

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE ENGENHARIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA METALÚRGICA E DE MINAS

Emílio Akaki

TESE

**Avaliação da incorporação
de agentes antibacterianos
a cimentos resinosos**

Belo Horizonte
2005

Emílio Akaki

**Avaliação da incorporação
de agentes antibacterianos
a cimentos resinosos**

Tese apresentada ao Colegiado de Pós-graduação de Engenharia Metalúrgica e de Minas da Faculdade de Engenharia da UFMG, como parte dos pré-requisitos para a obtenção do título de Doutor (área de concentração: Ciência e Engenharia de Materiais).

ORIENTADOR: Prof. Dr. Herman Sander Mansur

Belo Horizonte
2005

A quem dedico,

A meus pais e à minha família, base e apoio para tudo em minha vida.

A Deus, que me deu os dons da vida e saúde, com os quais tudo se torna possível.

A Verusca, minha companheira nas horas boas e difíceis.

Agradeço muito,

A meus pais e família que a cada dia me dão lições de amor e dignidade.

A Verusca, sempre me apoiando e incentivando com muita paciência e compreensão.

Ao Prof. Herman Sander Mansur, pela brilhante orientação. Muito obrigado pela compreensão das minhas limitações durante este período. Muito obrigado pela oportunidade de fazer este doutorado.

Ao Prof. Ming Fai Gia, exemplo profissional a ser seguido, a quem sou e serei eternamente grato por tudo o que fez e faz por mim.

A minha colega Maria Helena, colega das horas difíceis.

Ao Fundo de Apoio à Pesquisa da PUC-MG, pelo auxílio financeiro.

Ao INC do Centro Universitário Newton Paiva, pelo auxílio financeiro.

À competente e eficiente equipe de pesquisa do projeto FIP-PUC 14/2004, Prof^a. Márcia Almeida Lana e o acadêmico Renato Rivail Rodrigues Braga, pela valiosa ajuda e colaboração.

À equipe de pesquisa do projeto de iniciação científica INC do Centro Universitário Newton Paiva, Prof^a Lúcia Helena de Angelis e os acadêmicos: Bárbara de Araújo Castro, Danielle Barros de Faria, Fernanda Carvalho e Henrique Freitas Valadão.

À Denise, sempre solícita e atenciosa.

À Prof^a Marivalda de Magalhães Pereira, por disponibilizar o Aparelho de Microdureza.

Ao Prof. Dagoberto Brandão Santos, por disponibilizar o MEV e EDS.

Ao Prof. Rodrigo Lambert Oréfice por disponibilizar o Laboratório de Polímeros e Compósitos.

Ao Prof. Ronaldo Antônio Neves M. Barbosa pela oportunidade de fazer este curso.

Aos meus amigos e colegas da clínica: Dra. Marília, Dra. Eleuza, Andréa, Rute, Bruno, Jordana, Marli, Nina, Camila, obrigado pela ajuda e agradável convivência.

A Prof^a Antonieta, pela idéia deste trabalho.

A este país, Brasil, que tão bem acolheu meus pais, dando-lhes a oportunidade de serem felizes.

Ao Governo Federal por ter me dado a oportunidade de fazer “gratuitamente” a graduação, mestrado e o doutorado.

A FOUFGM, por ter me propiciado uma profissão apaixonante.

Aos funcionários do CPGEM, Cida e Nelson, pela presteza e colaboração.

A todos os colegas da PUC-MG e do Centro Universitário Newton Paiva que de alguma forma colaboraram para a realização deste trabalho

Ao CPGEM, por ter me dado a oportunidade de fazer este curso.

A todos os funcionários da Escola de Engenharia da UFGM que de alguma forma colaboraram para a realização deste trabalho.

A todos que colaboraram nesta etapa de minha vida.

O maior de todos os erros é não se fazer coisa alguma pelo fato de só se poder fazer pouco. Faça o que lhe for possível, e de repente, pode se tornar muito.

“Quando a vida lhe parecer monótona e triste, enfeite-a com um pensamento positivo e ela será atraente.”

Cenyra Pinto

Sumário

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	7
2.1 Etiopatogenia da cárie.....	7
2.2 Agentes antimicrobianos.....	9
2.3 Incorporação de agentes antibacterianos e atividade antimicrobiana dos materiais restauradores.....	16
2.4 Cimentos resinosos.....	31
2.5 Liberação de agentes antimicrobianos.....	41
3 OBJETIVOS.....	43
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	44
4.1 Cimentos resinosos, agentes antibacterianos	44
4.2 Incorporação de agentes antibacterianos aos cimentos resinosos.....	45
4.3 Confeção dos corpos de prova.....	46
4.4 Análise no Microscópio Eletrônico de Varredura.....	47
4.5 Análise na Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS).....	48
4.6 Tratamento térmico a 160°C.....	48
4.6.1 Tratamento térmico a 160°C.....	49
4.6.2 Tratamento térmico a 750°C.....	49
4.7 Quantificação de espaços vazios após tratamento térmico a 160°C.....	50

4.8	Análise Termogravimétrica.....	51
4.9	Análise de Espectroscopia no infravermelho de transformada de Fourier – FTIR.....	51
4.10	Teste de liberação do agente antimicrobiano.....	52
5.10.1	Obtenção da diluições padrão para o FTIR.....	52
5.10.2	leitura das diluições padrão.....	54
4.10.3	Confecção dos corpos de prova e armazenagem.....	55
4.10.4	Leitura das amostras.....	55
4.11	Teste de Efetividade Antimicrobiana.....	56
4.11.1	Teste de Difusão em Agar.....	56
4.11.2	Sensibilidade do <i>S.mutans</i> ATCC 35534 ao triclosan e Diacetato de clorexidina.....	60
4.12	Teste de microdureza Knoop.....	61
5	RESULTADOS e DISCUSSÃO.....	62
5.1	Análise pelo Microscópio Eletrônico de Varredura – MEV.....	62
5.1.1	Análise comparativa pelo MEV entre os grupos.....	62
5.1.2	Análise pelo MEV dos corpos de prova após tratamento térmico a 160°C.....	69
5.1.3	Quantificação de espaços vazios pelo método da malha.....	70
5.1.4	Análise pelo MEV dos corpos de prova após tratamento térmico a 750°C.....	76
5.2	Análise termogravimétrica.....	78

5.3	Análise pela Espectroscopia de Energia Dispersiva – EDS.....	83
5.3.1	Análise EDS após tratamento térmico a 750°C.....	85
5.3.2	Análise EDS após tratamento térmico a 160°C.....	87
5.4	Espectroscopia no Infravermelho.....	88
5.4.1	Espectro das amostras.....	88
5.4.2	Espectro das amostras após eliminação da fase orgânica.....	94
5.5	Liberação de antimicrobianos.....	96
5.5.1	Curva de calibração.....	96
5.5.2	Leitura dos meios de armazenagem (água DI) dos corpos de prova	98
5.6	Efetividade antimicrobiana.....	109
5.6.1	Sensibilidade do <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 35535 aos agentes antibacterianos.....	109
5.6.2	Teste de difusão de ágar.....	111
5.7	Teste de microdureza Knoop.....	116
5.8	Incorporação de agentes antimicrobianos aos cimentos resinosos.....	119
6	CONCLUSÕES.....	121
6.1	Conclusões gerais.....	121
6.2	Conclusões específicas.....	121
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	123

LISTA DE FIGURAS

1. Fórmula química do bis-GMA.....	1
2. Fórmula química da penicilina V.....	10
3. Fórmula química do triclosan.....	13
4. Fórmula química da clorexidina.....	15
5. Esquema de associação entre clorexidina e resina composta.....	16
6. Esquema de associação entre fluoreto de sódio e doceclamina com adesivo dentinário.....	17
7. Esquema de associação entre 2,2'-Bipiridina e adesivo dentinário.....	18
8. Fórmula química do MDPB.....	19
9. Esquema da eficácia do MDPB.....	19
10. Esquema de associação entre o triclosan e a resina composta.....	21
11. Esquema de associação entre o MDPB e resina composta.....	21
12. Esquema de associação entre o Ap-AW e resina composta.....	23
13. Esquema de associação entre primer e o MDPB.....	24
14. Esquema de associação entre MDPB e o MDP à resina composta.....	25
15. Esquema de associação entre íons prata, Novaron e Amenitop à resina composta.....	26
16. Esquema de associação entre o CPC e a resina composta.....	27

17. Esquema de associação entre a vancomicina e o metronidazol à resina composta.....	27
18. Cimentos resinosos: Fill Magic Dual Cement® e C&B®	44
19. Capela de Fluxo laminar.....	57
20. Semeadura do <i>S. mutans</i> no ágar BHI.....	59
21. Distribuição dos corpos de prova na placa de Petri.....	59
22. Fotomicrografias do cimento resinoso C&B com incorporação de clorexidina nas concentrações de 0% (a), 1% (b) e 3% (c). 15 kV 1000X.....	65
23. Fotomicrografias do cimento resinoso Fill Magic Dual Cement® com incorporação de clorexidina nas concentrações de 0% (a), 1% (b) e 3% (c). 15 kV 1000X.....	66
24. Fotomicrografias do cimento resinoso C&B® com incorporação de triclosan nas concentrações de 0% (a), 1% (b) e 3% (c). 15 kV 1000X.....	67
25. Fotomicrografias do cimento resinoso Fill Magic Dual Cement® com incorporação de triclosan nas concentrações de 0% (a), 1% (b) e 3% (c). 15 kV 1000X.....	68
26. Fotomicrografias do cimento resinoso C&B®+ 0% (a), 1% (b) e 3% (c) de clorexidina submetido a temperatura de 160 °C. 15 kV 1000X.....	72
27. Fotomicrografias do cimento resinoso C&B® + 0% (a), 1% (b) e 3% (c) de triclosan submetido à temperatura de 160 °C. 15 kV 1000X.....	73
28. Fotomicrografias do cimento Fill Magic Dual Cement®+ 0% (a), 1% (b) e 3% (c) de clorexidina submetido à temperatura de 160 °C. 15 kV 1000X.....	74
29. Fotomicrografias do cimento Fill Magic Dual Cement®+ 0% (a), 1% (b) e 3% (c) de triclosan submetido à temperatura de 160 °C. 15 kV 1000X.....	75

30. Fotomicrografia do cimento resinoso C&B [®] após sofrer tratamento térmico a 750°C por duas horas. 1000X 15 kv.....	77
31. Fotomicrografia do cimento Fill Magic [®] após sofrer tratamento térmico a 750°C por duas horas. 5000x 15 kv.....	77
32. Espectro do cimento C&B [®] (CB) sem incorporação.....	84
33. Espectro do cimento C&B [®] com incorporação de 3% de triclosan (CBTCL3%). Notar a presença do cloro (seta).....	84
34. Espectro do cimento C&B [®] com incorporação de 3% de clorexidina (CBCLD3%). Notar a presença do cloro (seta).....	85
35. Espectro do cimento C&B [®] após a eliminação, por tratamento térmico, da fase orgânica.....	86
36. Espectro do cimento Fill Magic [®] após a eliminação, por tratamento térmico, da fase orgânica.....	86
37. Espectro do cimento C&B [®] (CBTCL3%) após sofrer tratamento térmico a 160°C por duas horas.....	87
38. Estrutura química do bis-GMA.....	88
39. Estrutura química do TEGDMA.....	89
40. Espectro infravermelho do cimento resinoso C&B sem incorporação de agente antibacteriano. As principais bandas de absorção dos grupos funcionais estão indicadas.....	89
41. Estrutura química do acetato de clorexidina.....	90
42. Espectro infravermelho da clorexidina (Acetato de clorexidina – Sigma [®]). As principais bandas de absorção dos grupos funcionais estão indicadas.....	90
43. Estrutura química do triclosan.....	91

44. Espectro infravermelho do Triclosan (Irgasan DP-300 [®]). As principais bandas de absorção dos grupos funcionais estão indicadas.....	91
45. Espectro infravermelho do cimento resinoso C&B [®] antes (a) e após (b) a incorporação de clorexidina 3% p/p.....	92
46. Espectro infravermelho do cimento resinoso C&B [®] antes (a) e após (b) a incorporação de clorexidina 3% p/p. Espectro c após a subtração dos espectros a e b.....	93
47. Espectro infravermelho do cimento resinoso Fill Magic Dual Cement [®] antes (a) e após (b) a incorporação de clorexidina 3% p/p. Espectro c após a subtração dos espectros a e b.....	94
48. Espectros do cimento Fill Magic [®] (a) e C&B [®] (b) após a eliminação da fase orgânica.....	95
49. Halo de inibição nos grupos CBCLD1% (b) e CBCLD3%(c). Ausência de halo de inibição no grupo CB (a).....	113
50. Halo de inibição nos grupos FMCLD1% (b) e FMCLD3%(c). Ausência de halo de inibição no grupo FM (a).....	114

LISTA DE TABELAS

1. Cimentos resinosos e agentes antibacterianos.....	44
2. Porcentagem dos agentes antimicrobianos e denominação dos grupos.....	45
3. Diluições padrão ($\mu\text{g/mL}$) preparadas dos agentes antibacterianos (triclosan e clorexidina) por 1mL de água deionizada (DI) ou metanol.....	54
4. Distribuição dos corpos de prova nas placas de Petri relacionados ao cimento e antimicrobianos testados.....	58
5. Média de espaços vazios nas fotomicrografias após tratamento térmico a 160°C por duas horas.....	71
6. Média de massa (dp) dos corpos a 22°C (leitura 1), a 160°C (leitura 2), a 370°C (leitura 3) e a 750°C (leitura 4)	80
7. Perda de massa em porcentagem entre leitura1 e leitura 2, após tratamento térmico a 160°C	81
8. Porcentual de carga inorgânica p/p dos cimentos resinosos.....	83
9. Bandas de absorção dos principais grupos funcionais dos cimentos resinosos.....	89
10. Bandas de absorção dos principais grupos funcionais da clorexidina...90	
11. Bandas de absorção dos principais grupos funcionais do triclosan.....91	
12. Bandas de absorção dos principais grupos funcionais dos compostos inorgânicos dos cimentos resinosos	95
13. Valores de concentração (μg de clorexidina / 1mL de água DI) e valor máximo de absorção (u.a) de cada diluição, utilizados	

na determinação da curva de calibração.....	96
14. Valores de concentração (μg de triclosan / mL álcool metílico) e valor máximo de absorção (u.a) de cada diluição, utilizados na determinação da curva de calibração.....	97
15. Valor máximo de absorção (u.a) nos meios após os tempos de 3, 6 e 21 dias para a marca comercial Fill Magic Dual Cement [®] com incorporação de clorexidina.....	99
16. Leituras de absorbância máxima (u.a.) e concentração total de clorexidina ($\mu\text{g}/\text{mL}$) incorporado ao cimento resinoso Fill Magic Dual Cement [®] nos intervalos de tempo.....	100
17. Valor máximo de absorção (u.a) nos meios após os tempos de 3, 6 e 21 dias para a marca comercial Fill Magic Dual Cement [®] com incorporação de triclosan.....	101
18. Leituras de absorbância máxima (u.a.) e concentração total de triclosan ($\mu\text{g}/\text{mL}$ incorporado ao cimento resinoso Fill Magic Dual Cement [®] nos intervalos de tempo.....	102
19. Valor máximo de absorção (u.a) nos meios após os tempos de 3, 6 e 21 dias para a marca comercial C&B [®] com incorporação de clorexidina.....	103
20. Leituras de absorbância máxima (u.a.) e concentração total de clorexidina ($\mu\text{g}/\text{mL}$) incorporado ao cimento resinoso C&B [®] nos intervalos de tempo.....	104
21. Valor máximo de absorção (u.a) nos meios após os tempos de 3, 6 e 21 dias para a marca comercial C&B [®] com incorporação de triclosan.....	105
22. Leituras de absorbância máxima (u.a.) e concentração total de	

triclosan ($\mu\text{g/mL}$) incorporado ao cimento C&B [®] nos intervalos de tempo.....	106
23. Resultados das médias de medidas dos halos de inibição ao <i>S. mutans</i> dos diferentes grupos (dp).....	111
24. Média dos valores de microdureza Knoop (dp) dos grupos avaliados (n=3).....	117

LISTA DE GRÁFICOS

1. Variação na massa dos corpos de prova em função do tratamento térmico aplicado para o cimento resinoso C&B[®]81
2. Variação na massa dos corpos de prova em função do tratamento térmico aplicado para o cimento resinoso Fill Magic Dual Cement[®]82
3. Gráfico representando a reação linear entre absorbância (u.a.) e concentração de triclosan($\mu\text{g}/\text{mL}$ álcool metílico) e clorexidina ($\mu\text{g}/\text{mL}$ de água DI).....97
4. Cinética de liberação cumulativa da clorexidina incorporado ao cimento Fill Magic Dual Cement[®] nas concentrações de 1% (FMCLD1%) e 3% (FMCLD3%).....100
5. Cinética de liberação cumulativa do triclosan incorporado ao cimento Fill Magic Dual Cement[®] nas concentrações de 1% (FMTCL1%) e 3% (FMTCL3%).....102
6. Cinética de liberação cumulativa da clorexidina incorporado ao cimento C&B[®] nas concentrações de 1% (CBCLD1%) e 3% (CBCLD3%).....104
7. Cinética de liberação cumulativa do triclosan incorporado ao cimento C&B[®] concentrações de 1% (FMTCL1%) e 3% (FMTCL3%).....106
8. Sensibilidade do *S. mutans* ATCC 35535 às concentrações de clorexidina e triclosan ($\mu\text{g}/\text{mL}$).....110
9. Diâmetro do halo de inibição (cm) e m função da concentração dos agentes antimicrobianos e cimentos resinosos.....116

LISTA DE ABREVIATURAS

Água DI – água deionizada

BHI – brain heart infusion

Bis-GMA - bisfenol A-glicidilmetacrilato

CIM – concentração inibitória mínima

EDS – Espectroscopia de energia dispersiva

FTIR - Espectroscopia no infravermelho de transformada de Fourier

MEV - microscópio eletrônico de varredura

MDP - metacrilóiloxidodecilpiridínio

MDPB – brometo de metacrilóiloxidodecilpiridínio

PMMA - Polimetilmetacrilato

TEGDMA – trietilenoglicoldimetacrilato

TGA – análise termogravimétrica

UDMA – uretano dimetacrilato

RESUMO

As restaurações indiretas odontológicas têm sido cada vez mais solicitadas pelos pacientes no consultório odontológico. Tais restaurações têm uma longevidade menor do que as tradicionais restaurações metálicas. Uma das maneiras de se aumentar a sua durabilidade seria incorporar agentes antibacterianos aos cimentos resinosos. Neste trabalho iniciamos os estudos nesta linha de pesquisa adicionando o triclosan (Irgasan DP-300, Ciba-Geigy[®]) e o diacetato de clorexidina (Sigma[®]) em diferentes proporções (1 a 3% p/p) em duas marcas comerciais (C&B - Bisco[®] e Fill Magic Dual Cement Vigodent[®]) de cimento resinoso. Os corpos de prova foram manipulados de acordo com as instruções do fabricante. As imagens do MEV mostraram que não há uma distinção clara entre as fases presentes: matriz orgânica, matriz inorgânica e agentes antibacterianos. As imagens sugerem que não houve uma aglomeração indesejada dos agentes antibacterianos. Para avaliar a distribuição dos agentes antibacterianos no cimento resinoso, os corpos de prova foram submetidos ao tratamento térmico seletivo. Os materiais foram submetidos à temperatura de 160°C para eliminação dos agentes antibacterianos. As imagens do MEV mostram que os espaços vazios que seriam preenchidos pelos agentes antimicrobianos têm uma boa distribuição na superfície da amostra. Os resultados do EDS mostram a presença dos agentes antibacterianos em diferentes regiões das áreas analisadas previamente ao tratamento térmico. À temperatura de 750°C houve a eliminação da matriz orgânica. A média do percentual de carga inorgânica para os dois cimentos resinosos ficou em torno de 40,5% (p/p). A análise termogravimétrica demonstrou que a decomposição térmica dos cimentos resinosos é semelhante a das resinas compostas devido à semelhança nas composições. As análises do FTIR mostraram que não houve grande diferença entre os espectros dos cimentos resinosos antes e depois da incorporação devido à baixa concentração dos agentes antibacterianos. A liberação de agentes antimicrobianos em água deionizada a 37°C foi diferente nas

concentrações de 1% e 3% (ANOVA – $p=0,00$). Os grupos que continham a concentração de 3% (CBTCL3%, CBCLD3%, FMTCL3% e FMCLD3%) de agentes antibacterianos liberaram mais triclosan ou clorexidina do que os grupos que continham 1% (CBTCL1%, CBCLD1%, FMTCL1% e FMCLD1%) nos tempos de 3, 6 e 21 dias, independente da marca comercial do cimento resinoso. A maior liberação de agentes antimicrobianos aconteceu nos seis primeiros dias. Apesar da liberação de agentes antimicrobianos, os grupos com incorporação de triclosan (CBTCL1%, CBTCL3%, FMTCL1%, FMTCL3%) não apresentaram efetividade antimicrobiana contra o *S. mutans* ATCC35535 no teste de difusão em ágar. Os grupos CBCLD1%, CBCLD3%, FMCLD1% e FMCLD3% apresentaram efetividade antibacteriana contra o *S. mutans* ATCC 35535. Os grupos com concentração de 3% (CBCLD3% e FMCLD3%) do diacetato de clorexidina apresentaram um halo significativamente maior (teste – t, $p<0,05$) do que os grupos com concentração de 1% (CBCLD1% e FMCLD1%). A incorporação de agentes antimicrobianos aos cimentos resinosos influenciou na microdureza Knoop do grupo CBCLD3% (ANOVA – $p=0,00$). Para os outros grupos, a adição de agentes antimicrobianos não influenciou na microdureza. Mais estudos sobre esta incorporação são necessários com o objetivo de investigar possíveis alterações em outras propriedades físicas e biocompatibilidade.

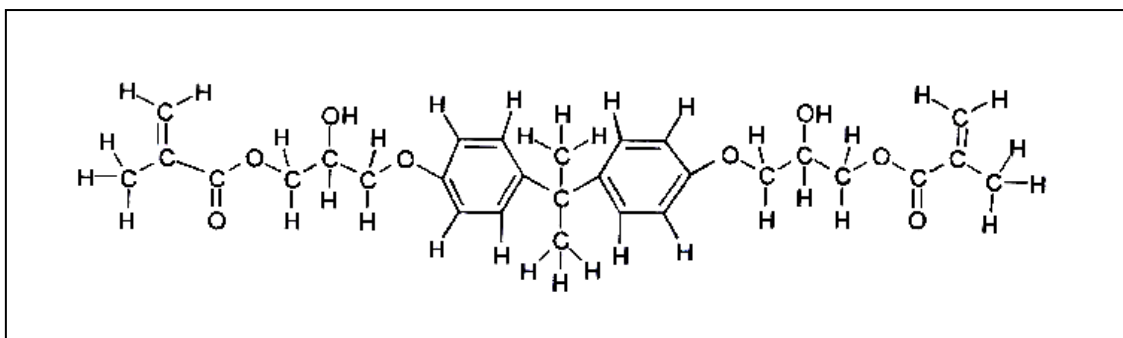
ABSTRACT

Dental resin composites have been used in dentistry for anterior and posterior tooth restoration because of patient solicitation. Their durability is smaller than the conventional metallic restoration. One way to increase the durability could be to incorporate antibacterial agents to resin cements. In this study, we add triclosan (Irgasan DP-300, Ciba-Geigy[®]) chlorhexidine diacetate (Sigma[®]) in different ratios (1 and 3% w/w) to the resin cements C&B - Bisco[®] and Fill Magic Dual Cement - Vigodent[®]. Samples were manipulated according to manufacturer's instruction. The SEM images showed no clear difference between the present phases: organic matrix, inorganic matrix and the antibacterial agents. The images suggest that there were not antibacterial agent agglomeration. To evaluate the antibacterial agent distribution in the resin cement, samples were submitted to selective thermic treatment at 160°C. After that, the images obtained showed empty spaces, left by the antibacterial agents, with a good distribution. The EDS analysis shows antibacterial agents presence in different regions of the surface. At 750°C, the organic matrix was eliminated. The inorganic matrix ratio was about 40,5 (w/w) for the both resin cements. The TGA analysis showed that thermal decomposition in resin cement is similar to resin composite due to their similar composition. The FTIR analysis showed no significant difference in resin cement spectra before and after incorporation due to low antibacterial agent concentration. The triclosan and chlorhexidine release in deionized water were different in 1% and 3% concentrations (ANOVA – $p=0,00$). The 3% concentration groups (CBTCL3%, CBCLD3%, FMTCL3% and FMCLD3%) released more antibacterial agents than 1% concentration groups (CBTCL1%, CBCLD1%, FMTCL1% and FMCLD1%) at 3, 6 and 21 days. The triclosan and chlorhexidine release was bigger until the sixth day. Although antibacterial agents release, the groups with triclosan incorporated (CBTCL1%, CBTCL3%, FMTCL1% and FMTCL3%) did not show antibacterial activity against *Streptococcus mutans* ATCC35535 in diffusion agar test. The groups CBCLD1%, CBCLD3%, FMCLD1% and

FMCLD3% showed anitibacterial activity against the same microorganism. The triclosan and chlorhexidine incorporation showed a significant reduction in the Knoop microhardness only at CBCLD3% (ANOVA – $p=0,00$). More studies become necessary to investigate possible alterations in other properties and biocompatibility.

1 INTRODUÇÃO

Os materiais restauradores utilizados na odontologia dividem-se em três grupos: metais, cerâmicos e polímeros. Tradicionalmente, os metais têm sido utilizados com relativo sucesso clínico. Porém, nas últimas décadas, devido a exigência por materiais estéticos por parte dos pacientes, estes têm norteado as pesquisas nesta área, envolvendo principalmente as cerâmicas e os polímeros. Desde então, o estudo e a utilização dos materiais estéticos vem se intensificando. Uma associação entre as cerâmicas e os polímeros, formando um compósito, originou um novo grupo de materiais restauradores chamados de resinas compostas. O desenvolvimento deste material teve início na década de 50 com os estudos de BOWEN utilizando resinas epóxicas reforçadas com carga de cerâmica. Devido a sua baixa velocidade de polimerização e tendência a descoloração, este material mostrou-se inviável clinicamente. Na década seguinte, BOWEN (1962) desenvolveu o bis-GMA (bisfenol-A-glicidilmetacrilato), com propriedades satisfatórias para funcionar como uma matriz para o compósito (FIG.1).



Basicamente, as resinas compostas são formadas por uma matriz de bis-GMA, uma carga inorgânica a base de sílica e um agente de ligação o silano. Pequenas quantidades de aditivos são incorporados com a finalidade de melhorar a estabilidade da cor, inibidores e pigmentos para aproximar-se da cordas estruturas dentárias. A ativação do iniciador da reação de polimerização se dá normalmente por meio de reação química (peróxido de benzoíla + N,N-dimetil-p-toluidina) ou fotoativadas (canforoquinona) por luz visível (ANUSAVICE, 1998).

Um grande avanço na Odontologia Restauradora foi dado quando se conseguiu aperfeiçoar a resistência à união dos materiais restauradores, através da técnica de condicionamento ácido da superfície do esmalte proposto por BUONOCORE (1955). Teve início, a partir daí, junto com a utilização de sistemas adesivos, um novo conceito de Odontologia, visando procedimentos mais conservadores da estrutura dentária.

Para restauração de dentes anteriores (incisivos e caninos) a resina composta mostrou ser um material eficiente. Como uma alternativa ao uso dos metais para a restauração em dentes posteriores, utilizadas desde o início do século passado, tem sido utilizado cada vez mais freqüentemente os materiais estéticos, como as cerâmicas e resinas compostas. Apesar das intensas pesquisas e melhorias destes materiais para estas indicações, a sua durabilidade ainda está aquém das tradicionais e eficientes restaurações metálicas.

Para a confecção de restaurações estéticas em dentes posteriores, podemos utilizar duas técnicas:

- Técnica direta: onde se realiza a restauração no próprio consultório normalmente em uma só sessão. Utiliza-se para este caso as resinas compostas fotoativadas. É indicada para restaurações de menores dimensões onde a perda de tecido dentário não foi acentuada.
- Técnica indireta: onde a restauração é confeccionada no laboratório em resina composta ou cerâmica. Requer normalmente mais de uma sessão, sendo indicada para restaurações de maiores dimensões onde a perda de tecido dentário foi acentuada. Estas restaurações são cimentadas aos dentes.

Um dos passos de maior importância no sucesso de uma restauração indireta é a etapa de cimentação. Dentro desse contexto, parece-nos de grande valia levar em consideração algumas características que farão com que o agente cimentante escolhido se comporte da melhor maneira

possível. A partir do momento em que se deseja empregar um material com desempenho clínico satisfatório e, ainda, esteticamente compatível com a restauração indireta confeccionada, esta escolha se torna ainda mais criteriosa.

Classicamente, têm sido descritos quatro tipos de agentes cimentantes: cimento fosfato de zinco, o mais antigo dentre eles e por isso, utilizado como padrão quando se deseja testar novos sistemas para cimentação; cimento de poliacrilato de zinco, atualmente em desuso; cimento ionômero de vidro, de reconhecida adesividade às estruturas dentárias e capacidade de liberação de flúor; e ultimamente, os cimentos resinosos, que nos últimos anos apresentaram uma significativa evolução por serem insolúveis e compatíveis com os sistemas adesivos.

A associação de sistemas adesivos, em constante evolução, com os cimentos resinosos tornou possível o desenvolvimento da técnica da cimentação adesiva permitindo melhores resultados.

Os cimentos resinos surgiram nos anos 60 e sua composição inicial tinha como base o cloreto de etila. Em decorrência de sua grande contração de polimerização, dificuldades de manipulação, irritabilidade pulpar, microinfiltração e grande espessura de película, seu emprego foi muito restrito. Com o desenvolvimento das resinas compostas, surgiram vários cimentos resinosos cujas composições à base de bis-GMA eram muitos similares às resinas para restaurações.

Uma preocupação constante do cirurgião-dentista é a busca por materiais restauradores biocompatíveis, com propriedades mecânicas e estéticas cada vez melhores. Existem hoje no mercado, muitos materiais estéticos para restaurações indiretas estéticas (resinas compostas e cerâmicas) que apresentam propriedades satisfatórias. Entretanto, para o bom desempenho clínico, estético e longevidade destas restaurações, deve-se levar em consideração, as propriedades e o tipo de agente cimentante a ser utilizado. A escolha do agente cimentante adequado, frente a um determinado tipo de material restaurador e situação clínica, baseia-se nas características ideais de cada cimento.

Encontramos ainda muitos problemas inerentes a utilização de resinas compostas e cimentos resinosos tais como: microinfiltração, nanoinfiltração, contração de polimerização e desgaste. Muitas linhas de pesquisa estão sendo realizadas para solucionar estas deficiências como: adição de flúor, modificação na matriz orgânica, uso de novos materiais inorgânicos, adição de antimicrobianos, etc.

A respeito do último item anterior, recentemente, o desenvolvimento de resinas compostas associadas aos agentes antimicrobianos têm sido objeto de estudo em vários centros de pesquisa na tentativa de diminuir a recidiva de cárie em restaurações utilizando este tipo de material. A clorexidina foi uma das primeiras substâncias a ser utilizada para este propósito. Muitas das questões como efeito antibactericida em longo prazo, toxicidade uma vez liberado, influência nas propriedades mecânicas, cinética de liberação do agente antimicrobiano e biocompatibilidade ainda não estão completamente elucidadas para este tipo de material.

Os estudos e testes continuam neste sentido. Comercialmente ainda encontramos poucos produtos frutos destas pesquisas, mas podemos estar na eminência deste acontecimento. Até que todos os problemas e limitações inerentes da resina composta sejam solucionados, o uso da associação destes materiais com agentes antimicrobianos exercerá certamente um importante papel na melhoria da qualidade e longevidade destas restaurações.

Outras áreas de conhecimento também utilizam a associação de agentes antimicrobianos a diversos tipos de polímeros, como por exemplo:

- Nutrição: Associação de agentes antimicrobianos a filmes plásticos para embalagem de alimentos (CHA e CHINNAN, 2004);

- Engenharia biomédica: Incorporação de ciprofloxacina em compósito hidroxiapatita/colágeno para enxertos ósseos em áreas infectadas (OGAWA e PIEPS, 2001);
- Engenharia biomédica: Mecanismo de liberação controlada de gentamicina incorporado a enxertos ósseos a base de hidroxiapatita e ácido poly(DI-láctico) para prevenção e tratamento de infecções ósseas (BARO, et al. 2002);
- Veterinária: Incorporação de antibióticos ao PMMA para enxertos ósseos (WEISMAN, OLMSTEAD e KOWALSKI, 2000).
- Controle de infecção hospitalar: Incorporação de triclosan em vestimentas, rouparia, móveis, etc. (KALYON e OLGUN, 2001).

Um outro ponto a ser mencionado neste sistema é o cimento resinoso utilizado para a cimentação destas restaurações estéticas. Tal material de polimerização dual ou autopolimerizável apresenta as mesmas limitações e deficiências das resinas compostas restauradoras, ou seja, contração de polimerização e baixa resistência ao desgaste. Pouquíssimos estudos têm sido realizados e publicados referentes a associação deste produto a agentes antimicrobianos. Um dos locais de maior infiltração e recidiva de cárie e por conseqüência falha nas restaurações estéticas indiretas cimentadas com este material é a interface dente x cimento resinoso. O uso de agentes antimicrobianos associados ao cimento resinoso pode ser um importante aliado para aumentar a longevidade destas restaurações.

O fator mais importante e eficiente para evitar recidivas de cárie ao redor das restaurações cimentadas com o cimento resinoso é um criterioso controle mecânico da placa realizado pelo paciente por meio de escovação e uso do fio dental. O uso de agentes antimicrobianos associados a estes agentes cimentantes e a qualquer material restaurador tem o papel de tentar amenizar as limitações do material usado no intuito de prolongar a sua vida clínica.

O objetivo deste trabalho é analisar, por diferentes métodos como o MEV, EDS, FTIR, análise termogravimétrica, liberação dos agentes antimicrobianos e efetividade antimicrobiana, a viabilidade e efetividade na incorporação do triclosan e do diacetato de clorexidina a duas marcas comerciais de cimentos resinosos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ETIOPATOGENIA DA CÁRIE

A cárie é uma doença infecto-contagiosa que resulta em uma perda localizada de substâncias minerais causada pelos ácidos orgânicos provenientes da fermentação microbiana dos carboidratos da dieta. Esta doença tem como característica ser de natureza multifatorial, dependendo da interação de três fatores: hospedeiro, microbiota e dieta consumida. Para a ocorrência da doença cárie, estes três fatores devem interagir em condições críticas: um hospedeiro susceptível (dentes), colonizado por microrganismos cariogênicos e consumindo com frequência uma dieta rica em sacarose. Satisfazendo estas condições, poderão se desenvolver placas colonizadas e dominadas por microrganismos cariogênicos e após um certo período de tempo, desenvolverem as lesões de cárie (WEYNE, 1992).

No esmalte, os elementos químicos que compõem a hidroxiapatita, seu principal componente, estão arrançados de tal forma que os radicais fosfato ficam localizadas na superfície. Como consequência, a superfície dental é carregada negativamente. Forma-se então, por atração, uma camada de hidratação sobre esta superfície, invertendo-a eletricamente. Esta superfície, em contato com a saliva atrai íons de carga negativa geralmente presente nas glicoproteínas (COO^-) invertendo a carga da superfície que novamente se torna negativa. Forma-se com esta ocorrência a película adquirida (JORGE, 1955).

A microbiota oral também apresenta uma rede de carga negativa, gerando inicialmente uma repulsão entre estas duas superfícies. A aderência da bactéria se dá inicialmente sobre a superfície de glicoproteínas aderidas à superfície dental (película adquirida). Forças de van der Waals entre estruturas da membrana celular da bactéria e a glicoproteína, interação eletrostática,

devido às ligações de cálcio e hidrogênio são responsáveis pela adesão da bactéria à superfície dental (NYVAD, B., FEJERSKOV, O., 1995).

NEWBRUN (1988) divide o desenvolvimento da placa cariogênica em três fases:

Primeira fase: denominada colonização inicial, as bactérias da flora oral principalmente o *Streptococcus sanguis* e *Streptococcus salivaris* colonizam a superfície dental numa escala de 10^5 a 10^6 por cm^2 . Inicia-se algumas horas após a escovação dos dentes.

Segunda fase: denominada crescimento bacteriano rápido, ocorre entre 8 a 48 horas após a escovação dental. Encontra-se nesta fase uma contagem de até 10^8 bactérias por cm^2 firmemente aderidos à superfície dental. Há uma predominância nesta fase do *Streptococcus mutans*.

Terceira fase: denominada remodelagem ou sucessão bacteriana, ocorre quando se atinge o número máximo de bactérias na placa que nesta fase torna-se estável. Há uma mudança de formas cocais das bactérias até então predominantes por bastonetes Gram-positivos do gênero *Actinomyces*.

Para o autor, o *Streptococcus mutans* é a principal bactéria causadora da doença cárie. Como características desta espécie que o torna o fator etiológico, temos que:

- Sintetizam polissacarídeos insolúveis em água a partir da sacarose facilitando a sua adesão à superfície dental;
- Produzem grande quantidade de ácido láctico, diminuindo o pH local causando a desmineralização da superfície dental;
- Sobrevivem em ambientes de pH baixo (acidúricos);
- Colonizam as superfícies dentárias.

2.2 AGENTES ANTIMICROBIANOS

Uma das grandes realizações da medicina foi o controle e tratamento das doenças infecciosas. O conceito de que substâncias derivadas de um outro organismo vivo podem inviabilizar a existência de outros (antibiose) é quase tão antiga quanto a ciência da microbiologia. Há mais de 2500 anos, os chineses já utilizavam a papa mofada do feijão-soja como tratamento de infecções. PASTEUR e JOUBERT foram os primeiros a pesquisar as potencialidades clínicas dos microrganismos como agentes terapêuticos e publicaram os resultados em 1877. Eles observaram que o bacilo da doença carbúnculo se proliferava em urina estéril, mas era rapidamente exterminado quando se introduzia nestas uma bactéria “comum” do ar. A vida destrói a vida entre as espécies inferiores com maior intensidade do que entre os animais e plantas superiores, concluíram os autores. A partir deste período e durante algumas décadas (1880-1910) houve um grande avanço na era da microbiologia com a descoberta de várias bactérias causadoras de patologias. Mas foi só a partir da década de 20 do século passado que as terapias direcionadas para estas bactérias foram sendo descobertas (AMARO NETO, et al, 1985).

O desenvolvimento da terapia antimicrobiana pode ser dividida em dois períodos históricos: a era dos compostos sintéticos e a era dos antibióticos. Compostos sintéticos nada mais são do que produtos químicos que têm atividade antimicrobiana. Foram os precursores dos antibióticos. Como exemplo das descobertas na era dos compostos sintéticos, temos a arsenamina, um derivado do arsênico que foi utilizado no tratamento da sífilis a partir de 1909. A era dos antibióticos teve início com as observações de FLEMING da contaminação de sua cultura de bactérias por um fungo do gênero *Penicillium* que causava a lise das bactérias vizinhas. O caldo no qual o fungo cresceu mostrou ser inibitório e até bactericida nas culturas *in vitro* de bactérias. Em 1928 FLEMING denominou esta substância antibacteriana como

penicilina (FIG. 3). A partir daí muito tem se pesquisado sobre o assunto à procura de fármacos mais eficientes e seguros.

