstitution of hydroxyapatite in air atmosphere. *Biomaterials*, 20, 1807-1813.

Marion J, Pavan K, Arruda MEBF, Nakashima L, Morais CAH. (2013). Chlorhexidine and its applications in Endodontics: A literature review. *Dental Press Endodontics*, 3, 36-54.

Nagano, S., Yokouchi, M., Setoguchi, T. et al. (2014). Analysis of surgical site infection after musculoskeletal tumor surgery: risk assessment using a new scoring system. *Sarcoma*, 2014.

Namba, R. S., Inacio, M. C., Paxton, E. W. (2013). Risk factors associated with deep surgical site infections after primary total knee arthroplasty: an analysis of 56,216 knees. *The Journal of Bone & Joint Surgery*, 95, 775–782.

Noor, Z. (2013). Nanohydroxyapatite application to osteoporosis management. *Journal of Osteoporosis*, 2013.

Omelson, S. J., Grynpas, M. D. (2008). Relationships between polyphosphate chemistry, biochemistry and apatite biomineralization. *Chemical Reviews*, 108, 4694–4715.

Ouyang Y., Xiu Y., Tan S., Shi Q., Chen Y. (2009). Structure and antibacterial activity of Ce³⁺ exchanged montmoillonites. *Journal of rare earths*, 27, 858.

Pang, Y. X. & Bao, X. (2003). Influence of temperature, ripening time and calcination on the morphology and crystallinity of hydroxyapatite nanoparticles. *Journal of the European ceramic society*, 23, 1697-1704.

Regi, M. V. (2008). Biomimetic nanoceramics in clinical use. *Materials to applications royal society of chemistry*, 1.

- Santos, M. V. B. (2015). Desenvolvimento e caracterização de um biocompósito formado por hidroxiapatita e clorexidina para aplicação na cavidade oral. Dissertação de mestrado em Ciência dos Materiais. Universidade Federal do Piauí.
- Shepherd, J. H., Shepherd, D. V., & Best, S. M. (2012). Substituted hydroxyapatites for bone repair. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 23, 2335–2340.
- Sun, L. J., Gou, D. G., Zhao, W. A., Wang, L. Y., Xu, K. W. (2014). Influences of Reaction Parameters and Ce Contents on Structure and Properties of Nano-scale Ce-HA Powders. *Journal of Materials Science & Technology*, 30, 776-781.
- Supová, M. (2015). Substituted hydroxyapatites for biomedical applications: A review. *Ceramics international*, 41, 9203-9231.
- Trampuz, A., & Zimmerli, W. (2006). Diagnosis and treatment of infections associated with fracture-fixation devices. *International Journal of the Care of the Injured*, 37, S59-S66.
- Unabia, R.; Piagola, C. J.; Guerrero, J. R.; Vequizo, R.; Gambe, J.; Odarve, M. K.; Sambo, B. R. (2015). Synthesis and characterization of nanocrystalline hydroxyapatite and biphasic calcium phosphate using $\text{Ca}(\text{OH})_2$ and $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$. *Physica status solidi C*, 12, 572-575.
- Voet, D.; Voet, J. G. (2006). Bioquímica. (3 ed). Porto Alegre: Artmed. (Capítulo 11). Pag 374
- Xing, R.; Leng, Y.; Chen, J., Zhang, Q. (2005). A comparative study of calcium phosphate formation on bioceramics in vitro and in vivo. *Biomaterials*, 26, 6477- 486.
- Yingguang, L., Zhuoru, Y., & Jiang, C. (2007). Preparation, Characterization and antibacterial property of cerium substituted hydroxyapatite nanoparticles. *Journal of Rare Earths*, 25, 452-456.

Zabeu, J. L. A., & Mercadante, M. T. (2008). Substitutos ósseos comparados ao enxerto ósseo autólogo em cirurgia ortopédica: revisão sistemática da literatura. *Revista Brasileira de Ortopedia*, 43, 59-68.

Zheng, Y. L., & Zhu, F. J. (2003). Study on antimicrobial activity of chitosan with different molecular weights. *Carbohydrate polymers*, 54, 527- 530.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho possui como objetivo sintetizar HAp dopada com cério pelo método de co-precipitação, buscando avaliar sua atividade antibacteriana e incorporar clorexidina na HAp dopada para potencializar essa atividade. Com isso, considera-se que este objetivo tenha sido atingido pois a síntese do material foi confirmado pela análises dos resultados das caracterizações e suas propriedades biológicas foram avaliadas.

O Capítulo 1 apresentou uma revisão bibliográfica e tecnológica, que teve como objetivo reunindo informações sobre hidroxiapatita dopada com metais e combinada à antissépticos, porém não foram encontradas publicações que contemplasse o tema. Diante disso fez-se o estudo sobre hidroxiapatita dopada com metais para aplicações biomédicas, de maneira a mostrar as peculiaridades e importância do tema.

O processo síntese dos materiais e suas características foram discutidas no Capítulo 3, que demonstrou a possibilidade de sintetizar a hidroxiapatita dopada com cério como também a possibilidade de se incorporar um fármaco amplamente utilizado nas áreas odontológica e medica, como agente antimicrobiano na prevenção e tratamento de infecções de enxertos ósseos e implantes.

PERSPECTIVAS

- ✓ Testar o biomaterial contra os microrganismos da cavidade oral;
- ✓ Estudar a liberação da CHX;
- ✓ Determinar a concentração mínima inibitória;
- ✓ Desenvolver prótese com o biomaterial
- ✓ Produzir novos biomateriais a partir da HApCe com moléculas biologicamente ativas;