



Curso de Mestrado em Ciências Odontológicas

NÁDIA CRISTINA FECCHIO NASSER HORIUCHI

**EFETIVIDADE DO CIMENTO DE IONÔMERO DE VIDRO
ENRIQUECIDO COM CLOREXIDINA EM COLÔNIAS DE
*STREPTOCOCCUS MUTANS***

BARRETOS

2014



NÁDIA CRISTINA FECCHIO NASSER HORIUCHI

**EFETIVIDADE DO CIMENTO DE IONÔMERO DE VIDRO ENRIQUECIDO
COM CLOREXIDINA EM COLÔNIAS DE *STREPTOCOCCUS MUTANS***

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Ciências Odontológicas do Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos, para obtenção do título de Mestre em Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. Alex Tadeu Martins

Co-orientadora: Profa. Dra. Juliana Rico Pires

BARRETOS

2014

Folha de Aprovação

HORIUCHI, N.C.F.N. Efetividade do cimento de ionômero de vidro enriquecido com clorexidina em colônias de *Streptococcus mutans* [Dissertação de Mestrado]. Barretos: Curso de Mestrado em Ciências Odontológicas do Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos. UNIFEB; 2014.

Banca Examinadora

Prof. Dr. Alex Tadeu Martins
Orientador UNIFEB

Prof. Dr. Fábio Luiz Sccanavino
UNIFEB

Profa. Dra. Celina Antonio Prata

Barretos, ____/____/____

DADOS CURRICULARES

NÁDIA CRISTINA FECCHIO NASSER HORIUCHI

Nascimento	19.12.1983 – SÃO PAULO/SP
Filiação	Lídia Aparecida Fecchio Nasser Horiuchi Noboru Horiuchi
2003/2007	Curso de graduação em Odontologia pela Universidade de Ribeirão Preto – UNAERP
2008/2010	Curso de Especialização em Radiologia Odontológica e Imaginologia pela Universidade de Ribeirão Preto – UNAERP
2008/2010	Curso de Especialização em Ortodontia pela Universidade de Ribeirão Preto – UNAERP
2012/2014	Curso de Mestrado em Ciências Odontológicas do Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos
2012/atual	Professora titular no Curso de graduação em Odontologia pela Faculdade Mineirense - FAMA

DEDICATÓRIA

*A **Deus**, por ser essencial em minha vida, autor de meu destino, meu guia, socorro presente nas horas de angústia.*

*A minha mãe **Lídia Aparecida Fecchio Nasser Horiuchi**, heroína que me deu apoio, incentivo nas horas difíceis, de desânimo e cansaço. Sempre me colocando no caminho certo sem poupar esforços.*

*Ao meu irmão **Zigomar Hideo Fecchio Nasser Horiuchi**, que nos momentos de minha ausência, sempre se fez entender que o futuro é feito a partir da constante dedicação no presente! Se não fosse por ele não estaria concluindo essa nova etapa.*

*Ao meu pai **Noboru Horiuchi**, que mesmo na distância se fez presente.*

*Só uma coisa mais a dizer **AMO VOCÊS!!!***

AGRADECIMENTOS

A todos os Professores do Programa de Pós Graduação em Ciências Odontológicas: Ana Emília Farias Pontes, Elizangela Partata Zuza, Sabrina Luzia Caetano, Celso Eduardo Sakakura, Elcio Marcantonio Junior, Felipe Leite Coletti, Patrícia Amoroso de Andrade, Fábio Luiz Sccanavino, pela convivência harmoniosa e conhecimentos transferidos. Em especial aos professores Fernando Salimon Ribeiro e Valdir Gouveia Garcia, que são mais que meus professores, tornaram-se meus grandes amigos!

A profa. Dra. Celina Antonio Prata, por ter aceitado o convite de abrilhantar a banca examinadora e transmitir seus conhecimentos

A todos os amigos da pós graduação, pela parceria, amizade e convívio durante esses anos. Especialmente Laura Alves Machado, Renata Moya e Mônica Oliveira Carrijo, que foram grandes incentivadoras e confidentes durante toda a trajetória.

