

## Comportamento de corrosão de brincos com revestimento de ouro utilizados para perfuração de orelhas

I. Costa, O. V. Correa, M. Saiki, S. O. Rogero e O. Z. Higa

*IPEN/CNEN-SP,*

*Caixa Postal 11049, CEP 05422-970, São Paulo-SP*

*icosta@net.ipen.br, msaiki@baitaca.ipen.br, sorogero@net.ipen.br, ozahiga@net.ipen.br*

### Resumo

Neste trabalho, brincos comerciais utilizados para perfuração de orelhas foram avaliados quanto ao desenvolvimento de corrosão e citotoxicidade em presença de um meio de cultura. A superfície dos brincos foi observada por microscopia eletrônica de varredura, antes e após exposição destes ao meio, para avaliar a presença de defeitos no revestimento. Após exposição ao meio de cultura, os elementos dissolvidos/precipitados em consequência de corrosão foram analisados por ativação com neutrons. Os resultados indicaram a dissolução de quantidades significativas de níquel no meio de cultura. O mesmo meio colocado numa cultura celular mostrou ser citotóxico, avaliado pelo índice de citotoxicidade [IC<sub>50</sub>(%) ].

**Palavras chave:** corrosão, reação alérgica, níquel, citotoxicidade.

### Abstract

In this study, the corrosion characteristics and cytotoxicity of commercial gold coated ear piercing studs have been evaluated in a cell culture medium. The studs surface was observed by scanning electron microscopy, before and after exposure to the medium, to assess the presence of defects in the coating. After exposure to the culture medium, the dissolved/precipitated elements due to corrosion were analysed by instrumental neutron activation analysis. The results showed the dissolution of significant amounts of nickel in the culture medium. The same medium in a cell culture showed cytotoxicity evaluated by cytotoxicity index [IC<sub>50</sub>(%) ].

**Key words:** corrosion, gold coatings, nickel, allergic reaction, cytotoxicity.

## INTRODUÇÃO

Brincos utilizados para perfuração de orelhas têm sido associados com reações alérgicas/inflamatórias em algumas pessoas. Estes tipos de brincos são geralmente fabricados utilizando-se um material substrato, menos nobre e mais barato, revestido com ouro. Na perfuração de orelhas, geralmente estes brincos são deixados por cerca de dez dias até completa cicatrização. Durante este período, o brinco está em contato com fluidos corpóreos, e estes atuam como um eletrólito em contato com o brinco (eletrodo). Uma vez que o revestimento de ouro apresenta pouca ou nenhuma toxicidade, a reação alérgica ou inflamatória deve ser causada por elementos do substrato.

Alguns dos materiais utilizados como substrato na preparação dos brincos são os aços inoxidáveis austeníticos, os quais apresentam maior resistência à corrosão em relação aos demais aços inoxidáveis. O uso de aços inoxidáveis apresentam algumas vantagens além da resistência à corrosão, boas propriedades mecânicas e facilidade de usinagem em diversas formas e tamanhos. Porém, contém de 10-14% de Ni e este elemento tem sido relacionado com toxicidade. Os aços inoxidáveis apresentam tendência à corrosão em presença de cloretos, que são encontrados nos fluidos fisiológicos. A aplicação de revestimentos sem defeitos é na prática muito difícil. Consequentemente, ocorre contato entre o substrato e o fluido corpóreo, levando a corrosão do substrato, o que acarreta na dissolução dos principais elementos de sua composição, onde se inclui o níquel.

Além dos aço inoxidáveis, outras ligas têm sido utilizadas comercialmente como substratos para brincos, como as de cobre-zinco, que também contém níquel em sua composição.

A sensibilização ao níquel foi observada inicialmente devido ao uso de brincos perfurantes contendo este elemento em sua composição [1]. A dermatite de contato por níquel é causada pela absorção deste metal pela pele e a literatura indica que reações alérgicas a níquel são muito frequentes [1-7]. Seria portanto conveniente o uso de materiais isentos de níquel para a confecção de brincos, principalmente os utilizados para a perfuração de orelhas. Outra alternativa, seria a aplicação de revestimentos mais espessos do que os encontrados comercialmente, porém isto implicaria em custos mais elevados.

Considerando-se a situação prática atual, este trabalho teve como objetivo investigar o comportamento dos brincos perfurantes banhados a ouro, encontrados comercialmente, expostos a um meio fisiológico, quanto à corrosão e a citotoxicidade.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados brincos revestidos com ouro, do tipo perfurante, obtidos comercialmente.