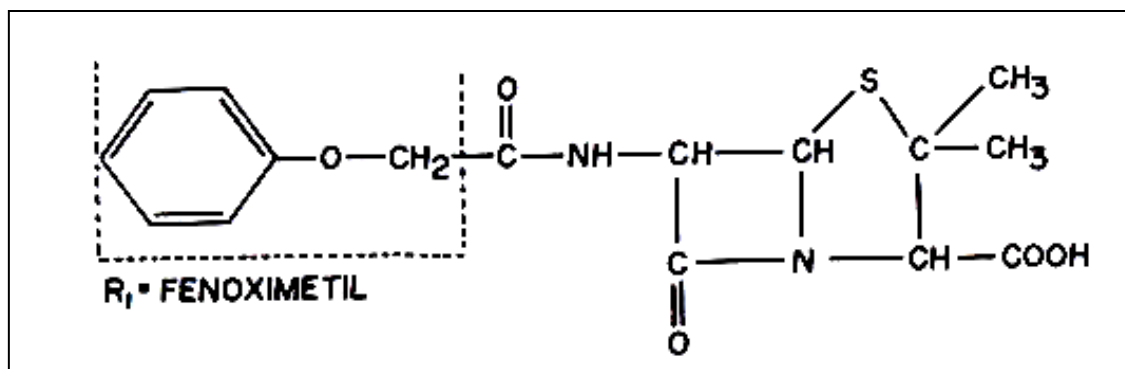


FIGURA 2 - Fórmula química da Penicilina V.

A droga antimicrobiana ideal deve ter uma toxicidade seletiva, ou seja, é nociva ao parasita sem ser ao hospedeiro. Em muitos casos esta regra é relativa, pois a droga pode lesar o parasita numa concentração passível de não ser tolerada pelo hospedeiro.

As drogas são classificadas segundo o seu mecanismo de ação. São então divididas em:

- A. Drogas que inibem a síntese da parede celular;
- B. Drogas que alteram a permeabilidade da membrana celular ou o transporte ativo através da membrana celular;
- C. Drogas que inibem a síntese protéica;
- D. Drogas que inibem a síntese de ácido nucléico.

Os agentes antimicrobianos são comumente descritos como sendo bacteriostáticos e bactericidas. O primeiro termo refere-se às drogas que inibem temporariamente o crescimento do microorganismos. O sucesso no tratamento com estas drogas depende na maioria das vezes da eficiência do sistema imunológico do próprio hospedeiro. O termo bactericida refere-se aos agentes antimicrobianos que causam a morte do microorganismo e por isso dependem menos do mecanismo de defesa do hospedeiro que porventura

estejam debilitados. Mas os termos bactericidas ou bacteriostáticos não são termos absolutos. Drogas bacteriostáticas podem proporcionar o extermínio de populações de microorganismos (clorafenicol x meningococos) enquanto que drogas bactericidas podem não ser tão eficazes (penicilina G x enterococos).

Um dos fatores determinantes para a eficácia do agente antimicrobiano é o seu conhecimento do espectro da atividade em relação aos agentes patógenos envolvidos na doença. Outros fatores como a dose apropriada, via de administração e duração da terapia devem ser selecionados para o paciente específico com o objetivo de maximizar a chance de alcançar concentrações adequadas do agente antimicrobiano no local da infecção. (JEWETZ,1994; PROBER, 1991.)

O uso de agentes quimioterápicos e quimioprolifáticos para tratamento e profilaxia das doenças orais não é uma idéia recente. Em 1890, MILLER já afirmava que o uso adequado e inteligente de antissépticos para destruir as bactérias, ou pelo menos limitar o seu número e atividade pode contra-atacar ou limitar a destruição causada pela cárie dentária. Desde então, vários agentes antimicrobianos foram testados em sua capacidade de prevenir ou limitar a ação destes microorganismos. Todavia, não há consenso entre os profissionais da odontologia quanto ao uso destes agentes antimicrobianos na profilaxia e tratamento da doença cárie. Os favoráveis ao uso destes agentes afirmam que qualquer recurso que ajude no controle de formação da placa dental é bem-vindo. Aqueles de opinião contrária ao uso rotineiro destes agentes antimicrobianos afirmam que estes poderiam afetar o equilíbrio ecológico da cavidade oral favorecendo o surgimento de microbiota resistente. Mas não há evidência de que o uso comum de agentes quimioprolifáticos contra a placa dental tenha efeitos nocivos (THYLSTRUP e FEJERSKOV, 2001).

Um requisito básico para a eficácia de um agente antibacteriano é a sua biodisponibilidade, ou seja, a liberação do agente de uma forma biologicamente ativa e em doses eficazes. A persistência do efeito vai depender da adsorção ou ligação no local em que esta foi solicitada sem a

perda de sua atividade. A eficácia clínica do agente antimicrobiano na cavidade oral depende da sua potência, do seu nível de ligação às superfícies orais e da sua cinética de liberação. A sua capacidade de manter a atividade biológica em estado de adsorção ou ligação também é de muita importância para a eficácia clínica (THYLSTRUP e FEJERSKOV, 2001).

Segundo THYLSTRUP e FEJERSKOV (2001), os agentes antibacterianos catiônicos são em geral mais potentes do que os aniônicos ou os não-iônicos devido a sua ligação direta com a superfície bacteriana carregada negativamente. Os locais de ligação de cátions nas bactérias são provavelmente os grupos carboxila livres dos peptidoglicanos e grupos fosfato dos ácidos teicóico e lipoteicóico dentro da parede celular bacteriana. São estes grupos os responsáveis pela carga eletronegativa das bactérias Gram-positivas. Os lipopolissacarídeos das bactérias Gram-negativas possuem forte carga aniônica e conseqüentemente grande afinidade por cátions. As bactérias Gram-negativas possuem canais hidrófilos que se estendem sobre a camada dupla da membrana externa por onde podem se infiltrar pequenos íons carregados ou não com liberdade para se difundir. Assim sendo os agentes catiônicos podem interagir tanto com bactérias Gram-positivas e Gram-negativas reduzindo o número de bactérias viáveis na superfície do dente ou reduzindo a patogenicidade da placa.

Dentre os agentes antibacterianos usados na odontologia, temos o triclosan, classificado como um composto sintético não iônico com propriedades hidrofílicas e hidrofóbicas. Trata-se de um composto químico de largo espectro tanto para bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. O *S. mutans*, *S. sanguis* e *S. salivarius* são suscetíveis a baixas concentrações de triclosan *in vitro*. Em baixas concentrações seu efeito é bacteriostático ZUCKERBRAUN (1998). Seu mecanismo de ação não está completamente elucidado. Presume-se que a sua porção hidrofóbica interaja com a porção lipídica da membrana da célula bacteriana interferindo em suas funções vitais (THYLSTRUP e FEJERSKOV, 2001). O triclosan é uma molécula que atua sobre a membrana citoplasmática do microorganismo, promovendo a sua lise bacteriana (ZUCKERBRAUN, et al, 1998). Seu uso vem aumentando e

recentemente tem sido adicionado a produtos de higiene pessoal como dentifrícios, sabonetes, desodorantes, detergentes e loções. Também tem sido utilizado adicionados a polímeros e materiais têxteis para que estes adquiram propriedades antibacterianas (JORDAN e TAYLOR, 2000)¹. Sua toxicidade é baixa, sem nível de efeitos colaterais com 200 mg/kg/dia (ZUCKERBRAUN, et al, 1998). Quimicamente, o triclosan é um derivado do difenil éter bisfenol também conhecido como 2,4,4'-tricloro-2'-hidroxidifeniléter. Trata-se de um agente não iônico de baixa toxicidade e largo espectro de ação, não provocando desequilíbrio na microbiota da cavidade oral. Não ocorrem mudanças ecológicas com a utilização de triclosan e não he relatos do crescimento de composição triclosan-resistentes, após seis meses de uso (WALKER et al., 1994). Sua liberação nos sítios de ligação é rápida, devendo ser combinado com outros produtos que aumente a sua permanência. O triclosan em baixas concentrações interfere com o metabolismo bacteriano, afetando a produção de ácidos pelos *Streptococcus sp.* (YIU e WEI, 1993). A concentração mínima inibitória do triclosan para o *S. mutans* MT8148 é de 11,7 µg/mL (IMAZATO, TORII e TSUCHITANI, 1995a). O triclosan é o único agente antibacteriano comprovadamente aceito para ser adicionado a dentifrícios e tem se mostrado eficiente na redução da formação de placa dental (CURY, 1999; CURY, 2002). Tais dentifrícios são capazes de reduzir em até 62% o número de microrganismos cariogênicos num período de até 2 horas após a sua utilização (CURY, 2002).

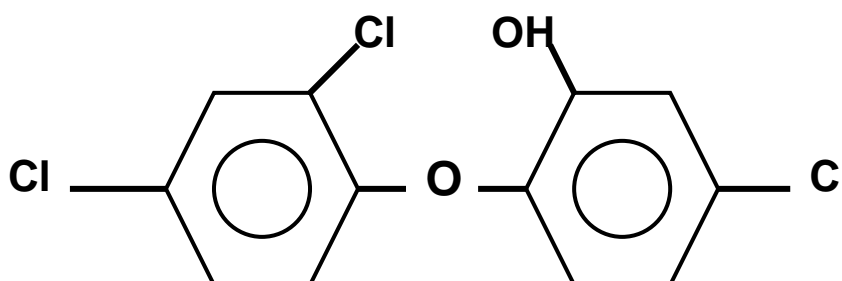


FIGURA 3 - Fórmula química do triclosan (JORDAN, TAYLOR, 2000).

¹ <http://bussines.vsnl.com/rpc/triclosan.htm>

As concentrações do triclosan dependem do objetivo pretendido (ROHIT PLASTIC END CHEMICALS, 2002)¹:

- Inibição do crescimento bacteriano: 0,1 a 0,3%;
- Efeito em longo prazo: 0,3 a 0,5%;
- Efeito bactericida: 0,5 a 1,0%;
- Desinfetante de mãos para uso hospitalar: 1,0%.

CURY (1999) afirmou que a substância quimioterápica mais efetiva contra o *S. mutans* tem sido a clorexidina, pois essas bactérias apresentam sensibilidade a este antimicrobiano. A clorexidina tem grande afinidade pelas bactérias em decorrência da adsorção da molécula catiônica da clorexidina à parede aniônica do microrganismo. Essa adsorção aumenta a permeabilidade da membrana bacteriana, abrindo verdadeiras crateras, permitindo a penetração da clorexidina no citoplasma, causando-lhe a morte (HUGO, LONGWORTH, 1964). A integridade da membrana celular da bactéria, após interação com a clorexidina, pode ser quebrada por interações com a porção hidrofóbica da molécula, provocando distúrbios na função da membrana. Em altas concentrações, a clorexidina é bactericida, causando o extravasamento dos constituintes celulares de baixo peso molecular e a precipitação do conteúdo intracelular. Em baixas concentrações, torna-se bacteriostático, provocando interferência nas funções da membrana normal ou o extravasamento dos constituintes da célula. Seu uso na odontologia é mais freqüente em bochechos, dentifrícios e vernizes. Os efeitos adversos gerais e sistêmicos são raros e a degradação da molécula para a formação de metabólitos perigosos parece improvável. Por outro lado, os efeitos adversos locais como pigmentação dos dentes, língua, restaurações, próteses,

¹ //dVlcwebpage/dbdata/docs/an_20.htm1

descamação e ferimentos na mucosa oral, distúrbios no paladar e gosto amargo são relatados com frequência (THYLSTRUP e FEJERSKOV, 2001).

SANTOS et al (2000) afirmaram que a clorexidina na forma de gel e líquida nas concentrações de 0,12 e 0,2% (p/v) não foram citotóxicos para fibroblastos de ratos. LÖE e SCHIÖTT (1970) afirmaram que a clorexidina é eficaz no controle de placa comprovados em estudos de curto e longo prazo sem desenvolver resistência de microrganismos na microbiota oral.

Segundo SINNES (1997), a molécula de clorexidina é altamente estável. Quando ingerida, a quase totalidade é eliminada. Quantidades mínimas são absorvidas pelo trato intestinal e eliminadas pelas vias normais (rins e fígado).

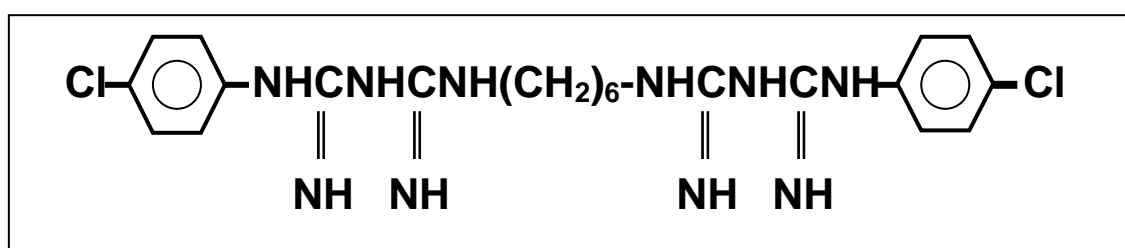


FIGURA 4 - Fórmula química da clorexidina (SINNES, 1997).

O efeito antibacteriano de diversos íons metálicos tais como o cobre, zinco, prata e estanho foram estudados. Tais sais podem ser utilizados na forma de solução ou incorporados a dentifrícios (MANSON e ELEY, 1989). Os efeitos adversos dos sais metálicos se apresentam da seguinte forma: xerostomia, sabor metálico na boca, ocasionais manchas amarelas e marrons na língua e nos dentes (SEYMOUR e HEASMAN, 1992).

Segundo THYLSTRUP e FEJERSKOV (2001), o agente antibacteriano ideal ainda não está disponível e a documentação dos efeitos terapêuticos contra a cárie, exceto para o flúor, são esparsos. As centenas de espécies que compõem a microbiota bucal estão em equilíbrio. A maioria dos agentes antibacterianos é de amplo espectro e utilizados de acordo com a

teoria da placa não específica. Os microrganismos apresentam vários graus de susceptibilidade, portanto, o uso de antimicrobianos pode causar um desequilíbrio ecológico desfavorável.

2.3 INCORPORAÇÃO DE AGENTES ANTIBACTERIANOS E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS MATERIAIS RESTAURADORES

A associação entre resinas compostas e agentes antimicrobianos teve início, segundo a literatura consultada, com os estudos de JEDRYCHOWSKY, CAPUTO e KERPER em 1983. Avaliou-se a eficácia da associação entre a clorexidina em várias concentrações e as resinas compostas assim como suas propriedades mecânicas. Para a verificação da eficácia antibacteriana foi realizado o teste de difusão em ágar com a utilização de bactérias das espécies *Streptococcus viridans*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus mutans*, *Escheria coli* e *Lactobacillus acidophilus*. As leituras do halo de inibição foram feitas nos tempos de 24, 48, 72 e 96 horas. Os corpos de prova com as diferentes combinações de material restaurador e antimicrobiano também foram submetidos a testes mecânicos (tração, compressão e resistência de união). Os resultados mostraram de um modo geral que a adição do acetato de clorexidina e gluconato de clorexidina aos materiais restauradores aumentaram sensivelmente a atividade antimicrobiana sendo que os maiores efeitos registrados foram as combinações de dihidroclorato de clorexidina + resina composta (FIG.5). A adição destes antimicrobianos não alterou significativamente as propriedades mecânicas.

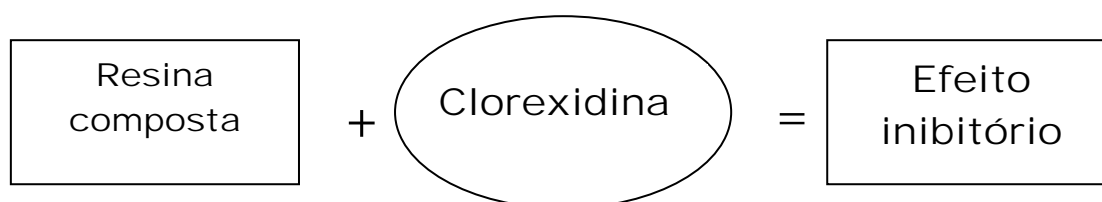


FIGURA 5 - Esquema de associação entre clorexidina e resina composta.

Em 1988, KAWAI et al. avaliaram o efeito dos componentes da resina composta isoladamente sobre o crescimento bacteriano. Os resultados demonstraram que o dietilenoglicol dimetacrilato, trietilenoglicol dimetacrilato (TEGDMA) e o uretano dimetacrilato (UDMA) estimularam o crescimento bacteriano.

Em 1988, BAPNA et al. avaliaram a inibição da colonização de bactérias pelos agentes antimicrobianos incorporados aos adesivos dentinários. Vários agentes antimicrobianos em diferentes concentrações foram utilizados: óxido de cobre (50%), ácido vanílico (10%), ácido siríngico (10%), protargin (4%), EDTA (20%), fluoreto de sódio (10 e 50%), e dodeclamina (40%). Estes produtos foram incorporados ao adesivo dentinário Scotchbond™. Culturas de *Streptococcus mutans* foram utilizadas para testar a efetividade dos antimicrobianos. Foram avaliadas o desenvolvimento das bactérias na superfície da resina composta e no meio de cultura. Os resultados demonstraram que o fluoreto de sódio e a dodeclamina apresentaram excelentes efeitos inibitórios e também diminuíram a adesão da bactéria à superfície da resina composta (FIG.6). O Protargin (composto de prata) teve um efeito médio e o óxido de cobre, ácido vanílico, e o ácido siríngico não apresentaram efeitos inibitórios.

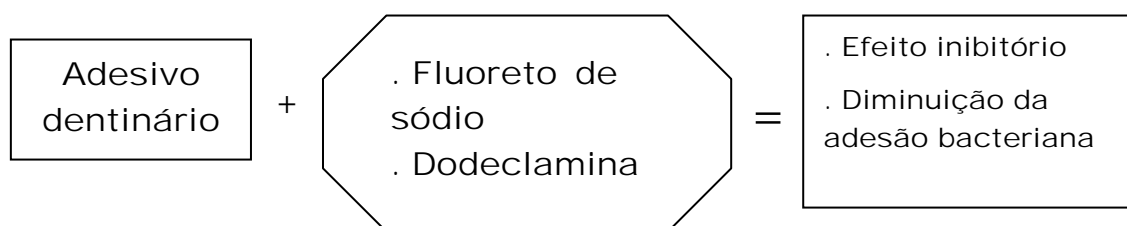


FIGURA 6 - Esquema de associação entre fluoreto de sódio e dodeclamina com adesivo dentinário.

Num outro estudo de BAPNA et al., em 1992, avaliou-se o efeito antimicrobiano do 2,2'-bipiridina, incorporado ao adesivo dentinário Scotchbond® em proporções variando de 25 a 50% (p/v). O efeito antimicrobiano desta substância consiste em quelar íons ferro que são necessários ao desenvolvimento dos *S. mutans*. Os resultados demonstraram que o 2,2'-bipiridina associado ao adesivo dentinário causou uma grande diminuição na adesão do *S. mutans* em sua superfície e inibiu o seu crescimento no meio de cultura (FIG.7).



FIGURA 7 - Esquema de associação entre 2,2'-Bipiridina e adesivo dentinário.

Um estudo sobre o efeito antibacteriano de cimentos dentais foi realizado por COOGAN e CREAVER em 1993. Foram testados: um cimento ionômero de vidro modificado por resina (Vitrebond®), um cimento ionômero de vidro (Aquacem®), um cimento resinoso (Panavia EX®), um cimento fosfato de zinco (GC Elite Type®), um cimento óxido de zinco eugenol (IRM®), dois cimentos hidróxido de cálcio (Dycal® e Prisma VLC Dycal®). Os cimentos foram testados quando recém manipulados e também após cinco dias da manipulação. O teste de difusão em ágar foi realizado para testar o efeito antibacteriano destes materiais contra diversas linhagens de *S. mutans* e *S. sanguis*. Os resultados demonstraram que todos os materiais mostraram atividade antibacteriana quando recém manipulados. O cimento ionômero de vidro modificado por resina (VITREBOND®) mostrou os melhores resultados. O oposto ocorreu com o cimento resinoso (Panavia®) que apresentou os piores resultados. Após cinco dias todos os materiais perderam a sua ação antibacteriana.

IMAZATO et al, em 1993, sintetizaram pela primeira vez na odontologia um monômero com ação antimicrobiana, o MDPB (FIG.8). Este foi

o início de vários estudos deste autor avaliando a viabilidade deste monômero. Neste estudo foi avaliado o efeito antibacteriano deste monômero. O MDPB foi incorporado à resina composta na proporção de 0,1 e 0,2 % em peso. Para verificar a eficácia antibacteriana foi utilizado o teste de difusão em ágar. Os resultados demonstraram que esta resina não apresentou efeito contra o *S. mutans*, ou seja, o halo de inibição foi insignificante. Entretanto a proliferação de bactérias na superfície das amostras de resina composta foi inibida. A liberação destes monômeros no meio foi quase nula. A resina composta contendo o MDPB a 0,2% mostrou ser o mais eficiente dos compostos (FIG.9).

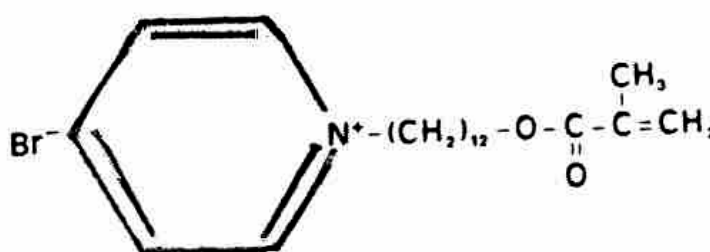


FIGURA 8 – Fórmula química do MDPB, IMAZATO et al., 1994.

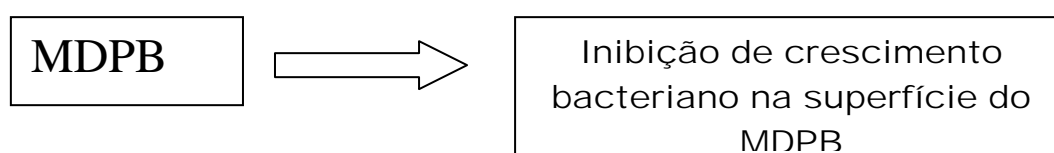


FIGURA 9 - Esquema da eficácia do MDPB.

No ano seguinte, IMAZATO et al., 1994, após comprovada a eficiência antibacteriana do monômero MDPB, incorporaram-no à resina composta e avaliaram as propriedades mecânicas do produto final. Foram testadas a resistência à compressão, resistência a tração e resistência flexural. Os testes foram feitos em uma máquina de ensaio universal Instron 1175®. Os resultados demonstraram que a adição do monômero MDPB à resina composta

não alterou as propriedades mecânicas mesmo após 90 dias de imersão em água.

PRATI et al. (1993) avaliaram a efetividade antibacteriana de alguns adesivos dentinários, cimentos ionômero de vidro e do cimento fosfato de zinco. O amálgama e uma resina composta também foram avaliados como controle. Os materiais foram submetidos aos testes de difusão em ágar para inibição do crescimento. Quatro espécies de *Streptococcus* foram utilizados. O cimento ionômero de vidro foi o único a mostrar atividade antibacteriana.

Neste estudo, IMAZATO e McCABE (1994) avaliaram a influência do MDPB na reação de polimerização da resina composta. Foram avaliados a profundidade de cura, grau de conversão atenuação de luz e dureza superficial nas resinas compostas associadas a 0,4 e 0,5% de MDPB e comparadas ao material sem o polímero antibacteriano. Os resultados mostraram que a adição do MDPB propiciou até uma melhora na performance do material nestes quesitos.

No ano seguinte, IMAZATO et al. (1995a) avaliaram o efeito antibacteriano contra o *S. mutans* de uma resina composta agora associado ao triclosan. O estudo consistiu em observar a formação de colonização e aderência desta bactéria sobre a superfície desta resina composta. O triclosan neste tipo de associação caracteriza-se por não ser liberada para o meio. A resina composta fotoativada utilizada possuía a seguinte composição (peso): sílica 80%, micropartículas de carga 3%, Bis-GMA 11,9%, e TEGDMA 5,1%. O triclosan (Irgasan DP300™) foi dissolvido no monômero numa proporção de 1% (p/p). Para avaliar o efeito antibacteriano deste material, foi utilizado o teste de exposição direta. A superfície contendo as bactérias ainda aderidas foram examinadas por microscópio eletrônico de varredura (X1500) cujas imagens mostraram uma menor aderência de *S. mutans* tanto na superfície da resina composta associada ao antibacteriano tratada como não tratada com saliva se comparadas às superfícies da resina composta pura. Os autores puderam concluir que a resina composta associada com triclosan(1% p/p) é capaz de inibir a colonização do *S. mutans* (FIG.10).



FIGURA 10 - Esquema de associação entre o triclosan e a resina composta.

IMAZATO et al. (1995b) estudaram a ação antibacteriana do MDPB na superfície da resina composta, mesmo este estando imobilizado na sua estrutura. O *S. mutans* foi colocada em contato com as superfícies curadas e não curadas destas resinas compostas e depois mensurou-se as células viáveis. Os resultados mostraram que a atividade antibacteriana diminuiu após a cura e a conseqüente imobilização do MDPB. Ainda assim, após a polimerização, houve uma diminuição na adesão bacteriana à superfície da resina composta, além de manter a efetividade antibacteriana (FIG.11).



FIGURA 11 - Esquema de associação entre o MDPB e resina composta.

FRAGA et al. (1996) avaliaram o efeito antibacteriano do ionômero de vidro fotopolimerizável dos adesivos dentinários ao serem expostos a oito espécies de bactérias cariogênicas. As marcas comerciais que possuíam glutaraldeído em sua formulação apresentaram os melhores resultados.

O efeito antibacteriano dos selantes que liberam flúor contra os *Streptococcus mutans* foi o objeto de estudo de LOYOLA-RODRIGUEZ e GARCIA-GODOY (1996). Os selantes avaliados foram o Heliobond[®], Fluoroshield[®] e o Teethmate-FTM[®]. O teste de difusão em ágar foi utilizado

para avaliar a ação antimicrobiana. Os resultados demonstraram que o Teethmate-FTM[®] foi o único selante que apresentou atividade antibacteriana independente da espécie da bactéria. Este selante também apresentou o maior índice de liberação de flúor. No sétimo dia esta liberação diminuiu pela metade. Os autores acreditam que o efeito antibacteriano deste selante se deu pela sua liberação de flúor.

MEIERS e MILLER (1996) avaliaram a atividade antibacteriana de adesivos dentinários, cimento ionômero de vidro modificados por resina e a resina composta modificada por ionômero de vidro através do teste de difusão em ágar. Foram utilizadas as bactérias *S. mutans*, *L. salivarius*, *S. sobrinus* e *A. viscosus*. Todos os materiais apresentaram certa atividade antimicrobiana em vários níveis para todas as bactérias.

YAMAMOTO et al (1996) avaliaram a atividade antibacteriana de íons prata incorporadas a carga de sílica das resinas compostas. Esta associação mostrou eficiente atividade antibacteriana se comparados à resina sem o íon prata devido a liberação desta.

SYAFIUDDIN et al. (1997) avaliaram *in vitro* a inibição de cárie ao redor de restaurações em resina composta contendo um antibacteriano (Apacider-AW, Ap-AW) que também funciona como um agente de carga. Foram realizadas restaurações classe V com esta resina composta em dentes humanos extraídos. Os dentes restaurados foram incubados *in vitro* com o *S. mutans*. Foram realizados cortes nestes dentes e estes observados através de macrofotografias onde foram observadas as profundidades das lesões cariosas. Nas restaurações utilizando o Ap-AW a 1,5% (p/p), as cáries penetraram a área marginal enquanto que nas restaurações contendo 10% peso de Ap-AW as margens permaneceram livres de cárie (FIG.12).

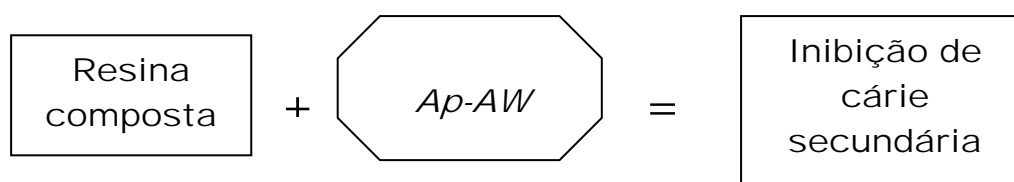


FIGURA 12 - Esquema de associação entre o Ap-AW e resina composta.

VAN DIJIKEN et al (1997) avaliaram a efetividade de materiais restauradores que liberam flúor e a quantidade de bactérias cariogênicas ao redor destas restaurações. Foram analisados restaurações classe III de 18 indivíduos restaurados com uma resina composta modificada por ionômero de vidro, compômeros e resina composta. Após um ano, amostras de placa colhidas das regiões próximas às restaurações foram analisadas. As amostras indicaram que foram detectados níveis baixos de flúor em todas as amostras exceto nas colhidas próximas às restaurações de resina composta modificada por ionômero cuja diferença foi significativa. A distribuição de *S. mutans*, e lactobacilos não diferiu entre as amostras não tendo relação com a quantidade de flúor presente. Após um ano, os resultados indicaram que o flúor liberado não foi capaz de afetar os níveis de placa presentes.

Continuando os estudos sobre a performance do MDPB no sistema restaurador da resina composta, IMAZATO et al (1998a) estudaram a atividade antibacteriana de um primer de dentina contendo o monômero MDPB após a sua cura. O primer de dentina tem como função preparar a superfície da dentina para uma maior eficiência do sistema adesivo. Um primer auto-condicionante composto de dois frascos LB Primer[®] (Kurakay Co.) foi utilizado como controle e o primer experimental também no sistema de dois frascos com adição de 10% (p/v) de MDPB a um dos frascos. A resina fluida LB Bond[®] (Kurakay) foi aplicada sobre a superfície molhada pelo primer e fotoativada por 20 segundos. Depois uma resina composta Clearfil AP-X[®] (Kurakay) foi aplicada nesta superfície preparada e fotoativada por 120 segundos. Os discos foram logo imersos em 10 ml de água destilada estéril e agitada

mecanicamente por uma hora com o objetivo de retirar monômeros não reagidos. Culturas de *S. mutans* e *Actinomyces viscosus* foram utilizado para se testar a eficácia deste sistema através do método de difusão em ágar. Os resultados demonstraram que não houve um halo de inibição de crescimento ao redor dos corpos de prova de nenhum grupo devido a imobilização do monômero na estrutura do primer. Mas os resultados demonstraram que houve uma inibição no crescimento de todas as espécies de bactéria que estavam em contato com o primer associado ao MDPB. Os autores concluíram que o monômero MDPB acrescido ao primer dentinário tem ação antibacteriana após a sua polimerização (FIG 13).



FIGURA - 13 Esquema de associação entre primer e o MDPB.

No mesmo ano, IMAZATO et al (1998b) avaliaram a efetividade antimicrobiana de uma resina composta associada ao MDPB e acrescido ainda de um monômero adesivo, o brometo de 10-metacriloxildodecylpiridínio (MDP). No teste antibacteriano, o crescimento bacteriano foi fortemente inibido na superfície do produto após a sua cura, mas o efeito bactericida do mesmo contra o *S. mutans* foi pequeno. A adição do MDP à resina composta associada ao MDPB também se mostrou efetiva na inibição do crescimento bacteriano (FIG.14).

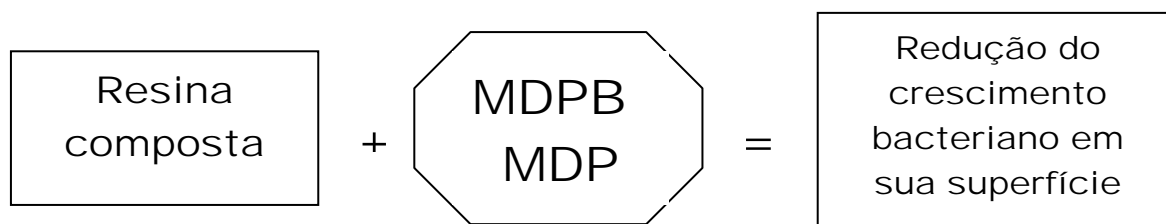


FIGURA14 - Esquema de associação entre MDPB e o MDP à resina composta.

Em 1999, IMAZATO et al. avaliaram a citotoxicidade em células humanas do tecido pulpar frente ao MDPB. Não foi observada nenhuma reação citotóxica nas células em concentrações de até 10 µg/mL.

O efeito antibacteriano de resinas compostas fotoativadas contendo compostos de íons prata frente a *Streptococcus mutans* foi estudado por TANAGAWA et al. (1999). As resinas compostas produzidas para este estudo continham agentes antibacterianos (Novaron AG300[®], Amenitop Ver.1[®] e AIS-NAZ310[®]) nestas proporções: 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10%(p/v). O teste de difusão em ágar foi utilizado para avaliar a eficiência antibacteriana. Também foram realizados testes de compressão e resistência flexural em uma máquina de ensaio universal. Para medir a liberação de íons prata, os corpos de prova, com concentração de zero e 5% (p/v) de agente antimicrobiano, foi utilizado um espectrômetro de emissão de plasma atômico. Os compostos contendo Novaron 5% (p/v) e Amenitop 7% (p/v) demonstraram os melhores efeitos antibacterianos (FIG.15) apesar deste último apresentar significativa perda em suas propriedades mecânicas após a imersão em água deionizada por seis meses. Os autores afirmam que a grande vantagem desta associação é a não liberação destes íons na cavidade oral sendo que seu efeito antibacteriano se dá no contato direto com o *S.mutans* e que compostos contendo Novaron a 5% (p/v) são os mais indicados para o uso clínico.

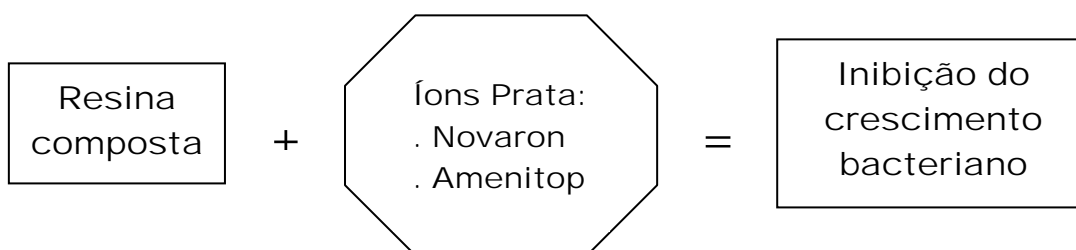


FIGURA 15 - Esquema de associação entre íons prata, Novaron e Amenitop à resina composta.

Em 2000, EHARA et al. avaliaram a cinética de liberação do agente antimicrobiano cloreto de cetilpiridínio (CPC) associado a uma resina composta. Segundo os autores, a grande limitação desta associação reside no fato da ação antibacteriana ser de curto prazo. Em função disso, testou-se neste estudo a viabilidade de um sistema de recarga do agente antimicrobiano por meio do mecanismo de troca iônica. A liberação do CPC ocorreria em ambiente de pH baixo, onde ocorreria a desmineralização da estrutura dentária e a adsorção ocorreria em pH próximo a 7 a partir de um bochecho com uma solução concentrada do agente antimicrobiano. Para este estudo, os autores processaram uma resina composta com acréscimo do agente antimicrobiano 1,7% (p/p). Os corpos de prova foram mantidos em água destilada até que não houvesse mais liberação do CPC, o que foi detectado por um cromatógrafo HPLC. Para avaliar a reabsorção do CPC pela resina, os corpos de prova foram imersos em solução aquosa 0,25% (p/v) do CPC por 30 minutos e posteriormente as medições também foram realizadas pelo HPLC. A atividade antimicrobiana desta associação também foi avaliada. Os resultados demonstraram que a resina experimental liberou o CPC em $\text{pH} \leq 6$ e mostrou também que quanto menor o pH, maior a quantidade do antimicrobiano liberado. Esta resina também foi capaz de absorver o antibacteriano quando foi imersa em uma solução aquosa de CPC. O crescimento do *Streptococcus mutans* foi inibido por esta resina (FIG.16).



FIGURA 16 - Esquema de associação entre o CPC e a resina composta.

KUDOU et al. (2000) estudaram a força de adesão eM adesivos dentinários associados a antimicrobianos (vancomicina e metronidazol) e também o seu efeito inibitório do crescimento bacteriano. As proporções de vancomicina e metronidazol adicionadas ao adesivo foram de 1, 2 e 5% (p/p). Para a avaliação da força de adesão do adesivo, foram utilizados dentes bovinos e o teste de cisalhamento através de uma máquina de ensaio universal. Para o teste do efeito antibacteriano deste adesivo foi utilizado o teste de difusão em ágar utilizando seis espécie de bactérias: *S. mutans*, *S. sanguis*, *S. salivarius*, *S. mitis*, *A. viscosus* e *A. naeslundii*. Os resultados demonstraram que a força de adesão não foi alterada com adição de vancomicina nas concentrações de 1, 2 e 5% (p/p) e metronidazol a 1% (p/p). Quanto ao efeito antibacteriano, a vancomicina apresentou inibição de crescimento bacteriano para as seis espécies testadas (FIG.17). O metronidazol apresentou efeito para três espécies de bactéria (*S. mutans*, *S. sanguis*, *S. salivarius*) e um halo de inibição menor (0-4 mm) se comparado à vancomicina (4-15 mm).

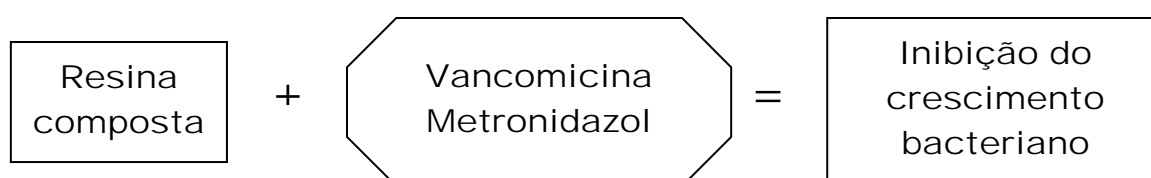


FIGURA 17: Esquema de associação entre a vancomicina e o metronidazol à resina composta.

HERRERA et al (2002) avaliaram o efeito antibacteriano de marcas comerciais de sistemas restauradores: adesivo dentinário, ionômero de vidro e ionômero de vidro modificado por resina. Os produtos foram testados pelo método de difusão em ágar utilizando a clorexidina como controle. Os resultados mostraram que o ionômero de vidro modificado por resina (Vitremer® e o Vitrebond®) inibiram o crescimento dos microrganismos cariogênicos. O menos eficiente quanto à inibição foi o adesivo dentinário (ScotchBond Multipurpose™).