A nossas queridas colaboradoras: Sonia Regina Augusto Lopes, Claudia Oliveira, Gabrieli Brianêz, Rafaella Silva Sousa Costa, Amanda Oliveira Trindade, por serem sempre atenciosas e pela paciência.

A todos os funcionários da Clínica de Odontologia pela competência e dedicação.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para que essa meta fosse concluída.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao Prof. Dr. Benedicto Egbert Corrêa de Toledo, grande coordenador do curso de mestrado em ciências odontológicas da UNIFEB, sempre acessível e disposto a ajudar a hora que fosse incentivando e encorajando.

Ao meu exímio orientador Prof. Dr. Alex Tadeu Martins, pela confiança e apoio durante todo o nosso trabalho. Pessoa simples, de imenso coração que não mediu esforços para a confecção do trabalho. Obrigada por todo o aprendizado e posso dizer que tenho orgulho de ser sua (des)orientada!

A Profa. Dra. Juliana Rico Pires, co-orientadora, parte essencial para o desenvolvimento do trabalho. Amiga que até nas horas de chamar a atenção sabia conduzir de forma exemplar. Agradeço por tudo!

SUMÁRIO

RESUMO.....	8
ABSTRACT.....	9
1 INTRODUÇÃO.....	10
2 PROPOSIÇÃO.....	18
3 METODOLOGIA.....	19
4 RESULTADOS.....	22
5 DISCUSSÃO.....	26
6 CONCLUSÃO.....	30
7 REFERÊNCIAS.....	31

RESUMO

Horiuchi, N. C. F. N. Efetividade do cimento de ionômero de vidro enriquecido com clorexidina em colônias de *Streptococcus mutans* [Dissertação de Mestrado]. Barretos: Curso de Mestrado em Ciências Odontológicas do Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos. UNIFEB; 2014.

O biofilme dentário é o agente determinante de doenças bucais como a cárie e a doença periodontal. Com a finalidade de impedir a instalação e/ou desenvolvimento das doenças bucais, a higienização bucal representa um método básico e efetivo. Em indivíduos nos quais a aplicação do método citado não ocorre de modo eficiente, a utilização de agentes químicos para controle do biofilme é indicada. O objetivo deste trabalho foi avaliar a efetividade contra *Streptococcus mutans* de um cimento de ionômero de vidro (CIV) enriquecido por diacetato de clorexidina. Para isso, foram utilizados discos de cimento de ionômero de vidro convencional e enriquecido com diacetato de clorexidina a 1% que permaneceram imersos em solução de cloreto de sódio a 0,9% por 24, 48 e 72 horas. Após os períodos de imersão, os discos foram inseridos em placas de Petri contendo cepas padrão de *Streptococcus mutans*. As placas foram encubadas em microaerofilia e os halos de inibição de crescimento do micro-organismo, foram medidos após 48h. Os halos de inibição de crescimento microbianos ocorreram exclusivamente nas placas que continham cimento de ionômero de vidro associado à clorexidina, sendo que a média, em mm², para o grupo que permaneceu imerso por 24 horas foi de 56,91, para o grupo de 48 horas foi de 209,26 e 152,95 para o de 72 horas. Na comparação entre os grupos que continham clorexidina, verificou-se que os maiores halos foram obtidos após 48 horas de imersão. Pode-se concluir que o CIV enriquecido com diacetato de clorexidina a 1% é efetivo na inibição do crescimento de *Streptococcus mutans* em todos os períodos deste estudo sendo o período de 48 horas o de maior efetividade.

Palavras-chave: Cimento de ionômero de vidro, clorexidina, *Streptococcus mutans*.

