

Avaliação da capacidade da membrana absorvível atuar como carreador de quimioterápicos

Capacity assessment of absorbable membrane acting as a carrier for chemotherapeutics

Nathalia S. MENEZES¹; Fernanda C. MAGALHÃES²; Guilherme C. MAGALHÃES³; Helder Henrique M. MENEZES⁴; Geraldo B. MELO⁵; Denildo MAGALHÃES⁶

1 - Professora do Curso de Especialização em Implantodontia da HD Ensinos Odontológicos;

2 - Acadêmica da Faculdade de Odontologia do Centro Universitário do Triângulo Mineiro;

3 - Graduado em Odontologia pela Universidade Federal de Uberlândia;

4 - Coordenador do Curso de Especialização em Implantodontia da HD Ensinos Odontológicos;

5 - Professor Associado na Área de Microbiologia da Universidade Federal de Uberlândia;

6 - Professor Titular da Área de Periodontia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia. Coordenador Científico da HD Ensinos Odontológicos.

RESUMO

Objetivo: A exposição da membrana durante procedimentos regenerativos periodontais pode causar contaminação e complicações pós-operatórias. Este estudo avaliou a capacidade de uma membrana absorvível atuar como carreador de quimioterápicos. **Material e Métodos:** Noventa amostras de membranas absorvíveis de origem xenógena, da marca Genius/Baummer, foram previamente impregnadas, sendo 45 com doxiciclina e 45 com cloridrato de tetraciclina, e dispostas em placas de cultura contendo microrganismos aeróbios e anaeróbios. O período experimental foi de 5 semanas, com avaliações regulares a cada semana com objetivo de

identificar a integridade das membranas e a capacidade de inibir o crescimento bacteriano pela presença dos halos de inibição. **Resultados:** Ao final do experimento constatou-se que para culturas aeróbias o período mínimo de inibição foi de 21 dias, para anaeróbias foi de 28 dias e os resultados foram estatisticamente superiores para a doxiciclina. **Conclusão:** Ambas as membranas apresentam habilidade de inibição bacteriana, confirmando a possibilidade das membranas testadas serem utilizadas como carreadores de agentes antimicrobianos, especialmente para a doxiciclina.

PALAVRAS-CHAVE: Quimioterápicos; Regeneração tecidual guiada; Membrana absorvível.

INTRODUÇÃO

As periodontopatias associadas ao biofilme periodontal são capazes de alterar os tecidos devido à atividade inflamatória e infecciosa. Por isso o tratamento dessas doenças pretende eliminar os fatores etiológicos e predisponentes, e promover a reconstrução do dano, tanto por procedimentos cirúrgicos regenerativos ou ressectivos. A nova configuração dos tecidos periodontais possibilitará a manutenção da saúde por meio de terapia de suporte¹.

Dentre as técnicas cirúrgicas regenerativas e reconstrutivas, os procedimentos associados à biomateriais tem demonstrado resultados significativos, com alta taxa de sucesso longitudinal². A possibilidade de guiar o processo de cicatrização por meio da exclusão de células e tecidos inadequados a regeneração local, possibilita a colonização do defeito com células viáveis, capazes de regenerar os tecidos danificados. As membranas absorvíveis e não absorvíveis têm sido amplamente utilizadas em procedimentos regenerativos, apresentando resultados similares tanto a curto e longo prazo³. Vários são os materiais empregados para a fabricação quer sejam absorvíveis ou não, sendo que os mais comuns são: politetrafluoretileno expandido; colágeno; ácido ploglicólico; ácido polilático e copolímeros. Além desses, também se propõe o uso de osso bovino desmineralizado para pro-

dução de membranas, devido ao fato de apresentar uma parte orgânica de colágeno tipo I densamente organizado e baixa taxa de potencial imunológico⁴. Independente do tipo de material, é necessário que haja biocompatibilidade e capacidade de exclusão celular^{5,6}.