A concentração do monômero MDPB nas resinas compostas até então desenvolvidas deveriam estar limitadas a 0,4%, segundo literatura. Mas estudos posteriores indicaram que esta concentração mostrou-se ineficaz quanto ao efeito antibacteriano quando a superfície era polida e as partículas de carga eram expostas na superfície, já que estes são responsáveis por 80% (peso) das resinas compostas. O estudo de EBI et al. (2001) avaliaram então o efeito do aumento na concentração de MDPB em uma resina composta. A porcentagem em peso foi elevada para o máximo de 2,83% acima do qual o material teve suas propriedades mecânicas reduzidas e a viscosidade tornou-se inadequadamente alta. O MDPB foi incorporado a uma resina composta pré-polymerizada. Os corpos de prova com a nova concentração de MDPB foram confeccionados e polidos. A liberação do MDPB e o acúmulo de placa pelo *S. mutans* na superfície do material também foi avaliado e comparados ao material com concentração de MDPB a 0,4%. Os resultados mostraram que não houve diferença nos resultados entre o novo material com a superfície polida e o material com a concentração inicial (0,4%). Os autores afirmaram que a resina composta associada ao MDPB na concentração de 2,83% pode ser usada clinicamente.

BOECKH et al. (2002) avaliaram a atividade antibacteriana contra o *S. mutans* de algumas marcas comerciais de resina composta, ionômero de vidro, resina composta modificada por resina e um cimento óxido de zinco-eugenol. Este último apresentou a melhor atividade antibacteriana. Os autores

afirmam que estudos clínicos de controle em longo prazo são necessários para determinar a efetividade antimicrobiana dos materiais restauradores para reduzir a incidência de cárie secundária.

IMAZATO (2003a) publicou uma revisão de literatura sobre propriedades antibacterianas de resinas compostas comerciais e as incorporações de agentes antibacterianos. Ele afirma que os compósitos que têm a característica de liberarem flúor não têm efeito antibacteriano o que pode ser uma das explicações de um maior acúmulo de placa neste tipo de material se comparado a outros materiais restauradores. Apesar de algumas associações de agentes antibacterianos às resinas compostas demonstrarem sucesso em testes *in vitro*, mais experimentos simulando as condições clínicas e também testes *in vivo* para que os benefícios destas associações possam ser exemplificados.

OSINAGA et al. (2003) avaliaram a efetividade antibacteriana do cimento ionômero com incorporação de vidro na forma do sal sulfato de zinco nas concentrações de 5 e 10% (p/p). Os cimentos utilizados foram o Ketac-Fil[®] e o Vitremer[®] (modificado por resina). Os resultados demonstraram os cimentos incorporados recém-manipulados, principalmente nas maiores concentrações foram capazes de inibir o crescimento do *S. mutans*. Após o 15º dia de manipulação, com as amostras mantidas em saliva artificial a 37°C renovadas diariamente, os cimentos perderam a eficácia antibacteriana, mesmo nas concentrações de 10% (p/p).

AKAKI e MANSUR et al. (2004a,b) avaliaram, numa fase de estudo inicial, a incorporação do triclosan e do diacetato de clorexidina em dois cimentos resinosos C&B[®] - Bisco e o Fill Magic Dual Cement[®] - Vigodent. Os materiais foram incorporados em uma placa de vidro com o auxílio de uma espátula metálica. Todos os componentes utilizados foram pesados em uma balança analítica. As fotomicrografias obtidas pelo MEV em aumentos de 500, 1000 e 5000 X demonstraram que a incorporação foi viável no aspecto morfológico. Não houve a presença de espaços vazios entre as fases do composto: carga orgânica, inorgânica e agentes antibacterianos.

AKAKI e MANSUR et al. (2004c) avaliaram a incorporação de triclosan (Irgasan- DP-300) e o diacetato de clorexidina a dois cimentos resinosos: C&B[®] - Bisco e o Fill Magic Dual Cement[®] - Vigodent. Após um tratamento térmico a 160°C por duas horas, onde somente o triclosan e o diacetato de clorexidina foram eliminados, as amostras foram analisadas pelo MEV/EDX (X1000). As imagens mostravam espaços vazios com uma distribuição homogênea na sua superfície que seriam preenchidos pelos agentes antibacterianos. Os espectros do EDX mostraram a presença do cloro devido aos agentes antibacterianos. Após o tratamento térmico e a eliminação do triclosan e da clorexidina, o pico correspondente ao cloro, no espectro do EDX, também foi eliminado.

CICCONE et al. (2004) avaliaram a efetividade antibacteriana de alguns materiais restauradores entre eles: cimento ionômero de vidro (Fuji II-LC[®], Fuji IX[®], Vidrion R[®], Ketac Molar[®], Ketac-Fil[®]) e resina composta (Z100[®], Ariston Phc[®], e Defufill Mineral[®]). Os autores observaram que apenas o cimento ionômero de vidro Vidrion R[®] apresentou um halo de inibição no teste de difusão em ágar. Nenhum dos outros materiais avaliados apresentaram atividade antibacteriana.

KARAMAN e UYSAL (2004), adicionaram verniz de clorexidina ao primer do sistema adesivo, em diferentes proporções, utilizado para colagem de *brackets* ortodônticos. No experimento, após as colagens dos *brackets* em dentes humanos extraídos, foi mensurada a resistência ao cisalhamento dos mesmos avaliando a influência da mistura da clorexidina ao primer. Os resultados mostraram que se a mistura do verniz ao primer for à proporção de 1:2 não irá comprometer a eficiência do sistema adesivo.

AKAKI e MANSUR et al. (2005) avaliaram a incorporação de triclosan (Irgasan DP-300) e o diacetato de clorexidina a dois cimentos resinosos: C&B[®] - Bisco e o Fill Magic Dual Cement[®] - Vigodent. Os espectros do FTIR mostraram que os picos correspondentes aos principais grupos funcionais dos cimentos resinosos antes da incorporação dos agentes antibacterianos foram mantidos nos espectros do FTIR após a incorporação.

Foi verificada uma forte absorção na banda associada ao grupo Cl-aromático, que varia de $\nu=1089$ a $\nu=1096\text{cm}^{-1}$ com pico máximo em $\nu=1093\text{cm}^{-1}$. Os autores concluíram que a adição destes agentes antibacterianos a estes dois cimentos resinosos não alterou de modo significativo a sua estrutura original.

2.4 CIMENTOS RESINOSOS

Para WILSON et al. (1977), o agente cimentante ideal deve apresentar: a) alta resistência à compressão, tração e cisalhamento; b) adesão tanto à estrutura dental quanto à restauração; c) biocompatibilidade e ação cariostática (anti-cárie); d) baixa solubilidade nos fluidos bucais; e) tempo de trabalho longo e presa rápida na boca; f) não interferir na estética e g) baixa viscosidade e espessura mínima de película.

Segundo SHETH et al. (1989), testes de microinfiltração têm indicado que o grau de infiltração em restaurações de resina indireta é inversamente proporcional ao tempo e complexidade exigidos na confecção das mesmas. A redução na infiltração implica em maior longevidade da restauração, redução da sensibilidade pós-operatória e melhora na relação custo-benefício.

De acordo com MORMANN et al. (1990), em função da contração de polimerização e posterior expansão sofrida pelo cimento resinoso, somente uma fina camada é necessária entre a cerâmica e o esmalte, de modo a gerar um mínimo de tensão. Os cimentos resinosos podem diferir quanto ao tipo e quantidade de partículas de carga. Tal variação pode influenciar em suas propriedades.

INOKOSHI et al. (1991) propõem que os cimentos microparticulados são mais resistentes ao desgaste do que os carregados com macropartículas.

SCHÄFFER e ZOBLER (1991) postulam que o cimento resinoso deve ser considerado a parte mais frágil de todo este sistema. O autores

recomendam que a camada de resina deve ser a mais delgada possível. Além disso, cuidados especiais devem ser tomados no momento da cimentação, como: isolamento absoluto, correta limpeza da cavidade e subsequente condicionamento. Após estas etapas, não pode haver contaminação do esmalte ou da restauração pela saliva.

VERZIJDEN et al. (1992) consideraram como uma característica desejável para os cimentos resinosos uma pequena contração de polimerização, esperando que o stress gerado não fosse capaz de competir com as forças de tensão e adesão.

Ainda com relação à classificação dos cimentos, os resultados encontrados no experimento conduzido por LEINFELDER et al. (1993) sugerem que cimentos resinosos compostos por partículas de tamanho submicrométricas tendem a oferecer maior resistência ao desgaste. Outros estudos demonstram que cimentos de partículas híbridas oferecem maior resistência ao desgaste localizado, e que as micropartículas exibem resistência superior ao desgaste generalizado. O menor coeficiente de fricção apresentado pelo cimento de micropartículas explica este fato. Quando as partículas de alimento se movem sobre a superfície do cimento de micropartículas, pequena energia é conferida à resina. Já com relação às resinas híbridas, a energia mastigatória é transmitida às partículas que estão se projetando e estas por sua vez, se deslocam da matriz. Isto faz com que se crie uma superfície irregular, micro-rachaduras na matriz e redução da resistência ao desgaste. O'NEAL et al. (1993) avaliando clinicamente a extensão de microfendas de seis agentes cimentantes resinosos concluíram que quanto maior a microfenda, maior será o desgaste do agente cimentante, e tal desgaste é mais intenso no primeiro ano da restauração.

Para PHILLIPS (1993) a composição básica da maioria dos cimentos resinosos modernos é semelhante a das resinas compostas para restauração, ou seja uma matriz resinosa envolvendo uma carga inorgânica. A matriz da resina é formada geralmente por monômeros diacrilatos diluídos por monômeros de dimetacrilatos de baixa viscosidade. A solubilidade do cimento

no meio bucal são devidas às variações de composição, quantidade de monômeros diluentes e da quantidade de carga. Muitos destes cimentos são destinados a usos específicos com características de manipulação necessárias a cada uso. Os cimentos resinosos são irritantes pulpares, devendo-se proteger a polpa através do hidróxido de cálcio na cimentação de restaurações indiretas em uma cavidade que envolve a dentina.

Uma das importantes propriedades dos cimentos resinosos deve ser sua baixa viscosidade, o que facilita sua manipulação e o assentamento da restauração. Entretanto, essa redução na viscosidade implica em redução do conteúdo de carga, aumento na porcentagem da matriz orgânica e, conseqüentemente, aumento na contração linear sofrida pelo cimento. Com isto, promove-se baixa resistência ao desgaste (DIESTCHI et al.,1994).

Estudos como o de THORDRUP et al. (1994) têm mostrado que a microfenda existente entre a restauração indireta e o dente é coberto pelo agente cimentante. Porém, com o tempo, observa-se a abrasão e desintegração do agente cimentante e, conseqüentemente, nova exposição das microfendas.

Em 1994, WHITE e YU desenvolveram um estudo no qual procuraram comparar as propriedades físicas de cimentos resinosos. Os materiais testados foram: All-Bond Crown and Bridge[®] (Bisco), Biomer, C&B Metabond[®], Infinity[®], Thin Film Cement[®] e Panavia Ex[®] (Kuraray). O cimento Ultrabond[®], utilizado para cimentação de “veneers” e “ onlays” de porcelana, serviu como controle. Os testes realizados incluíram: determinação do conteúdo de carga inorgânica, força de compressão, força de tração diametral, espessura de película e dureza knoop. Os resultados dos testes evidenciaram que Panavia Ex[®] teve a maior porcentagem de conteúdo inorgânico (75%). Todos os materiais testados, exceto o C&B Metabond[®], demonstraram boas tensões de compressão quando comparados aos agentes cimentantes convencionais. Este cimento foi também o que produziu deformação plástica durante o teste. A maioria dos materiais testados neste estudo promoveu uma espessura de película aceitável de acordo com as especificações da ADA

(American Dental Association). Neste experimento, o All-Bond Crown & Bridge[®] teve maior espessura de película quando comparado ao controle Ultrabond[®] e, por isso, não deve ser empregado para a cimentação de fundições. O cimento Biomer[®], apesar de ser o único a promover uma espessura de película aceitável, teve problemas com o assentamento e permaneceu plástico por cerca de 1 hora após sua manipulação, tornando-se impraticável para uso clínico. Propriedades como dureza e resistência estão relacionadas com resistência à abrasão. Desta maneira, materiais com menor conteúdo inorgânico se apresentam mais flexíveis, e por isso podem ser menos resistentes à abrasão. A espessura da película de cimentação propõe outros problemas. A espessura e o assentamento deficiente podem permitir a exposição do material ao ambiente oral.

A resistência ao desgaste tanto do agente cimentante como da restauração é influenciada por vários fatores tais como quantidade, tipo e tamanho de partículas, além da extensão de polimerização. Segundo SUZUKI et al. (1995), a resistência ao desgaste é negativamente afetada pela redução na quantidade de carga. Os autores afirmam que o emprego de materiais de partículas menores é preferível em razão de aumentar a lisura, diminuir o coeficiente de fricção e o stress transmitido à matriz. A situação considerada ideal seria que o material constituinte da restauração indireta possuísse a mesma resistência ao desgaste que o esmalte adjacente, e o agente cimentante possuísse a mesma resistência ao desgaste do material da restauração.

Diante de problemas que têm surgido quanto ao emprego de agente resinoso para cimentação, VIEIRA et al. (1995) descreveram como características ideais para estes materiais uma boa adesividade às estruturas dentária, metálica e cerâmica; criação de uma pequena espessura de cimento; um adequado escoamento, assim como tempos de trabalho e presa; além da possibilidade de corrigir pequenas falhas na interface dente/ restauração, garantindo um bom selamento de margens, prevenindo a microinfiltração e manchamento da restauração.

GARONE e BURGUER (1996) relataram que atualmente os cimentos resinosos disponíveis são basicamente resinas compostas e, como tal, não apresentam muita variação na sua fase inorgânica. Estes são constituídos de bis-GMA ou UDMA (Uretano dimetacrilato). A fluidez necessária a um bom agente cimentante é obtida pela diminuição da quantidade de matriz inorgânica. Os autores citaram ainda, como vantagens dos cimentos resinosos quando comparados aos demais, o fato de aderirem eficazmente ao dente e a todos os tipos de porcelanas, resinas compostas e ligas metálicas. A outra desvantagem dos cimentos resinosos seria o seu custo elevado em relação aos demais e, ainda, por estarem sujeitos a falhas por imperícia. Além disso, apresentam também uma técnica de utilização um tanto quanto crítica. A sua integridade marginal pode ser comprometida quando não se consegue uma consistência adequada de manipulação. Os autores propuseram, ainda, em seu trabalho uma classificação para os cimentos resinosos. Tal classificação pode ser descrita da seguinte maneira: quanto ao tipo de carga, podem ser denominados de macropartículas, micropartículas e híbridos; quanto à viscosidade: pesado, médio e leve; e ainda, como química ou fisicamente ativados, ou de dupla ativação. Os autores lembraram que estes cimentos podem ou não ser elaborados com um agente adesivo, como por exemplo, o 4-Meta (4-Metacriloxietil trimelitato) anidro, encontrado na composição do C&B Metabond[®] e no Superbond C&B[®].

Quanto ao tipo de ativação dos agentes cimentantes, VILELA e ARAÚJO (1996) afirmaram que a reação de polimerização, que se processa através do sistema peróxido de carbamida / amina, teria como desvantagem o reduzido tempo de trabalho, dificultando, portanto a remoção de excessos. Os cimentos fisicamente ativados apresentam um maior tempo de trabalho e permitem a incorporação de pigmentos para caracterização, estando pois indicados para facetas de resinas e porcelanas. Os mesmos autores lembraram que o aumento da espessura das restaurações leva à dificuldade na penetração da luz, prejudicando a polimerização nas camadas mais profundas do cimento. Baseado neste dado, têm sido sugeridos cimentos de dupla cura para restaurações estéticas adesivas. Nestes sistemas, a fotopolimerização age

como um agente acelerador da reação de presa, apesar de suas reação química ocorrer de maneira independente, em aproximadamente 6 minutos.

YOSHIDA et al. (1996) afirmaram que a utilização de cimentos resinosos adesivos tem crescido, e as razões para isto incluem melhores propriedades físicas do que aquelas observadas nos cimentos convencionais. Tais propriedades incluem: redução do dano pulpar e da sensibilidade pós-operatória, além da sua ampla utilização em restaurações estéticas. Além disso, os cimentos resinosos adesivos demonstram melhor vedamento marginal e menor solubilidade em água. Entretanto, a dificuldade de se remover excessos das margens após a polimerização, segundo o autor, é um problema a ser resolvido em um futuro próximo.

CRAIG (1997) afirmou que as propriedades físicas podem ser alteradas até certo ponto pela concentração de carga. A resistência mecânica e o módulo de elasticidade aumentam, enquanto que a contração de polimerização e o coeficiente de expansão térmico linear diminuem com o aumento da carga inorgânica. Os cimentos resinosos indicados para a cimentação de restaurações indiretas alcançam uma espessura de película em torno de 13 a 20 μm . São irritantes pulpares, e por esta razão, torna-se importante proteger a polpa com hidróxido de cálcio em restaurações profundas.

Para DIETSCHI e SPREACIFICO (1997), a cimentação de restaurações metálicas tradicionais é mantida principalmente por meio de retenção e fricção macromecânica proporcionada pelo cimento. Já as restaurações estéticas confeccionadas em resinas composta e cerâmica são mantidas pela adesão micromecânica ou química entre o adesivo, os tecidos dentários e o material restaurador. Isso faz com que os procedimentos de cimentação sejam importantíssimos no tratamento. O ajuste marginal destas restaurações estéticas deve ficar por volta de 100 μm . Os espaços internos podem ser maiores, mas pode gerar tensões de polimerização sobre as interfaces adesivas, devido à polimerização do cimento, podendo acarretar num prejuízo para a adaptação. Os cimentos resinosos sofrem maior desgaste

do que as resinas compostas restauradoras e o seu desgaste oclusal é proporcional ao espaço nas interfaces por isso, parece importante reduzir a linha de cimento, pelo menos na face oclusal. As restaurações precisas são preferíveis por reduzirem as tensões de polimerização nos espaços nas interfaces, por limitarem o desgaste do cimento e facilitar a remoção do seu excesso, proporcionando margens homogêneas na restauração. Em espaços maiores, adaptação e o selamento satisfatórios poderiam também ser obtidos enquanto ocorrem fenômenos compensatórios, mas isso pode resultar em degradação marginal mais rápida. Quando detectada a imprecisão marginal, as restaurações de resina composta permitem que sejam feitas correções. Isso pode ser realizado muito facilmente após o isolamento da cavidade e a polimerização no local de uma pequena quantidade de resina composta restauradora. Além de suas propriedades físico-químicas, a consistência e o tempo de trabalho dos cimentos resinosos também são muito importantes. Um tempo de trabalho suficiente é essencial para que a restauração seja colocada na sua posição correta e para eliminar o escoamento demasiado do agente cimentante, antes da presa química. Infelizmente, o tempo de trabalho está inversamente relacionado à eficiência da polimerização química. Isso significa que os materiais de presa dual que proporcionam completa polimerização em condições escuras, geralmente proporcionam um tempo de trabalho insuficiente. Praticamente, o tempo de trabalho necessário pode variar grandemente de acordo com o número de superfícies, forma de preparo e a acessibilidade às margens da restauração. Embora seja teoricamente contraindicado, ocasionalmente pode ser indispensável alterar a proporção pasta-catalisador. A cimentação de restaurações indiretas implica em uma união dupla: uma entre o cimento resinoso e o dente e outra entre o cimento resinoso e a restauração de resina composta ou cerâmica. Uma adaptação marginal e um selamento bem-sucedido podem ser obtidos quando há esmalte circundando todos os limites do preparo. Como já mencionado, onde existem superfícies marginais livres ou de dentina interna, a aplicação de um agente moderno de união à dentina e base de resina é aconselhável para melhorar o selamento da restauração e evitar sensibilidade pós-operatória. A completa

polimerização do cimento resinoso por meio de uma única luz ativadora pode ser obtida apenas sob uma fina camada de material restaurador transparente (menos de 1,5 a 2,0mm, dependendo da transparência e cor). Uma vez que essas condições são raramente encontradas na realidade clínica, o uso de cimentos resinosos de presa dual torna-se valioso. A eficiência da ativação química destes cimentos é insuficiente, por isso, é essencial a ativação à luz adequada para assegurar o grau ideal de conversão do material. Portanto, é exigida fotopolimerização bem vigorosa.

ZHUKOVSKY et al. (1997) relataram que alguns cimentos resinosos (Sono-Cem[®]), possuem uma grande quantidade de carga inorgânica ($\pm 77\%$) em resina hidrofóbica, diminuindo com isto a contração de polimerização e conferindo melhor adaptação marginal às restaurações. Em contrapartida estes cimentos possuem alta viscosidade podendo levar a um assentamento inadequado, devido ao aumento da espessura da película, que poderá ser compensada fazendo a cimentação sob vibração.

Segundo ANUSAVICE (1998), são adicionadas cargas inorgânicas à matriz resinosa desses cimentos, compostas de partículas de sílica ou vidro com 10 a 15 μm de diâmetro, em uma concentração que varia de 30 a 80% em peso. O alto peso molecular do bis-GMA faz com que a resina seja altamente viscosa. Para diminuir a viscosidade dos cimentos resinosos é comum a adição de diluentes monômeros de metacrilato com baixo peso molecular como o TEGDMA. Este monômero tem como desvantagem aumentar a contração de polimerização do cimento resinoso. De uma forma geral, estes cimentos são insolúveis nos fluidos bucais podendo variar a solubilidade de um produto para outro, de acordo com as diferenças de composição. A espessura de película é uma das principais propriedades requeridas de um agente cimentante, pois dela dependerá o assentamento e adaptação marginal correta das restaurações indiretas. Quanto menor a espessura, maior será a retenção das peças protéticas. De acordo com a especificação nº 8 da ADA (American Dental Association), os cimentos do tipo I utilizados para esse fim, deverão ter uma espessura de película de no máximo 25 μm .

CARVALHO, GOES e SINHORETI (1998) procuraram avaliar a alteração dimensional dos agentes cimentantes resinosos - Resin Cement[®] (3M) e Variolink[®] (Vivadent), empregados na cimentação de restaurações de resinas compostas e porcelanas. Observou-se não haver diferença estatisticamente significativa entre os grupos avaliados, e a alteração dimensional sofrida pelos cimentos estudados parece estabilizar-se por volta do 14º dia devido a hidratação.

CHRISTENSEN (1998) afirmou que durante a escolha do cimento, quando existir dúvida quanto à penetração da luz na interface dente/restauração, deve-se fazer escolha pelo cimento de autopolimerização. Como desvantagem dos cimentos resinosos, há a necessidade do uso de selantes adesivos autopolimerizáveis ou fotopolimerizáveis para a proteção do complexo dentina/póla em dentes vitalizados e dessensibilização da dentina pós-cimentação. Estes materiais, quando não observada a correta técnica de aplicação, podem acumular-se em áreas específicas do dente impedindo o correto assentamento da restauração, aumentando assim a espessura de película do cimento resinoso.

Em 1998, SOARES et al. procuraram avaliar a espessura de película e a morfologia das partículas inorgânicas de cimentos resinosos. Os materiais empregados no experimento foram os cimentos: Variolink[®] (nas consistências “High” e “Low” - Vivadent); Enforce[®] - Dentsply; Opal Luting Cement[®] e Resin Cement[®] - ambos da 3M; Resinomer[®] e Duolink[®] - ambos da Bisco. Foram confeccionados corpos de prova específicos para cada produto, e após análise estatística chegou-se aos seguintes resultados: com relação ao quesito espessura de película, os valores apresentados pelo Variolink[®] “High” (60 µm) e Enforce[®] (53 µm) não diferiram estatisticamente entre si, assim como o Resinomer[®] (34 µm) e o Duolink[®] (32 µm), e o Resin Cement[®] (17 µm) e o Opal[®] (15 µm). O cimento Variolink[®] “low” foi estatisticamente diferente em relação aos demais, com espessura de película em torno de 42 µm. A análise por MEV demonstraram partículas inorgânicas nas formas angulares, esféricas

ou arredondadas, e em tamanhos diferentes. Os cimentos resinosos Opal Luting Cement[®] e Resin Cement[®] apresentaram valores compatíveis com a especificação para cimentos tipo I (25 µm).

Segundo PAGANI et al. (2000), os cimentos resinosos apresentam-se sob três formas de acordo com a sua polimerização: os autopolimerizáveis, pelo sistema de indução por peróxido de benzoíla com uma amina terciária, indicada para restaurações de grande espessura, tais como coroas cerâmicas, onlays e inlays, nas quais a luz de fotopolimerização não consegue penetrar satisfatoriamente; os fotopolimerizáveis, indicados para restaurações delgadas como as facetas laminadas, quando a cor do cimento poderá interferir na cor final da restauração pela translucidez e os cimentos de polimerização dual, em que ocorre a polimerização tanto química quanto fotoativada.

Para ATTAR, TAM e McCOMB (2003), os cimentos resinosos oferecem ótimas propriedades mecânicas como resistência à flexão e rigidez além de uma radiopacidade adequada. Para os cimentos de polimerização dupla (duais), os autores reiteram a importância da etapa da fotoativação, sem a qual, as propriedades mecânicas seriam prejudicadas.

2.4 LIBERAÇÃO DE AGENTES ANTIMICROBIANOS

Na literatura podemos encontrar vários relatos referentes à associação de agentes antimicrobianos a materiais odontológicos como meio de conseguir uma liberação controlada destes fármacos no tratamento de algumas patologias que acometem a cavidade oral. Um destes estudos é o de FRIEDMAN e GOLOMB (1982) onde associaram o diacetato de clorexidina ao etilcelulose e ao polietilenoglicol nas concentrações de 5, 10 e 20% (p/p). Concluíram que, *in vitro*, tanto o polietilenoglicol quanto o etilcelulose foram

capazes de prover uma dose eficaz de diacetato de clorexidina por um período de até 10 dias.

SCHAEKEN e HAAN (1989) avaliaram a eficiência de diacetato de clorexidina associada ao verniz odontológico Duraphat[®]. A clorexidina foi incorporada ao verniz na proporção 50% (p/p). Os resultados demonstraram que a clorexidina, incorporada ao verniz odontológica, foi liberada rapidamente no primeiro dia com um declínio nos dias seguintes quando colocada em água destilada à temperatura de 37°C. Após o terceiro dia, 75% da clorexidina havia sido liberada. No teste clínico, a associação da clorexidina ao verniz Duraphat[®] inibiu o crescimento do *S. mutans* por um período de até 4 semanas

WILSON e WILSON (1993) incorporaram o diacetato de clorexidina às resinas acrílicas a base de polimetilmetacrilato, utilizado na confecção de próteses totais removíveis ou dentaduras. A clorexidina foi incorporada à resina acrílica nas concentrações de 1, 2 e 4% (p/p). As amostras foram deixadas em água deionizada a 37°C durante o experimento. Os resultados demonstraram que na concentração de 4% houve liberação de clorexidina até o 72º dia, sendo que este fenômeno foi mais intenso nos primeiros vinte dias. Nas concentrações de 1 e 2% a liberação foi observada apenas nos dez dias iniciais.

Em 2002, DANESHMAND et al. avaliaram clinicamente a eficácia do PerioChip[®], um sistema de liberação controlada onde o digluconato de clorexidina é incorporado a uma gelatina hidrolisada biodegradável, utilizada no tratamento de doenças periodontais. Foram comparados neste estudo a eficácia no tratamento clínico na diminuição de profundidade de bolsa periodontal e redução da quantidade de microrganismos patogênicos no local. Na comparação entre o método tradicional, raspagem e alisamento radicular e no tratamento experimental com associação deste com o PerioChip[®], os autores concluíram que não houve diferença entre os dois métodos avaliados.

OSINAGA et al. (2003) avaliaram a liberação do íon zinco incorporado ao cimento ionômero de vidro na forma do sal sulfato de zinco nas concentrações de 5 e 10% (p/p). Os cimentos utilizados foram o Ketac-Fil[®] e o

Vitremer[®] (modificado por resina). O meio de liberação utilizado para os experimentos foi a saliva artificial. Os resultados demonstraram que o íon zinco (Zn^{2+}) foi liberado apenas no primeiro dia e que uma maior quantidade do íon zinco foi liberada a partir do cimento com a concentração de 10% (p/p).

NURIT et al. (2006) avaliaram a efetividade antibacteriana de uma amonia quaternária polietilenimina nanoparticulada associada a 1% massa/massa em um adesivo dentinário, resina *flow*, e uma resina composta, todos fotoativáveis. A eficácia antibacteriana foi realizada pelos testes de difusão de agar, teste de contato direto e o MEV. O teste de contato direto apresentou efetividade desta associação nas três formas do compósito sendo que seu efeito durou por pelo menos 1 mês. Esta associação também não afetou a resistência à flexão dos materiais.

YOSHIKAWA et al. (2007) avaliaram a ação do MDPB na microbiota causadora de lesões cariosas na raiz dental. Foi avaliada a concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração mínima bactericida (CMB) contra os microrganismos: *S.mutans*, *S. oralis*, *S. salivarius*, *Actinomyces naeslundii*, *Actinomyces israelii*, *Actinomyces gerensceriae*, *Actinomyces odontolyticus*, *Actinomyces spp* and *Cândida albicans*. A CIM e o CMB do MDPB encontrada variou entre 3,13 a 25,0 µg/mL respectivamente. Concluiu-se que o MDPB tem potencial para inibir o crescimento da microbiota associada a cáries de raiz.

3 OBJETIVOS GERAIS

1. Avaliar a viabilidade da incorporação de substâncias antimicrobianas aos cimentos resinosos odontológicos.

3.1 Objetivos específicos:

1. Avaliar pelo MEV, a incorporação dos agentes antibacterianos aos cimentos resinosos;

2. Avaliar a distribuição dos agentes antibacterianos nos cimentos resinosos;

3. Avaliar possíveis alterações na estrutura química original dos cimentos resinosos após a incorporação dos agentes antibacterianos;

4. Avaliar semi-quantitativamente a liberação dos agentes antibacterianos, a partir dos cimentos resinosos, em água deionizada;

5. Avaliar a efetividade antibacteriana contra o *Streptococcus mutans* dos cimentos resinosos incorporados com agentes antibacterianos;

6. Avaliar a influência da incorporação de agentes antibacterianos aos cimentos resinosos na microdureza.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 CIMENTOS RESINOSOS E AGENTES ANTIBACTERIANOS

Foram utilizadas duas marcas comerciais de cimentos resinosos (FIG.18), Fill Magic Dual Cement Vigodent[®] (polimerização dual: químico e fotoativado) e o C&B Bisco[®] (autopolimerizável). Os agentes antimicrobianos, triclosan (Irgasan DP-300[®] Ciba-Geigy) e o diacetato de clorexidina (Sigma[®]), ambos na forma de apresentação em pó (TAB.1). As proporções utilizadas e os respectivos grupos de testes estão descritos na TAB.2.

TABELA 1

Cimentos resinosos e agentes antibacterianos

Marca Comercial	Fabricante	Lote	Origem
Fill Magic Dual Cement [®]	Vigodent	035-03	Brasil
C & B [®]	Bisco	0300010174	Estados Unidos
Triclosan Irgasan DP-300 [®]	Ciba-Geigy	PG5756/601	Estados Unidos
Diacetato de clorexidina	Sigma [®]	013K0666	Estados Unidos



FIGURA 18 - Cimentos resinosos: Fill Magic Dual Cement[®] e C&B[®].

TABELA 2

Porcentagem dos agentes antimicrobianos e denominação dos grupos

Cimento resinoso	% peso	Agente antimicrobiano	Grupo
Fill Magic Dual Cement [®]	0	0	FM
Fill Magic Dual Cement [®]	1	Triclosan	FMTCL1%
Fill Magic Dual Cement [®]	3	Triclosan	FMTCL3%
Fill Magic Dual Cement [®]	1	Diacetato de clorexidina	FMCLD1%
Fill Magic Dual Cement [®]	3	Diacetato de clorexidina	FMCLD3%
C & B [®]	0	0	CB
C & B [®]	1	Triclosan	CBTCL1%
C & B [®]	3	Triclosan	CBTCL3%
C&B [®]	1	Diacetato de clorexidina	CBCLD1%
C&B [®]	3	Diacetato de clorexidina	CBCLD3%

4.2 INCORPORAÇÃO DE AGENTES ANTIBACTERIANOS AOS CIMENTOS RESINOSOS

A incorporação dos cimentos resinosos foi realizada no laboratório de manipulação de fármacos do Curso de Farmácia do Centro Universitário Newton Paiva.

Todo o conteúdo do tubo da pasta catalisadora das duas marcas comerciais dos cimentos resinosos foi esgotado sobre uma placa de vidro previamente tarada na balança analítica Quimis[®]. Foi adicionado o pó do agente antimicrobiano sobre o cimento resinoso com a massa correspondente

à concentração desejada. A manipulação foi então realizada manualmente, sempre pelo mesmo operador, com o auxílio de uma espátula metálica nº 70 Duflex[®], por um período de cinco minutos. A temperatura ambiente foi controlada em $22 \pm 1^\circ\text{C}$. A pesagem tanto da pasta catalisadora quanto dos agentes antimicrobianos foi realizada em balança analítica Quimis[®]. Todas as medidas protocolares da manipulação de fármacos do referido laboratório foram seguidos nesta etapa (PROBER, 1991).

A pasta catalisadora do cimento resinoso Fill Magic Dual cement[®] utilizada não contém a canforoquinona responsável pela fotoativação que inicia a sua reação de polimerização. Por essa razão a pasta catalisadora foi a escolhida para ser incorporada no cimento resinoso Fill Magic Dual Cement[®] pois em sua composição existe a canforoquinona e não seria interessante que esta fosse ativada pela luz ambiente durante a sua incorporação pelos agentes antimicrobianos.

4.3 CONFECÇÃO DOS CORPOS DE PROVA

Para a confecção dos corpos de prova dos grupos da marca comercial C&B[®] (CB, CBTCL1%, CBTCL3%, CBCLD1% e CBCLD3%), foram proporcionadas quantidades iguais da pasta catalisadora e pasta base com o auxílio de uma balança analítica Quimis[®]. A manipulação foi realizada de acordo com as instruções do fabricante com o auxílio de uma espátula metálica (nº 70 Duflex[®]) e uma placa de vidro. Imediatamente após a manipulação, o cimento resinoso manipulado foi inserido no molde metálico, com diâmetro de 20mm e profundidade de 3mm, previamente posicionado sobre uma lâmina de vidro para microscópio. Após a inserção do cimento, uma segunda lâmina de vidro foi colocada e pressionada cuidadosamente sobre o molde metálico permitindo um escoamento do excesso do material. Sobre esta lâmina foi colocada uma massa de 200 gramas. Quinze minutos após o início da

espatulação, o corpo de prova foi separado do molde metálico. Todos os corpos de prova foram armazenados individualmente em recipientes plásticos identificados de acordo com cada grupo.

Para a confecção dos corpos de prova dos grupos da marca comercial Fill Magic Dual Cement[®] (FM, FMTCL1%, FMTCL3%, FMCLD1% e FMCLD3%) foram realizados os mesmos procedimentos descritos anteriormente com exceção dos procedimentos de fotoativação. Os cimentos resinosos foram manipulados de acordo com as instruções do fabricante. Após a inserção no molde metálico, com as mesmas dimensões, o cimento resinoso então teve sua reação de polimerização iniciada com a utilização de um aparelho fotopolimerizador Soft Start[®] Degussa, ligado a um estabilizador de voltagem. A cada procedimento completo de polimerização no corpo de prova, o aparelho foi aferido pelo radiômetro DMC[®]. A ponta do aparelho foi posicionada no centro do molde contra a lâmina de vidro e realizada a emissão de luz pelo tempo de 60 segundos. Devido ao diâmetro da ponta do aparelho, foram necessárias três seqüências de ciclos de polimerização até que toda a superfície do corpo de prova fosse irradiada. Os mesmos procedimentos descritos foram realizados para a superfície inferior do corpo de prova. Logo após, os corpos de prova foram separados do molde metálico. Todos os corpos de prova foram armazenados individualmente em recipientes plásticos que impediam a passagem de qualquer tipo de luz e identificados de acordo com cada grupo.

4.4 ANÁLISE NO MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE VARREDURA

Os corpos de prova foram confeccionados segundo os procedimentos descritos no item 4.3. Dois corpos de prova foram confeccionados para cada grupo (FM, FMTCL1%, FMTCL3%, FMCLD1%, FMCLD3%, CB, CBTCL1%, CBTCL3%, CBCLD1% e CBCLD3%) perfazendo um total de 20 corpos de prova. Previamente à análise, os corpos de prova foram recobertos por uma

camada de ouro e paládio e submetidas à análise no MEV JEOL JSM 6360 a partir da emissão de elétrons retroespalhados. As imagens que foram obtidas tiveram como objetivo verificar e comparar a morfologia da superfície dos cimentos resinosos antes e depois da incorporação dos agentes antibacterianos em suas diferentes concentrações.

4.5 ANÁLISE DO ESPECTRO DE ENERGIA DISPERSIVA (EDS)

Simultaneamente à análise no MEV, no mesmo aparelho, foram realizadas análises EDS com o objetivo de analisar a distribuição dos agentes antimicrobianos na superfície dos corpos de prova.

4.6 TRATAMENTO TÉRMICO

É preocupação da área farmacológica que todos os componentes de um gel, creme ou pomada tenha a mesma distribuição em todo o seu volume. A apresentação dos cimentos resinosos utilizados consiste em um líquido viscoso semelhante a um gel. Foi também a nossa preocupação que em todo o volume dos tubos do cimento resinoso contivessem a mesma concentração desejada do agente antimicrobiano, ou seja, apresentasse uma distribuição uniforme do triclosan ou do diacetato de clorexidina. Para confirmar esta situação, foi idealizado um tratamento térmico dos corpos de prova a partir do conhecimento prévio de análises termogravimétricas dos cimentos resinosos (VAIDYANATHAN et al., 1992; ACHARYA e GREENER, 1972), que têm composição semelhante aos cimentos resinosos, e das temperaturas de ebulição dos agentes antibacterianos (BURTIS, ASWOOD e ALDRICH, 1998).

4.6.1 Tratamento térmico a 160°C

Três corpos de prova de cada grupo foram confeccionados segundo os procedimentos descritos no item 4.3. Após a confecção dos corpos de prova, estes foram dissecados por 24 horas em um dissecador a vácuo Fisoton[®]. e logo após pesados em balança analítica Quimis[®]. Estes então foram colocados separadamente em cadinhos de cerâmica, levados ao forno elétrico BRAVAC[®] e aquecidos a uma taxa de 10°C/min até a temperatura de 160°C quando foi deixado por 2 horas. A esta temperatura, somente a fase dos agentes antibacterianos foi eliminada sem interferir na composição original das resinas compostas (VAIDYANATHAN et al., 1992; ACHARYA e GREENER, 1972). Após o resfriamento, os corpos de prova foram pesados novamente em balança analítica e submetidos a análises no MEV, EDS e FTIR.