A composição do substrato foi analisada por meio de fluorescência de raios-X, e é apresentada na Tabela 1.

Preparo do extrato: Doze pares de brincos foram colocados em contato com 60 mL de meio de cultura RPMI-SFB (meio de cultura RPMI 1640 contendo 10% de soro fetal bovino e 1% solução de antibióticos) durante 10 dias, a 37°C [8]. Após o término do tempo de incubação, o extrato foi retirado para análise instrumental por ativação com neutrons (INAA) e ensaio de citotoxicidade e os brincos foram enxaguados com água destilada e deixados para secar em estufa a 60°C. Os brincos foram pesados antes e após este procedimento.

A superfície dos brincos foi analisada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e análise de energia dispersiva (EDS), antes e após o preparo do extrato.

Para a determinação dos elementos dissolvidos no extrato foi feita a INAA que consistiu na irradiação de 500 µL do extrato no reator nuclear IEA-R1, por um período de 16h, sob um

fluxo de nêutrons térmicos correspondente a  $10^{13}$  n.cm<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>. Após tempos de decaimento adequados, as amostras e o padrão foram medidos em um detector hiper puro de Ge acoplado ao equipamento “EG&G Ortec ADCAM 918A Multichannel Buffer” e este a um microcomputador. Os espectros de raios gama foram processados utilizando um “software” adequado e as concentrações dos elementos presentes foram calculadas pelo método comparativo. O branco, correspondente ao meio de cultura RPMI-SFB, também foi analisado para avaliar as concentrações dos elementos presentes.

No ensaio de citotoxicidade[8,9] utilizou-se cultura de células de ovário de hamster chinês (CHO k1), da American Type Culture Collection.

O ensaio foi realizado colocando-se diluições seriadas dos extratos (50; 25; 12,5; 6,25%) em contato com a cultura de células CHO k1 em placa de Petri de 15x60 mm, utilizando-se como controle positivo uma solução de fenol 0,02% e como controle negativo, um extrato de polietileno de alta densidade (HDPE).

As células CHO k1, foram cultivadas em garrafa de plástico, em RPMI-SFB, em estufa com atmosfera úmida e 5% CO<sub>2</sub> a 37°C, até obtenção de uma camada de células com crescimento confluyente. O desprendimento das células da garrafa foi feito com a tripsinização das mesmas e a suspensão foi ajustada para 100 células/mL. Foram distribuídas 2mL dessa suspensão em cada placa de Petri e incubadas por cerca de 5h para adesão das células. Após esse período o meio de cultura foi removido e nessas placas foram adicionados 5mL do extrato puro e de cada diluição seriada. Na placa de controle de CHO k1 foi adicionado 5mL do meio fresco (RPMI-SFB).

Foram feitas triplicatas de cada concentração dos extratos testados. As placas foram incubadas em estufa úmida com 5% CO<sub>2</sub>, 37°C por 7 dias. Decorrido esse tempo o meio foi removido e as colônias formadas foram fixadas em formol 10% em uma solução salina 0,9% e coradas com corante de Giemsa.

As colônias visíveis em cada placa foram contadas e comparadas com o número de colônias da placa controle de CHO k1. O potencial citotóxico do material avaliado foi expresso em índice de citotoxicidade (IC<sub>50(%)</sub>).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise da composição do substrato dos brincos permitiu verificar que foram utilizados dois tipos de materiais, ambos contendo níquel, para a confecção de diversas partes de um mesmo brinco. A haste e cabeça do brinco foram confeccionados usando uma liga cobre-zinco e a tarracha com um aço inoxidável, como mostra a Tabela I.

Tabela 1 Composição química (% peso) dos materiais utilizados como substrato na confecção dos brincos analisados por fluorescência de raios-X.

Substrato	Elemento (% peso)							
	Fe	Cr	Ni	Mo	Mn	Si	-	Zn
Tarracha	69.8	16.7	10.5	0.24	2.5	0.16	-	-
Haste/cabeça	-	-	6.8	-	1.9	-	50.1	40.3

A pesagem das amostras antes e após o término do período de incubação mostrou um ganho de peso correspondente a 2,5 mg, indicando a formação de produtos aderentes na superfície dos brincos .

A observação da superfície dos brincos antes da exposição ao meio de cultura mostrou a presença de defeitos no revestimento, como ilustra a figura 1. Na região destes defeitos, pode haver penetração dos eletrólitos mais facilmente, atingindo o substrato, onde as reações com compostos do meio de cultura ocorrem.