ABSTRACT

Horiuchi, N. C. F. N. Effectiveness of cement glass ionomer enriched with chlorhexidine in colonies of *streptococcus mutans*. [Dissertation]. Barretos: Master's Degree in Dental Science of UNIFEB, 2014

The biofilm is the determinant of oral diseases such as caries and periodontal disease agent. In order to prevent the installation and / or development of oral diseases, oral hygiene is a basic and effective method. In individuals in whom the application of the method mentioned does not occur efficiently, the use of chemical agents to control biofilm is indicated. The objective of this study was to evaluate the effectiveness against *Streptococcus mutans* of a glass ionomer cement (GIC) enriched with chlorhexidine diacetate. For this, cement discs of conventional GIC were used and supplemented with chlorhexidine diacetate 1% that remained immersed in sodium chloride 0.9% for 24, 48 and 72 hours. After the soaking periods, the disks were placed in Petri dishes containing standard strains of *Streptococcus mutans*. The plates were incubated in microaerophilic and the inhibition of microorganism growth were measured after 48 hours. The inhibition of microbial growth occurred exclusively in plates containing GIC associated with chlorhexidine, while the average in mm², for the group that remained immersed for 24 hours was 56.91, for the group of 48 hours was 209.26 and 152.95 for 72 hours. In comparison between groups containing chlorhexidine, it was found that the larger zones were obtained after 48 hours of immersion. It can be concluded that the MIC chlorhexidine diacetate supplemented with 1% is effective in inhibiting the growth of *Streptococcus mutans* in all periods of the study and the 48 hour period the most effective

Keywords: Glass ionomer cement, chlorhexidine, *Streptococcus mutans*.

1 INTRODUÇÃO

O biofilme dentário corresponde a um agregado organizado de bactérias e glicoproteínas, aderidas firmemente ao dente, que se prolifera com o passar do tempo. Este consórcio microbiano se apresenta bem definido microscopicamente, com células bacterianas bem arranjadas em grupos ou colônias permeáveis devido à sua porosidade, permitindo dessa forma a entrada de fluido gengival, saliva e líquidos da dieta que irão influenciar no seu crescimento (Eto et al., 2003). É na região do sulco gengival que a colonização microbiana se inicia, sendo que o número de novos micro-organismos aumenta por multiplicação e por retenção de novos micro-organismos. Para o desenvolvimento das doenças cárie e periodontal, o acúmulo de biofilme dentário é considerado um pré-requisito importante (Reche, 2005).

A identificação completa destes micro-organismos ainda não está totalmente estabelecida, mas é claro que a doença periodontal é causada por estes (Eto et al., 2003). Evidências mostram que a doença periodontal é causada pelo acúmulo de componentes microbianos do biofilme dentário no interior das áreas subgengivais do periodonto e a capacidade de adesão das *Porphyromonas gingivalis* nas superfícies de outras bactérias, principalmente dos *Streptococcus mutans*. Dessa forma a prevenção e a adequação do meio são fatores primordiais na restituição da saúde bucal (Bruschi, 2006).

A doença periodontal é a segunda maior causa de patologia bucal, considerada uma infecção crônica na maioria das vezes, produzida por bactérias gram-negativas. Evolui continuamente com períodos de exacerbação e de remissão resultando em uma doença inflamatória. A progressão da doença é influenciada pela capacidade do hospedeiro em resistir à agressão, pelas características morfológicas dos tecidos afetados e pelas propriedades agressoras dos micro-organismos envolvidos (Almeida et al., 2006).

A cárie é uma doença multifatorial e infecciosa que, através da ação dos ácidos produzidos pelos micro-organismos que colonizam o local e na presença de carboidratos fermentáveis, leva à dissolução dos tecidos mineralizados dos dentes. Além do fator tempo, são necessários outros três fatores, definidos com essenciais para seu aparecimento, que são: o biofilme cariogênico, o substrato adequado e o hospedeiro susceptível. A doença não

se desenvolverá se um desses fatores não estiver presente. Devido à produção de glucosiltransferase e a presença de proteína celular superficial, acredita-se que o *Streptococcus mutans* seja o principal responsável pela ocorrência da cárie. Esta é uma doença de alta incidência na população, causando perdas precoces de primeiros molares permanentes em crianças de 7 a 8 anos (Abiko, 2000; Luca-Fraga & Pimenta, 2001; Amaral et al., 2006).