4.6.2 Tratamento térmico a 750°C

Três corpos de prova de cada grupo foram confeccionados segundo os procedimentos descritos no item 4.3. Cada corpo de prova foi previamente dissecado por 24 horas em um dissecador a vácuo Fisoton[®] e pesado em balança analítica Quimis[®]. Estes então foram colocados separadamente em cadinhos de cerâmica, levados ao forno elétrico BRAVAC[®] e aquecidos a uma taxa de 10°C/min até a temperatura de 750°C quando foi deixado por 2 horas. Este procedimento teve como objetivo a eliminação da fase orgânica do cimento resinoso (REGES et al., 2002). Após o resfriamento, estes corpos de prova foram pesados em balança analítica e submetidos a análises MEV, EDS e FTIR.

Na temperatura de 370°C o forno foi deixado por duas horas para que todas as substâncias voláteis até esta temperatura pudessem ser eliminadas e então realizada uma pesagem de todos os corpos de prova. A partir desta temperatura ocorre uma perda maior de massa que corresponde à

eliminação de elementos orgânicos constituintes (VAIDYANATHAN, 1992; ACHARYA e GREENER, 1972; LEE e UM, 2001).

4.7 QUANTIFICAÇÃO DOS ESPAÇOS VAZIOS APÓS TRATAMENTO TÉRMICO A 160°C

Com o objetivo de quantificar o número de espaços vazios, deixados pelos agentes antibacterianos nas diferentes concentrações após sofrerem tratamento térmico a 160°C (item 4.6.1), foi realizada a contagem pelo método da malha. Uma folha de transparência (Verbatim[®]), foi dividida em nove quadrantes numerados com as mesmas medidas com auxílio de uma caneta de retroprojeter de ponta fina (Pilot[®]). Os quadrantes da malha tinham aproximadamente 20 μm^2 , de acordo com a barra medida que consta na fotomicrografia. Todas as imagens das fotomicrografias tiveram rigorosamente as mesmas dimensões e ampliação (1000X) no monitor. As regulagens de brilho e contraste do monitor também foram padronizadas em todas as contagens. As imagens analisadas pertenciam aos grupos que continham diferentes concentrações de agentes antimicrobianos (CBTCL1%, CBTCL3%, CBCLD1%, CBCLD3%, FMTCL1%, FMTCL3%, FMCLD1% e FMCLD3%). A transparência foi colocada sobre a imagem da fotomicrografia, no monitor do computador. O quadrante foi escolhido por sorteio e então realizada a contagem dos espaços vazios. Foi realizada uma contagem em três quadrantes diferentes de cada imagem. Este procedimento foi realizado em uma imagem de cada grupo.

4.8 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA

A análise termogravimétrica foi realizada a partir dos dados coletados durante os procedimentos descritos nos itens 4.6.1 e 4.6.2. Foi realizado a pesagem de todos os corpos de prova de todos os grupos antes dos tratamentos térmicos (leitura 1).

Após o tratamento térmico à 160°C (item 4.6.1) foi também realizada a pesagem (leitura 2). A leitura 3 foi realizada na temperatura de 370°C. Finalmente a leitura 4 foi realizada após o tratamento térmico à 750°C (item 4.6.2).

Todas as pesagens foram realizadas na balança analítica Quimis[®]. Cinco corpos de cada grupo foram pesados neste experimento.

4.9 ANÁLISE DE ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO DE TRANSFORMADAS DE FOURIER - FTIR

Os corpos de prova utilizados neste item foram confeccionados de acordo com o item 4.3. As análises foram realizadas no aparelho de Espectrometria no Infravermelho de Transformadas de Fourier - FTIR, Spectrum One – (Perkin Elmer Instruments[®]), modo ATR pertencente ao laboratório de análises químicas do Centro Universitário Newton Paiva.

Previamente às análises, os corpos de prova foram triturados manualmente com auxílio de um gral e pistilo para possibilitar as leituras no aparelho.

Foram obtidos inicialmente os espectros de todos os grupos de corpos de prova além dos espectros dos agentes antimicrobianos separadamente. Em todos os espectros obtidos as amostras foram colocadas no visor de safira do aparelho e foram realizados 32 varreduras com resolução de 4 cm⁻¹ e número de onda de 4000 a 400cm⁻¹.

4.10 TESTE DE LIBERAÇÃO DO AGENTE ANTIMICROBIANO

Foram realizados testes de liberação *in vitro* para avaliar semi-quantitativamente a liberação dos agentes antibacterianos em água deionizada (água DI). Inicialmente foi necessária a obtenção das diluições padrão para a obtenção da curva de calibração para os dois agentes antibacterianos no aparelho de Espectrometria no Infravermelho de Transformadas de Fourier - FTIR, Spectrum One – (Perkin Elmer Instruments®), pertencente ao laboratório de análises químicas do Centro Universitário Newton Paiva.

4.10.1 Obtenção das diluições padrão para o FTIR

Para a obtenção das diluições padrão da clorexidina, foi utilizada, como solvente, água deionizada (água DI) fornecida pelo aparelho MilliQplus®. Para cada diluição das soluções da clorexidina, 1mL de água DI foi medida com o auxílio de uma pipeta (2mL – Pyrex®) acoplada à uma pêra Nalgon® e dispensada em um Becker Satelit®. O pó do diacetato de clorexidina, previamente pesado na balança analítica Quimis® com a quantidade correspondente à concentração desejada, foi adicionado à água DI no Becker. Uma barra magnética foi colocada no Becker com auxílio de um bastão magnético e logo após vedado com um filme plástico de PVC. O Becker foi então colocado sobre o agitador magnético Fisoton® na velocidade de nº 5 sem aquecimento por 30 minutos. A temperatura ambiente foi controlada em 22 ± 1 °C. Após a homogeneização, as soluções foram colocadas em porta-amostras e vedadas com fita adesiva até que fosse feita a análise no FTIR. Todos os instrumentos utilizados foram previamente lavados, enxaguados e finalmente novamente enxaguados com água deionizada e posteriormente enxugados com papel absorvente. Para cada diluição foram realizados os mesmos procedimentos (ROCHA FILHO, 2003). Foram realizadas sete diluições padrão

para a clorexidina. As concentrações das diluições padrão da clorexidina utilizadas estão descritas na TAB.3.

Devido à sua baixa solubilidade em água (10 ppm em água a 20°C) e ser altamente solúvel em solventes orgânicos (KJAERHEIM et al. 1994), para as concentrações das soluções desejadas, utilizamos álcool metílico ou metanol como solvente do triclosan. O metanol, dentre os solventes indicados para o triclosan é o que possui a estrutura química mais simples e com a menor variação de bandas de absorção correspondente aos seus principais grupos funcionais nos espectros do FTIR. Por isso, para a obtenção das diluições padrão do triclosan, foi utilizado, como solvente o álcool metílico (Synth[®] - lote 65826). Para cada diluição das soluções do triclosan, 1mL de álcool metílico foi medida com o auxílio de uma pipeta (2mL – Pyrex[®]) acoplada a uma pêra Nalgon[®] e dispensada em um Becker Satelit[®]. O pó do triclosan, previamente pesado na balança analítica Quimis[®] com a quantidade correspondente à concentração desejada, foi adicionado ao etanol no Becker. Uma barra magnética foi colocada no Becker com auxílio de um bastão magnético e logo após vedado com um filme plástico de PVC. O Becker foi então colocado sobre o agitador magnético Fisoton[®] na velocidade de nº 5 sem aquecimento por 30 minutos. A temperatura ambiente foi controlada em 22 ± 1 °C. Após a homogeneização, as soluções foram colocadas em porta-amostras e vedadas com fita adesiva até que fosse feita a análise no FTIR. Todos os instrumentos utilizados que entraram em contato direto com o metanol e o pó dos agentes antimicrobianos foram previamente cuidadosamente lavados e enxaguados e finalmente novamente enxaguados com água deionizada e posteriormente enxugados com papel absorvente. Para cada diluição foram realizados os mesmos procedimentos. (ROCHA FILHO, 2003). Foram realizadas sete diluições padrão para o triclosan. As concentrações das diluições padrão do triclosan utilizadas estão descritas na TAB.3.

TABELA 3

Diluições padrão ($\mu\text{g/mL}$) preparadas dos agentes antibacterianos (triclosan e clorexidina) por 1mL de água deionizada (DI) ou metanol.

Diacetato de clorexidina diluições	Concentração $\mu\text{g/mL}$	Triclosan diluições	Concentração $\mu\text{g/mL}$
	água DI		metanol
1	50	1	50
2	20	2	20
3	10	3	10
4	5	4	5
5	1	5	1
6	0,5	6	0,5
7	0,1	7	0,1

4.10.2 Leitura das diluições padrão.

A leitura das diluições foi realizada no FTIR, Spectrum One - Perkin Elmer Instruments[®]. Foi colocada no visor de safira do aparelho 0,1 mL de cada diluição, com auxílio de uma pipeta e foram realizados 32 varreduras com resolução de 4 cm^{-1} e número de onda de $4000\text{ a }400\text{ cm}^{-1}$. O grupamento químico do cloro-aromático, foi definido como o pico diferencial entre os cimentos resinosos e os agentes antibacterianos, já que está presente somente no triclosan e na clorexidina (FIGS. 3 e 4) e sua banda de absorção foi o mais identificável após a sua incorporação segundo estudos anteriores (AKAKI, HERMAN et al., 2005). A banda de absorção do Cl-aromático, está entre $\nu=1089\text{ cm}^{-1}$ a $\nu=1096\text{ cm}^{-1}$, com picos máximos de $\nu=1091\text{ cm}^{-1}$ para a clorexidina e $\nu=1093\text{ cm}^{-1}$ para o triclosan.

A altura do pico máximo de absorção do Cl-aromático, nos espectros obtidos no FTIR, para cada agente antibacteriano e para cada diluição, foi obtida e armazenada. Estes dados foram então processados no programa Excel[®] - Microsoft, onde obtivemos a curva de calibração para cada agente antibacteriano e suas respectivas linhas de tendência e equações.

4.10.3 Confeção dos corpos de prova e armazenagem

Os corpos de prova foram confeccionados segundo os procedimentos descritos no item 4.3. Os corpos de prova foram confeccionados em triplicata para cada grupo (TAB.2) e acondicionados em um recipiente plástico contendo 5 mL de água DI como meio de dispersão. Os recipientes contendo os corpos de prova foram vedados hermeticamente com uma fita adesiva e colocados em uma estufa Nevoni 1.3[®] a 37 ± 1 °C (MEDLICOTT, et al. 1992; WILSON e WILSON, 1993; NERURKAR et al., 1995). Nos períodos de 3, 6 e 21 dias, foram pipetadas 1mL de cada recipiente de cada grupo e dispensados em um porta-amostra e vedado com uma fita adesiva até que fosse realizado as leituras no FTIR. Após cada colheita, as pipetas eram cuidadosamente lavados e enxaguados com água deionizada e posteriormente enxugados com papel absorvente.

4.10.4 Leitura das amostras

A leitura dos meios de dispersão dos corpos de prova foi realizada no mesmo aparelho FTIR utilizado para a obtenção da curva de calibração. As leituras das alturas dos picos na banda de absorção do Cl-aromático foram obtidas. Foi realizada a leitura da água deionizada e do álcool etílico na mesma

região da banda de absorção do Cl-aromático ($\nu = 1089 \text{ cm}^{-1}$ a $\nu = 1096 \text{ cm}^{-1}$) para a determinação do espectro de base (baseline). Os dados obtidos foram submetidos às equações das curvas de calibração obtidas.

4.11 TESTE DE EFETIVIDADE ANTIMICROBIANA

Para avaliar a efetividade antimicrobiana da incorporação do triclosan e do diacetato de clorexidina ao cimento resinoso contra o *S. mutans*, foi realizado os procedimentos de teste de difusão em ágar. Este teste foi realizado no Laboratório de Microbiologia da pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais.

4.11.1 Teste de difusão em ágar

Os corpos de prova, contendo o cimento associado aos antimicrobianos, em diferentes concentrações, foram confeccionados, em matrizes de silicona de reação por condensação (Speedex[®], Vigodent, Brasil) com as medidas de 10mm de diâmetro por 1mm de profundidade. O instrumental empregado para a confecção destes corpos de prova e semeadura do microrganismo (matrizes, placas de vidro, espátulas, pinças, pipetas, tubos de ensaio, zaragatas) foi previamente esterilizado em autoclave a 121° C, por 15 minutos. Todos procedimentos foram realizados em ambiente asséptico, em capela de fluxo laminar com lâmpada germicida (Veco[®], São Paulo, SP, Brasil - FIG.19).



FIGURA 19 – Capela de Fluxo laminar.

Os corpos de prova foram divididos e distribuídos nas placas de Petri em quatro conjuntos, de acordo com os cimentos resinosos e agentes antimicrobianos testados (TAB. 04). Um corpo de prova contendo somente o cimento resinoso (CB e FM) , sem incorporação de agentes antimicrobianos, foi também utilizado, como controle.

TABELA 04

Distribuição dos corpos de prova nas placas de Petri relacionados ao cimento e antimicrobianos testados

Grupos	Cimentos e antimicrobianos
1	FMTCL1%
	FMTCL3%
	FM
2	FMCLD1%
	FMCLD3%
	FM
3	CBTCL1%
	CBTCL3%
	CB
4	CBCLD1%
	CBCLD3%
	CB

O *S. mutans* ATCC 35535 foi mantido em ágar *Brain Heart Infusion* (Difco[®], São Paulo, SP, Brasil) (BHI-A), suplementado com 5% de sangue desfibrinado de carneiro, em dissecador de vidro, em condição de microaerofilia obtido pelo método da vela, durante a realização dos testes e conservado em freezer -40°C, em caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) (Difco[®]), acrescido de 10% de glicerol, para ser, eventualmente, recuperado.



FIGURA 20 – semeadura do *S. mutans* no ágar BHI.



FIGURA 21 - distribuição dos corpos de prova na placa de Petri.

Um inóculo padronizado de 0,2 mL de *S. mutans*, crescido por 48 horas em caldo BHI, com turbidez correspondente a escala Macfarland nº 9 (10^9 UFC/mL), foi semeado, em ágar BHI com auxílio de uma micropipeta

(Micropipette[®], Brasil). O inócuo foi espalhado sobre a superfície do ágar com o auxílio de uma zaragota esterilizada (FIG.20).

Os corpos de prova foram removidos das matrizes e colocados imediatamente na superfície do BHI-A semeado com o microrganismo de maneira simétrica. Cada placa de Petri recebeu os corpos de prova correspondente a um mesmo grupo. De acordo com a portaria nº 04/94 da SECRETARIA DE SAÚDE DO DISTRITO FEDERAL (1994), que regulamenta os testes de antibiograma no Brasil, foi respeitada uma distância acima de 15,0 mm entre os corpos de prova e a borda da placa (FIG. 21).

Todas as placas foram incubadas, em condições de microaerofilia, a 37°C, em estufa bacteriológica, por 48 horas. Todos os testes foram realizados em triplicata. Esta espécie bacteriana foi também semeada em ágar BHI-A para se certificar a viabilidade da amostra.

O critério para se estabelecer a susceptibilidade dos microrganismos aos antimicrobianos, acrescidos aos cimentos testados, baseou-se no diâmetro do halo de inibição em torno dos corpos de prova, medido sem auxílio de aparelhos ópticos, em milímetros, com paquímetro digital (Mitutoyo[®], Brasil).

4.11.2 Sensibilidade do *S.mutans* ATCC 35535 ao triclosan e Diacetato de clorexidina

Para averiguar a sensibilidade do *S. mutans* aos agentes antimicrobianos utilizados, foram realizados testes em diferentes concentrações de triclosan e Diacetato de clorexidina. Para o triclosan foram utilizadas as concentrações de 5µg/mL, 10µg/mL, 20µg/mL, 30µg/mL e 50µg/mL. Para o diacetato de clorexidina foram utilizadas as concentrações de 1µg/mL, 3µg/mL, 5µg/mL, 10µg/mL e 30µg/mL.

Em cada placa de Petri, foram colocados os agentes antimicrobianos na concentração de 1µg/mL até que fosse atingida a concentração desejada. Logo após, 5mL de ágar BHI-A (Difco[®]), previamente fundido em forno de

microondas, foram colocados nas placas de Petri e agitadas manualmente. Após a solidificação do ágar, um inócuo padronizado de 0,2 mL de *S. mutans*, crescido por 48 horas em caldo BHI, com turbidez correspondente a escala Macfarland nº 9 (10^9 UFC/mL), foi semeado, em ágar BHI com auxílio de uma micropipeta (Micropipette[®], Brasil). O inócuo foi espalhado sobre a superfície do ágar com o auxílio de uma zaragota esterilizada. Todas as placas foram incubadas, em condições de microaerofilia, a 37°C, em estufa bacteriológica por 48 horas (LIMA, SOARES e GRECO, 1992; SANDER, 1997)

5.12 TESTE DE MICRODUREZA KNOOP

Os corpos de prova foram confeccionados de acordo com os procedimentos descritos no item 4.3. Três corpos de prova foram confeccionados para cada grupo constantes na (TAB.2). Os testes foram realizados no microdurômetro Microhardness Tester FM[®] - Future Tech, Tóquio, (Japão) utilizando uma ponta Knoop, pertencente ao Laboratório de Biomateriais da Escola de Engenharia da UFMG. Foram realizadas três penetrações na superfície de cada corpo de prova com carga de 0,025 kgf por 10 segundos. As medidas das diagonais obtidas em micrômetros foram convertidas em número de dureza Knoop por meio do software Excel[®] - Microsoft.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISE POR MICROSCÓPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA – MEV

As análises pelo MEV foram realizadas no aparelho MEV JEOL JSM 6360 pertencente ao Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais da UFMG. As amostras de todos os grupos foram submetidas à análise no MEV com o objetivo de observar possíveis alterações morfológicas após a incorporação dos agentes antimicrobianos nas diferentes proporções.

5.1.1 Análise comparativa pelo MEV entre os grupos

Nas imagens do MEV dos cimentos resinosos sem adição de agentes antibacterianos (CB e FM) observa-se uma fase clara que corresponde à fase inorgânica (sílica e alumina) e uma fase escura que corresponde à matriz orgânica, bisfenol A-glicidilmetacrilato - bis-GMA e o trietilenoglicoldimetacrilato – TEGDMA (AKAKI e MANSUR et al. 2001). Após a incorporação dos agentes antibacterianos, as imagens demonstram, em geral, um aumento na fase clara nos grupos experimentais (CBTCL1%, CBTCL3%, FMTCL1%, FMTCL3%, CBCLD1%, CBCLD3%, FMCLD1%, CBCLD3%) em proporção direta com o aumento da concentração dos agentes antimicrobianos (FIGS. 22, 23, 24 e 25). Isso nos leva a deduzir que os agentes antimicrobianos se mostram com uma coloração clara nas imagens do MEV quando incorporados aos cimentos resinosos (AKAKI e MANSUR et al.,2004a). Segundo AKAKI e MANSUR et al. (2004b) as imagens sugerem que não há uma distinção clara entre as fases constituintes deste sistema: matriz orgânica, matriz inorgânica e agente antibacteriano (FIGS.22, 23, 24 e 25).

Para ADDY e HANDLEY (1981), após análises de fotomicrografias realizadas no MEV, a clorexidina se incorporaria à matriz orgânica de polimetilmetacrilato (PMMA) utilizadas na confecção de próteses totais ou

dentaduras. Trata-se neste estudo de um material com uma fase única orgânica. Nas concentrações de 2, 5 e 10%, não houve a formação de aglomerações de clorexidina na matriz orgânica sendo a sua distribuição satisfatória.

Vários estudos avaliaram a incorporação de agentes antimicrobianos às resinas compostas (BAPNA, MUKHERJEE, MURPHY, 1992; IMAZATO, TORII, TSUCHITANI, 1995a; YAMAMOTO e OHASHI, et al., 1996; SYAFI UDDIN e HISAMITSU, 1997; BAPNA, MURPHY, MUKHERJEE, 1998; YOSHIDA, TANAGAWA e ATSUTA, 1999; JEDRYCHOWSKI, CAPUTO, KERPER, 1998; KAWASHITA e TSUNAYAMA, et al., 2000; KUDOU e OBARA, K. et al. 2000; TANAGAWA e YOSHIDA et al., 2000; EBI e IMAZATO et al., 2001) relatando vários aspectos, entre eles: propriedades mecânicas, efetividade antibacteriana e liberação dos antimicrobianos. Nenhum destes estudos avaliou o aspecto da morfologia, por meio de imagens, desta distribuição. Podemos supor que este aspecto básico de qualquer incorporação seja satisfatório ou irrelevante (ANDRADE, DAHM e DOMÍNGUEZ, 2004) nestes estudos, já que outras propriedades foram avaliadas.

Em nosso estudo, foi nossa preocupação, avaliar a morfologia da incorporação do triclosan e do diacetato de clorexidina aos dois cimentos resinosos. Esta preocupação se justifica principalmente por se tratar de um estudo que envolve um material relativamente novo (cimento resinoso) que ainda não foi submetido à incorporação de agentes antibacterianos segundo a literatura consultada.

Esperava-se que, após a incorporação, não houvesse aglomerações de agentes antibacterianos. Era desejável que houvesse uma boa distribuição tanto do triclosan quanto do diacetato de clorexidina em suas duas concentrações (1 e 3%) nas duas marcas comerciais dos cimentos resinosos utilizados. O fato de não haver uma distinção clara entre as fases presentes, não haver indícios de aglomerações de agentes antibacterianos em todas as imagens observadas e de não haver espaços vazios, sugere que sob o ponto

de vista das imagens do MEV, houve uma boa distribuição do triclosan e da clorexidina nos cimentos resinosos (AKAKI e MANSUR et al, 2004b).

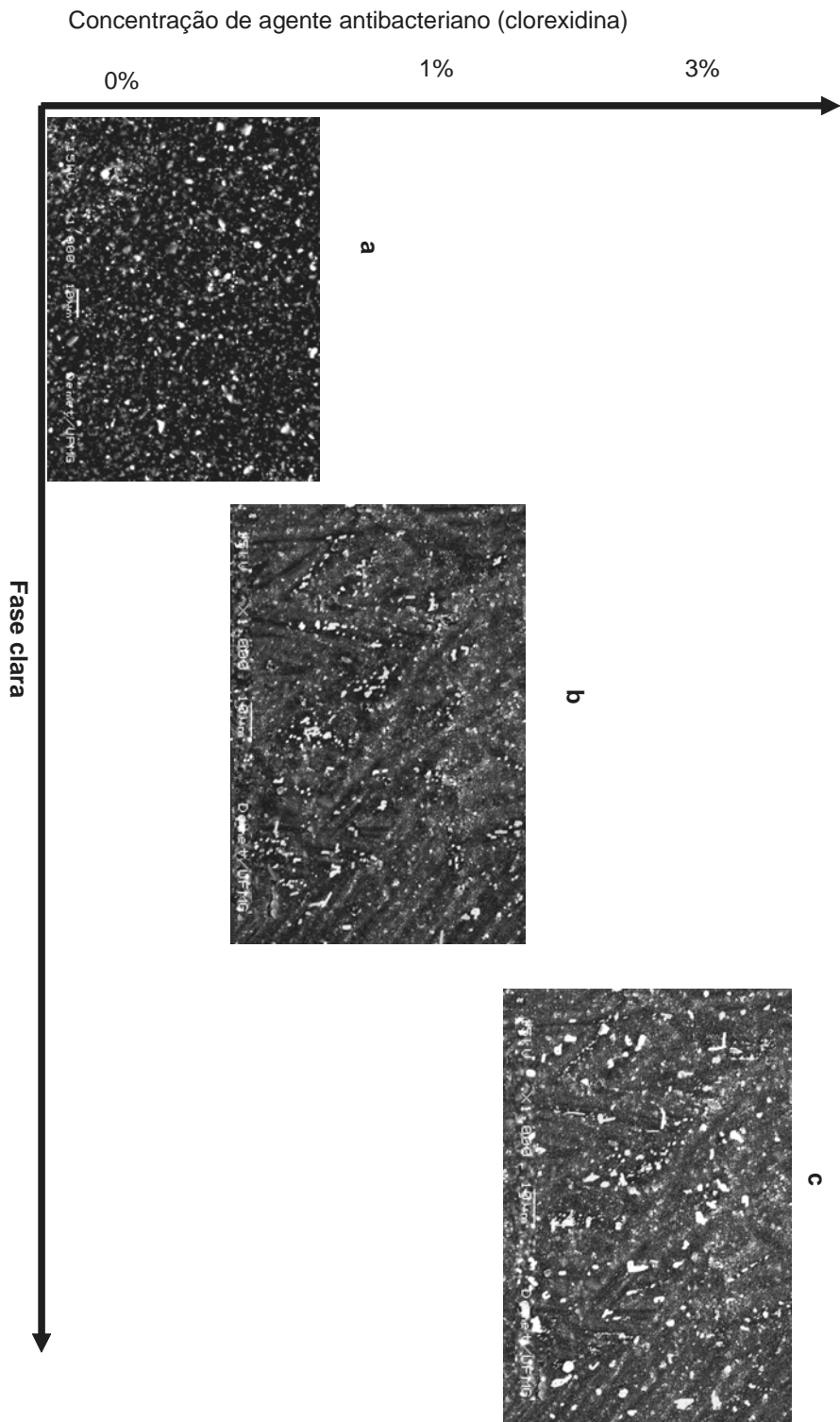


FIGURA 22 : fotomicrografias do cimento resinoso C&B® com incorporação de clorexidina nas concentrações de 0% (a), 1% (b) e 3% (c). 15 KV 1000X.

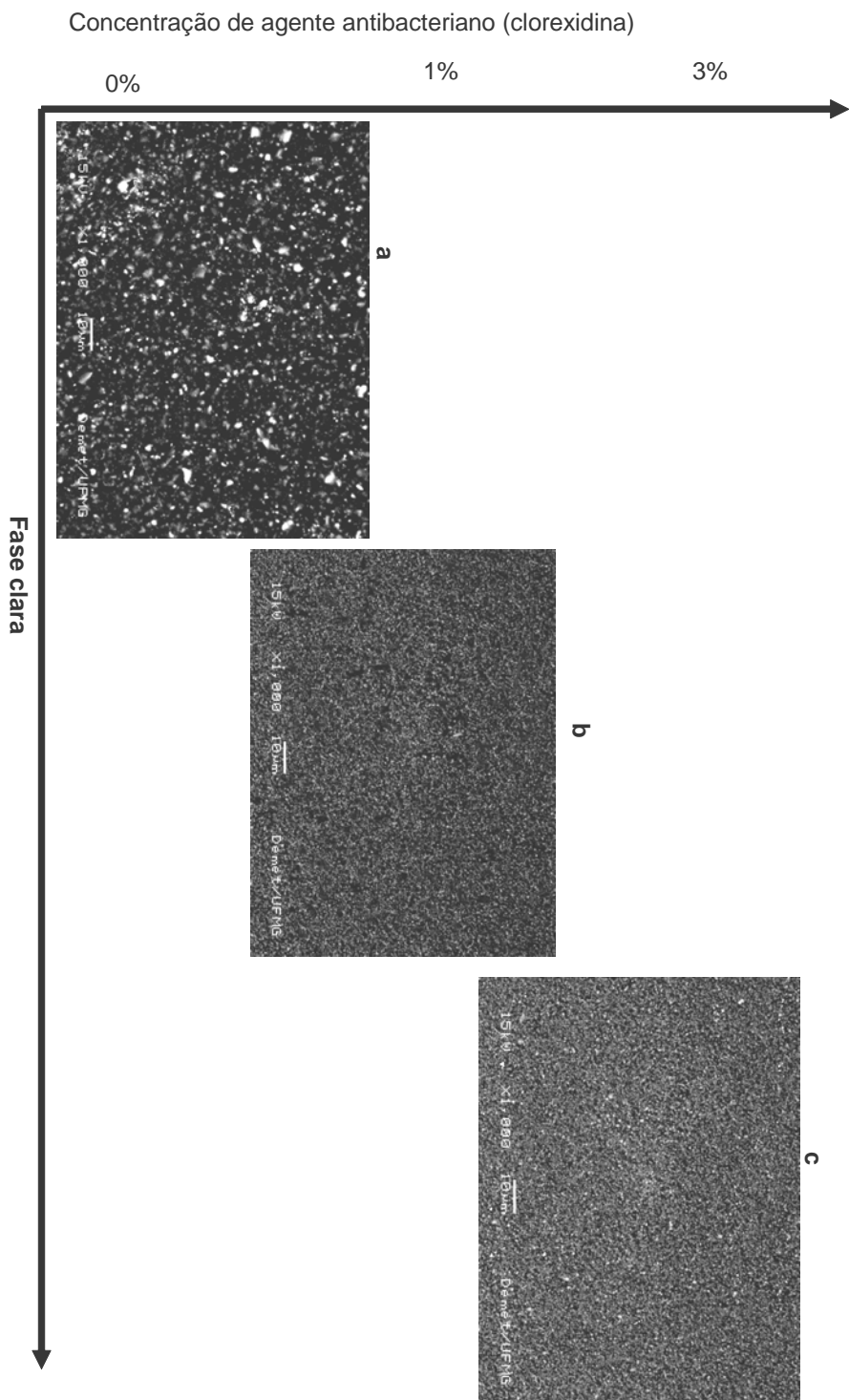
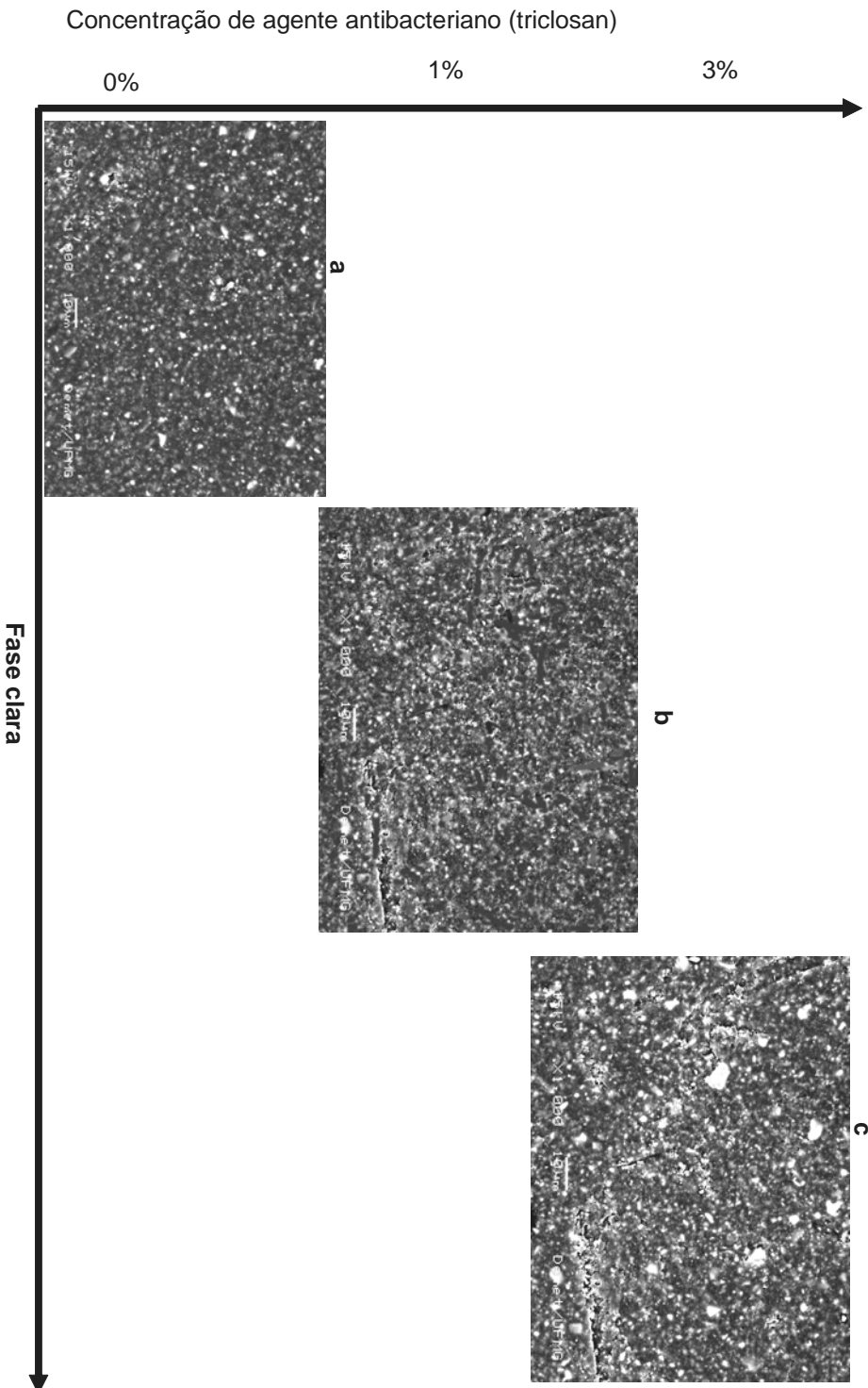


FIGURA 23: fotomicrografias do cimento resinoso Fill Magic Dual Cement® com incorporação de clorexidina nas concentrações de 0% (a), 1% (b) e 3% (c). 15 kV/ 1000X.



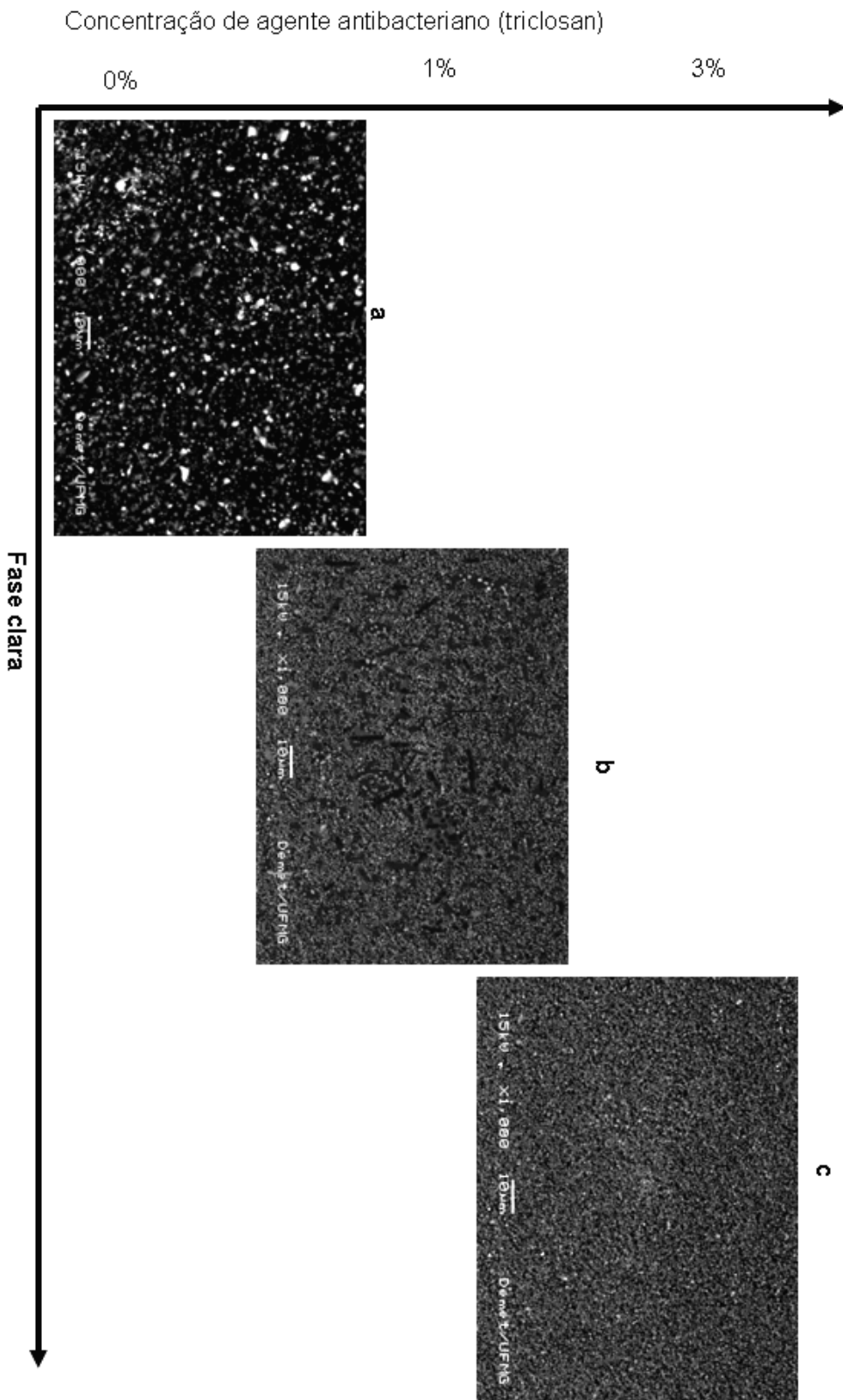


FIGURA 25: fotomicrografias do cimento resinoso Fill Magic Dual Cement® com incorporação de triclosan nas concentrações de 0% (a), 1% (b) e 3% (c). 15 kV 1000X.

5.1.2 Análise pelo MEV dos corpos de prova após tratamento térmico a 160°C

Uma preocupação da área farmacológica é a obtenção de uma homogeneidade de distribuição dos constituintes de um gel, pomada ou creme no seu volume após a sua manipulação (JEWETZ, 1994). Em nosso caso, pelo cimento resinoso se tratar de um material viscoso, semelhante a um gel, foi logicamente também a nossa preocupação que a manipulação/incorporação resultasse numa distribuição homogênea do agente antibacteriano em questão em todo o volume do cimento.

Uma maneira que encontramos para averiguar a distribuição dos agentes antibacterianos no cimento resinoso foi o tratamento térmico. Segundo análise termogravimétrica descrita por VAIDYANATHAN et al. (1992) e ACHARYA e GREENER (1972) à temperatura de 160°C, não há variação significativa na massa de componentes da resina composta de composição semelhante aos cimentos resinosos. O diacetato de clorexidina tem seu ponto de ebulição a aproximadamente 150°C e o triclosan tem seu ponto de ebulição a 64°C (BURTIS, ASWOOD, ALDRICH, J.E,1998). Levando isso em conta, se submetêssemos nossas amostras incorporadas à temperatura de 160°C por duas horas, eliminaríamos os agentes antibacterianos do cimento resinoso. Os espaços vazios que estariam preenchidos pelo triclosan e pela clorexidina ficariam vazios. As amostras então foram submetidas ao tratamento térmico segundo item 4.6.1. para a avaliação das afirmações acima.

As imagens das amostras após serem submetidas à temperatura de 160°C mostram que com a incorporação de agentes antibacterianos, surgiram espaços vazios que possivelmente seriam preenchidos pelos mesmos, antes da sua eliminação nos grupos FMTCL1%, FMTCL3%, FMCLD1%, FMCLD3%, CBTCL1%, CBTCL3%,CBCLD1% e CBCLD3% (FIGS. 26, 27, 28 e 29). As imagens sugerem uma boa distribuição do triclosan no corpo de prova sem a formação de aglomerados (AKAKI e MANSUR et al., 2004a). Nos grupos onde as concentrações são de 3% dos agentes antibacterianos FMTCL3%, FMCLD3%, CBTCL3% e CBCLD3%, houve um

maior número de espaços vazios deixados pelos agentes antibacterianos se comparado com os grupos onde a concentração foi de 1% FMTCL1%, FMCLD1%, CBTCL1% e CBCLD1% (AKAKI e MANSUR et al., 2004b). Isso sugere que o número de espaços vazios é diretamente proporcional à concentração dos agentes antibacterianos (FIGS. 26, 27, 28 e 29).