Figura 1 - Superfície de um dos brincos testados antes da exposição ao meio de cultura.

Alguns produtos das reações entre o substrato e o meio de cultura apresentaram-se aderentes, depositados na superfície do brinco, como mostra a figura 2. A presença de produtos aderidos explica o ganho de peso detectado após o término do período de exposição ao meio de cultura.

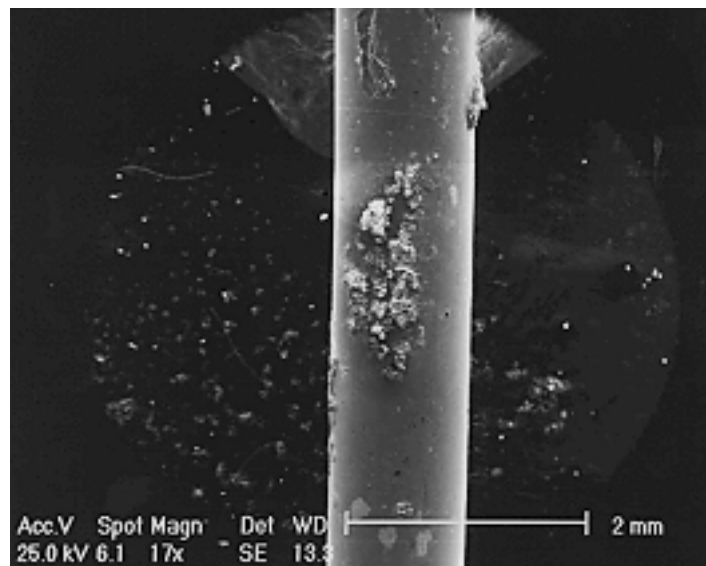


Figura 2 - Haste do brinco com produtos de corrosão aderentes.

Os produtos de corrosão causaram tensões no revestimento resultando em trincas, como indica a figura 3. Estas por sua vez, expõem o substrato ao meio agressivo em novas regiões levando à propagação da corrosão para novas áreas.

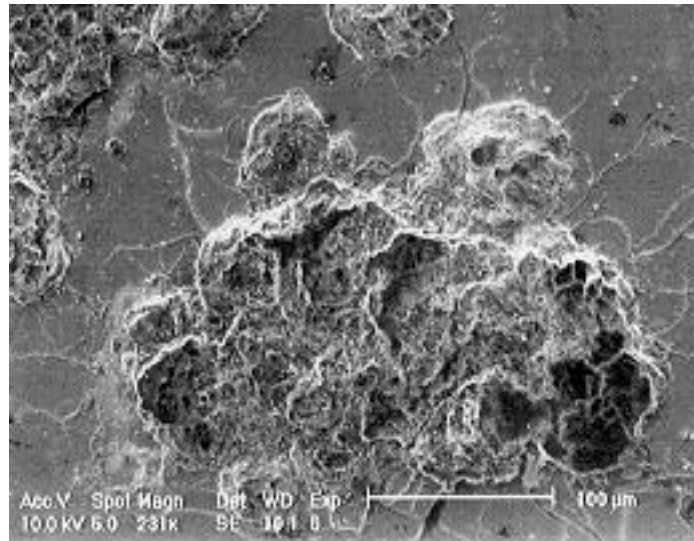


Figura 3 - Região corroída da superfície do brinco mostrando a presença de trincas no revestimento em consequência dos produtos de corrosão.

O espectro de análise de energia dispersiva em uma das regiões com produtos de corrosão aderentes é mostrada na figura 4. Nota-se a presença de fósforo, cloro, cálcio e sódio na área atacada do brinco. Estes elementos são provenientes no meio de cultura. A presença de cloro, provavelmente devido a cloretos, comprova a agressividade do meio de cultura em relação aos brincos testados. O fósforo deve estar relacionado à formação de fosfatos, os quais por sua vez atuam no sentido oposto ao dos cloretos, conferindo alguma proteção ao substrato.