Entretanto, durante o processo cicatricial existe a possibilidade de exposição da membrana ao meio bucal, fato importante a ser considerado, pois pode influenciar diretamente no sucesso do tratamento. A exposição da membrana resulta na contaminação do leito cirúrgico^{7,8}, e para a membrana absorvível provoca uma aceleração no processo de degradação, reduzindo seu tempo de presença no leito cirúrgico^{9,10}. Caso haja exposição da membrana durante o processo cicatricial, deve ser feito rigoroso controle de placa associado à aplicação de agentes antimicrobianos tais como: Amoxicilina, Metronidazol¹¹, Clorexidina¹², Doxiciclina¹³, Simvastatin¹⁴, Azitromicina¹⁵, Tetraciclina¹⁶.

Considerando a possibilidade do uso local de agentes quimioterápicos e a hipótese da membrana atuar como veículo carreador desses agentes, esta associação foi proposta a fim de promover controle pós-operatório nas cirurgias regenerativas. Oliveira *et al.*¹⁷ (2003) avaliaram duas membranas derivadas do osso bovino desmineralizado impregnadas ou não com cloridrato de tetraciclina, na tentativa de observar a compatibilidade

biológica e tempo necessário para sua absorção quando implantadas subcutaneamente em ratos. Os resultados mostraram que ambas as membranas são toleráveis pelos tecidos adjacentes e sua total absorção ocorre em um período variável entre 30 e 60 dias. Testes *in vitro* também foram conduzidos para identificar o nível e o tempo de dispersão em membranas impregnadas com metronidazol e cloridrato de tetraciclina. Os resultados mostraram que a membrana impregnada com cloridrato de tetraciclina mostrou resultados melhores quando comparados ao metronidazol, sendo capazes de inibir cepas aeróbicas e anaeróbicas por até 21 dias^{18,19}.

No presente estudo será feita uma avaliação microbiológica *in vitro* a fim de identificar a capacidade e o tempo de dispersão de doxiciclina e cloridrato de tetraciclina por membranas absorvíveis derivadas da matriz óssea utilizada nas técnicas cirúrgicas periodontais regenerativas.

MATERIAL E MÉTODO

Este estudo foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Uberlândia/Brasil (Protocolo 518/07). As atividades foram realizadas no Hospital Dental da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia e no Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal de Uberlândia. Durante o experimento todos os padrões propostos para realização de testes de susceptibilidade *in vitro* foram seguidos²⁰.

Três tipos de amostras microbiológicas foram utilizadas: duas padrões aeróbias, *Escherichiacoli*-ATCC/29922 e *Staphylococcus aureus*-ATCC/25923 (American Type Culture Collection, USA) e uma amostra anaeróbia proveniente de bolsas periodontais com profundidade maior ou igual a 5mm, Essas foram coletadas através de aspirador estéril com coletor ósseo (Aspirador Dental com Coletor Ósseo-Indusbelo/Brasil) durante procedimento de raspagem subgengival²¹. As amostras foram processadas em câmara de fluxo laminar, sendo que as aeróbias foram incubadas em estufa a 35°C por 24 horas tendo como meio de cultura o TSB-Tryptic Soy Broth (Biobrás, Belo Horizonte-MG, Brasil) e para as culturas anaeróbias o meio de cultura foi o Tioglicolato de Sódio (Biobrás, Belo Horizonte-MG, Brasil). A padronização das amostras foi feita de acordo com a escala de McFarland com escala de turvação de 0.5 ($10^{8\text{organisms}} / \text{ml}$)²².

Como proposto no teste de sensibilidade de Kirby-Bauer para antibióticos em discos de difusão, cada cultura foi semeada em triplicata no meio apropriado para cada tipo de cepa bacteriana, perfazendo 9 placas de cultura para cada período experimental, com um total de 45 placas. Para as culturas aeróbias o meio de cultura foi agar Mueller-Hinton (Biobrás, Belo Horizonte, MG, Brasil), e para a amostra anaeróbia o meio foi Agar Mueller-Hinton combinado com 5% de sangue de carneiro desfibrinado (Newprov, Pinhais, PR, Brazil)²². Todas as 45 placas foram semeadas ao mesmo tempo e incubadas de acordo com seu meio de cultura, concluído o período experimental para cada membrana, a mesma era transferida para uma nova placa contendo o mesmo meio de cultura.