5.1.3 Quantificação de espaços vazios pelo método da malha

Após tratamento térmico (itens 4.6.1 e 4.6.2) foram realizados os procedimentos descritos no item 4.7. Foi calculada a média das três leituras realizada em cada fotomicrografia. Os resultados desta contagem divididos pelos grupos analisados estão descritos na TAB.5.

Os resultados obtidos para a média de espaços vazios foram analisados por métodos estatísticos. Comparações entre as médias foram feitas utilizando a análise de variância (ANOVA) e o teste-t, ambos com nível de significância (α) em 5%.

Através deste método, pudemos comprovar estatisticamente (ANOVA) que houve diferença significativa entre as concentrações de 1 e 3% do mesmo agente antibacteriano e mesma marca comercial do cimento resinoso (ANEXO C - $p=0,0$).

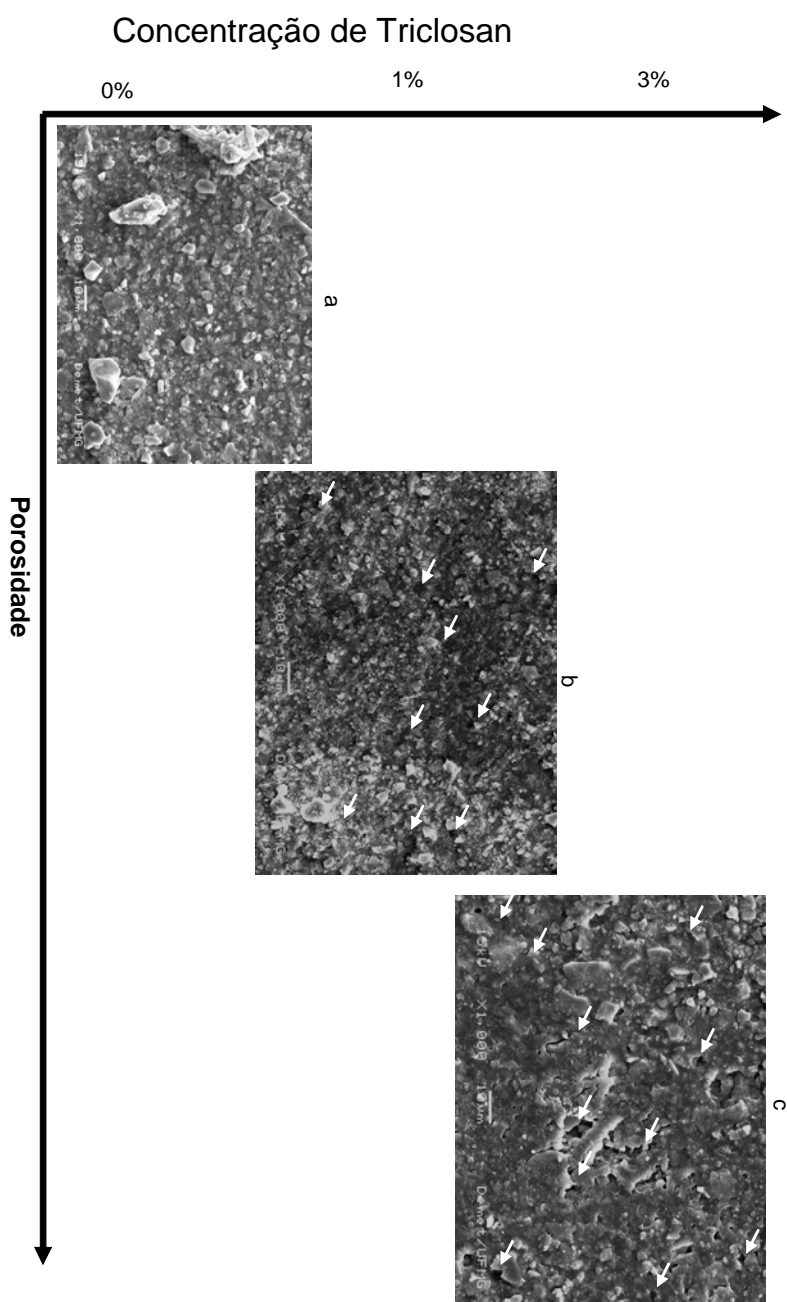
Entre os grupos de mesma marca comercial e mesmo agente antibacteriano também houve diferença significativa: CBTCL1% e CBTCL3% (teste-t, $p<0,05$); CBCLD1% e CBCLD3% (teste-t, $p<0,05$); FMTCL1% e FMTCL3% (teste-t, $p<0,05$) e FMCLD1% e FMCLD3% (teste-t, $p<0,05$). Segundo VAIDYANATHAN et al. (1992) e ACHARYA e GREENER (1972) à temperatura de 160°C não há perda de massa significativa de componentes da resina composta que têm composição semelhante aos cimentos resinosos. É possível que haja uma perda mínima de massa entre 110 e 180°C devido a perda de componentes voláteis dos cimentos resinosos (LEE e UM, 2001). As imagens mostram que os espaços vazios aumentam com a concentração dos

agentes antibacterianos (FIGS. 26, 27, 28 e 29). O grande responsável pelo aumento dos espaços vazios deve ser devido à perda dos agentes antibacterianos já que o ponto de ebulição dos mesmos é de 150°C para o diacetato de clorexidina e o triclosan a 64°C (BURTIS, ASWOOD, ALDRICH, 1998). Podemos afirmar que o número de espaços vazios é diretamente proporcional à concentração dos agentes antibacterianos.

TABELA 5

Média de espaços vazios (/20 μm^2) nas fotomicrografias após tratamento térmico a 160°C por duas horas (n=3)

Grupos	Número de espaços vazios (/20 μm^2) (dp)
CB	1,3 ($\pm 0,8$)
CBTCL1%	14,3 ($\pm 3,9$)
CBTCL3%	36,0 ($\pm 5,8$)
CBCLD1%	14,6 ($\pm 3,4$)
CBCLD3%	36,6 ($\pm 5,0$)
FM	1,0 ($\pm 0,5$)
FMTCL1%	14,3 ($\pm 3,4$)
FMTCL3%	36,6 ($\pm 3,9$)
FMCLD1%	15,3 ($\pm 4,0$)
FMCLD3%	33,2 ($\pm 4,2$)



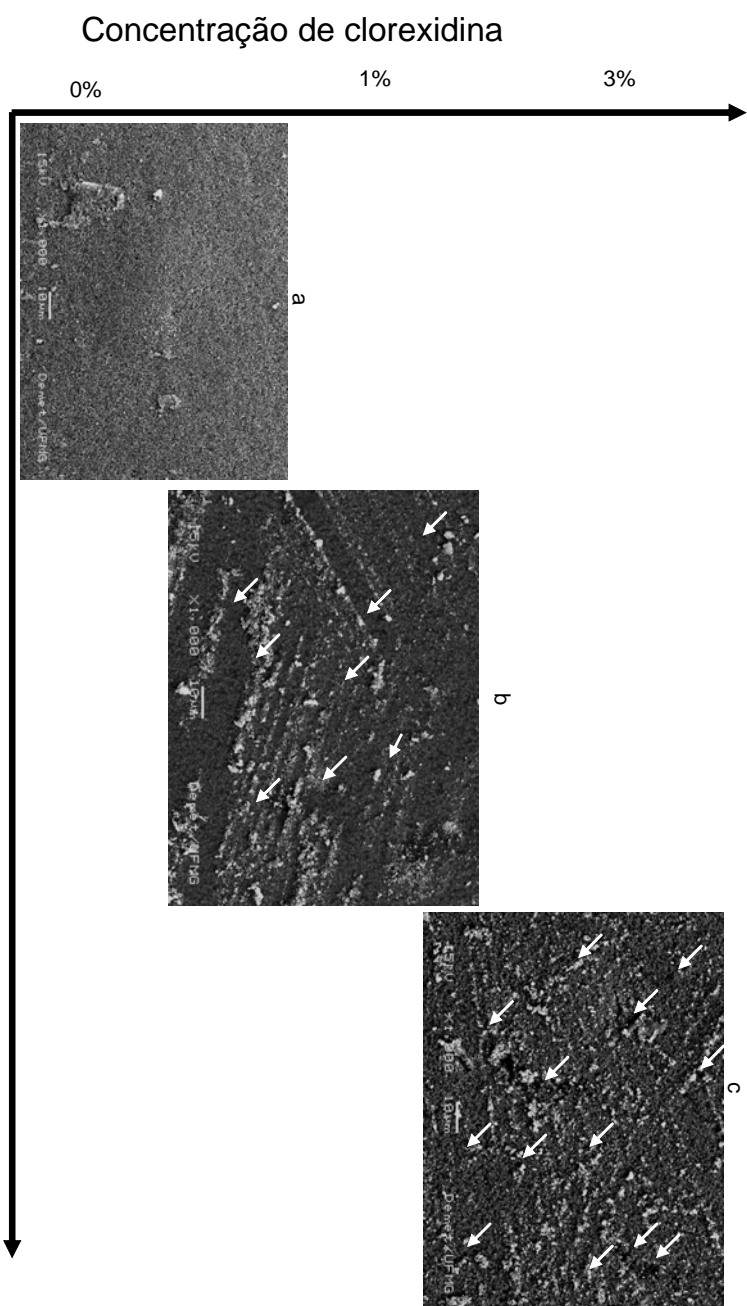


FIGURA 28: fotomicrografias do cimento Fill Magic Dual Cement® + 0% (a), 1% (b) e 3% (c) de clorexidina submetido a temperatura de 160 °C. 15 KV 1000X.

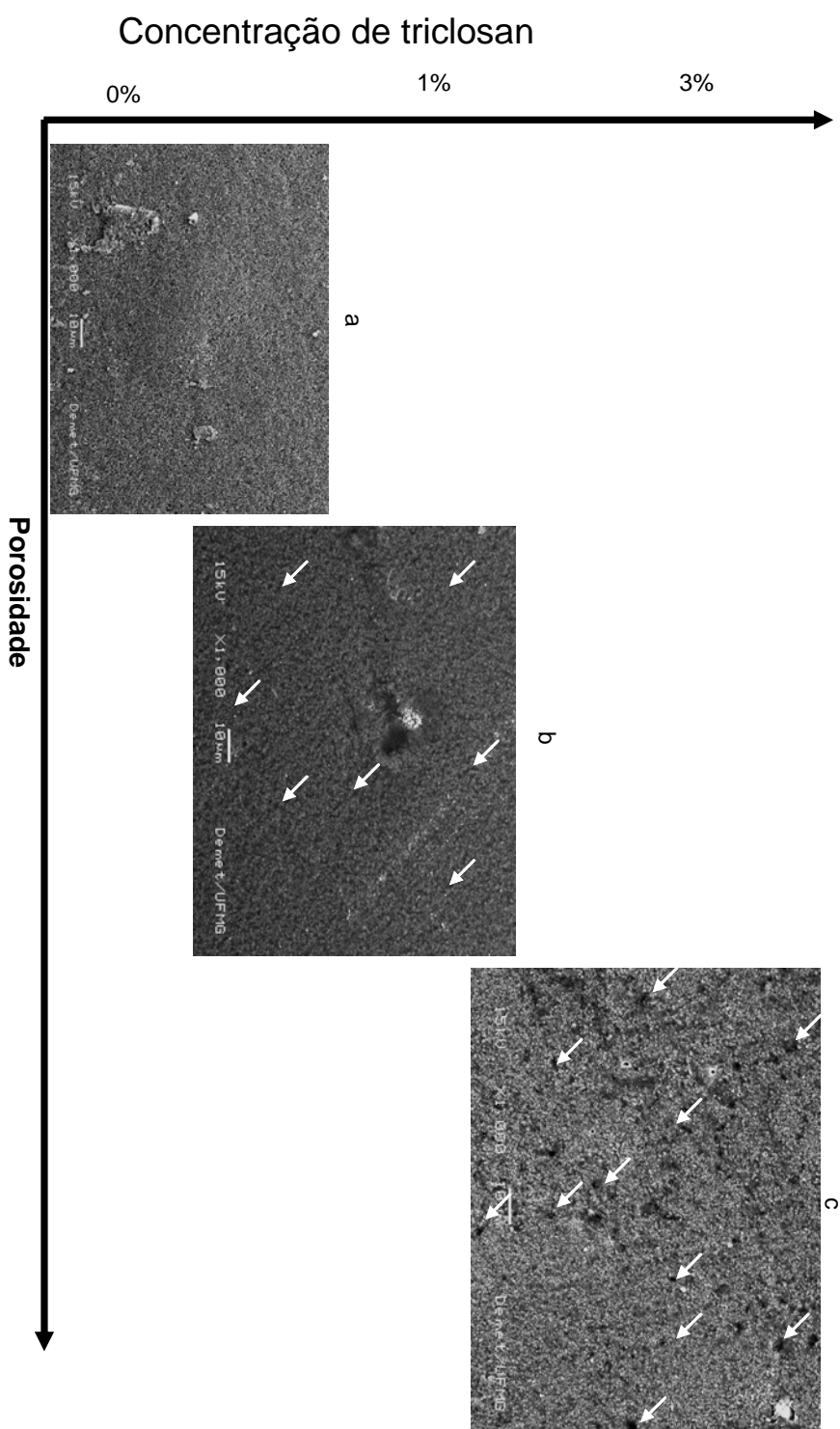


FIGURA 29: fotomicrografias do cimento Fill Magic Dual Cement® + 0% (a), 1% (b) e 3% (c) de triclosan submetido a temperatura de 160 °C. 15 kV 1000X.

5.1.4 Análise pelo MEV dos corpos de prova após tratamento térmico a 750°C

As amostras de todos os grupos foram analisadas após tratamento térmico como descrito no capítulo anterior (4.6.2). Após este processo, em que toda a matriz orgânica foi eliminada (LEE e UM, 2001; REGES et al., 2002), visualizou-se, através do MEV, os constituintes inorgânicos do cimento resinoso. Podemos observar que o cimento resinoso C&B[®] possui partículas maiores pela possibilidade de serem visualizadas com nitidez no aumento de 1000x (FIG. 30). Já as partículas inorgânicas do cimento resinoso Fill Magic Dual Cement[®] são constituídas de partículas inorgânicas bem menores já que só foram possíveis de serem observadas com nitidez no aumento de 5000x (FIG.31). Nenhum dos fabricantes dos cimentos resinosos informa sobre o tamanho das partículas inorgânicas presentes na composição dos cimentos resinosos. O tamanho de partículas pode influenciar nas propriedades mecânicas de um cimento resinoso (ANUSAVICE, 1998). Segundo REGES et al. (2002) o conteúdo de partículas inorgânicas pode nos dar estimativas sobre as propriedades mecânicas, mas que estas propriedades também estão relacionadas à composição da fase orgânica. É importante destacar que o conteúdo de carga inorgânico possui um valor significativo no entendimento sobre os compósitos, e quando associado a outros fatores como forma, tamanho, composição química e distribuição das partículas, facilitará o estudo das propriedades físicas e mecânicas dos materiais restauradores e cimentos resinosos, tais como resistência ao desgaste e dureza (JAARDA, 1983; PALLAV, et al., 1989). O percentual peso/peso de partículas inorgânicas nos cimentos resinosos pode variar de 18 a 87% (LEE e UM, 2001). O conhecimento de informações sobre o conteúdo de partículas da resina composta e do cimento resinoso é de suma importância no momento de selecionar adequadamente o material de acordo com a sua indicação clínica (REGES et al., 2002). A influência da incorporação de agentes antimicrobianos aos cimentos resinosos nas suas propriedades físicas e mecânicas deve ser avaliado em estudos posteriores. Uma destas propriedades, a microdureza, é

abordada no item 5.7. As informações do conteúdo de partículas inorgânicas nas duas marcas comerciais de cimentos resinosos avaliados neste estudo (TAB.9) servirão de subsídios para futuros estudos.

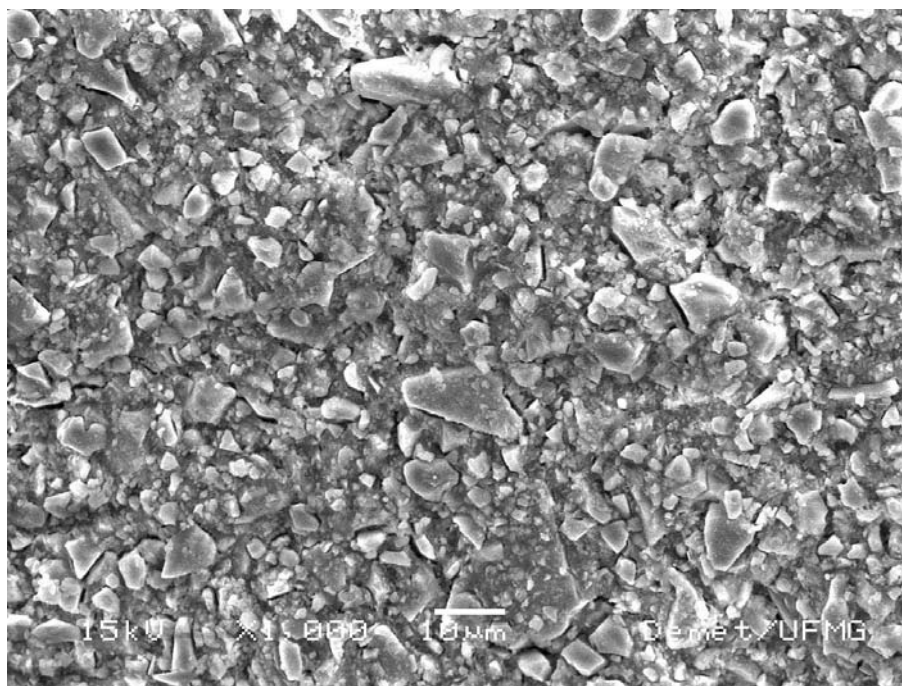


FIGURA 30: Fotomicrografia do cimento resinoso C&B[®] após sofrer tratamento térmico a 750°C por duas horas. 1000X 15 kv.

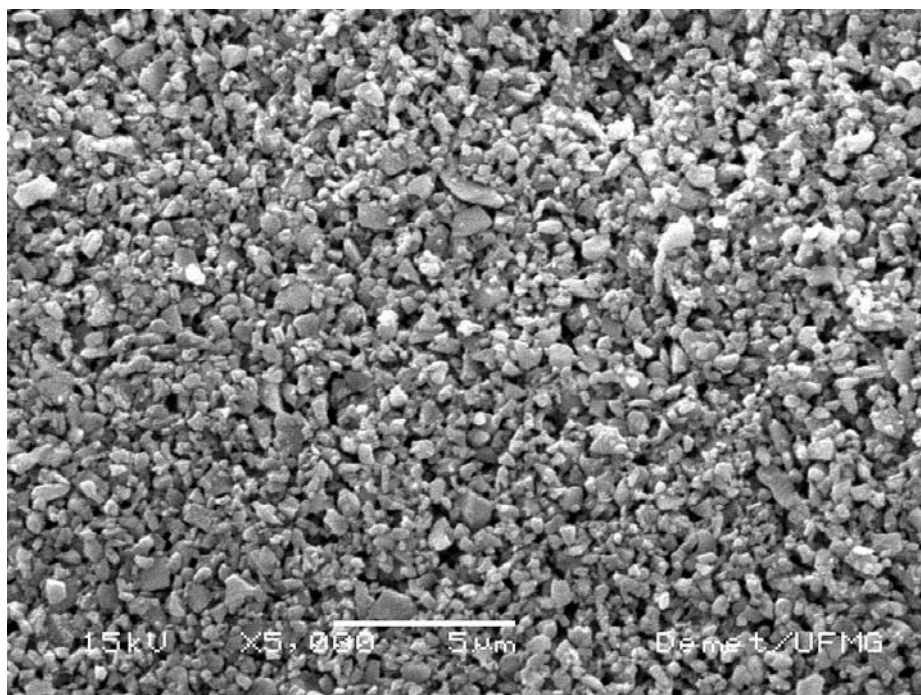


FIGURA 31: Fotomicrografia do cimento Fill Magic[®] após sofrer tratamento térmico a 750°C por duas horas. 5000x 15 kv.

5.2 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA

Previamente aos tratamentos térmicos (itens 4.6.1 e 4.6.2) os três corpos de prova de cada grupo foram pesados em balança analítica Quimis[®] (leitura 1). Após os procedimentos descritos no item 4.6.2, onde houve a eliminação dos agentes antimicrobianos (160°C) e eliminação da fase orgânica (750°C) dos cimentos resinosos respectivamente, foram realizadas as pesagens dos corpos de prova. A leitura 2 foi realizada após o tratamento térmico a 160°C, a leitura 3 foi realizada a 370°C e a leitura 4 após o tratamento térmico a 750°C. A média dos valores das leituras 1, 2, 3 e 4 obtidas dos três corpos de prova estão descritos na TAB. 8. Ao se comparar os valores antes e depois do tratamento térmico a 750°C (leituras 1 e 4), foi obtido o percentual da fase inorgânica peso/peso das duas marcas comerciais do cimento resinoso.

Segundo VAIDYANATHAN (1992), a decomposição, sob elevação de temperatura, de várias marcas comerciais de resina composta (Herculite[®], Durafill[®] e Heliomolar[®]) teve seu início entre 387°C e 465°C, com a taxa máxima de decomposição a 438°C em média. Para o autor, a perda de massa em função da elevação da temperatura ocorre a partir de 387°C. A diferença nas temperaturas de decomposição das duas marcas comerciais se deve, segundo o autor, às distintas configurações das moléculas de bisGMA. O estudo de LEE e UM (2001) afirma que a decomposição térmica dos cimentos resinosos ocorre entre 300°C e 480°C.

Ao submeter a matriz orgânica das resinas compostas a temperatura de 700°C por duas horas, a uma taxa de aquecimento de 9,5°C/min., espera-se que haja resíduos de no máximo 0,2% do peso original. A maior perda de massa ocorre em média a 400°C (ACHARYA e GREENER, 1972).

O tratamento térmico realizado no item 4.6.1 a 160°C por duas horas tem como conseqüência perda insignificante de massa do cimento resinoso nos grupos FM e CB (TAB. 6 e 7), o que está de acordo com os resultados da

literatura (VAIDYANATHAN et al. ,1992 e ACHARYA e GREENER, 1972) . As variações na massa (g) em função da temperatura do tratamento térmico nos grupos analisados estão demonstrados no GRAF.1 e GRAF.2. Podemos observar uma pequena variação de massa à temperatura de 160°C devido a eliminação dos agentes antimicrobianos nos grupos FMTCL1%, FMTCL3%, FMCLD1%, FMCLD3%, CBTCL1%, CBTCL3%, CBCLD1% e CBCLD3%. Neste intervalo de temperatura, a variação de massa foi diretamente proporcional à concentração dos agentes antimicrobianos (TAB.9). Os valores de perda de massa (g) nos grupos FMTCL1%, FMTCL3%, FMCLD1%, FMCLD3%, CBTCL1%, CBTCL3%, CBCLD1% e CBCLD3% correspondem aproximadamente à massa de antimicrobiano em peso adicionado aos cimentos resinosos nas respectivas porcentagens em peso (TAB.7). Segundo LEE e UM (2001), uma perda insignificante de massa, entre 110 e 180°C, pode ocorrer em função da eliminação de componentes voláteis dos cimentos resinosos. Isso pode ter contribuído para a pequena variação na porcentagem (peso/peso) encontrada nos grupos. A partir da temperatura de 370°C, observa-se uma perda maior de massa que corresponde à eliminação de elementos orgânicos o que está de acordo com os estudos de VAIDYANATHAN (1992); ACHARYA e GREENER (1972) e LEE e UM (2001). A temperatura de 750°C, a massa corresponde quase que praticamente aos elementos inorgânicos constituintes dos cimentos resinosos (TAB.8).

Segundo as análises dos GRAF.1 e 2, a perda de massa em todos os grupos ocorreu mais significativamente após a temperatura de 370°C o que está de acordo com os estudos de ACHARYA e GREENER (1972) , VAIDYANATHAN (1992) e LEE e UM (2001).

TABELA 6

Média de massa (dp) dos corpos a 22°C (leitura 1), a 160°C (leitura 2), a 370°C (leitura 3) e a 750°C (leitura 4) n=5.

Grupos	Leitura 1 (g)	Leitura 2 (g)	Leitura 3 (g)	Leitura 4 (g)
FM	0,4547 ($\pm 0,0088$)	0,4545 ($\pm 0,0087$)	0,3635 ($\pm 0,0075$)	0,2686 ($\pm 0,0039$)
FMTCL1%	0,4548 ($\pm 0,0030$)	0,4506 ($\pm 0,0035$)	0,3587 ($\pm 0,0012$)	0,2653 ($\pm 0,0025$)
FMTCL3%	0,4548 ($\pm 0,0040$)	0,4409 ($\pm 0,0045$)	0,3485 ($\pm 0,0032$)	0,2557 ($\pm 0,0021$)
FMCLD1%	0,4539 ($\pm 0,0031$)	0,4492 ($\pm 0,0028$)	0,3572 ($\pm 0,0034$)	0,2654 ($\pm 0,0012$)
FMCLD3%	0,4528 ($\pm 0,0022$)	0,4382 ($\pm 0,0019$)	0,3488 ($\pm 0,0024$)	0,2531 ($\pm 0,0009$)
CB	0,5234 ($\pm 0,0020$)	0,5229 ($\pm 0,0023$)	0,3929 ($\pm 0,0027$)	0,3105 ($\pm 0,0015$)
CBTCL1%	0,5262 ($\pm 0,0050$)	0,5217 ($\pm 0,0047$)	0,3995 ($\pm 0,0020$)	0,3060 ($\pm 0,0034$)
CBTCL3%	0,5223 ($\pm 0,0018$)	0,5028 ($\pm 0,0029$)	0,3761 ($\pm 0,0012$)	0,2956 ($\pm 0,0016$)
CBCLD1%	0,5236 ($\pm 0,0031$)	0,5183 ($\pm 0,0025$)	0,3852 ($\pm 0,0022$)	0,3072 ($\pm 0,0008$)
CBCLD3%	0,5210 ($\pm 0,0018$)	0,4998 ($\pm 0,0053$)	0,3729 ($\pm 0,0009$)	0,2967 ($\pm 0,0017$)

Os resultados obtidos para a análise termogravimétrica (TAB. 6) foram analisados por métodos estatísticos. Comparações entre as médias foram feitas utilizando a análise de variância (ANOVA) e o teste-t, ambos com nível de significância (α) em 5%.

TABELA 7

Perda de massa em porcentagem entre leitura 1 e leitura 2, após tratamento térmico a 160°C.

Grupos	Perda de massa em % (leitura 1 – leitura 2)
FM	0
FMTCL1%	0,92
FMTCL3%	3,05
FMCLD1%	1,03
FMCLD3%	3,22
CB	0,01
CBTCL1%	0,86
CBTCL3%	3,73
CBCLD1%	1,0
CBCLD3%	4,07

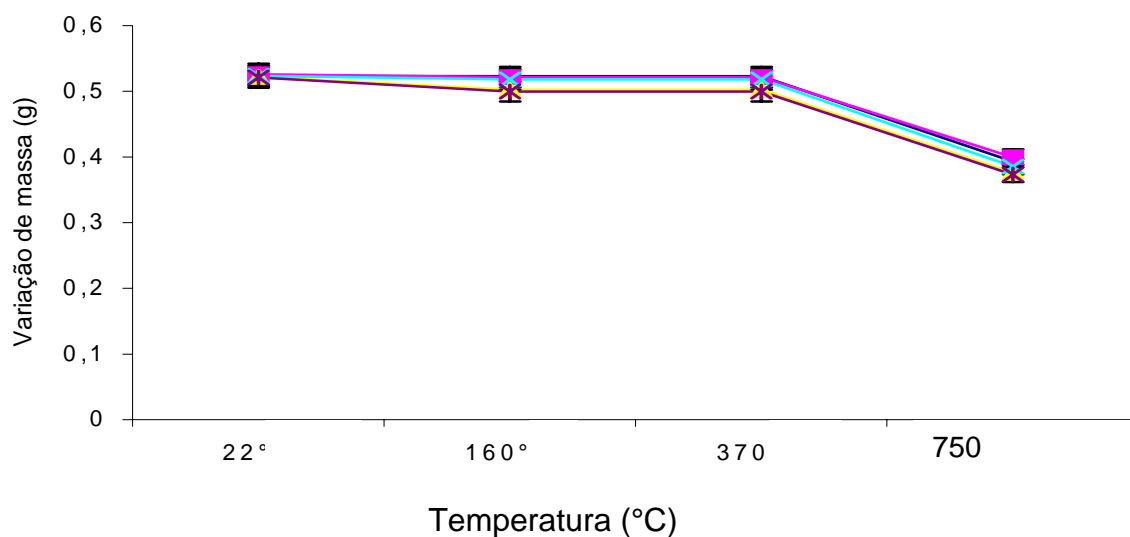


GRÁFICO 1: Variação na massa dos corpos (g) de prova em função do tratamento térmico aplicado para o cimento resinoso C&B®.

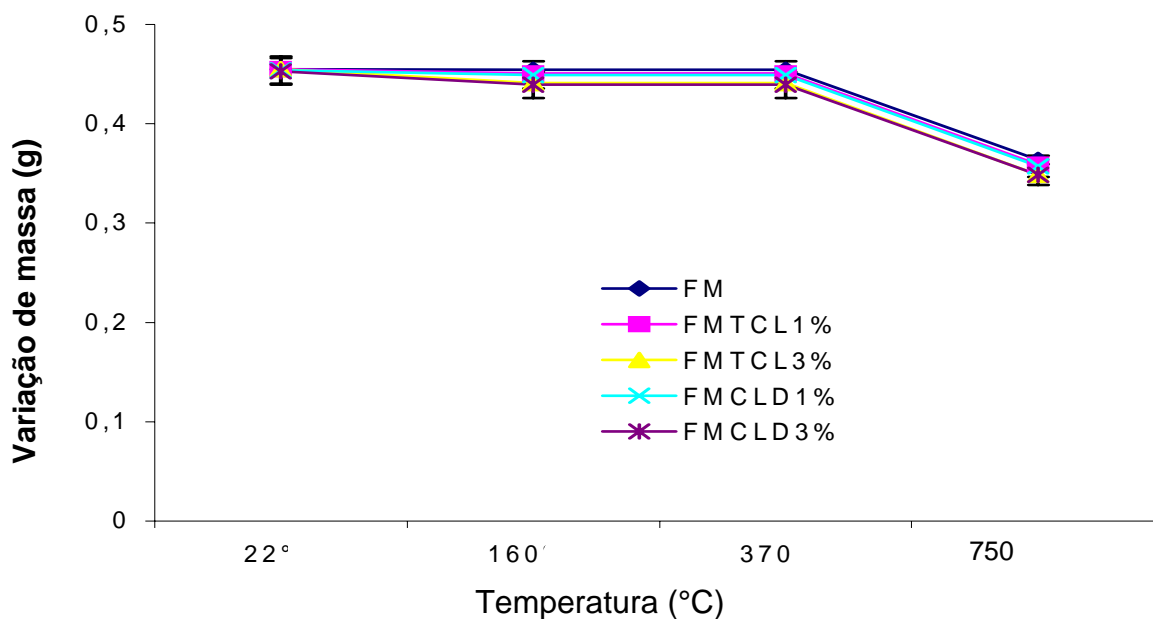


GRÁFICO 2: Variação na massa dos corpos (g) de prova em função do tratamento térmico aplicado para o cimento resinoso Fill Magic Dual Cement®.

Os resultados descritos na TAB.6 descrevem a variação de massa decorrente do tratamento térmico realizado. Comparando-se os resultados das leituras 1 e 2 dos grupos FM e CB pode-se notar uma variação de massa insignificante (teste-t, $p > 0,05$) o que esta de acordo com os estudos de LEE e UM (2001). Ao se comparar as leituras 1 e 2 dos grupos onde houve incorporação de agentes antibacterianos (FMTCL1%, FMTCL3%, FMCLD1%, FMCLD3%, CBTCL1%, CBTCL3%, CBCLD1% e CBCLD3%) pode-se notar que houve uma perda de massa, após o tratamento térmico a 160°C, que corresponde aproximadamente à massa dos agentes antimicrobianos incorporados nas concentrações de 1% e 3% (TAB.7). Isso vem confirmar que o procedimento do tratamento térmico realizado foi eficaz na eliminação seletiva do agente antibacteriano sem, contudo eliminar constituintes do cimento resinoso. A esta temperatura não há variação de massa das resinas compostas que têm composição semelhante aos cimentos resinosos (VAIDYANATHAN et al., 1992; ACHARYA e GREENER, 1972). Uma pequena variação percentual de massa pode ser verificada na TAB.7. Isso pode ser explicado pela eliminação de componentes mais voláteis do cimento resinoso.

Comparando-se as leituras 1 e 4, podemos notar a variação da massa após o tratamento térmico a 750°C onde houve a eliminação da fase orgânica dos cimentos resinosos (REGES et al. 2002). O percentual massa/massa da carga inorgânica dos cimentos resinosos obtidos neste experimento confirma os dados técnicos fornecidos pelos próprios fabricantes dos cimentos resinosos.

TABELA 8

Porcentual de carga inorgânica p/p dos cimentos resinosos				
Marca Comercial	Grupo	Porcentual p/p	dp	Dados do fabricante (%p/p)
Fill Magic Dual Cemen [®]	FM	40,5	0,5	Não fornecido
C & B [®]	CB	40,4	0,8	15-40

5.3 ANÁLISE DE ESPECTROSCOPIA DE ENERGIA DISPERSIVA – EDS

As análises pelo EDS foram realizadas no aparelho JEOL JSM 6360 pertencente ao Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais da UFMG.

Com o objetivo de analisar a distribuição do agente antibacteriano, foram realizadas análises no EDS em diferentes regiões das amostras. A detecção da presença do triclosan e da clorexidina se deu pelo cloro, constituinte exclusivo destes agentes antibacterianos neste sistema. Os espectros demonstram a presença do elemento cloro em diferentes áreas analisadas das amostras com a incorporação (FIGS. 33 e 34). Os espectros das amostras sem a incorporação dos agentes antibacterianos demonstraram a ausência do elemento cloro (FIG.32).

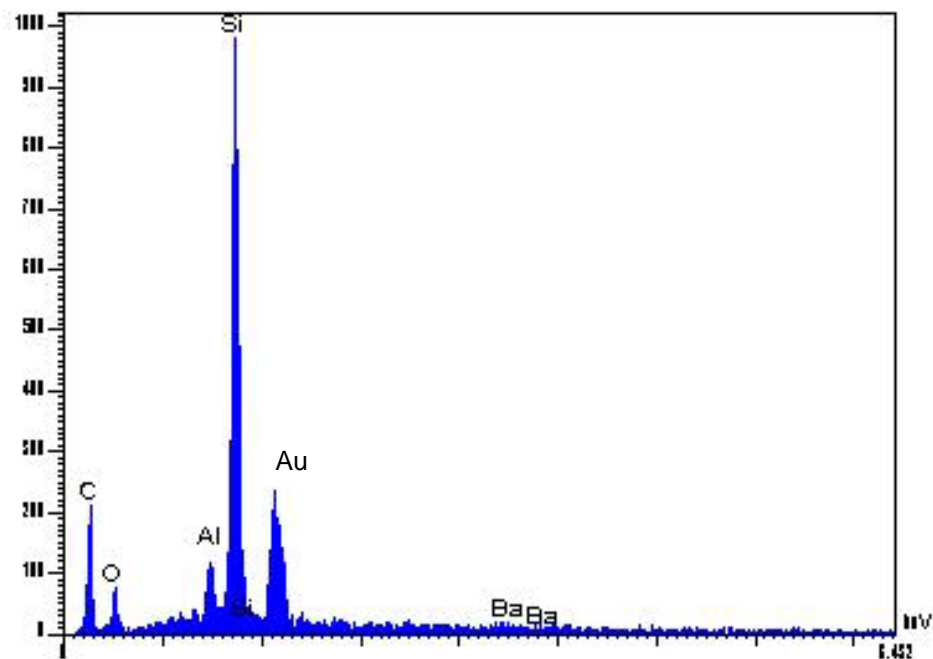


FIGURA 32: Espectro do cimento C&B[®] (CB) sem incorporação.