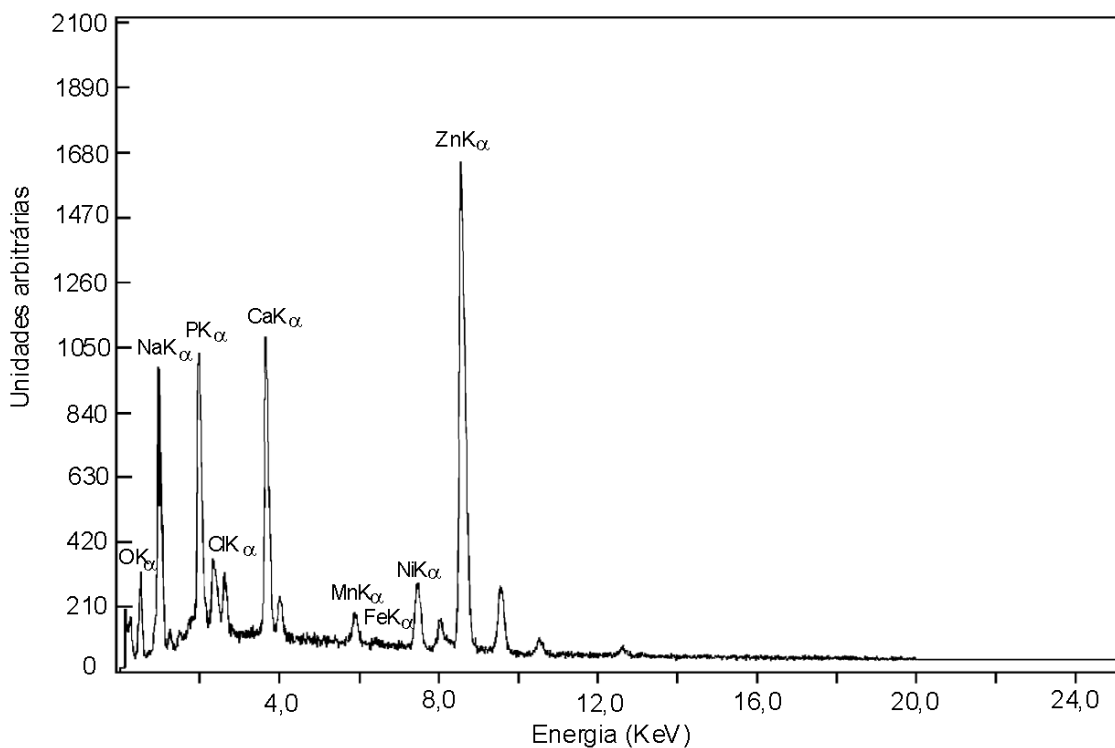


Figura 4 - Espectro de análise de energia dispersiva de região com produtos de corrosão.

O elevado teor de zinco na região com produtos de corrosão, indicado no espectro da figura 4, deve ter ocorrido devido à dissolução (ataque corrosivo) preferencial deste elemento da liga

utilizada como substrato. Esta observação foi comprovada pela análise química do extrato dos brincos mostrada na tabela 2. Verifica-se que ocorreu um aumento significativo de 3 vezes no teor de zinco no extrato, sendo este portanto proveniente da liga. A tabela 2 mostra também que ouro e níquel foram liberados dos brincos estudados, enquanto que as concentrações de cromo e ferro no extrato foram da mesma ordem de grandeza daquelas encontradas no meio de cultura. É importante salientar que o elemento que se apresentou em maior concentração no extrato foi exatamente o níquel, que tem sido associado com citotoxicidade.

Tabela 2 - Concentrações dos elementos presentes no extrato, pela INAA.

Elemento (ng/mL)	Extrato <sup>b</sup>	Meio de Cultura
Au	860 ± 2	3.84 ± 0.13
Cr	33 ± 7	625 ± 4
Fe	322 ± 82	288 ± 63
Ni	3452 ± 410	284 ± 21
Zn	1213 ± 11	601 ± 6