As membranas testadas eram de matriz óssea bovina, marca Genius® (Baummer, Mogi Mirim, SP, Brazil), impregnadas previamente com o agente antibacteriano no Departamento de Bioquímica da Universidade de São Paulo/ Bauru-SP, e libera-

das para o experimento. As membranas foram divididas em 03 grupos: Grupo T (membrana impregnada com cloridrato de tetraciclina), Grupo D (membrana impregnada com doxiciclina) e Grupo C (membrana convencional sem impregnação de medicamento) (Figura 1). Dessas membranas foram removidas amostras padronizadas de 1,0 cm de diâmetro, cortadas em campo estéril com bisturi circular estéril, somando um total de 9 discos para cada tipo de membrana: T, D e C.

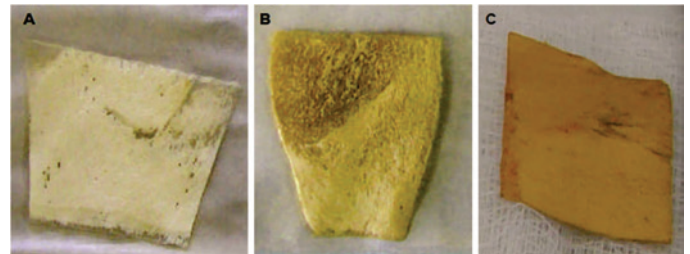


Figura 1 - Membrana convencional; B - Membrana impregnada com doxiciclina; C - Membrana impregnada com cloridrato de tetraciclina.

O período experimental para cada tipo de cultura foi de 7, 14, 21, 28, e 35 dias. A superfície de cada placa foi dividida em 4 partes, onde as amostras de T, D e C eram posicionadas individualmente na parte central de cada quarto. A quarta porção não recebeu nenhuma membrana, sendo assim utilizada como controle para averiguar o crescimento bacteriano na placa (Figura 2). As placas contendo as amostras aeróbias foram incubadas em estufas a 35°C, e as com amostras anaeróbias em jarra de anaerobiose com gerador de anaerobiose (Anaerobac - Probac, São Paulo-SP, Brasil). Ao final de cada período experimental, havendo integridade física da membrana e presença de halo de inibição, elas foram transferidas com auxílio de pinças estéreis para uma nova placa com o mesmo meio de cultura, onde permaneceu até o próximo período experimental. A identificação negativa de algum desses parâmetros determinou o fim do experimento para essa membrana.

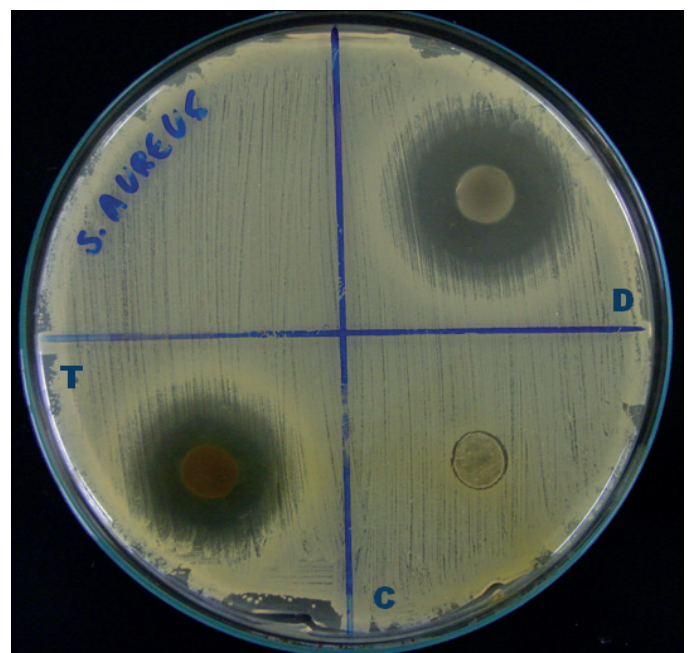


Figura 2 - Distribuição das amostras sobre a placa com cultura de *S. aureus*, evidenciando os halos de inibição de T e D, e crescimento bacteriano na região.