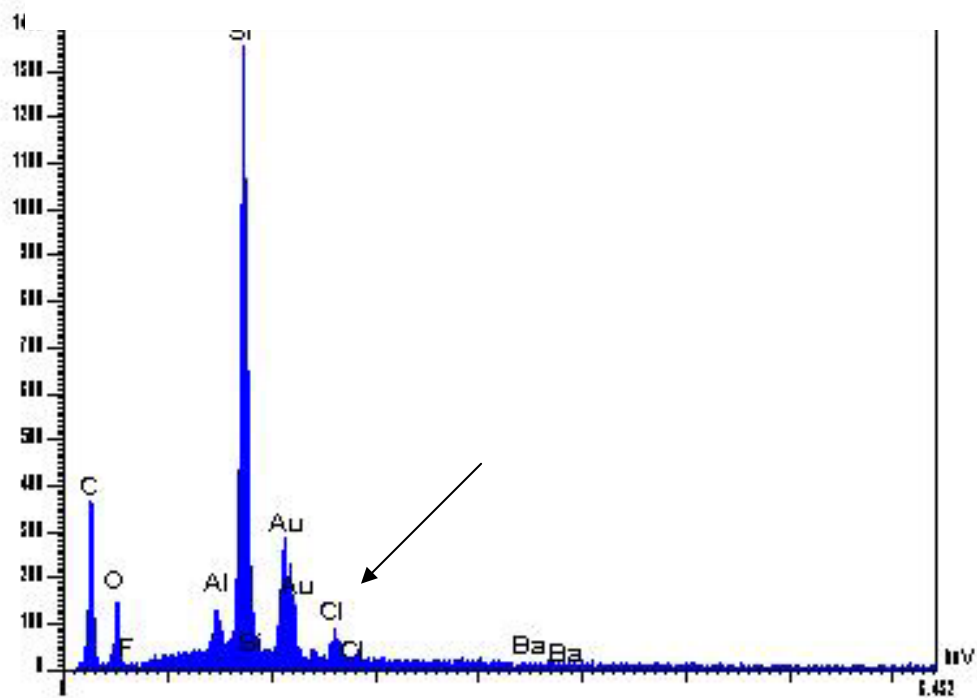


FIGURA 33: Espectro do cimento C&B[®] com incorporação de 3% de triclosan (CBTCL3%). Notar a presença do cloro (seta)

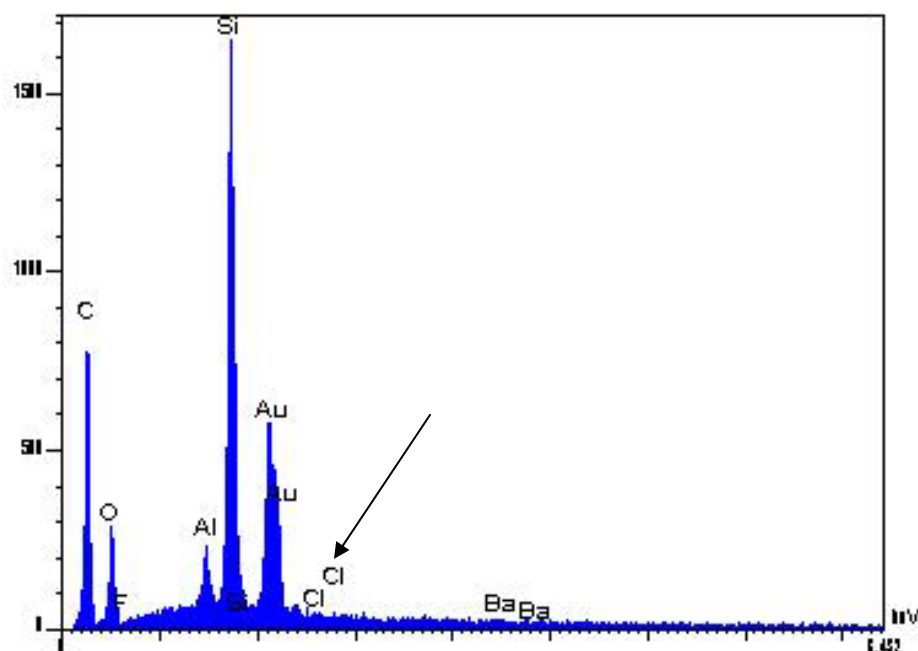


FIGURA 34: Espectro do cimento C&B[®] com incorporação de 3% de clorexidina (CBCLD3%). Notar a presença do cloro (seta)

5.3.1 Análise EDS após tratamento térmico a 750°C

Nas FIGURAS 35 e 36 estão os espectros EDS das amostras após serem submetidas à temperatura de 750°C por 120 minutos (item 4.6.2). Podemos notar ausência ou uma diminuição drástica da presença do carbono que caracteriza a eliminação da fase orgânica deste sistema. Os espectros das amostras (FIG.35 e 36) vêm a confirmar que os procedimentos descritos no item 4.6.2 (Tratamento térmico a 750°C) foram satisfatórios e estão de acordo com os resultados de ACHARYA e GREENER, 1972; VAIDYANATHAN et al., 1992 e REGES et al. 2002.

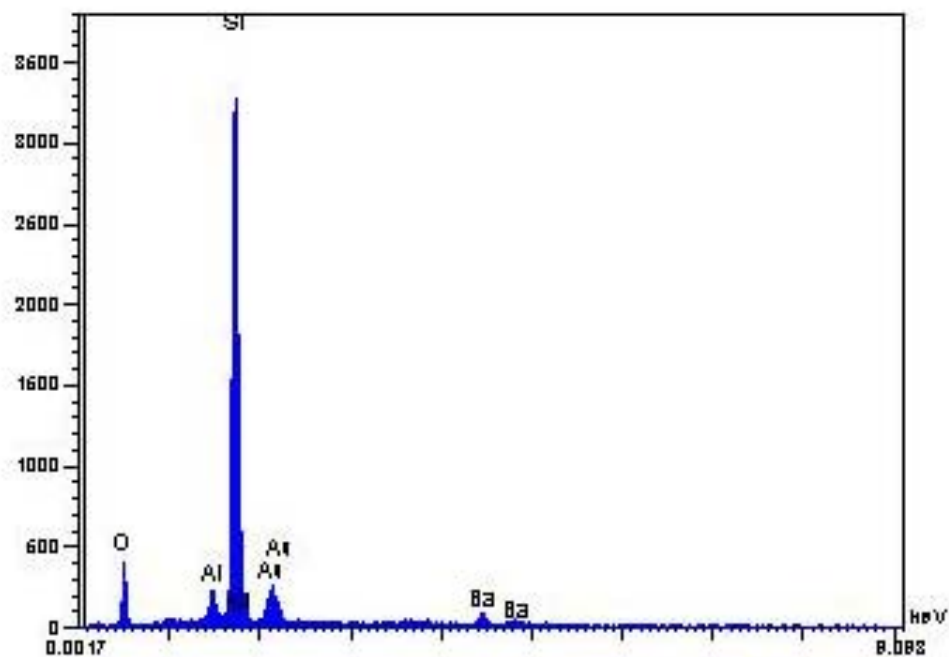


FIGURA 35: Espectro do cimento C&B[®] após a eliminação, por tratamento térmico, da fase orgânica.

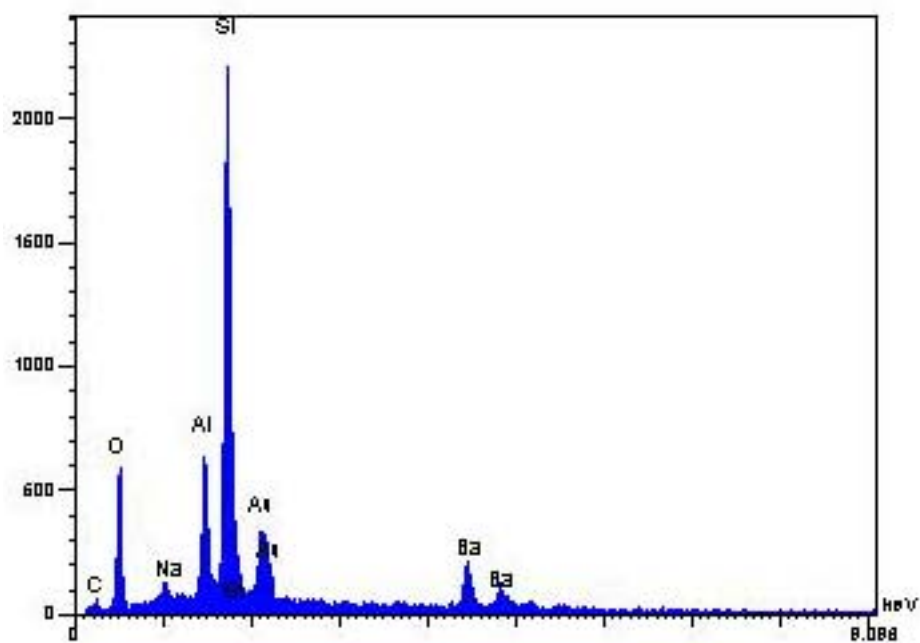


FIGURA 36: Espectro do cimento Fill Magic[®] após a eliminação, por tratamento térmico, da fase orgânica.

5.3.2 Análise EDS após tratamento térmico a 160°C

Abaixo estão o espectro EDS da amostra (FIG.37) após ser submetidas à temperatura de 160°C por 120 minutos (item 4.6.1). Podemos notar ausência do elemento cloro que foi eliminado juntamente com os agentes antibacterianos após sofrerem o tratamento térmico (AKAKI, E., MANSUR, H.S. et al., 2004c).

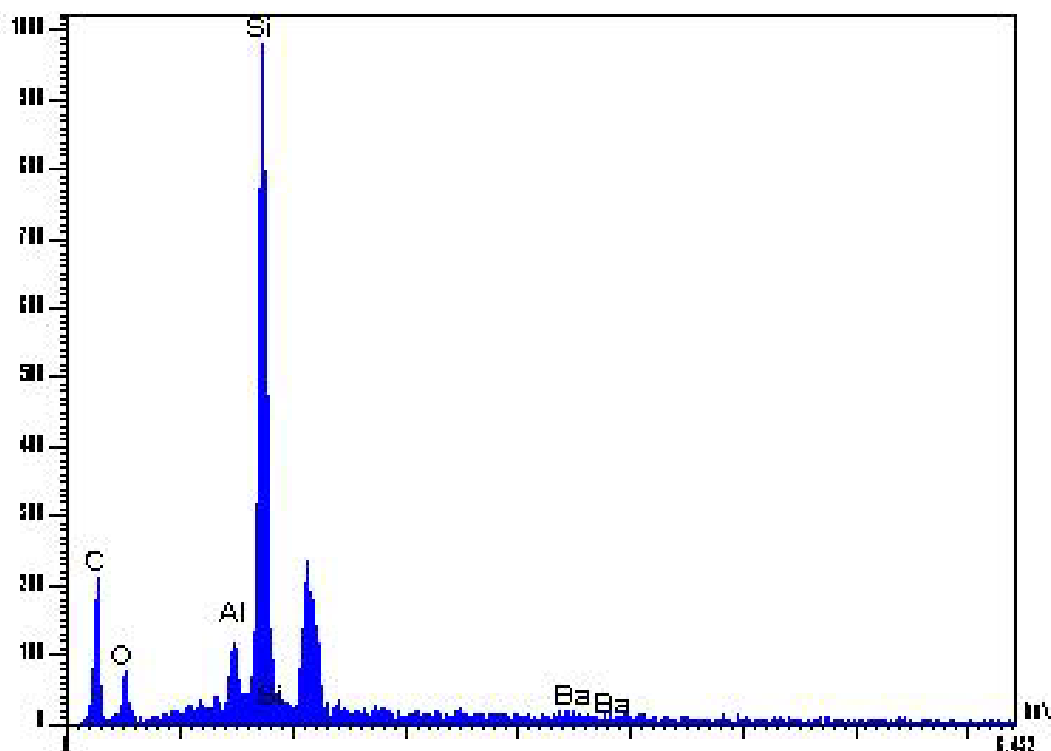


FIGURA 37: Espectro do cimento C&B[®] (CBTCL3%) após sofrer tratamento térmico a 160°C por duas horas.

5.4 ESPECTROMETRIA NO INFRAVERMELHO

As análises no infravermelho foram realizadas no aparelho de Espectrometria no Infravermelho de Transformadas de Fourier - FTIR, Spectrum One - Perkin Elmer Instruments®), pertencente ao laboratório de análises do Centro Universitário Newton Paiva.

5.4.1 Espectros das amostras

O espectro obtido no infravermelho foi característico dos cimentos resinosos (FIG. 40), C&B® e Fill Magic Dual Cement®, cujos principais componentes são o bis-GMA e o TEGDMA (FIGS.38 e 39). Pode-se observar as bandas de absorção correspondentes dos seus principais grupos funcionais. Os cimentos resinosos possuem absorções para os principais grupos funcionais listados na TAB.9.

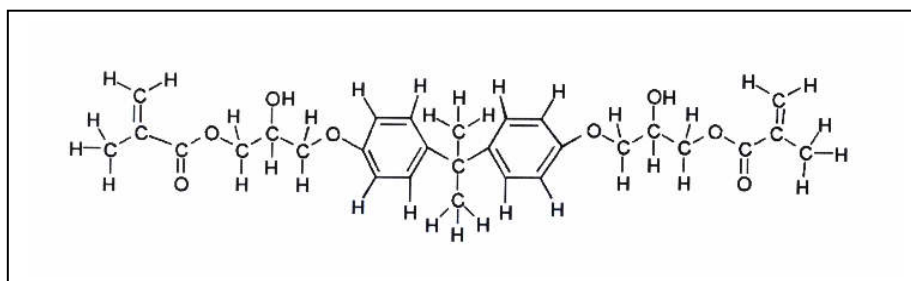


FIGURA 38: Estrutura química do bis-GMA (ANUSAVICE, 1998).

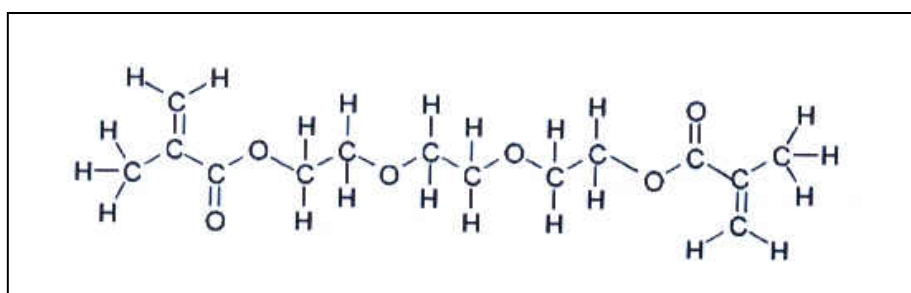



FIGURA 39: Estrutura química do TEGDMA (ANUSAVICE, 1998).

TABELA 9

Bandas de absorção dos principais grupos funcionais dos cimentos resinosos

Grupos	Número de onda cm^{-1}
CH	2962-2850
CH ₂	1485-1445
CH ₃	1470-1430
C=C	1660-1570
C=O	1818-1720
C-O	1100-1010
CH - 	830-805

FONTE: SILVERSTEIN, 1994; MOFFAT, 1986

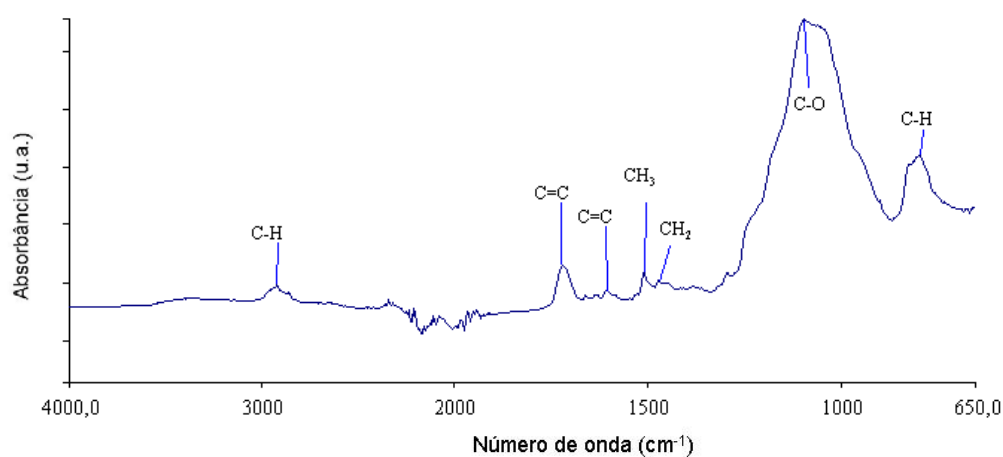


FIGURA 40: Espectro infravermelho do cimento resinoso C&B[®] sem incorporação de agente antibacteriano. As principais bandas de absorção dos grupos funcionais estão indicadas.

Os espectros no FTIR da Clorexidina e Triclosan (FIG. 42 e 44), mostram as bandas de absorção correspondentes dos seus principais grupos

funcionais (FIG. 41 e 43). O triclosan e a clorexidina possuem absorções para os principais grupos funcionais listados na TAB. 10 e 11.

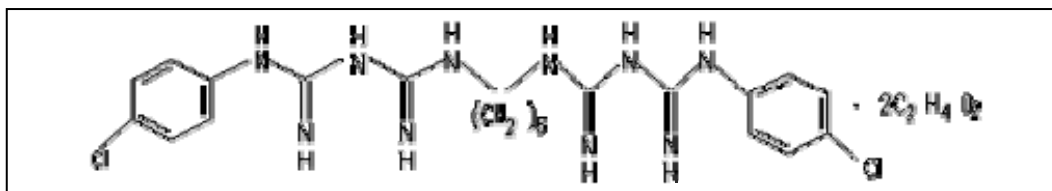




FIGURA 41: Estrutura química do acetato de clorexidina.

TABELA 10

Bandas de absorção dos principais grupos funcionais da clorexidina

Grupos	Número de onda cm^{-1}
N-H iminas	3400-3300
CH	2962-2850
N-H amina	1650-1550
CH ₂	1485-1445
Cl- 	1096-1089
CH- 	830-805

FONTE: SILVERSTEIN, 1994; MOFFAT, 1986

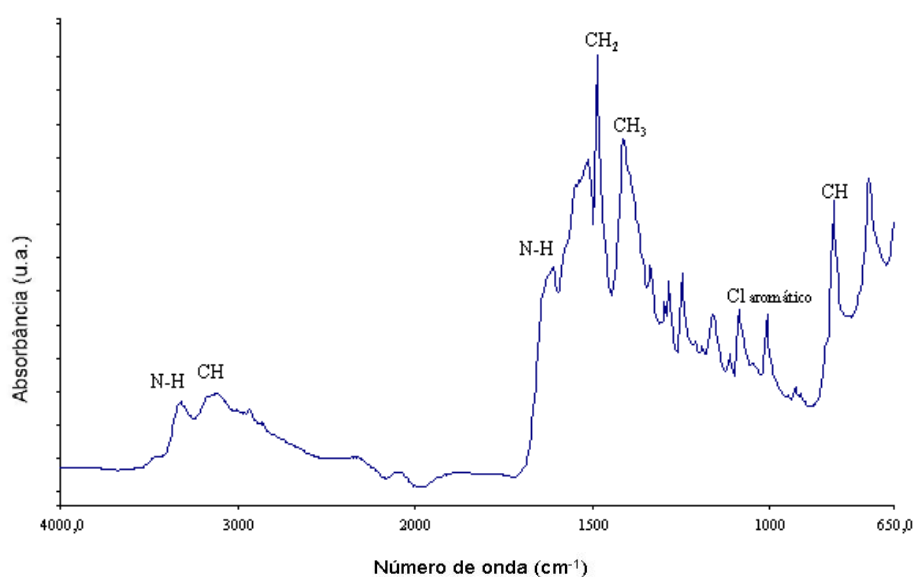


FIGURA 42: Espectro infravermelho da clorexidina (diacetato de clorexidina – Sigma®). As principais bandas de absorção dos grupos funcionais estão indicadas.

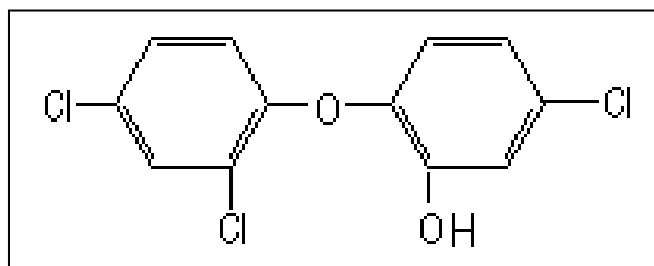




FIGURA 43: Estrutura química do triclosan.

TABELA 11

Bandas de absorção dos principais grupos funcionais do triclosan

Grupos	Número de onda cm^{-1}
O-H fenol	3400-3200
C-C	1600-1450
O-H	1410-1310
Cl - 	1096-1089
CH - 	830-805

FONTE: SILVERSTEIN, 1994; MOFFAT, 1986

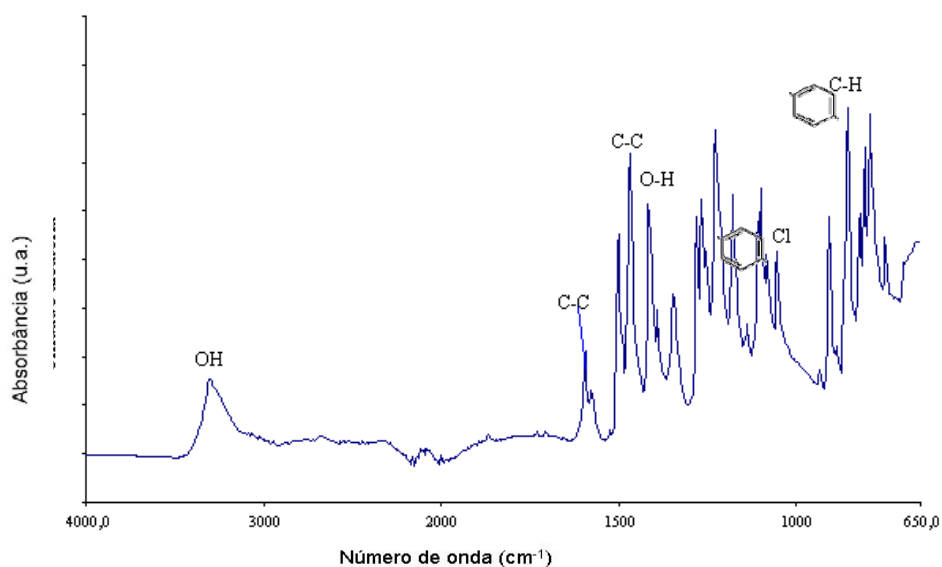


FIGURA 44: Espectro infravermelho do Triclosan (Irgasan DP-300®). As principais bandas de absorção dos grupos funcionais estão indicadas.

Após a incorporação dos agentes antimicrobianos, foram realizadas as análises no FTIR. Não houve uma alteração significativa nos espectros dos

cimentos resinosos após a incorporação dos agentes antibacterianos nos grupos experimentais (FIG. 45). Se compararmos os espectros do cimento resinoso antes e depois da incorporação (FIG. 45), pode-se observar que as principais bandas de absorção foram mantidas após a incorporação sugerindo que a incorporação de agentes antibacterianos manteve a estrutura química original dos cimentos resinosos sem alterações significativas. Isto se deve à pequena concentração dos agentes antibacterianos, mesmo na maior proporção utilizada de 3% (p/p). Logo as bandas de absorção do cimento resinoso predominam no espectro após a incorporação (AKAKI e MANSUR, 2005). Além disso, tanto o cimento resinoso quanto os agentes antibacterianos (triclosan e clorexidina) possuem várias bandas de absorção em comum (TAB. 9, 10 e 11). As bandas de absorção que seriam distinguíveis entre os cimentos resinosos e os agentes antibacterianos seriam o Cl-aromático, para o triclosan e clorexidina (TAB.10 e 11). Tais bandas foram evidenciadas após a subtração dos espectros (FIG.46 e 47).

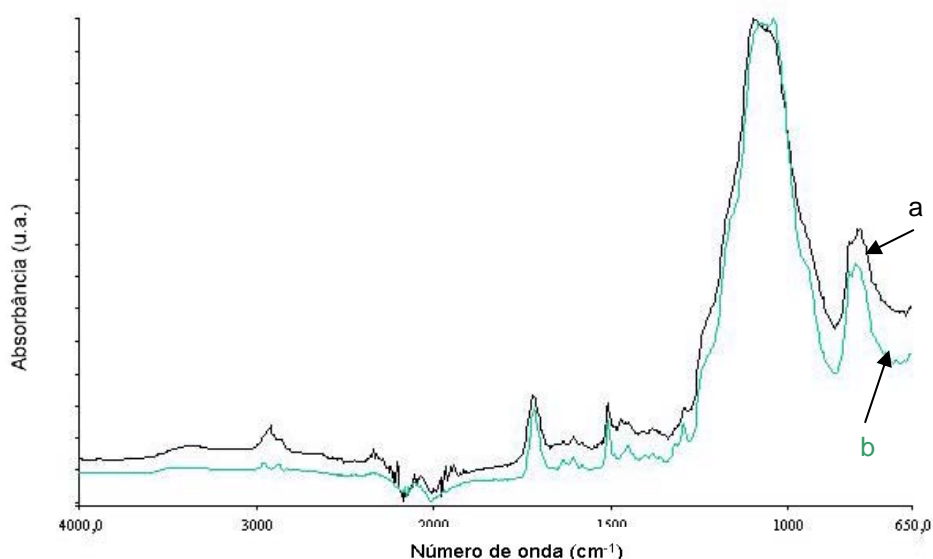


FIGURA 45: Espectro infravermelho do cimento resinoso C&B® antes (a) e após (b) a incorporação de clorexidina 3% p/p.

Ao se obter o espectro da diferença (c) entre o cimento resinoso C&B[®] antes (a) e após (b) a incorporação de clorexidina 3% p/p (FIG.46) tornou-se evidente a presença dos picos correspondentes ao N-H amina (1650cm^{-1}) e do Cl-aromático (1096cm^{-1}) presentes somente na clorexidina neste sistema (TAB.10).

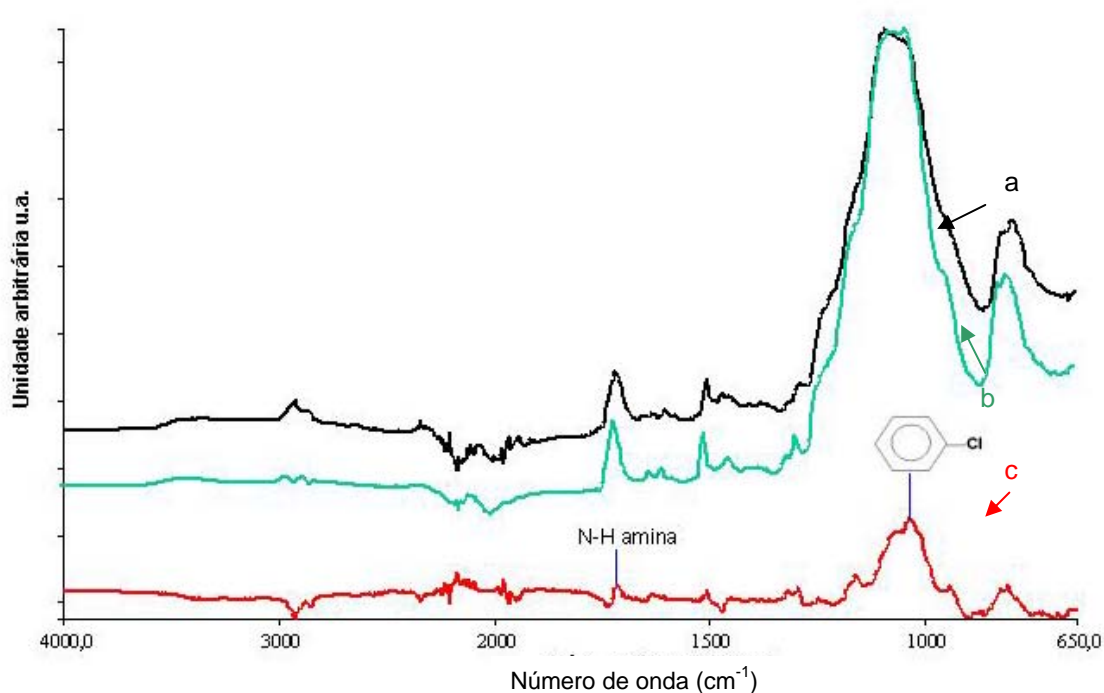


FIGURA 46: Espectro infravermelho do cimento resinoso C&B[®] antes (a) e após (b) a incorporação de clorexidina 3% p/p. Espectro c após a subtração dos espectros a e b.

Ao se obter o espectro da diferença (c) entre o cimento resinoso Fill Magic Dual Cement[®] antes (a) e após (b) a incorporação de triclosan 3% p/p (FIG.27) tornou-se evidente a presença dos picos correspondentes ao Cl-aromático (1096 cm^{-1}), presentes somente no triclosan neste sistema (TAB.11).

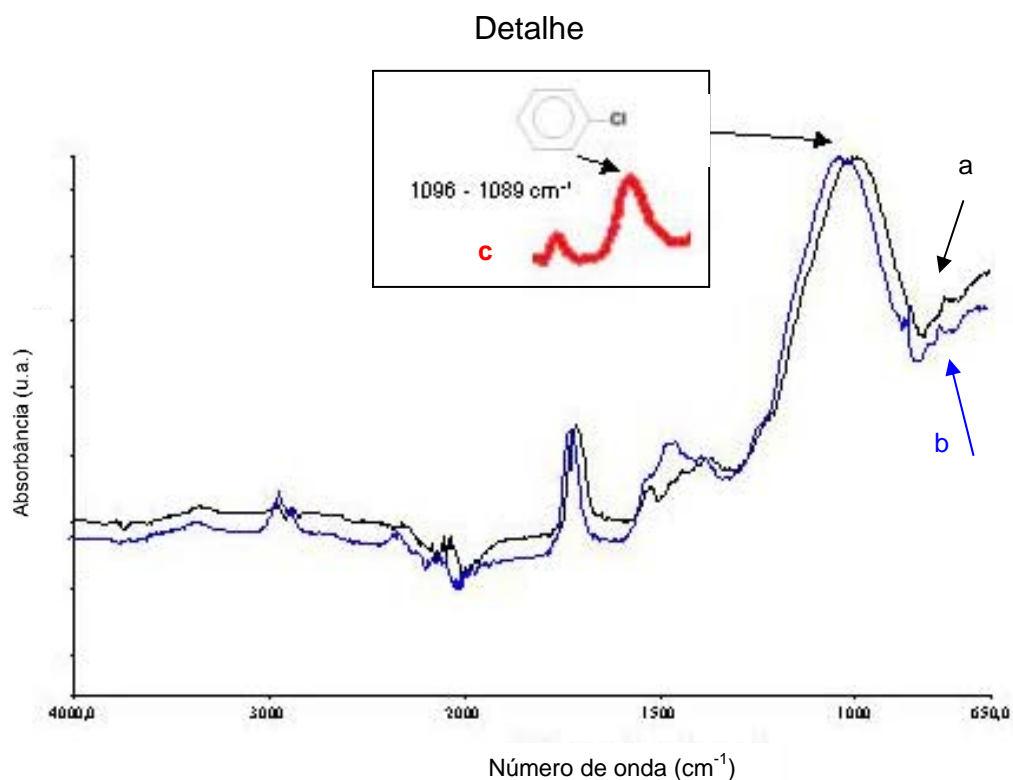


FIGURA 47: Espectro infravermelho do cimento resinoso Fill Magic Dual Cement[®] antes (a) e após (b) a incorporação de clorexidina 3% p/p. Espectro c após a subtração dos espectros a e b.

5.4.2 Espectros das amostras após eliminação da fase orgânica.

Após os procedimentos descritos no item 5.7, as amostras foram analisadas no FTIR. Com a eliminação da fase orgânica quando submetida a temperatura de 750°C (LEE e UM, 2001; REGES et al., 2002), os espectros demonstram os picos correspondentes à fase inorgânica do cimento resinoso

(FIG. 48). Podemos identificar picos correspondentes ao Si-O (1110 cm^{-1}) e o Al-O ($800 - 670\text{ cm}^{-1}$).

TABELA 12

Bandas de absorção dos principais grupos funcionais dos compostos inorgânicos dos cimentos resinosos

Absorção	Número de ondas cm^{-1}
Si-O	1110
Al-O	800 - 670

FONTE: MAREL E BEUTELSPACHER, 1986

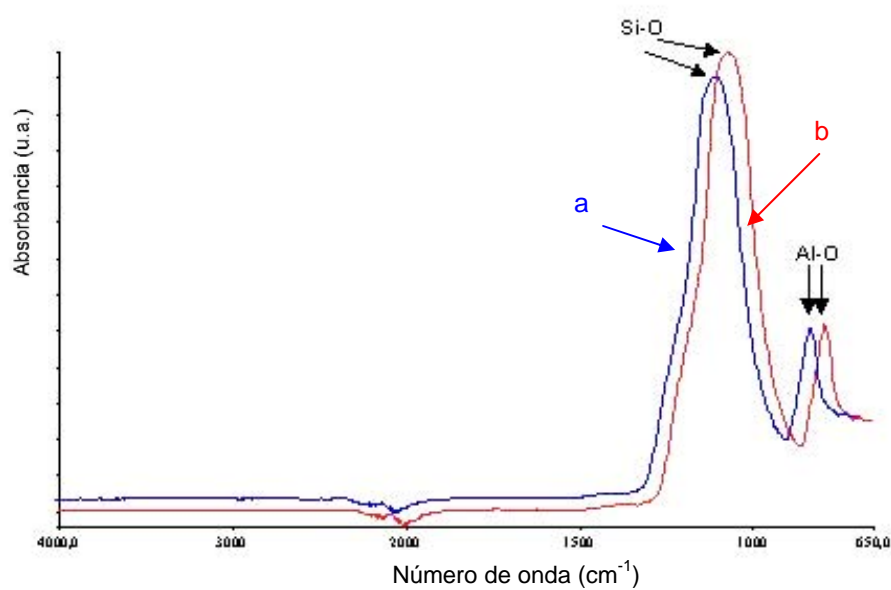


FIGURA 48: Espectros do cimento Fill Magic[®] (a) e C&B[®] (b) após a eliminação da fase orgânica.

5.5 TESTE DE LIBERAÇÃO DOS AGENTES ANTIMICROBIANOS

Para este experimento, os corpos de prova foram confeccionados de acordo com os procedimentos descritos nos itens 4.3 e 4.10.3. Foram confeccionados três corpos de prova para cada grupo.

As leituras das diluições padrão foram realizadas no FTIR, Spectrum One - Perkin Elmer Instruments®.

5.5.1 Curva de calibração

TABELA 13

Valores de concentração (μg de clorexidina / 1mL de água DI) e valor máximo de absorção (u.a) de cada diluição, utilizados na determinação da curva de calibração.

Diluição	Absorbância (u.a)	Localização (cm^{-1})
50 $\mu\text{g}/\text{mL}$	1,331	1091
20 $\mu\text{g}/\text{mL}$	0,372	1091
10 $\mu\text{g}/\text{mL}$	0,288	1091
5 $\mu\text{g}/\text{mL}$	0,265	1091
1 $\mu\text{g}/\text{mL}$	0,260	1091
0,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$	0,256	1091
0,1 $\mu\text{g}/\text{mL}$	0,253	1091
Água DI	0,000	1091

TABELA 14

Valores de concentração (μg de triclosan / mL álcool metílico) e valor máximo de absorção (u.a) de cada diluição, utilizados na determinação da curva de calibração.

Diluição	Absorbância (u.a)	Localização (cm^{-1})
50 $\mu\text{g}/\text{mL}$	0,0635	1093
20 $\mu\text{g}/\text{mL}$	0,0351	1093
10 $\mu\text{g}/\text{mL}$	0,0195	1093
5 $\mu\text{g}/\text{mL}$	0,0188	1093
1 $\mu\text{g}/\text{mL}$	0,0158	1093
0,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$	0,0101	1093
0,1 $\mu\text{g}/\text{mL}$	0,0015	1093
Álcool Metílico	0,000	1093

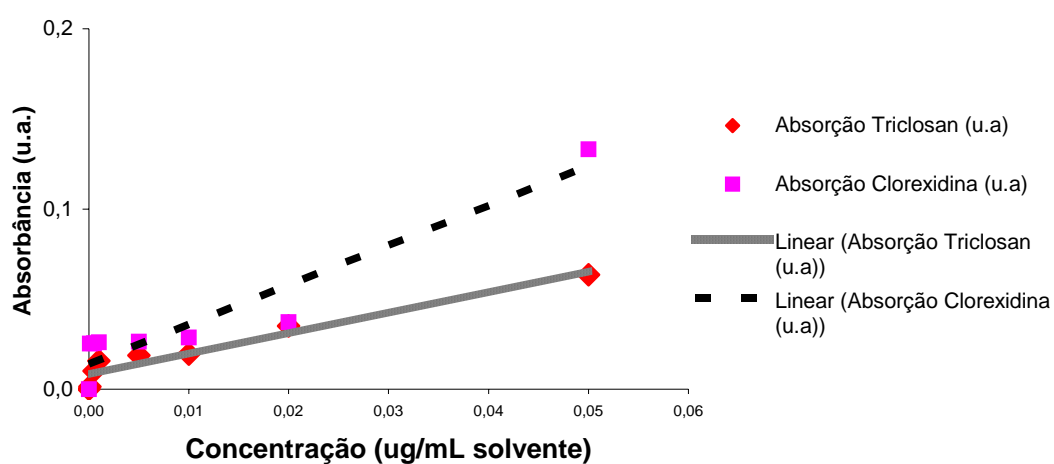


GRÁFICO 3: Gráfico representando a reação linear entre absorbância (u.a.) e concentração de triclosan ($\mu\text{g}/\text{mL}$ álcool metílico) e clorexidina ($\mu\text{g}/\text{mL}$ de água DI).

Foi traçada a linha de tendência que para a clorexidina resultou na seguinte equação:

$$Y = ax + b$$
$$\text{Abs} = 2,1956[\text{CLD}] + 0,014$$
$$R^2 = 0,902 \text{ (clorexidina)}$$

Para o triclosan, a linha de tendência resultou na equação:

$$y = ax + b$$
$$\text{Abs} = 1,513[\text{TCL}] + 0,0081$$
$$R^2 = 0,9327 \text{ (triclosan)}$$

5.5.2 Leitura dos corpos de prova armazenados em água DI

Após a confecção e armazenagem dos corpos de prova em água deionizada a 37°C, foi coletado 1 mL do meio de liberação (água DI) nos períodos de 3, 6 e 21 dias de cada grupo. Foi medido, no FTIR, o pico máximo de absorção do Cl-aromático ($\nu = 1089 \text{ cm}^{-1}$ a $\nu = 1096 \text{ cm}^{-1}$). O resultado destas medidas e correspondentes valores de liberação dos agentes antimicrobianos estão nas TAB. 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 e 22.

TABELA 15

Valor máximo de absorção (u.a) nos meios após os tempos de 3, 6 e 21 dias para a marca comercial Fill Magic Dual Cement[®] com incorporação de clorexidina.

Grupo	Absorbância (u.a)	Localização (cm ⁻¹)
FM 3 dias	0,000	1092
FM 6 dias	0,000	1092
FMCLD1% 3 dias	0,0277	1089
FMCLD1% 6 dias	0,0291	1094
FMCLD1% 21 dias	0,0334	1089
FMCLD3% 3 dias	0,0296	1089
FMCLD3% 6 dias	0,0400	1089
FMCLD1% 21 dias	0,0416	1089

TABELA 16

Leituras de absorvância máxima (u.a.) e concentração total de clorexidina ($\mu\text{g/mL}$) incorporado ao cimento resinoso Fill Magic Dual Cement[®] nos intervalos de tempo.

Grupo	Absorvância (u.a)	Concentração ($\mu\text{g/mL}$)
FM 3 dias	0,000	0,00
FM 6 dias	0,000	0,00
FMCLD1% 3 dias	0,0277	6,2 ($\pm 1,0$)
FMCLD1% 6 dias	0,0291	6,8 ($\pm 0,9$)
FMCLD1% 21 dias	0,0334	8,8 ($\pm 1,25$)
FMCLD3% 3 dias	0,0296	7,1 ($\pm 1,2$)
FMCLD3% 6 dias	0,0400	11,2 ($\pm 1,2$)
FMCLD3% 21 dias	0,0416	12,6 ($\pm 0,7$)

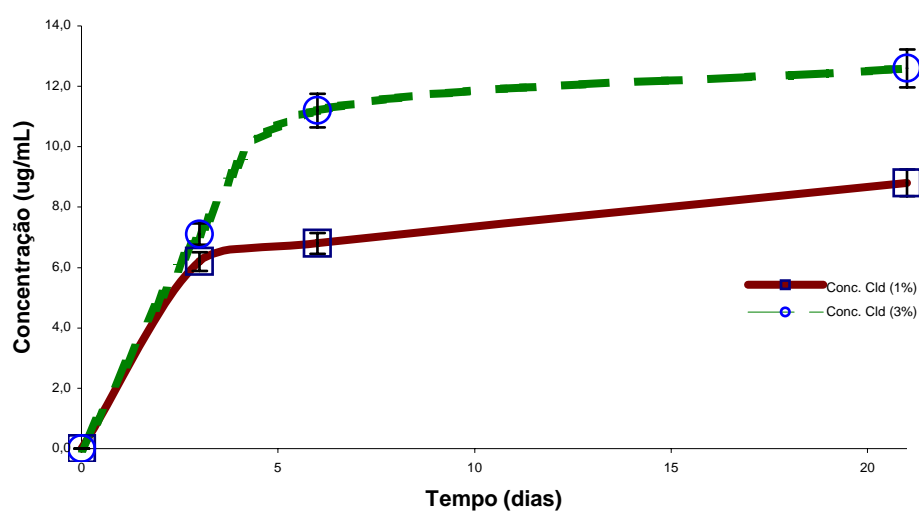


GRÁFICO 4: Cinética de liberação cumulativa da clorexidina incorporado ao cimento Fill Magic Dual Cement[®] nas concentrações de 1% (FMCLD1%) e 3% (FMCLD3%).