<sup>b</sup> - já descontada a contribuição do meio de cultura

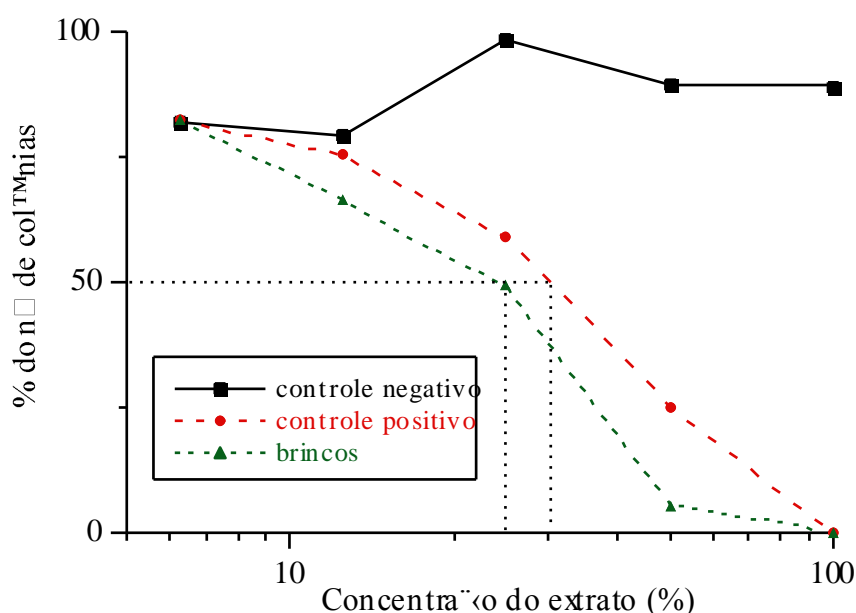


Figura 5. Curva de supressão de colônias do ensaio de citotoxicidade dos brincos

O índice de citotoxicidade é calculado pela projeção da porcentagem do número de colônias das placas em relação à concentração do extrato, num gráfico semilogarítmico, e é expresso como IC<sub>50</sub>(%), que é a concentração do extrato que suprime em 50% a formação de colônias em relação ao controle de células.

Na figura 5 pode-se observar que o controle negativo não apresenta citotoxicidade, IC<sub>50</sub>(%) > 100, mas tanto o controle positivo como os brincos apresentaram efeitos citotóxicos, demonstrando IC<sub>50</sub>(%) = 32 e 26 respectivamente.

O efeito citotóxico dos brincos é provavelmente devido a alta concentração de níquel no extrato, pois o níquel apresenta efeitos tóxicos nas culturas de células e tecidos[5]. O cobre também poderia ser responsável pela citotoxicidade. Segundo a literatura[10,11] há uma

estreita correlação entre a quantidade de cobre presente no meio de cultura e a citotoxicidade. Neste estudo o cobre não foi analisado pela INAA, devido a interferência do Na presente em alta concentração nessas amostras. A alta atividade do  $^{24}\text{Na}$  sobrepõe o fotopico do  $^{64}\text{Cu}$  no espectro gama obtido.

## CONCLUSÕES

A presença de defeitos no revestimento de ouro de brincos utilizados para perfuração de orelhas permitiu o ataque corrosivo do substrato pelo meio de ensaio (meio de cultura). A corrosão do substrato por sua vez levou à liberação de níquel em concentrações significativas para o meio de cultura. Os brincos testados mostraram citotoxicidade e esta deve ter sido causada pela alta concentração de níquel no extrato.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Vera Lucia R. Salvatori pelas análises de fluorescência de raios-X, a José Severo Ramos pelo fornecimento dos brincos para estudo e a Volkmar Ett pelas valiosas informações concedidas.

## REFERÊNCIAS

- [1] Breitstadt, R., *Galvanotechnik*, 1992, **83** (5): 1691-1695.
- [2] Rynänen, J., Niemi, E., Serlo, W. et al.; *J. Biomed. Mater. Res*; 1997, **35**: 451-457.
- [3] Ikarashi, Y., Momma, J., Tsuchiya, T. and Nakamura, A., *Biomaterials*; 1996; **17** (21): 2103-2108.
- [4] Yang, J. and Merrit, K.; *J. Biomed. Mater. Res.*; 1994; **28** (11): 1249-1258.
- [5] Bordji, K., Jouzeau, J. Y., Mainard, D., Payan, E., Delagoutte, J. P. and Netter, P., *Biomaterials*; 1996; **17**: 491-495.
- [6] Meijer, C., Bredberg, M., Fischer, T. and Vidströ, L., *Contact Dermatitis*, 1995, **32**: 147-149.
- [7] Leyendecker, K., *Galvanotechnik*, 1998, **52** (3): 178-182.
- [8] ISO document 10993, Biological evaluation of medical devices - Part 5 - Tests for cytotoxicity: *in vitro* methods, 1992.
- [9] Rogero, S.O.; Valente, M.C.; Bressiani, A.H.A.; Higa, O.Z. Anais do 12º CBECIMAT, Águas de Lindóia, SP, v.1, p.125-128, Dezembro/1996.
- [10] Wright, D.C. and Gallant, F.; *J. Biomed. Mater. Res.*; 1982; **16**(4): 509-517.
- [11] Craig, R.G. and Hanks, C.T.; *J. Dent. Res.*; 1990, **69** (8): 1539-1542.