A capacidade de cada membrana em promover dispersão de agente antibacteriano e inibição do crescimento microbiano foi identificada pela formação e pelo tamanho de halos circulares de diâmetro bem definido e ausência de colônias bacterianas no interior dos mesmos ou sobre a membrana. As dimensões dos halos foram obtidas em milímetros com auxílio de paquímetro digital (KBD Tools Co. Ltd, Jiangsu, China), a fim de medir o declínio da eficácia de dispersão do fármaco. Os dados obtidos foram tabulados e avaliados pelo teste U não paramétrico de Mann-Whitney, com nível de significância de 0,05 em teste bilateral em três situações diferentes. Indicado para amostra pequena em que a variável numérica não apresenta sabidamente uma variação normal, ou ainda, quando não há homogeneidade das variâncias. Para comparar tendências de amostras independentes de tamanhos iguais. O teste U pode ser considerado a versão não paramétrica do teste t, para amostras independentes e avaliam o grau de entrelaçamento dos dados dos grupos após a ordenação. A maior separação dos dados em conjunto indica que as amostras são distintas, rejeitando-se a hipótese de igualdade das medianas²³.

RESULTADOS

Em todas as áreas que não receberam membrana foi observado a presença de colônias de microrganismos, confirmando o crescimento bacteriano nas placas. Resultados similares foram obtidos para o Grupo C, no qual houve crescimento bacteriano sobre a membrana (Figura 2).

A habilidade de inibir o crescimento bacteriano foi confirmada pela presença de halos de inibição (Figura 2), o qual foi observado para todas as placas experimentais no período de 7 a 21 dias, exceto para *E. coli* (Grupo T- placa 1). Para os outros períodos, dentre os três grupos, em pelo menos um dos pratos foi observado redução no halo de inibição. Entretanto, foi observado para os Grupos T e D uma redução nos diâmetros dos halos durante os períodos experimentais quando comparados ao inicial. Dentre as três amostras, o Grupo D apresentou halos maiores quando comparados ao Grupo T, com exceção para *S. aureus* (21 dias – placa 1) e para a mostra anaeróbia (21 dias – placa 1 e 3). No Grupo D, o período de inibição para *E. coli*/*S. aureus* foi de 35 dias, enquanto para as amostras anaeróbias foi 21 dias, exceto placa 2 que foi de 28 dias. No Grupo T o período de inibição foi mantido até 21 dias, exceto para *E. coli* (placa 1 – 14 dias). A partir desses períodos as culturas de *E. coli* (28/35 dias – placa 1; 35 dias – placa 2; 28/35 dias – placa 3); *S. aureus* (28/35 dias – placa 1); cepa anaeróbia (28/35 dias – placas 1, 2, 3) não apresentaram capacidade de inibição (Tabela 1).

Não houve diferenças estatísticas entre os Grupos D e T, nos vários períodos experimentais (Tabela 2), foram identificadas diferenças significantes entre eles na cultura de *E. coli* / períodos de 14, 28 e 35 dias. Sendo que os resultados do Grupo D foram mais significativos se comparados ao grupo T nesses três períodos.

Os dados referentes ao diâmetro dos halos de inibição obtidos para os Grupos D e T nos três tipos de cultura foram analisados separadamente por meio do Teste de Mann-Whitney com nível de significância de 0.05 em um teste bilateral. Os resultados (Tabela 2) apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os valores dos dois grupos para as culturas de *E. coli*

nos períodos de 14, 28 e 35 dias. Os valores obtidos pelo Grupo D foram maiores nos três casos.