TABELA 17

Valor máximo de absorção (u.a) nos meios após os tempos de 3 ,6 e 21 dias para a marca comercial Fill Magic Dual Cement[®] com incorporação de triclosan.

Grupo	Absorbância (u.a)	Localização (cm ⁻¹)
FM 3 dias	0,000	1092
FM 6 dias	0,000	1092
FMTCL1% 3 dias	0,0196	1092
FMTCL1% 6 dias	0,0350	1092
FMTCL1% 21 dias	0,0360	1089
FMTCL3% 3 dias	0,0416	1092
FMTCL3% 6 dias	0,0436	1092
FMTCL3% 21 dias	0,0485	1089

TABELA 18

Leituras de absorvância máxima (u.a.) e concentração total de triclosan ($\mu\text{g/mL}$) incorporado ao cimento resinoso Fill Magic Dual Cement[®] nos intervalos de tempo.

Grupo	Absorvância (u.a)	Concentração ($\mu\text{g/mL}$)
FM 3 dias	0,000	0,00
FM 6 dias	0,000	0,00
FMTCL1% 3 dias	0,0196	9,6 ($\pm 0,7$)
FMTCL1% 6 dias	0,0350	23,7 ($\pm 2,7$)
FMTCL1% 21 dias	0,0360	24,8 ($\pm 2,7$)
FMTCL3% 3 dias	0,0416	29,3 ($\pm 2,2$)
FMTCL3% 6 dias	0,0436	30,7 ($\pm 2,5$)
FMTCL3% 21 dias	0,0485	34,6 ($\pm 3,9$)

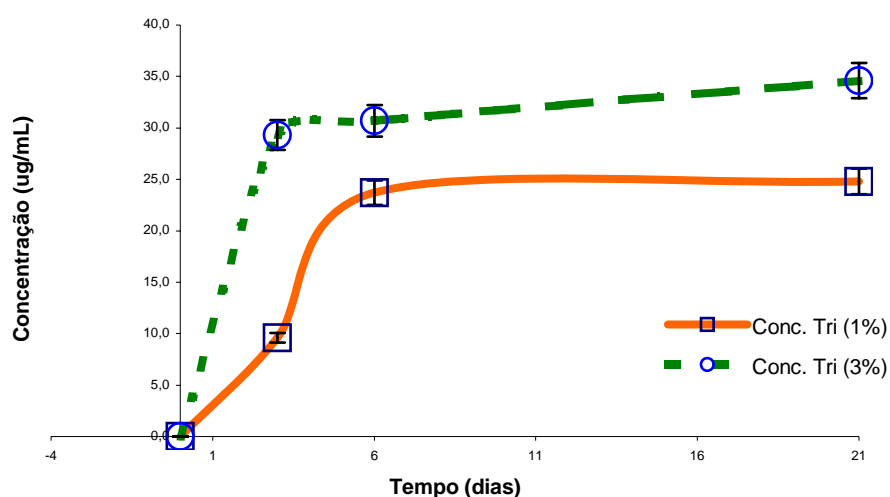


GRÁFICO 5: Cinética de liberação cumulativa do triclosan incorporado ao cimento Fill Magic Dual Cement[®] nas concentrações de 1% (FMTCL1%) e 3% (FMTCL3%).

TABELA 19

Valor máximo de absorção (u.a) nos meios após os tempos de 3, 6 e 21 dias para a marca comercial C&B[®] com incorporação de clorexidina.

Grupo	Absorbância (u.a)	Localização (cm ⁻¹)
CB 3 dias	0,000	1089
CB 6 dias	0,000	1092
CBCLD1% 3 dias	0,0283	1089
CBCLD1% 6 dias	0,0289	1089
CBCLD1% 21 dias	0,0329	1089
CBCLD3% 3 dias	0,0357	1089
CBCLD3% 6 dias	0,0372	1089
CBCLD3% 21 dias	0,0474	1089

TABELA 20

Leituras de absorvância máxima (u.a.) e concentração total de clorexidina ($\mu\text{g/mL}$) incorporado ao cimento resinoso C&B[®] nos intervalos de tempo.

Grupo	Absorvância (u.a)	Concentração ($\mu\text{g/mL}$)
CB 3 dias	0,000	0,00
CB 6 dias	0,000	0,00
CBCLD1% 3 dias	0,0283	6,3 ($\pm 0,8$)
CBCLD1% 6 dias	0,0289	6,7 ($\pm 0,6$)
CBCLD1% 21 dias	0,0329	8,7 ($\pm 1,1$)
CBCLD3% 3 dias	0,0357	9,5 ($\pm 1,1$)
CBCLD3% 6 dias	0,0372	14,6 ($\pm 0,8$)
CBCLD3% 21 dias	0,0474	15,8 ($\pm 0,9$)

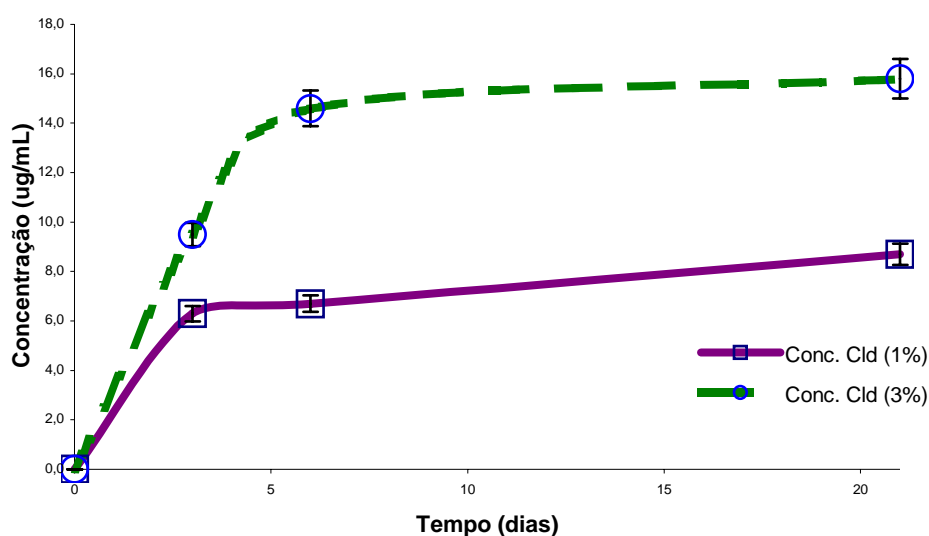


GRÁFICO 6: Cinética de liberação cumulativa da clorexidina incorporado ao cimento C&B[®] nas concentrações de 1% (CBCLD1%) e 3% (CBCLD3%).

TABELA 21

Valor máximo de absorção (u.a) nos meios após os tempos de 3, 6 e 21 dias para a marca comercial C&B[®] com incorporação de triclosan.

Grupo	Absorbância (u.a)	Localização (cm ⁻¹)
CB 3 dias	0,000	1089
CB 6 dias	0,000	1092
CBTCL1% 3 dias	0,0192	1089
CBTCL1% 6 dias	0,0843	1089
CBTCL1% 21 dias	0,0944	1089
CBTCL3% 3 dias	0,0273	1089
CBTCL3% 6 dias	0,1153	1089
CBTCL3% 21 dias	0,1199	1089

TABELA 22

Leituras de absorvância máxima (u.a.) e concentração total de triclosan ($\mu\text{g/mL}$) incorporado ao cimento C&B[®] nos intervalos de tempo.

Grupo	Absorvância (u.a)	Concentração ($\mu\text{g/mL}$)
CB 3 dias	0,000	0,00
CB 6 dias	0,000	0,00
CBTCL1% 3 dias	0,0192	9,7(\pm 1,4)
CBTCL1% 6 dias	0,0843	22,2 (\pm 4,7)
CBTCL1% 21 dias	0,0944	23,9 (\pm 4,5)
CBTCL3% 3 dias	0,0273	16,6 (\pm 1,9)
CBTCL3% 6 dias	0,1153	25,0 (\pm 4,3)
CBTCL3% 21 dias	0,1199	27,2 (\pm 4,5)

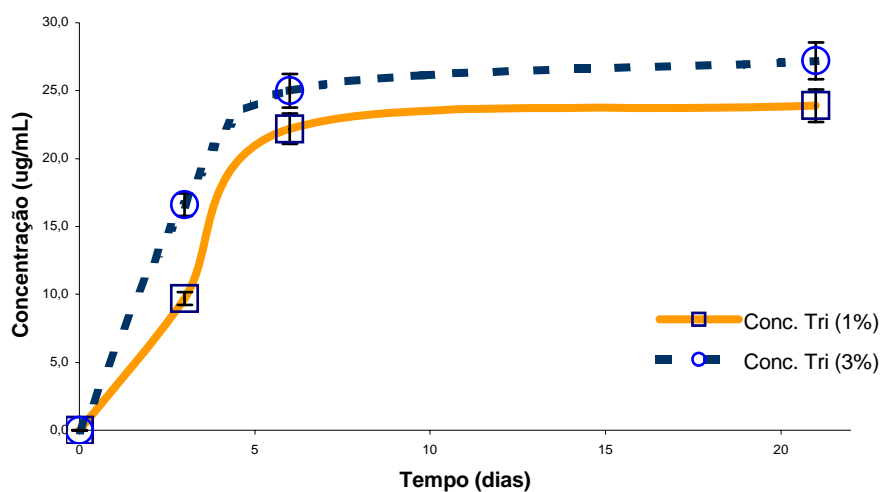


GRÁFICO 7: Cinética de liberação cumulativa do triclosan incorporado ao cimento C&B[®] concentrações de 1% (FMTCL1%) e 3% (FMTCL3%).

Os resultados obtidos para a liberação de agentes antimicrobianos foram analisados por métodos estatísticos. Comparações entre as médias foram feitas utilizando a análise de variância (ANOVA) e o teste-t, ambos com nível de significância (α) em 5%.

Para o cimento resinoso C&B[®] associado à clorexidina houve diferença significativa ($p < 0,05$) na liberação do agente antibacteriano entre as concentrações de 1 e 3% (TAB.3, ANEXO B). O grupo CBCLD3% liberou uma quantidade significativamente maior do que o grupo CBCLD1% (teste-t, $p < 0,05$).

Também houve diferença significativa para o cimento resinoso Fill Magic Dual Cement[®] associado tanto à clorexidina quanto ao triclosan ($p < 0,05$) na liberação dos agentes antibacterianos entre as concentrações de 1 e 3% (TAB.1,2, ANEXO B). O grupo FMCLD3% liberou uma quantidade significativamente maior do que o grupo FMCLD1%. O grupo FMTCL3% liberou uma quantidade significativamente maior do que o grupo FMTCL1%.

Já para o cimento resinoso C&B[®] associado ao triclosan não houve diferença significativa ($p = 0,28$) na liberação do agente antibacteriano entre as concentrações de 1 e 3% (TAB.4, ANEXO B).

As quantidades, em $\mu\text{g/mL}$, de agentes antimicrobianos liberados em água DI para os intervalos de 3, 6 e 21 dias estão listados nas TAB. 18, 20, 22 e 24. Podemos observar, no aspecto geral, que houve uma maior liberação de agentes antimicrobianos até o 6^o dia, seguido de uma diminuição da liberação até o 21^o dia com tendência a se estabilizar em quantidades pequenas de liberação nos dias seguintes (GRAF.4, 5, 6 e 7). A tendência de uma maior liberação de fármacos a partir de polímeros ou compósitos nos primeiros dias, com uma diminuição logo em seguida com tendência à estabilização da liberação em quantidades bem menores do que inicialmente, está de acordo com os resultados de FRIEDMAN e GOLOMB (1982); WILSON e WILSON, (1993); NERURKAR, ZENTNER e RYTTING (1995); MEDLICOTT et al. (1996);

MEDLICOTT et al. (1999); KALACHANDRA e OFFENBACHER (2003); ANDRADE, DAHM e DOMINGUEZ, (2004).

Para WILSON e WILSON (1993) a liberação de clorexidina, a partir de uma matriz de polimetilmetacrilato (PMMA) usado em próteses totais removíveis (dentaduras) é um fenômeno de superfície. A clorexidina na superfície do material é quase totalmente liberado nas primeiras 24 horas junto com uma pequena quantidade logo abaixo da superfície. FRIEDMAN e GOLOMB a (1982) afirmaram que os agentes antimicrobianos associados ao PMMA são extraídos de sua matriz por difusão. Para SANDERS et al. (2002), a liberação do diacetato de clorexidina (5% p/p), em água deionizada, incorporado a um cimento ionômero de vidro modificado por resina ocorreu principalmente nos sete primeiros dias.

MEDLICOTT et al. (1996) afirmaram que a liberação de um fármaco a partir de uma matriz polimérica vai depender do mecanismo de erosão do polímero. Entretanto, na maioria dos casos, a liberação do fármaco ocorre por difusão antes da degradação do polímero. Segundo GÖPFRICH (1996), todos os polímeros degradam principalmente a partir de processos químicos, mecânicos e térmicos.

Os materiais restauradores na cavidade bucal são submetidos à condições extremas como: variação de temperatura dos alimentos (quente-gelado); variações de pH causado pelos diferentes alimentos e pelos microrganismos principalmente o *S. mutans*; estresse mecânico inerente à mastigação. Devido à degradação inerente a todo polímero (GÖPFRICH, 1996), à medida que ocorra uma erosão no volume do cimento resinoso exposto à cavidade oral, moléculas do agente antimicrobiano podem ser liberadas mesmo que em quantidades mínimas, mas talvez suficientes para alguma ação antimicrobiana local. Essa degradação, segundo WALKER, SPENCER e EICK (2003), especificamente para os cimentos resinosos, pode ocorrer principalmente na ligação silano entre a matriz inorgânica e as partículas inorgânicas. A água absorvida pelo volume do cimento resinoso

pode interagir com as ligações covalentes Si-O do silano que já podem ter sido afetadas pela umidade e pelo estresse de cargas cíclicas e dinâmicas geradas durante a mastigação.

O fato de um agente antimicrobiano ser liberado, mesmo em quantidades mínimas a curto e médio prazo pode causar algum tipo de preocupação, mas segundo LYMAN e FURIA (1969) toxicidade do triclosan é baixa, sem risco de efeitos colaterais com níveis de até 200 mg/kg/dia. Não ocorrem mudanças na flora oral com a utilização de dentifrícios contendo triclosan e não há relatos do crescimento de composição triclosan-resistentes, após seis meses de uso constante (WALKER et al., 1994). Já para a clorexidina, LÖE e SCHIÖTT (1970) afirmaram que a clorexidina é eficaz no controle de placa comprovados em estudos de curto e longo prazo sem desenvolver resistência de microrganismos na flora oral. A quantidade de triclosan e clorexidina liberada pelo cimento resinoso (TAB.16, 18, 20 e 22) está na ordem de µg/mL, quantidades mínimas para causar algum tipo de risco biológico.

Há que considerar se a quantidade de antimicrobianos liberada pelos cimentos resinosos será capaz de promover efetividade antibacteriana, o que será discutido no item seguinte.

5.6 EFETIVIDADE ANTICROBIANA

5.6.1 Sensibilidade do *Streptococcus mutans* ATCC 35535 aos agentes antibacterianos

Foram realizados os testes de sensibilidade do *S. mutans* ATCC 35535 para a clorexidina e o triclosan. Os resultados estão no GRAF. 8.

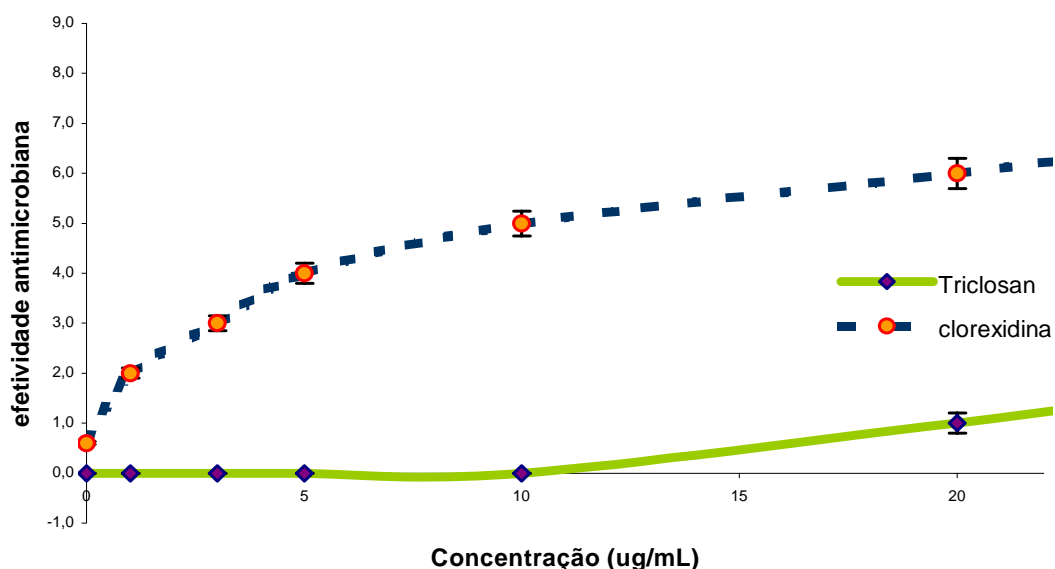


GRÁFICO 8: Sensibilidade do *S. mutans* ATCC 35535 às concentrações de clorexidina e triclosan (ug/mL).

O GRAF.8 mostra que *S. mutans* ATCC 35535 é mais sensível à clorexidina do que ao triclosan. A clorexidina inibiu o crescimento do microrganismo em concentrações abaixo de 1µg/mL.

Segundo HENNESSEY (1973) a concentração inibitória mínima (CIM) do *S. mutans* 35535 para a clorexidina é de 0,19 a 2 µg/mL. BALANYK e SANDHAM (1985) encontraram valores de concentração inibitória mínima de 0,39 a 1,56µg/mL para 10 linhagens de *S. mutans*.

Já o triclosan precisou de uma concentração maior (acima de 10µg/mL) para inibir o crescimento do *S. mutans* ATCC 35535 (GRAF.8). IMAZATO, TORII e TSUCHITANI, (1995) encontraram valores bem semelhantes de concentração inibitória mínima (CIM) para o *S. mutans* MT8148 que é de 11,7 µm/mL. Considerando as diferentes linhagens de *S. mutans* existentes, consideramos que os resultados encontrados neste experimento, tanto para a clorexidina quanto para o triclosan, estão condizentes com a literatura.

5.6.2 Teste de difusão de ágar

Os resultados obtidos para o teste de difusão em ágar foram analisados por métodos estatísticos. Comparações entre as médias foram feitas utilizando a análise de variância (ANOVA) e o teste-t, ambos com nível de significância (α) em 5%.

Os resultados obtidos neste teste estão na TAB.23.

TABELA 23

Resultados das médias de medidas dos halos de inibição ao *S. mutans* dos diferentes grupos (dp).

Grupo	Halo de inibição
CB	0
CBTCL1%	0
CBTCL3%	0
CBCLD1%	27,2 ($\pm 1,5$)
CBCLD3%	31,4 ($\pm 0,5$)
FM	0
FMTCL1%	0
FMTCL3%	0
FMCLD1%	17,8 ($\pm 1,4$)
FMCLD3%	27,4 ($\pm 1,6$)

Os resultados mostraram que nos grupos controle (CB e FM) não houve a formação do halo de inibição. Também não houve halo de inibição nos grupos experimentais com incorporação de triclosan (CBTCL1%, CBTCL3%,

FMTCL1% e FMTCL3%). Já os grupos experimentais com incorporação de clorexidina (CBCLD1%, CBCLD3%, FMCLD1% e FMCLD3%) houve a formação de halos de inibição de dimensões variadas de acordo com cada grupo (FIGS. 49 e 50, GRAF.9). A análise de variância (TAB.5, 6, ANEXO A - $\alpha = 5\%$) foi feita abordando em separado o cimento resinoso, a clorexidina e sua concentração indicando que o efeito antimicrobiano foi influenciado ($p < 0,05$) pela concentração de agente antibacteriano para o cimento resinoso C&B[®] X clorexidina (CB, CBCLD1% e CBCLD3%) e para o Fill Magic Dual Cement[®] x clorexidina (FM, FMCLD1% e FMCLD3%). Pelo teste-t (significância 5%) para a comparação entre as médias, pode-se verificar que o grupo CBCLD3% apresentou uma efetividade antimicrobiana maior do que o grupo CBCLD1% ($p=0,03$). O grupo FMCLD3% foi mais eficaz do que o grupo FMCLD1% ($p =0,01$). Os resultados demonstram que os grupos CBCLD1% E CBCLD3% provocaram um halo de inibição de maior diâmetro se comparados aos grupos FMCLD1% e FMCLD3%. Acreditamos que isto se deve a um maior grau de polimerização do cimento Fill Magic Dual Cement[®] pelo seu caráter dual do início de sua ativação. Este tópico deve ser melhor estudado em trabalhos futuros.

Estes resultados foram semelhantes aos encontrados nos estudos JEDRYCHOWSKI, CAPUTO, e KERPER (1983) onde as incorporações de 1, 2 3 e 5% de diidrocloro de clorexidina à resina composta Cervident[®] foram capazes de inibir o crescimento do *S. mutans*. A incorporação de triclosan 1% (peso) a uma resina composta experimental foi também capaz de inibir o crescimento bacteriano na superfície da amostra (IMAZATO, TORII e TSUCHITANI, 1993). No estudo de SANDERS et al. (2002), o acréscimo de 5% (p/p) do diacetato de clorexidina a um cimento ionômero de vidro modificado por resina (Photac-fil[®] - Espe) foi capaz de inibir o crescimento do *S. mutans*. Segundo os autores, uma pequena concentração de clorexidina no microambiente da restauração pode ser suficiente para prevenir cáries secundárias por um longo período de tempo.

Segundo IMZATO (1992), a liberação de triclosan incorporada a uma resina composta (1% p/p) foi na ordem de 0,02 $\mu\text{g/mL}$ depois de 24hs de

imersão em água. Este valor bem abaixo da sua concentração inibitória mínima (CIM) para o *S. mutans* MT8148 que é de 11,7 $\mu\text{m}/\text{mL}$ IMAZATO, TORII e TSUCHITANI, (1995). Apesar disso, houve uma inibição de formação de placa bacteriana na superfície da resina composta com incorporação de triclosan. O autor explica o fato sob duas hipóteses: uma é de que a molécula de triclosan, exposta na superfície da resina composta, tivesse por contato, uma ação na membrana celular da bactéria; a segunda hipótese seria que uma liberação de triclosan mesmo em concentração muito baixa teria algum efeito contra o *S.mutans*.

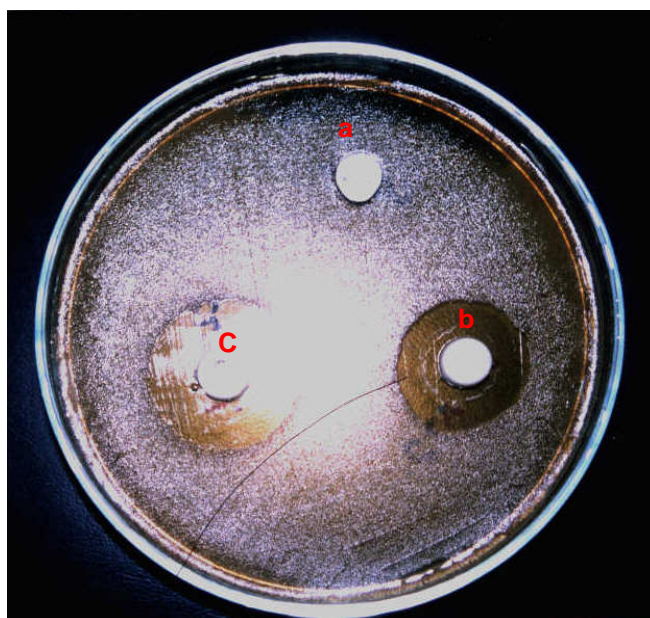


FIGURA 49: Halo de inibição nos grupos CBCLD1% (b) e CBCLD3%(c).
Ausência de halo de inibição no grupo CB (a).

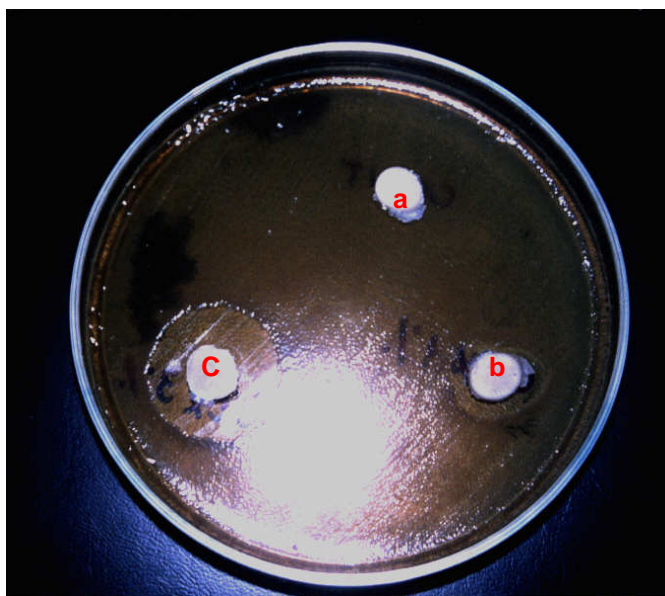


FIGURA 50: Halo de inibição nos grupos FMCLD1% (b) e FMCLD3%(c).
Ausência de halo de inibição no grupo FM (a).

Os resultados demonstraram que em nenhum dos grupos com incorporação do triclosan (CBTCL1%, CBTCL3%, FMTCL1%, FMTCL3%) houve a formação do halo de inibição (TAB.25). Após a colocação dos corpos de prova no ágar e semeadura do *S. mutans*, o tempo de incubação em microaerofilia foi de 48 horas, ou seja, neste experimento, os corpos de prova tiveram este período para a liberação do triclosan. No GRAF.5 e GRAF.7, se fizermos a projeção da liberação de triclosan dos grupos CBTCL1%, CBTCL3%, FMTCL1% e FMTCL3% no período de 48 horas, encontraremos todos os valores abaixo de 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$. No teste de sensibilidade do *S. mutans* ATCC ao triclosan (GRAF.8) veremos que a concentração inibitória mínima está próximo a 13 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Segundo (IMAZATO, TORII e TSUCHITANI, 1995), a concentração mínima inibitória do triclosan para o *S. mutans* MT8148 é de 11,7 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Temos que considerar também que os meios de liberação destes dois experimentos são diferentes (ágar e água deionizada). Segundo ESTRELA et al. (2003), o tamanho do halo de inibição no teste de difusão em ágar depende da difusibilidade e solubilidade da substância em questão. Logo a difusibilidade do triclosan no ágar vai influenciar na sua disponibilidade para

inibir o crescimento do microrganismo. Podemos afirmar que a não formação do halo de inibição nos grupos CBTCL1%, CBTCL3%, FMTCL1% e FMTCL3% foi em função da quantidade do triclosan liberado e disponibilizado pelos corpos de prova destes grupos ser menor do que a sua concentração inibitória mínima. Estudos futuros devem investigar se há crescimento de microrganismos na superfície dos corpos de prova o que comprovaria um efeito antibacteriano por contato semelhante aos resultados encontrados por IMAZATO, TORII e TSUCHITANI (1993).

Houve inibição do crescimento do *S. mutans* em todos os grupos com incorporação de clorexidina (CBCLD1%, CBCLD3%, FMCLD1% e FMCLD3%). Segundo HENNESSEY (1973) a CIM da clorexidina é de 0,19 a 2 µg/mL, bem abaixo da CIM do triclosan que é de 11,7 µg/mL (IMAZATO, TORII e TSUCHITANI, 1995). ESTRELA (2003) afirmou que a clorexidina é o mais eficiente dos agentes antibacterianos contra o *S. mutans*. Nos GRAF.4 e GRAF.6, a liberação dos grupos CBCLD1%, CBCLD3%, FMCLD1% e FMCLD3%, no período de 48 horas, encontraremos valores entre 4 a 7 µg/mL, concentrações de dois a até quatro vezes o CIM da clorexidina. Mesmo levando em conta que o meio de liberação do teste de liberação e do teste de efetividade antimicrobiana sejam diferentes (água deionizada e ágar) e também pelo fato de que a linhagem do *S. mutans* seja diferente, os resultados demonstraram que a incorporação das duas concentrações de clorexidina (1 e 3%) às duas marcas comerciais dos cimentos resinosos mostraram ter efetividade antimicrobiana.

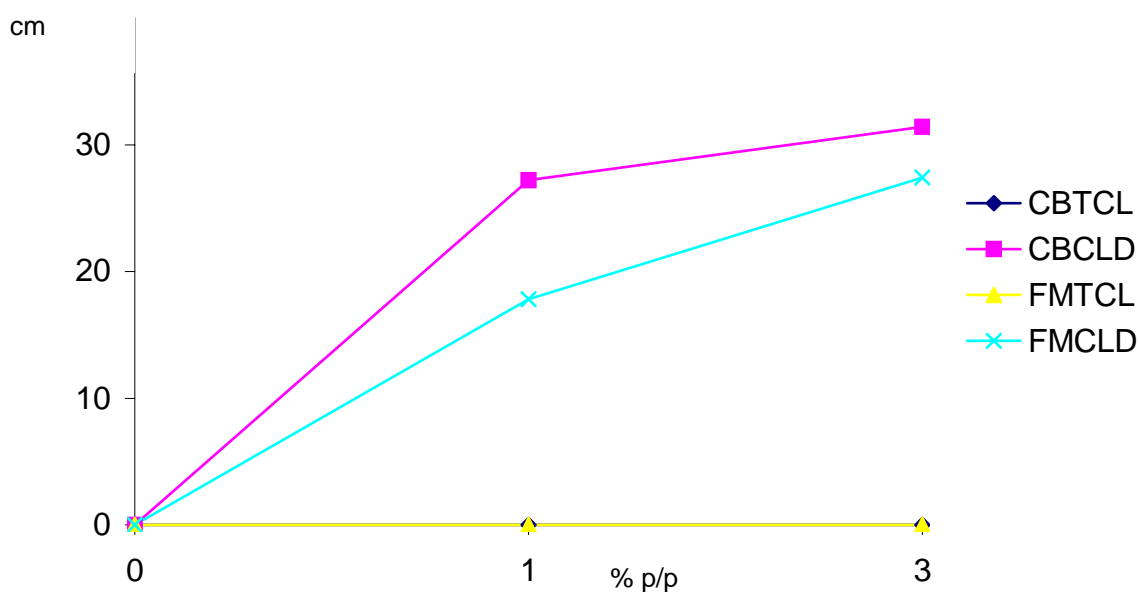


GRÁFICO 9: diâmetro do halo de inibição (cm) e m função da concentração dos agentes antimicrobianos e cimentos resinosos.

5.7 TESTE DE MICRODUREZA KNOOP

Três leituras foram realizadas em cada um dos três corpos de prova de cada grupo totalizando 90 leituras. As médias dos valores de dureza Knoop para cada grupo estão na TAB. 24. Os resultados obtidos para o teste de microdureza foram analisados por métodos estatísticos. Comparações entre as médias foram feitas utilizando a análise de variância (ANOVA) e o teste-t, ambos com nível de significância (α) em 5%.

A análise de variância (TAB.1, 2, 3, 4, ANEXO A - 5% de significância) foi feita abordando em separado o cimento resinoso, o agente antibacteriano e sua concentração indicando que a microdureza foi influenciada ($p < 0,05$) pelo agente antibacteriano somente para o cimento resinoso C&B[®] na concentração de 3% do diacetato de clorexidina (CBCLD3%). Pelo teste-t ($\alpha = 5\%$), pôde-se

verificar que o grupo CBCLD3% apresentou dureza menor do que o grupo CB ($p < 0,05$) e o grupo CBCLD1% ($p < 0,05$). Para o cimento resinoso C&B[®] X triclosan (CB, CBTCL1% e CBTCL3%), Fill Magic[®] X clorexidina (FM, FMCLD1%, FMCLD3%) e Fill Magic[®] X triclosan (FM, FMTCL1% e FMTCL3%) a análise de variância indicou que a diferença das médias não foi significativa.

TABELA 24

Média dos valores de microdureza Knoop (dp) dos grupos avaliados (n=3).

Grupo	Média de microdureza
CB	11,4 (± 1,2)
CBTCL1%	10,9 (± 0,8)
CBTCL3%	9,8 (± 0,6)
CBCLD1%	9,6 (± 0,7)
CBCLD3%	7,59 (± 0,5)
FM	17,2 (± 1,0)
FMTCL1%	16,2 (± 1,4)
FMTCL3%	15,9 (± 0,5)
FMCLD1%	15,5 (± 0,8)
FMCLD3%	14,7 (± 1,0)

SANDERS et al. (2002) avaliou a influência na dureza da incorporação de 5% (p/p) do diacetato de clorexidina a um cimento ionômero de vidro modificado por resina Photac-fil[®] – Espe. Foi observado que nas primeiras 24hs. não houve diferença significativa entre os grupos controle e

experimental. JEDRYCHOWSKY, CAPUTO e KERPER (1983) observaram alteração na resistência à tração quando o digluconato de clorexidina foi adicionado na proporção de 5% (p/p) à resina composta Cervident[®] - SS White. O digluconato de clorexidina também alterou significativamente a resistência à compressão da resina composta nas concentrações de 1% e 10% (p/p). A incorporação da resina composta ao diidrocloreto de clorexina não alterou as propriedades mecânicas em nenhuma das concentrações. Os autores concluem que a influência do digluconato de clorexidina nas propriedades mecânicas se deve ao fato deste produto se apresentar na forma líquida. Mesmo na manipulação desta combinação as diferenças das propriedades eram visíveis. Segundo IMAZATO (2003), esta influência nas propriedades mecânicas pode ser explicado por um distúrbio na reação de polimerização ou uma interferência na ligação entre a matriz orgânica e inorgânica causado pelo agente antimicrobiano. ADDY (1981) afirmou que a liberação de agentes antimicrobianos pode resultar em porosidades na estrutura do PMMA utilizado em próteses totais, tendo como consequência uma possível diminuição das propriedades mecânicas ao longo do tempo. Para ADDY e HANDLEY (1981), a incorporação de clorexidina interfere nas propriedades mecânicas do PMMA pelo fato de interferir no arranjo estrutural do polímero devido à sua simples presença física durante a reação de polimerização. Esta afirmação está de acordo com LAUTENSCHLAGER et al. (1976) que notou uma interrupção no arranjo das matrizes orgânica e inorgânica ao adicionar agentes antibacterianos a um cimento ósseo. Segundo IMAZATO et al. (1994b), o MDPB, pelo fato de estar imobilizado na estrutura do compósito, sendo parte integrante deste, garante uma atividade antibacteriana sem comprometer as suas propriedades mecânicas.

Segundo CHUNG e GREENER (1990); YAMAGA et al. (1995) e NEVES et al. (2002), há uma relação direta entre o conteúdo de carga inorgânica e a microdureza. Houve diferença significativa entre a dureza dos grupos controle CB e FM pelo teste-t ($p=0,01$), nível de significância de 5%. Segundo ANUSAVICE (1998), o tamanho das partículas pode influenciar nas propriedades mecânicas. Pelas FIG.30 e 31, podemos observar que há

diferença no tamanho das partículas. Segundo ATTAR, TAM e McCOMB (2003) não houve diferença significativa na resistência à flexão entre os cimentos resinosos testados: Calibra[®], Relyx[®] (polimerização dual) e o C&B[®] (polimerização química). Esta diferença pode ser explicada pela iniciação da reação de polimerização dos dois cimentos resinosos: químico (C&B[®]) e dual, (Fill Magic Dual Cement[®]); ou pela própria diferença na microdureza entre as duas marcas comerciais devido às suas diferentes composições e tamanho de partículas. Os cimentos resinosos em geral, oferecem ótimas propriedades mecânicas como resistência à flexão e rigidez. A etapa da fotoativação é crucial para os cimentos de polimerização dupla (duais) sem a qual, as propriedades mecânicas seriam prejudicadas (DARR e JACOBSEN, 1995; EL-BADRAWY e EL-MOWAFAY, 1995; ATTAR, TAM e McCOMB, 2003). Segundo ORÉFICE et al. (2003), os valores de microdureza e grau de conversão na superfície das resinas compostas odontológicas podem ser diminuídos devido ao efeito do oxigênio que inibe a polimerização por radicais livres. Este efeito foi minimizado pela placa de vidro colocado sobre a superfície dos corpos de prova durante a sua polimerização (item 4.3).

5.8 INCORPORAÇÃO DE AGENTES ANTIBACTERIANOS AOS CIMENTOS RESINOSOS

Vários autores avaliaram positivamente a incorporação de agentes antibacterianos às resinas compostas (JEDRYCHOWSKY, CAPUTO e KERPER, 1983; TANAGAWA e YOSHIDA, 1983; IMAZATO et al., 1992; PRATI et al. 1993; IMAZATO et al., 1995ab; BAPNA et al., 1998; YOSHIDA, TANAGAWA e ATSUTA, (1999); EBI e IMAZATO, 2001; KARANIKI-KOUMA et al. (2001); IMAZATO, 2003ab). Estudos preliminares demonstram que morfologicamente a incorporação de agentes antibacterianos aos cimentos resinosos pode ser viável com uma boa distribuição na sua superfície e volume (AKAKI, MANSUR et al., 2004 a,b,c) sem aparentemente interferir na estrutura dos cimentos (AKAKI, MANSUR et al. 2005). A incorporação de agentes

antimicrobianos aos cimentos resinosos pode ser um fator para aumentar a longevidade das restaurações estéticas cujo ponto mais fraco é o próprio cimento resinoso (DIETSCHI e SPREAFICO, 1997). Por isso, o cirurgião-dentista deve ser o mais criterioso possível com o objetivo de conseguir o máximo de adaptação entre o dente e a restauração para que a superfície de cimento resinoso exposto à cavidade oral seja mínima. Todo polímero está sujeito à degradação (GÖPFERICH, 1996). Na cavidade oral esta degradação pode ser acelerada pela umidade, variações rápidas de temperatura e solicitações mecânicas. À medida que aconteça esta degradação e erosão do cimento resinoso, se este tiver a incorporação de agentes antibacterianos, pode ocorrer uma ação antibacteriana prolongada devido a conseqüente liberação do triclosan e da clorexidina. Esse possível efeito prolongado deve ser investigado.