A prevenção é a melhor maneira de se evitar o aparecimento das doenças, além de evitar maiores danos, pois é uma maneira eficaz e de baixo custo que pode ser feita por meio da motivação e educação dos pacientes (Santos et al., 2003).

O controle químico é outra maneira de se prevenir a instalação de doenças na cavidade bucal. É uma alternativa coadjuvante efetiva para o controle mecânico, melhorando o padrão de saúde bucal daqueles que não podem ou não conseguem praticar o autocuidado ideal da sua higiene bucal (Reche, 2005). Dentre o controle químico, a clorexidina tem apresentado melhores resultados devido às suas propriedades como substantividade, eficiência clínica, estabilidade e segurança, embora existam inúmeros agentes químicos com capacidade de influenciar no desenvolvimento do biofilme dentário (Machado, 2007).

Em 1954, os efeitos da clorexidina foram descritos como um antimalárico, e em 1970, como um inibidor de biofilme dentário (Herrera et al., 2007). A clorexidina pode ser preparada sob forma de diversos sais, entre eles o acetato, cloridrato e o digluconato, que apresentam alto poder desinfetante, amplo espectro e não são tóxicos. Atua sobre bactérias gram-positivas, gram-negativas, vírus lipofílicos, fungos e leveduras (Farias et al., 2003; Reche, 2005).

A clorexidina apresenta efeito antimicrobiano maior que os outros agentes, devido sua capacidade de adsorção aos dentes e às superfícies mucosas com posterior liberação na cavidade bucal em níveis terapêuticos (Farias et al. 2003). Isso ocorre pelo fato da clorexidina ter afinidade com as superfícies bucais, proteínas, bactérias e polissacarídeos de origem bacteriana, originando a hipótese de que durante o bochecho, as moléculas de clorexidina se ligam às macromoléculas das superfícies bucais, liberando gradualmente um nível de concentração de clorexidina suficiente para criar um meio bacteriostático por um período de tempo (Reche, 2005).

A clorexidina também pode ser utilizada no combate à cárie, na fase de cicatrização após cirurgias periodontais e bucais, combater bacteremias pós-cirúrgicas, em pacientes com dificuldade de realizar a higienização bucal, prolongamento das consultas periodontais, implantes dentais, tratamento/inibição no número de colônias de *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* e *C. tropicalis* presentes na cavidade bucal (Farias et al., 2003; Herrera et al., 2007; Machado, 2007).

A ação da clorexidina ocorre através da sua adsorção na superfície da célula bacteriana, afetando a permeabilidade celular, causando pequenas rupturas na membrana citoplasmática, permitindo que a droga entre na célula precipitando seu citoplasma (Ramacciato, 2000).

Em concentrações baixas, é sugerida a prevalência de ação bacteriostática, com a molécula de clorexidina promovendo ligações cruzadas entre proteínas e o efeito passa a ser o de coagulação e precipitação de proteínas intracelulares, aumentando o efeito bactericida. A administração da clorexidina na cavidade bucal pode ser feita através de géis aplicados com moldeiras, dentifrícios, enxaguatórios, vernizes, spray e até por dispositivos de liberação lenta, sendo que estes por apresentarem falhas são considerados não seguros e/ou ineficazes (Carvalho & Araújo, 2004; Bruschi et al., 2006; Ferrarini et al., 2007). Apesar de ser amplamente utilizada, apresenta efeitos colaterais como descoloração dos dentes, língua e restaurações, além de alteração de paladar, descamação da mucosa, sensação de ardência e aumento de formação de cálculo dentário (Bay, 1978; Machado, 2007).

A partir dos estudos sobre o cimento de silicato, em 1960, foi descoberto o cimento de ionômero de vidro, no laboratório de Química do Governo Britânico, em Londres. Alan Wilson e Brian Kent, em 1972, descreveram uma massa intratável com endurecimento lento, como um novo cimento odontológico translúcido e deram o nome de ASPA (“aluminosilicate-polyacrylate”) ou cimento de ionômero de vidro. Este cimento também chamado de cimento ionomérico ou cimento de polialcenoato de vidro é composto por pó e líquido. O pó é constituído de sílica, alumina e fluoreto de cálcio, já o líquido é uma solução aquosa de ácidos polialcenóicos com aceleradores de presa (Queiroz, 2003; Barreto, 2007; Padovani, 2008).