A fim de avaliar todos os dados dos dois grupos em todos os períodos experimentais, novamente o teste U de Mann-Whitney foi aplicado com nível de significância de 0.05. Os resultados (Tabela 3) revelaram diferenças estatisticamente significativas entre os períodos experimentais de 14, 28 e 35 dias, e os maiores valores foram obtidos pelo Grupo D nos três casos.

Bacterial strain	Anti-bacterial	Experimental period				
		07 days	14 days	21 days	28 days	35 days
<i>E. coli</i>	D placa 1	28.56	21.80	17.03	14.95	13.33
	T placa 1	23.18	18.51	-	-	-
	D placa 2	32.78	22.08	17.14	20.38	13.49
	T placa 2	28.20	17.51	16.33	12.76	-
	D placa 3	28.34	22.08	19.40	19.76	18.60
	T placa 3	28.10	17.51	11.26	-	-
<i>S. aureus</i>	D placa 1	28.88	28.85	13.15	20.03	25.30
	T placa 1	25.00	18.51	19.55	-	-
	D placa 2	35.52	28.85	23.15	28.27	22.35
	T placa 2	30.78	21.58	17.90	21.25	17.14
	D placa 3	35.87	28.82	18.92	13.20	20.71
	T placa 3	32.30	22.78	11.80	9.42	11.07
"Pool anaeróbio"	D placa 1	31.20	21.05	10.90	-	-
	T placa 1	27.38	17.85	12.17	-	-
	D placa 2	28.81	18.78	10.78	12.87	-
	T placa 2	22.82	18.72	10.55	-	-
	D placa 3	30.15	27.15	11.08	-	-
	T placa 3	28.00	18.02	11.46	-	-

Tabela 1 - Diâmetro dos halos de inibição de D e T para cada tipo de cultura bacteriana, expressa em milímetros nos pratos 1, 2 e 3 para cada período experimental.

Culture	period	P<0.05	culture	period	P<0.05	culture	period	P<0.05
<i>E. coli</i>	07	0.275	<i>S. aureus</i>	07	0.275	Pool	07	0.050
	14	0.043*		14	0.050		14	0.050
	21	0.050		21	0.513		21	0.513
	28	0.048*		28	0.275			
	35	0.037*		35	0.058			

(*P<0.05)

Tabela 2 - Resultado encontrados depois da aplicação do teste U Mann-Whitney para os Grupos T e D nos períodos experimentais das 3 culturas.

Analyzed variables	Probability
07 days	0.058
14 days	0.003*
21 days	0.354
28 days	0.035*
35 days	0.006*

(*P<0.05)

Tabela 3 - Média encontrada depois da aplicação do teste U de Mann-Whitney para todos os resultados dos grupos nos vários períodos experimentais.

DISCUSSÃO

A exposição da membrana utilizada em procedimentos periodontais regenerativos representa um fator de risco por favorecer a colonização bacteriana na área e restringir os níveis de cicatrização tecidual local⁷, os resultados obtidos pelo Grupo C reforçam essa possibilidade em face do crescimento bacteriano

observado sobre a membrana desse grupo. Dentre os vários tipos de agentes antibacterianos empregados na periodontia, o uso local das tetraciclinas (doxiciclina e cloridrato de tetraciclina) apresentam eficácia significativa^{13,16} e por isso foram escolhidas para realização do experimento. A escolha da membrana bovina absorvível deveu-se ao fato de ser rotineiramente utilizada em procedimentos periodontais regenerativos²⁴, levando-nos a avaliar sua capacidade em atuar como carreador dos agentes microbianos testados.

Sabendo que o biofilme da doença periodontal é complexo, sendo composto por microrganismos aeróbios e anaeróbios, optou-se por utilizar três amostras, as quais são tradicionalmente empregadas nesses tipos de testes (anaeróbia: *E. coli* e *S. aureus*; anaeróbio: retirado diretamente de pacientes com bolsa periodontal)²⁵.