Deve-se avaliar a influência desta incorporação nas demais propriedades físicas e mecânicas como, por exemplo, a resistência à flexão e resistência ao cisalhamento. Deve-se avaliar também possíveis reações citotóxicas a esta incorporação. Finalmente deve ser também realizado um estudo clínico do comportamento dos cimentos resinosos incorporados sob restaurações estéticas em estudos de curto e médio prazo.

Dentre as combinações de cimento resinoso e agentes antimicrobianos analisados neste estudo, três grupos parecem ser mais promissores e merecem uma maior atenção para estudos posteriores. São eles o CBCLD1%, FMCLD1% e FMCLD3% por terem efetividade antibacteriana, sem prejuízo na propriedade física testada, a microdureza, além de apresentarem também resultados satisfatórios nos outros testes realizados.

6 CONCLUSÕES

6.1 CONCLUSÕES GERAIS

Os resultados obtidos neste trabalho nos levam a crer que é possível incorporar tanto o triclosan quanto a cloredina aos cimentos resinosos. Contudo, os testes de difusão em ágar nos mostraram que os grupos com associação de triclosan não mostraram efetividade antibacteriana. As associações com o triclosan, a princípio não seriam úteis para aumentar a longevidade das restaurações estéticas indiretas, pois não tem eficácia contra o *S. mutans*. Mais testes de efetividade antibacteriana deveriam ser realizados nestes grupos. Por outro lado, as associações com a clorexidina mostraram inibição do crescimento em todos os grupos. A incorporação deste agente antibacteriano em concentrações mais baixas, para que não afete as propriedades mecânicas, parece ser a alternativa mais viável sob a luz deste estudo.

6.2 CONCLUSÕES ESPECÍFICAS

1. Todos os grupos apresentaram resultados satisfatórios nas análises do MEV, EDS e FTIR;
2. O método do tratamento térmico seletivo foi eficaz na visualização da distribuição dos agentes antibacterianos no cimento resinoso
3. O método de incorporação dos agentes antibacterianos aos cimentos resinosos empregado neste estudo foi satisfatório quanto à homogeneidade e distribuição;
4. Os cimentos resinosos têm comportamento semelhante às resinas compostas na decomposição térmica;

5. A maior liberação dos agentes antimicrobianos ocorreu nos seis primeiros dias em todos os grupos;
6. A liberação dos agentes antimicrobianos foi diretamente proporcional à concentração dos agentes antibacterianos em todos os grupos;
7. Os grupos com incorporação de triclosan (CBTCL1%, CBTCL3%, FMTCL1%, FMTCL3%) não apresentaram efetividade antimicrobiana;
8. Os grupos com incorporação do diacetato de clorexidina (CBCLD1%, CBCLD3%, FMCLD1%, FMCLD3%) apresentaram efetividade antimicrobiana;
9. A incorporação de agentes antimicrobianos influenciou na microdureza Knoop apenas no grupo CBCLD3%.

9 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS

1. ACHARYA,A., GREENER, E.H. Thermo gravimetric analysis of composite restorative resins. *J. Dent. Res.*, Alexandria, v.51, n.5, p.1363-1368. Sep.-Oct. 1972.
2. ADDY, M. In vitro studies in the use of denture base and soft liner materials as carriers for drugs in the mouth. *J. Oral Rehabil.*, Oxford, v.8, n.2, p. 131-142. Feb. 1981
3. ADDY, M. HANDLEY, R. The effects of the incorporation of chlorhexidine acetate on some physical properties of polymerized and plasticized acrylics. *J. Oral Rehabil.*, Oxford. v. 8, n.2, p.155-163. Feb. 1981.
4. AKAKI, E., SANTOS, M.H., MANSUR, H.S., MOTA, J.M.L.F., JANSEN, W.C., REIS, N.A. Caracterização pelo MEV/EDS da resina flow, cimento resinoso e selante. *Pesquisa Odontol. Brasileira*, São Paulo, v.15, suplemento, p.107, set. 2001.
5. AKAKI, E., MANSUR, H.S. et al. Análise por microscopia eletrônica e EDS de cimentos resinosos odontológicos com incorporação de agentes antimicrobianos. In: III CONGRESSO LATINOAMERICANO DE ÓRGÃOS ARTIFICIAIS E BIOMATERIAIS. Campinas. 2004a.
6. AKAKI, E., MANSUR, H.S. et al. MEV/EDS e FTIR de cimentos resinosos com incorporação de antimicrobianos. In: VIII ENCONTRO DE PESQUISA DAS FACULDADES DE ODONTOLOGIA DA UFMG. Belo Horizonte 2004b.
7. AKAKI, E. MANSUR, H.S. et al. Análise pelo MEV e EDX de cimentos resinosos odontológicos com incorporação de agentes antimicrobianos submetidos à calcinação seletiva. In: I^o CONGRESSO BRASILEIRO DE BIOMATERIAIS EM

ODONTOLOGIA. v.1, p. 86-91. Natal. 2004c.

8. AKAKI, E. MANSUR, H.S. et al. SEM/EDX and FTIR characterization of a dental resin cement with antibacterial agents incorporated. *Key Engin. Mat.*, v. 284-286, p. 391-394. 2005.
9. AMARO NETO, LEVI, G.C., LOPES, H.V. et al. *Antibióticos na prática médica*. 3.ed. São Paulo: Sarvier, 1985. 209p.
10. ANDRADE, A.L., DAHM, I., DOMÍNGUEZ, R.Z. Tetracycline release by different glassy compounds. In: III CONGRESSO LATINOAMERICANO DE ÓRGÃOS ARTIFICIAIS E BIOMATERIAIS. Campinas. 2004.
11. ANUSAVICE, K.J. *Phillips Materiais Dentários*. 10.Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. Cap.25: Cimentos para cimentação, p.534-575.
12. ATTAR, N., TAM, L.E, McCOMB, D. Mechanical and physical properties of contemporary dental luting agents. *J. Prosthet. Dent.*, Saint Louis. v.89, n.2, p.127-134. Feb. 2003.
13. BALANKY, T.E., SANDHAM, H.J. Development of sustained-release antimicrobial dental varnishes; effective against *Streptococcus mutans in vitro*. *J. Dent. Res.*, Alexandria ,v.64, n.12, p. 1356-1360. Dec. 1985.
14. BAPNA, M.S., MURPHY, R., MUKHERJEE, S. Inhibition of bacterial colonization by antimicrobial agents incorporated into dental resins. *J. Oral. Rehabil.*, Oxford, v. 15, n.5, p. 405-411, Sep. 1988.
15. BAPNA, M.S., MUKHERJEE, S. MURPHY, R. The antimicrobial effect of an iron-binding agent on *Streptococcus mutans*. *J. Oral Rehabil.*, Oxford. v.19, n.2, p. 111-113, Mar. 1992.
16. BARO. M. et al. In vitro-in vivo characterization of gentamicin bone implants. *J. Control. Release.*, Minneapolis, v.83, n,3, p. 353-364. Oct.

2002.

17. BOECKH, C., SCHUMACHER, E. et al. Antibacterial activity of restorative dental biomaterials in vitro. *Caries Res.*, Basel, v.36, n.2, p. 101-107, Mar.-Apr.. 2002.
18. BOWEN, R.L. Dental filling material comprising vinyl-silane-treated fused silica and a binder consisting of the reaction product of bisphenol and glycidil methacrylate. US Patent 3, 006, 112, 1962.
19. BUONOCORE, R.L. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. *J. Dent. Res.*, Alexandria, v.34, n.6, p. 849-853. June.1955.
20. BURTIS, C.A., ASWOOD, E.R., ALDRICH, J.E. *Tietz fundamentos de clínica química*. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1998. 839p.
21. CARVALHO, J.M., GOES,M., SINHORETI, A. Variação dimensional de agentes cimentantes resinosos. *Rev. APCD*, São Paulo, v.16, n.3, p.96-100, maio/junho 1998.
22. CHRISTENSEN, G. J. Setting nonmetal crowns or fixed partial dentures with resin cement. Comparison of elastomeric impression materials used in fixed prosthodontics. *J. Am. Dent. Assoc.*, Chicago, v.129, n.2, p.239-241, Feb. 1998.
23. CHUNG, K., GREENER, E.H. Correlation between degree of conversion, filler concentration and mechanical properties of posterior composite resins. *J. Oral Rehabil.*, Oxford, v.17, n.5, p.487-494. May. 1990.
24. CHA, D.S., CHINNAN, M.S. Biopolymer-based antimicrobial packaging: a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, v.44, n.4, p.223-237. May. 2004.
25. CICCONE, J.C. et al. Avaliação *in vitro* de diferentes materiais restauradores. *Materials Research.*, Keystone drive. v.7, n.2, p.231-234. Mar. 2004.

26. COOGAN, M.M., CREAVENT, P.J. Antibacterial properties of eight dental cements. *Int. Endod. J.*, Viena. v. 26, n.6, p. 355-361, Nov. 1993.
27. CRAIG, R. *Restorative Dental Materials*. 10.ed. Saint Louis: Mosby, 1997. Cap. 8: Cements, p. 172-208.
28. CURY, J.A. Controle químico da placa dental. *Promoção de saúde bucal*. São Paulo: Artes Médicas, 2.ed., 1999. Cap.7, p. 131-140.
29. CURY, J. A. Dentifrícios: como escolher e como indicar. In: CARDOSO, R. J. A., GONÇALVES, E. A. N. *Odontopediatria e prevenção*. 1. ed., 2002. Cap. 16, 281 – 295.
30. DANESHMAND, N. et al. Initial effect of controlled release chlorhexidine on subgingival microorganisms. *J. Periodont. Res.*, Oxford. v.37, n.5, p. 375-379. Oct. 2002.
31. DARR, A.H., JACOBSEN, P.H. Conversion of dual cure luting cements. *J. Oral Rehabil.*, Oxford. v.22, n.1, p.43-47. Jan. 1995.
32. DIESTCHI, D., MAGINE, A., HOLZ, F. Resin cements viscosity. *J. Prosthet. Dent.*, St. Louis, v.62, n.2, p.142-145, Aug. 1994.
33. DIETSCHI, D., SPREAFICO, R. *Restaurações adesivas: conceitos atuais para o tratamento estético de dentes posteriores*. 1 ed. São Paulo: Quintessence, 1997. 215p.
34. EBI, N., IMAZATO, E. N., et al. Inhibitory effects of resin composite containing bactericide-immobilized filler on plaque accumulation. *Dent. Mater.*, Oxford. v. 17, n.6, p. 485-491, Nov. 2001.
35. EHARA, A., TORII, M. et al. Antibacterial activities and release kinetics of a newly developed recoverable controlled agent-release system. *J. Dent. Res.*, Washington, v. 79,n. 3, p. 824-828, Mar. 2000.
36. EL-BADRAWY, W.A., EL-MOWAFAY, O.M. Chemical versus dual curing of resin inlay cements. *J. Prosthet. Dent.*, Saint Louis, v.73, n. 6, p.515-

524. June.1995.

37. ESTRELA, C. Antimicrobial effect of 2% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine tested by different methods. *Braz. Dent. J.*, Ribeirão Preto. v. 14, n.1, p.58-62. jan-jul. 2003.
38. FRAGA, R.C., SIQUEIRA JR., J. F., et al. In vitro evaluation of antibacterial effects of photo-cured glass ionomer liners and dentin bonding agents during setting. *J. Prosthet. Dent.*, Saint Louis, v. 76, n. 5, p. 483-486, Nov. 1996.
39. FRANÇA, J.L., BORGES, S.M., VASCONCELLOS, A.C., et al. *Manual para normalização de publicações técnico-científicas*. 4.ed. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2000. 213p.
40. FRIEDMAN, M., GOLOMB, G. New sustained release dosage form of chlorhexidine for dental use. *J. Periodontol. Res.*, Oxford. v.17, n.5, p. 323-328. Oct. 1982.
41. GARONE, N, BURGUER, F.G. Atualidades nos cimentos resinosos. *Rev. Odontol. Univ. São Paulo*, São Paulo, v.4, n.1, p.31-37, jan./mar. 1996.
42. GÖPFERICH, A. Mechanism of polymer degradation and erosion. *Biomaterials.*, Oxford. v.17, n.1, p. 103-114. Jan. 1996.
43. HENNESSEY, T.D. Some antibacterial properties of chlorhexidine. *J. Periodontol. Res.*, Oxford. v.8, p.61-67. 1973. (Suppl.)
44. HERRERA, M., CASTILLO, A. et al. Antibacterial activity of resin adhesives, glass ionomer cements and a compomer in contact with dentin caries samples. *Oper. Dent.*, Seattle, v. 25, n.4, p. 265-269, Jul-Aug. 2000.
45. HUGO, W. B., LONGWORTH, A.R. Some aspects of the mode of action of chlorhexidine. *J. Pharmacy Pharmacol.*, Washington. v.2, n.4, p. 397-404, Dec. 1964.

46. IMAZATO, S. Studies on composites containing chemically bound non-releasing antibacterial component. *Jpn. J. Conservative Dent.*, Tokyo. v.35, n.12, p.1109-1129. Dec. 1992.
47. IMAZATO, S, TORII, M., TSUCHITANI, Y. Immobilization of an antibacterial component in composite resin. *Dentistry in Japan*, Tokyo, v.30, n.1, p. 63-68, Jan. 1993.
48. IMAZATO, S., TORII, M. et al. Incorporation of bacterial inhibitor into resin composite. *J. Dent. Res.*, Alexandria, v. 73, n. 8, p. 1437-1443, Aug. 1994a.
49. IMAZATO, S., MCCABE, J.F. Influence of incorporation of antibacterial monomer on curing behavior of a dental composite. *J. Dent. Res.*, Alexandria, v. 73, n. 10, p. 1641-1645, Oct. 1994b.
50. IMAZATO, S., TORII, M., TSUCHITANI, Y. Antibacterial effect of composite incorporating Triclosan against *Streptococcus mutans*. *J. Osaka Univ. Dent.*, Osaka, v. 35, n.12, p. 5-11, Dec. 1995a.
51. IMAZATO, S., RUSSELL, R.R., MCCABE, J.F. Antibacterial activity of MDPB polymer incorporated in dental resin. *J. Dent.*, Guildford, v. 23, n. 3, p. 177-181, Jun. 1995b.
52. IMAZATO, S., EHARA, A. et al. Antibacterial activity of dentine primer containing MDPB after curing. *J. Dent.*, Guildford, v. 26, n.3, p. 267-271, Mar. 1998a.
53. IMAZATO, S. IMAI, T. et al. Antibacterial activity of cured dental resin incorporating the antibacterial monomer MDPB and an adhesion-promoting monomer. *J. Biomed. Mater. Res.*, Oxford. v. 39, n. 4, p. 511-515, Mar. 1998b.
54. IMAZATO, S., EBI, N. et al. Bactericidal activity and cytotoxicity of antibacterial monomer MDPB. *Biomaterials*, Oxford. v. 20, n.9, p. 899-903, May. 1999.

55. IMAZATO, SATOSHI. Antibacterial properties of resin composites and dentin bonding systems. *Dental Mater.*, Oxford. v.19, n.5, p. 449-457. May. 2003a.
56. IMAZATO, S. et al. Antibacterial activity of bactericide-immobilized filler of resin-based restoratives. *Biomaterials*, Oxford. v.24, n.12, p.3605-3609. Dec. 2003b.
57. INOKOSHI et al. *J. Oral Rehabil.*, Oxford, v.17, n.4, p.303-310, July 1991.
58. JAARDA, M.J. A regression analysis of filler particle content to predict composite wear. *J. Prosthet. Dent.*, Saint Louis.v.77, n.1, p.57-67. Jan. 1997.
59. JEDRYCHOWSKI, J.R., CAPUTO, A.A., KERPER, S. Antibacterial and mechanical properties of restorative materials combined with chlorhexidines. *J. Oral. Rehabil.*, Oxford, v. 10, n. 5, p. 373-381, Sep. 1983.
60. JEWETZ, E. Princípios da ação medicamentosa antimicrobiana. In: KATZUNG, B. G. *Farmacologia: básica e clínica*. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994. Cap. 42, p. 463 – 469.
61. JORDAN, S.L., TAYLOR, L.T. The analysis of triclosan in toothpaste via LC/FT-IR mobile phase elimination AN-20. Available from internet://dvlcwebpage/dbdata/docs/an_20.htm1 -6p. 22 may 2000.
62. JORGE, A. O. C. *Microbiologia bucal*. São Paulo: Santos, 1995. 121p.
63. KALACHANDRA, D.M.L., OFFENBACHER, J.V. A polymeric device for delivery of anti-microbial and anti-fungal drugs in the oral environment: effect of temperature and medium on the rate of drug release. *Dental Mater.*, Oxford. v. 19, n.7 p.589-596. Nov. 2003.
64. KALYON, B. D., OLGUN, U. Antibacterial efficacy of triclosan-incorporated polymers. *Am. J. Infect. Control.*, Washington. v.29, n.2 p.

- 124-126. April. 2001.
65. KARAMAN, A. I., UYSAL, T. Effectiveness of a hydrophilic primer when different antimicrobial agents are mixed. *Angle Orthod.*, Huntsville, v.74, n.3. p.414-419. Jun. 2004.
 66. KARANIKA-KOUMA, A. et al. Antibacterial properties dentin bonding systems, polyacid-modified composite resins and composite resins. *J. Oral Rehabil.*, Oxford. v. 28, n.2, p. 157-160. Feb. 2001.
 67. KAWAI, K., TORII, M. et al. Effect of resin components on the growth of *Streptococcus mutans*. *J. Osaka Univ. Dent. Sch.*, Osaka, v. 28, p. 161-170, Dec. 1988.
 68. KAWASHITA, M., TSUNEYAMA, S. et al. Antibacterial silver-containing silica glass prepared by sol-gel method. *Biomaterials*, Oxford. v. 21, n. 4, p. 393-398, Feb. 2000.
 69. KJAERHEIM, V., WAALER, S.M., RÖLLA, G. Significance of choice of solvents for the clinical effect of triclosan-containing mouth rinses. *Scand. J. Dent. Res.*, Oslo. v.102, n. 3, p.202-205. April. 1994.
 70. KUDOU, Y. OBARA, K. et al. Addition of antibacterial agents to MMA-TBB dentin bonding systems – influence on tensile bond strength and antibacterial effect. *Dent. Mater.*, Tokyo. v. 19, n, 1, p. 65-74, Mar. 2000.
 71. LAUTENSCHLAGER et al. Mechanical properties of bone cements containing large doses of antibiotics powders. *J. Biomed. Mat. Res.*, Hoboken, v.10, n.10, p.929-935. Oct. 1976.
 72. LEE, I.B., UM, C.M. Thermal analysis on the cure speed of dual cured resin cements under porcelain inlays. *J. Oral. Rehabil.*, Oxford. v. 28, n. 2. p. 186-197. Feb. 2001.
 73. LEINFELDER, F. ISENBERG, R., KAWAI, K. Wear resistance of resin

- cements. *Br. Dent. J.*, London, v.149, n.5, p.73-79, Aug. 1993.
74. LEINFELDER, F., SUZUKI, S., SHINKAI, M. Wear resistance of resin cements. *Am. J. Dent.*, Weston, v.8, n.2, p.83-87, Apr. 1995.
 75. LIMA, A. O., SOARES, J. B., GRECO, J.B. *Métodos de laboratório aplicados à clínica*. 7.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. Cap. 7: Elementos de técnica bacteriológica, p. 71-76.
 76. LÖE, H. CCHIÖTT, C.R. The effect of mouth rinses and topical application of chlorhexidine on the development of dental plaque and gingivitis in man. *J. Periodontol. Res.*, Oxford. v.5, n.1. p. 79-83. Jan. 1970.
 77. LOYOLA-RODRIGUEZ, J.P., GARCIA-GODOY, F. Antibacterial activity of fluoride release sealants on *Streptococci mutans*. *J. Clin. Pediatr. Dent.*, v. 20, n. 2, p. 109-111, Jan. 1996.
 78. MANSON, J. .D, ELEY, B.M. *Manual de Periodontia*. São Paulo: SANTOS, 1989, 1.ed. 370p.
 79. MANSUR, HERMAM SANDER. *Manual de caracterização de superfícies e materiais*. 1.ed. Belo Horizonte: Caracterização de superfícies, Tópicos especiais. 2000. 311p.
 80. MAREL, H.W., BEUTELSPACHER,H. *Atlas of infrared spectroscopy of clay minerals and their admixtures*. Amsterdam: Elsevier.396p. 1976.
 81. MEDLICOTT, N.J. et al. Preliminary release studies of chlorhexidine (base and diacetate) from poly(ϵ -caprolactone) films prepared by solvent evaporation. *Int. J. Pharm.*, Wallingford. v.84, n.1.p, 85-89. Jan. 1992.
 82. MEDLICOTT, N.J. et al. Chlorhexidine release from poly(ϵ -caprolactone) films prepared by solvent evaporation. *Int. J. Pharm.*, Wallingford. v. 143, n.4, p. 25-35. Sep.1996.

83. MEDLICOTT, N.J. et al. Local delivery of chlorhexidine using a tooth-bonded delivery system. *J. Control. Rel.*, Minneapolis, v.61, n.3, p. 337-343. Sep. 1999.
84. MEIERS, J. C., MILLER, G. A. Antibacterial activity of dentin bonding systems, resin-modified glass ionomers, and polyacid-modified composite resins. *Oper. Dent.*, Seattle, v. 21, n.6, p. 257-264, Nov. 1996.
85. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria Nacional de Assistência à saúde. Manual de procedimentos básicos em microbiologia clínica para o controle da infecção hospitalar. Brasília. 19991. 92p.
86. MOFFAT, A.C. *Clarke's isolation and identification of drugs*: in pharmaceuticals, body fluids and post-mortem material. 2.ed. London: The Pharmaceutical Press. 1223p.
87. MORMANN, D. Resin cements performance. *J. Am. Dent. Assoc.*, Chicago, v.87, n.1, p.126-130, July. 1990.
88. NERURKAR, M. J., ZENTNER, G.M., RYTTING, J.H. Effect of chloride on the release of chlorhexidine salts from methyl methacrylate: 2-hydroxyethyl methacrylate copolymer reservoir devices. *J. Control. Release*, Minneapolis, v.33, n.3,p.357-363. Mar. 1995.
89. NEVES, A.D., ORÉFICE, R.L., DISCACCIATI, J.A.C., JANSEN, W.C. Correlação entre o grau de conversão, microdureza e conteúdo inorgânico em compósitos. *Pesqui. Odontol. Bras.*, São Paulo. v.16, n.4, p.349-354. dez. 2002.
90. NEWBRUN, E. *Cariologia*. São Paulo: Santos, 1988. 326p. Cap.6: Depósitos dentários, p. 161-229.
91. NURIT, B, IRA, Y. RAN, B. et al. Antibacterial activity of dental composites containing quaternary ammonium polyethylenimine nanoparticles against *Streptococcus mutans*. *Biomaterials*, Oxford, v.27, n.21, p.3995-4002, July. 2006.
92. NYVAD, B., FEJERSKOV, O. *Desenvolvimento, estrutura e pH da placa*. In: THYLSTRUP, A., FEJERSKOV, O. *Cariologia clínica*. 2.ed. São

- Paulo: Santos, 1995. Cap. 5, p. 89 –110.
93. O'NEAL, S.D., MIRACLE, M., LEIFELDER, F. Resin cements microleakage. *J. Dent. Res.*, Alexandria, v.59, n.7, p.1152-1155, July. 1993.
 94. OGAWA, C.A., PIEPS, A.N.G., Preliminary studies of ciprofloxacin delivery in hydroxyapatite:collagen composite. *Rev. Bras. Eng. Biomed.*, v.17, n.3, p.123-130. set/dez. 2001.
 95. ORÉFICE, R.L., DISCACCIATI, J.A.C., NEVES, A.D., MANSUR, H.S., JANSEN, W.C. In situ evaluation of the polymerization kinetics and corresponding evolution of the mechanical properties of dental composites. *Polymer testing.*, Shropshire. v.22, n.1, p.77-81. Feb. 2003.
 96. OSINAGA, P. W.R. et al. Zinc sulfate addition to glass-ionomer-based cements: influence on physical and antibacterial properties, zinc ad fluoride release. *Dental Materials.* Oxford. v.19, n.3 p. 212-217. May 2003.
 97. PAGANI, D.F., GALATI, D.J., D'ALMEIDA, M. Resin Cements: actuality. *J. Prosthet. Dent.*, St. Louis, v.70, n.5, p.503-511, Nov. 2000.
 98. PALLAV, S. et al. The influence of admixing microfiller to small particle composite resin on wear, tensile strength, hardness and surface roughness. *J. Dent. Res.*, Alexandria ,v.68, n.3 . p.489-490. Mar.. 1989.
 99. PASTEUR, L., JOUBERT, J. Carbone et septicemie. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, n.85, p. 101–115,1877.
 100. PHILLIPS, R.W. *Skinner Materiais dentários*. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. Cap. 25: Cimentos para cimentação, p.276-290.
 101. PRATI, C., FAVA, F. et al. Antibacterial effectiveness of dentin bonding systems. *Dent. Mater.*, Oxford. v. 9, n. 6, p. 338-343, Nov. 1993.
 102. PROBER, C. Princípios de antibioticoterapia. In: KALANT, H., ROSCHLAU, W.H.E. *Princípios de farmacologia médica*. 5.ed. Rio de

Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. Cap. 52, p. 437 – 441.

103. REGES, R.V. et al. Análise quantitativa do conteúdo de carga inorgânica das resinas compostas. *Pós-Graduação Rev.*, São José dos Campos, v.5, n.2, p. 18-22, maio/ago. 2002.
104. REGOS, J., HITZ, H.R. Investigations on the mode of action of triclosan, abroad-spectrum antibacterial agent. *Zentralbl. Bakteriol.* v.226, n.3, p.390-401. 1974.
105. ROCHA FILHO, ROBERTO. Avaliação de monômero residual em resinas acrílicas ativadas quimicamente: Análise por espectroscopia. Belo Horizonte: PUC-MG, 2003. 143p. (Dissertação, mestrado, área de concentração: Prótese Dentária).
106. SANDER, HERBERT HAUESEIN. *Análise in vitro da atividade antibacteriana de cimentos de ionômero de vidro restauradores*. Belo Horizonte: Faculdade de Odontologia da UFMG, 1997.105p. (Dissertação, Mestrado em Odontologia, área de concentração: Clínica Odontológica).
107. SANDERS, B.J., GREGORY, K., et al. Antibacterial and physical properties of resin modified glass-ionomers combined with chlorhexidine. *J. Oral Rehabil.*, Oxford. v.29, n.6, p. 553-558. June. 2002.
108. SANTOS, E. M., et al. Toxicidade de diferentes concentrações de clorexidina líquida e gel em cultura celular. *Pesqui. Odontol. Bras.*, v.14, supl (Anais da 17^o Reunião Anual da SBPqO), p. 127, 2000.
109. SCHAEKEN, M.J.M, HAAN, P. Effects of sustained-release chlorhexidine acetate on the human dental plaque flora. *J. Dent. Res.* Alexandria ,v.68, n.2, p. 119-123. Feb. 1989.
110. SCHÄFFER, A, ZOBLER, C. Adhesive system using resin cements. *J. Prosthet. Dent.*, St. Louis, v.54, n.6, p.648-654, June. 1991.

111. SCHWARTZMAN, B. CAPUTO, A.A., SCHEIN, B. Antimicrobial action of dental cements. *J. Prosthet. Dent.*, Saint Louis. v.43, n.3, p. 309-312. Mar. 1980.
112. SEYMOUR, R. A., HEASMAN, P. A. *Drugs, diseases and the periodontium*. Nova York: Oxford University, 1992, p. 206.
113. SHET, G., JENE, F.H., SHET, G, J. Adhesive and resin cements microleakage *J. Am. Dent. Assoc.*, Chicago, v.51, n.5, p.523-536, Nov. 1989.
114. SILVERSTEIN, R.M., BASSLER, G.C., MORRIL, T.C. *Identificação espectrofotométrica de compostos orgânicos*. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994. 387p.
115. SINNES, E. P. Controle químico da placa bacteriana. In: LASCALA, L. T. *Prevenção na clínica odontológica: promoção de saúde bucal*. 1. ed. São Paulo: Artes Médicas, 1997. Cap. 11, p. 173 – 185.
116. SOARES, R.G. et al. Resin cement thickness. *J. Prosthet. Dent.*, St. Louis, v.66, n.4, p.377-385, Oct. 1998.
117. SYAFI UDDIN, T., HISAMITSU, H. In vitro inhibition of caries around a resin composite restoration containing antibacterial filler. *Biomaterials*, Oxford. v. 18, n. 15, p. 1051-1057, Aug. 1997.
118. TANAGAWA, M., YOSHIDA, K., et al. Inhibitory effect of antibacterial resin composite against *Streptococcus mutans*. *Caries Res*. Chicago. v. 33, n. 5, p. 366-371, Sep-Oct. 2000.
119. THORDRUP, F., ISIDOR, H.G., HORSTED-BINDSLEV, A. Indirect restorations. *J. Prosthet. Dent.*, St. Louis, v.62, n.3, p.305-313, Sep. 1994.
120. THYLSTRUP, A., FEJERSKOV, O. *Cariologia clínica*. 2.ed. São Paulo: Santos, 2001. 421p.

121. VAIDYANATHAN, T.K., et al. Thermo analytical characterization of visible light cure dental composites. *J. Oral Rehabil.*, Oxford. V.19, n.1, p. 49-64. Jan. 1992.
122. VAN DIJKEN, J.W., KALFAS, S. et al. Fluoride and *mutans streptococci* levels in plaque on aged restorations of resin-modified glass ionomer cement, compomer and resin composite. *Caries Res.*, Chicago. v. 31, n. 5, p. 379-383, Oct. 1997.
123. VERZIDJEN, A. et al. Cementing indirect resins. *J. Prosthet. Dent.*, St. Louis, v.56, n.1, p.4-8, July 1992.
124. VIEIRA et al. Características dos cimentos *Arq. Centro_ Estud. Curso Odontol.*, Belo Horizonte, v.18, n.1-2, p.15-20, jan./dez. 1995.
125. VILELA, D., ARAÚJO, L. F. Ativação dos cimentos resinosos. *Arq. Centro. Estud. Curso Odontol.*, Belo Horizonte, v.28, n.1-2, p.23-31, jan./dez. 1996.
126. YAMAGA et al. Hardness and fracture toughness of four comercial visible light-cured composite resin veneering materials. *J. Oral Rehabil.*, Oxford, v.22, n.12, p.857-863. Dec. 1995.
127. YAMAMOTO, K., OHASHI, S. et al. Antibacterial activity of silver ions implanted in SiO₂ filler on oral streptococci. *Dent. Mater.*, Oxford. v. 12, n. 4, p. 227-229, Jul. 1996.
128. YIU, C. K. Y., WEY, S. H. I. Clinical efficacy of dentifrice in the control of calculus, plaque and gingivitis. *Quintessence Int.*, Chicago. v. 24, n.23, p. 181-188, Mar. 1993.
129. YOSHIDA et al. Marginal sealing of resin cements. *Br. Dent. J.*, London, v.159, n.4, p.118-120, Feb. 1996.
130. YOSHIDA, K., TANAGAWA, M., ATSUTA, M. Characterization and inhibitory effect of antibacterial dental resin composites incorporating silver-supported materials. *J. Biomed. Mater. Res.*, Chicago. v. 47, n. 4,

- p. 516-522, Dec. 1999.
131. YOSHIKAWA, K., CLARK, D.T., BRASILFORD, S.R. The effect of antibacterial monomer MDPB on the growth of organisms associated with root caries. *Dent. Mater. J.*, Tokyo, v.26, n.3, p.388-392. May-Jun. 2007.
 132. WALKER, G.H. et al. The effects of a 0,3% triclosan containing dentifrice on the microbial composition supragingival plaque. *J. Clin. Periodontol.*, Connecticut, v.21, n.5. p.334-341. May. 1994.
 133. WALKER, M.P., SPENCER, P., EICK, J.D. Mechanical characterization of resin cement after aqueous aging with and without cycling loading. *Dental Materials*, Oxford, v.19, n.7, p.645-652. Nov. 2003.
 134. WEISMAN, D. OLMSTEAD, M.L., KOWALSKI, J.J. In vitro evaluation of antibiotic elution from polymethylmethacrylate (PMMA) and mechanical assessment of antibiotic-PMMA composites. *Vet. Surg.*, Rockville. v. 29, n.3, p.245-251. May. 2000.
 135. WEYNE, JORGE. CARIOLOGIA. IN: BARATIERI, L. N. *Dentística: procedimentos preventivos e restauradores*. 2.ed. São Paulo: Santos. Cap.1, p. 1- 42.1992.
 136. WHITE, F., YU, M. G., Mikroleage on resin cements. *Br. Dent. J.*, London, v. 156, p. 134-137, Mar. 1994
 137. WILSON,A.D. et al. Experimental luting cements agents based on the glass ionomer cements. *Br. Dent. J.*, London, v. 122, p. 117-122. 1977.
 138. WILSON, S.J., WILSON, H.J. The release of chlorhexidine from modified dental acrylic resin. *J. Oral. Rehabil.*, Oxford. v.20, 3 p.311-319. Sep. 1993.
 139. ZHUKOVSKY et al. Film thickness of dental cements. *Br. Dent. J.*, London, v.164, n.4, p.221-225, Apr. 1997.

140. ZUCKERBRAUN, H.L., et al. Triclosan: citotoxicity, mode of action ad induction of apoptosis in human gingival cells *in vitro*. *Eur. J. Oral Sci.* London. v. 106, n.2, p.628-636. April. 1998.

ANEXO A

TABELA 1

Análise de variância das médias de microdureza Knoop entre os grupos que utilizaram o cimento resinoso C&B[®] e triclosan comparando as concentrações de 1 e 3% ($\alpha = 5\%$).

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	27,98	2	13,99	1,82	0,18	3,40
Dentro dos grupos	183,66	24	7,65			
Total	211,64	26				

TABELA 2

Análise de variância das médias de microdureza Knoop entre os grupos que utilizaram o cimento resinoso C&B[®] e clorexidina comparando as concentrações de 1 e 3% ($\alpha = 5\%$).

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	67,63	2	33,81	5,42	0,01	3,40
Dentro dos grupos	149,56	24	6,23			
Total	217,20	26				

TABELA 3

Análise de variância das médias de microdureza Knoop entre os grupos que utilizaram o cimento resinoso Fill Magic Dual cement[®] e clorexidina comparando as concentrações de 1 e 3% ($\alpha = 5\%$).

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	30,24	2	15,12	1,88	0,17	3,40
Dentro dos grupos	192,38	24	8,01			
Total	222,63	26				

TABELA 4

Análise de variância das médias de microdureza Knoop entre os grupos que utilizaram o cimento resinoso Fill Magic Dual cement[®] e triclosan comparando as concentrações de 1 e 3% ($\alpha = 5\%$).

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	5,84	2	2,92	0,30	0,74	3,40
Dentro dos grupos	231,85	24	9,66			
Total	237,70	26				

TABELA 5

Análise de variância das médias do halo de inibição em mm entre os grupos que utilizaram o cimento resinoso **C&B[®]** associado à **clorexidina** comparando as concentrações de 1 e 3% ($\alpha = 5\%$).

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	25,62	1	25,62	19,22	0,01	7,70
Dentro dos grupos	5,33	4	1,33			
Total	30,96	5				

TABELA 6

Análise de variância das médias do halo de inibição em mm entre os grupos que utilizaram o cimento resinoso **C&B[®]** associado à **clorexidina** comparando as concentrações de 1 e 3% ($\alpha = 5\%$).

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	137,28	1	137,28	60,83	0,00	7,70
Dentro dos grupos	9,02	4	2,25			
Total	146,30	5				

ANEXO B

TABELA 1

Análise de variância dos grupos que utilizaram o cimento resinoso **Fill Magic Dual Cement**[®] associado à **clorexidina** comparando as médias de liberação em µg/mL nas concentrações de **1%** e **3%** nos tempos de 3, 6 e 21 dias ($\alpha = 5\%$).

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	42,01	1	42,01	6,61	0,02	4,49
Dentro dos grupos	101,55	16	6,34			
Total	143,56	17				

TABELA 2

Análise de variância dos grupos que utilizaram o cimento resinoso **Fill Magic Dual Cement**[®] associado ao **triclosan** comparando as médias de liberação em µg/mL nas concentrações de **1%** e **3%** nos tempos de 3, 6 e 21 dias ($\alpha = 5\%$).

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	678,34	1	678,34	14,33	0,00	4,49
Dentro dos grupos	757,38	16	47,33			
Total	1435,73	17				

TABELA 3

Análise de variância dos grupos que utilizaram o cimento resinoso **C&B**[®] associado à **clorexidina** comparando as médias de liberação em µg/mL nas concentrações de **1%** e **3%** nos tempos de 3, 6 e 21 dias ($\alpha = 5\%$).

<i>Fonte da variação</i>	SQ	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	164,40	1	164,40	24,37	0,00	4,49
Dentro dos grupos	107,92	16	6,74			
Total	272,33	17				

TABELA 4

Análise de variância dos grupos que utilizaram o cimento resinoso **C&B[®]** associado ao **triclosan** comparando as médias de liberação em $\mu\text{g/mL}$ nas concentrações de **1%** e **3%** nos tempos de 3, 6 e 21 dias ($\alpha = 5\%$).

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	407,48	2	203,74	5,04	0,051	5,14
Dentro dos grupos	242,33	6	40,38			
Total	649,82	8				

ANEXO C

TABELA 1

Análise de variância das médias de espaços vazios, após tratamento térmico a 160°C, entre os grupos que utilizaram o cimento resinoso C&B[®] e triclosan comparando as concentrações de 1 e 3% ($\alpha = 5\%$).

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	1840,22	2	920,11	18,2	0,00	5,14
Dentro dos grupos	303,33	6	50,55			
Total	2143,55	8				

TABELA 2

Análise de variância das médias de espaços vazios, após tratamento térmico a 160°C, entre os grupos que utilizaram o cimento resinoso C&B[®] e clorexidina comparando as concentrações de 1 e 3% ($\alpha = 5\%$).

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	1910,22	2	955,11	25,35	0,00	5,14
Dentro dos grupos	226	6	37,66			
Total	2136,22	8				

TABELA 3

Análise de variância das médias de espaços vazios, após tratamento térmico a 160°C, entre os grupos que utilizaram o cimento resinoso Fill Magic Dual Cement[®] e triclosan comparando as concentrações de 1 e 3% ($\alpha = 5\%$).

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	1948,66	2	974,33	34,93	0,00	5,14
Dentro dos grupos	167,33	6	27,88			
Total	2116	8				

TABELA 4

Análise de variância das médias de espaços vazios, após tratamento térmico a 160°C, entre os grupos que utilizaram o cimento resinoso Fill Magic Dual Cement[®] e clorexidina comparando as concentrações de 1 e 3% ($\alpha = 5\%$).

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	1608,66	2	804,33	22,83	0,00	5,14
Dentro dos grupos	211,33	6	35,22			
Total	1820	8				