Ao avaliar o período experimental de cada grupo, observou-se a presença de halos de inibição tanto para os grupos de T e D por um período mínimo de 21 dias, com exceção apenas para o T- placa 1 que foi de 14 dias. Podendo assim salientar a dispersão medicamentosa pelas membranas e a inibição do crescimento bacteriano. Os resultados obtidos foram similares a Silva¹⁹ (2003), entretanto os autores avaliaram apenas o cloridrato de tetraciclina, enquanto que neste experimento avaliou-se também a doxiciclina. Aparentemente os resultados obtidos pelo Grupo D sugerem maior tempo de dispersão e halos de inibição maiores se comparado ao T (Tabela 1, 2, 3). Se comparados estatisticamente as placas 1, 2, 3 do mesmo grupo em relação ao tamanho dos halos de T e D, e considerando todos os valores obtidos durante 7, 14, 21, 28 e 35 dias, não houve diferença estatisticamente significativa entre os valores das variáveis, exceto para três amostras de *E. coli* em 14, 28 e 35 dias; condição que demonstra a eficácia dos dois tipos de membrana. No entanto, há que se considerar que a diferença nessas três amostras pode ser justificada devido à degradação da membrana. Ou seja, por ser constituída por colágeno tipo I, densamente organizado, permite a impregnação do agente antibacteriano na sua trama estrutural. Se considerarmos que essa trama pode passar por um processo de degradação maior ou menor, poderá haver uma maior quantidade de agente antimicrobiano, fato que pode ser considerado positivo por aumentar a capacidade o tempo de liberação do agente antimicrobiano dispersado⁶.

O tempo de dispersão das membranas, para T quanto para D, foi de no mínimo 21 dias, tanto para aeróbios quanto anaeróbios. A partir deste período as membranas começaram a apresentar sinais de degradação, sendo mais significante na cultura anaeróbia, o que pode estar relacionada a certos microrganismos tais como *Porphyromonasgingivales* que produzem enzimas que degradam colágeno, acelerando processo de degradação da membrana da matriz de osso bovino²⁶.

Como citado na introdução, apesar das técnicas periodontais possibilitarem as reconstruções, esses procedimentos devem respeitar os princípios biológicos para reconstruções. Acerca dos fatores que influenciam negativamente neste tipo de tratamento, é possível ressaltar a falta de cooptação dos bordos do retalho com consequente exposição da membrana ao meio oral, a qual deve permanecer até a completa cicatrização da ferida cirúrgica, o que acontece em aproximadamente 21 dias²⁷. Admitindo-se tal fato, a presença de agentes antimicrobianos na

região torna-se uma opção de proteção para a região da cirurgia; e tal proteção pode ser obtida com o uso da membrana utilizada neste experimento, visto que o período mínimo de dispersão obtido foi de 21 dias. Fato que poderá minimizar os cuidados pós-operatórios tradicionalmente empregados nos casos da exposição da membrana, e conseqüentemente reduzir o volume de agentes antibacterianos empregados^{11,12,14,15}.

Sabendo-se que o propósito da regeneração tecidual guiada é a formação de um novo aparelho de inserção dental, considera-se como um dos fatores determinantes do sucesso nesta técnica, a capacidade de excluir células e tecidos inadequados à colonização do defeito. Entretanto, há que se considerar que a contaminação do leito cirúrgico também contribui negativamente para o sucesso dessa técnica. Considerando os nossos dados é possível admitir o uso da membrana como carreador de agentes antimicrobianos, fato que permitirá sua atuação tanto no processo de exclusão celular quando na proteção da ferida cirúrgica, potencializando os resultados neste tipo de tratamento.

CONCLUSÃO

Sob as condições deste estudo é possível concluir que membranas absorvíveis da matriz óssea bovina, impregnada com doxiciclina ou cloridrato de tetraciclina podem ser utilizadas como agentes de dispersão destes fármacos tanto a doxiciclina quanto o cloridrato de tetraciclina são capazes de inibir o crescimento bacteriano.

REFERÊNCIAS

1. American Academy of Periodontology. Comprehensive Periodontal Therapy: A Statement by the American Academy of Periodontology. J Periodontol. 2011; 82(7): 943-949.
2. Silvestri M, Rasperini G, Milani S. 120 Infrabony Defects Treated With Regenerative Therapy: Long-Term Results. J Periodontol. 2011; 82(5): 668-675.
3. Pretzl B, Kim T, Holle R, Eickholz P. Long-Term Results of Guided Tissue Regeneration Therapy With Non-Resorbable and Bioabsorbable Barriers. IV A Case Series of Infrabony Defects After 10 Years. J Periodontol. 2008; 79(8): 1491-1499.
4. Stavropoulos A, Chiantella G, Costa D, Steigmann M, Windisch P, Sculean A. Clinical and Histologic Evaluation of a Granular Bovine Bone Biomaterial Used as an Adjunct to GTR With a Bioresorbable Bovine Pericardium Collagen Membrane in the Treatment of Infrabony Defects. J Periodontol. 2011; 82(3): 462-470.
5. Wang HL, Miyauchi M, Takata T. Initial attachment of osteoblasts to various guided bone regeneration membranes: An in vitro study. J Periodontol Res. 2002; 37(5): 340-344.
6. Bilir A, Aybar B, Tanrikulu SH, Issever H, Tuna S. Biocompatibility of different barrier membranes in cultures of human CRL 11372 osteoblast-like cells: An immunohistochemical study. Clinical Oral Implants Res. 2007; 18(1): 46-52.
7. Simion M, Baldoni M, Rossi P, Zaffe D. A comparative study of the effectiveness of e-PTFE membranes with and without early exposure during the healing period. Int J of Periodontics and Restorative Dentistry. 1994; 14(2): 166-180.
8. Mattout P, Mattout C. Conditions for Success in Guided Bone Regeneration: Retrospective Study on 376 Implant Sites. J Periodontol. 2000; 71(12): 1904-1909.
9. Geurs NC, Korostoff JM, Vassilopoulos PJ, Kang T, Jeffcoat M,

- Kellar R, Reddy MS. Clinical and Histologic Assessment of Lateral Alveolar Ridge Augmentation Using a Synthetic Long-Term Bioabsorbable Membrane and an Allograft. *J Periodontol.* 2008; 79(7): 1133-1140.
- 10.10. Cheng C, Lee Y, Chi L, Chen Y, Hung S, Ling L. Bacterial Penetration Through Antibiotic-Loaded Guided Tissue Regeneration Membranes. *J Periodontol.* 2009; 80(9): 1471-1478.
- 11.11. Varela VM, Silva-Senem MX, Torres MCMB, Colombo APV, Feres Filho ED. Systemic Antimicrobials Adjunctive to a Repeated Mechanical and Antiseptic Therapy for Aggressive Periodontitis: A 6-Month Randomized Controlled Trial. *J Periodontol.* 2011; 82(8): 1121-1130.
- 12.12. Gonzales JR, Harnack L, Schmitt-Corsitto G, Boedeker RH, Chakraborty T, Domann E, Meyle J. A Novel Approach to the Use of Subgingival Controlled-Release Chlorhexidine Delivery in Chronic Periodontitis: A Randomized Clinical Trial. *J Periodontol.* 2011; 82(8): 1131-1139.
- 13.13. Tomasi C, Wennström JL. Locally Delivered Doxycycline as an Adjunct to Mechanical Debridement at Retreatment of Periodontal Pockets: Outcome at Furcation Sites. *J Periodontol.* 2011; 82(2): 210-218.
- 14.14. Pradeep AR, Thorat MS. Clinical Effect of Subgingivally Delivered Simvastatin in the Treatment of Patients With Chronic Periodontitis: A Randomized Clinical Trial. *J Periodontol.* 2010; 81(2): 214-222.
- 15.15. Pradeep AR, Sagar SV, Daisy H. Clinical and Microbiologic Effects of Subgingivally Delivered 0.5% Azithromycin in the Treatment of Chronic Periodontitis. *J Periodontol.* 2008; 79(11): 2125-2135.
- 16.16. Giannobile WV. Host-Response Therapeutics for Periodontal Diseases. *J Periodontol.* 2008; 79(8): 1592-1600.
- 17.17. Oliveira RC, Carneiro E, Cestari TM, Taga R, Granjeiro JM. Dynamics of subcutaneous tissue response to the implantation of tetracycline-treated or untreated membrane of demineralized bovine cortical bone in rats. *J Biomater Appl.* 2006; 21(2): 167-78.
- 18.18. Silva JP. Avaliação "in vitro" dos níveis de dispersão dos agentes antimicrobianos em membranas absorvíveis aplicadas nos procedimentos regenerativos periodontais. [dissertação]. Uberlândia: Faculdade de Odontologia de Uberlândia/UFU; 2003.
- 19.19. Motão LC. Avaliação de dispositivo de liberação controlada aplicada a terapia periodontal não cirúrgica. [dissertação]. Uberlândia: Faculdade de Odontologia/UFU; 2004.
- 20.20. Franklin TJ, Snow GA. Biochemistry of antimicrobial action. 2. ed. London: Chapman & Hall; 1975. 123-128 p.
- 21.21. Lakhssassi N, Elhajoui N, Lodter JP, Pineill JL, Sixou M. Antimicrobial susceptibility variation of 50 anaerobic periopathogens in aggressive periodontitis: an interindividual variability study. *Oral Microbiology Immunology.* 2005; 20(4): 244-52.
- 22.22. Barry AL, Thomsberry C. Susceptibility testing: diffusion teste procedure. In: Manual of Microbiology. 3. ed. Washington: American Society for Microbiology, 1980.
- 23.23. Siegel S. Estatística não paramétrica para as ciências do comportamento. Trad. Alfredo Alves de farias. São Paulo: Ed. Mc Graw-Hill do Brasil; 1975.
- 24.24. Bunyaratavej P, Wang HL. Collagen membranes: a review. *J Periodontol.* 2001; 2(2): 215-219.
- 25.25. Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontology 2000.* 2002; 28: 12-55.
- 26.26. Sbordone L, Barone A, Ciaglia RN, Ramaglia L, Iacono VJ. Longitudinal study of dental implants in a periodontally compromised population. *J Periodontol.* 1999; 70(11): 1322-1329.
- 27.27. Amler MH. The lag phase factor in bone healing, *J Periodontol Res.* 1981; 16(6): 617-627.

ABSTRACT

Objective: The membrane exposure during periodontal regenerative procedures can lead to contamination and postoperative complications. This study evaluated the ability of an absorbable membrane acting as a carrier for chemotherapeutic. **Materials and Methods:** Samples of absorbable bovine bone membranes, which were previously impregnated with doxycycline and tetracycline hydrochloride, were placed in culture plates containing aerobic and anaerobic microorganisms. The experimental period lasted 5

weeks, with samples analyzed weekly during this period. **Results:** At the end of the experiment it was found that for aerobic cultures the minimum period of inhibition was 21 days and for anaerobic was 28 days; the results were statistically superior to doxycycline. **Conclusion:** Both membranes have the ability of bacterial inhibition, confirming the ability of the tested membranes been used as carriers of antimicrobial agents, especially for doxycycline.

KEYWORDS: Chemotherapy; Guided tissue regeneration; Resorbable membrane.

Autor para Correspondência

Dr. Denildo de Magalhães

Telefone: (34) 3218-2550

Rua Guaicurus 157, Bairro Saraiva

Uberlândia, Minas Gerais, Brasil

CEP: 38.408-394

E-mail: denildo@foufu.ufu.br