De acordo com Bernardo et al. (2000), com o desenvolvimento do ionômero de vidro pode-se fazer seu uso inclusive como selante de fôssulas e fissuras, para obter efeitos preventivos adicionais causados pela liberação de flúor desses materiais. Hoshi (2006) relatou que por ser de baixo custo e apresentar boa efetividade, é um cimento muito utilizado na rede pública de saúde.

As principais propriedades do cimento de ionômero de vidro são a contínua liberação de íons fluoreto e a possibilidade de sofrer recargas, ao ser exposto novamente ao flúor, atuando como um reservatório na cavidade bucal. O ionômero apresenta também boa biocompatibilidade, expansão térmica linear próxima a do dente, boa adesão química com a estrutura dentária, onde sua adesão é mais satisfatória em nível de esmalte, possui cor satisfatória, translucidez adequada, fácil manipulação e estabilidade em longo prazo no ambiente bucal, não necessitando de condicionamento ácido no esmalte para sua adesão a este (Vieira, 2004; Oliveira, 2005).

Segundo Sacramento et al. (2008), é possível a liberação de flúor e clorexidina simultaneamente, através da incorporação da clorexidina ao cimento de ionômero de vidro. É indicado o uso do flúor associado com a clorexidina, pois de acordo com Amorim et al. (2008), o flúor mostra-se insuficiente para controlar a formação de placa visível e redução da acidogenicidade quando usado sozinho.

Além da adição de substâncias desinfetantes ao CIV melhorar seu efeito antibacteriano, estudos tem mostrado que estes não alteram suas propriedades físicas (Tüzüner, Ulusu, 2012).

Jedrychowshi et al. (1983) realizaram um estudo utilizando o gluconato de clorexidina associado a uma resina composta e ao CIV em concentrações de 1 a 5% e 10%. Realizaram teste de resistência à tração e compressão, onde concluíram que o gluconato de clorexidina aumentou a atividade antimicrobiana da resina e do cimento.

Palmer et al. (2003), relatam que a concentração de clorexidina próxima aos 7% não altera as propriedades físicas do cimento, além disso a adição também aumenta o tempo de trabalho do cimento o que facilita a sua manipulação e a sua colocação sobre a superfície dentária. Já em um estudo realizado por Ferreira (2005), observou-se que a adição de 5% de digluconato de clorexidina não alterou as propriedades do cimento de ionômero de vidro. Em 2005, Millett et al., testaram um CIV para cimentação de bandas ortodônticas,

modificado com digluconato de clorexidina a 10%. Concluíram que não houve diferenças significativas de retenção.

A liberação do flúor e da clorexidina simultaneamente, ocorre inicialmente pelo baixo pH durante a reação da presa (Sacramento et al., 2008), por isso a maior quantidade de clorexidina é liberada ainda nas primeiras horas. Após esse tempo ela tende a decair até alcançar uma quantidade mínima em que toda clorexidina disponível seja liberada (Palmer et al., 2003). A clorexidina apresenta uma gama de incompatibilidade com outros materiais (Ferrarini, 2007), embora no caso do cimento de ionômero de vidro ela não reage com qualquer outra substância presente no cimento e a maior quantidade de clorexidina liberada inicialmente ocorre devido às moléculas que não estão presas química ou fisicamente ao cimento de ionômero de vidro (Palmer et al., 2003).

Takahashi et al. (2006), realizaram um estudo com diacetato de clorexidina combinado com dicloridrato de clorexidina adicionado ao pó do CIV em concentrações 1/0, 2/0, 3/0, 1/1, e 2/2%. Eles testaram o efeito anti-microbiano para *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus casei* e *Actinomyces naeslundii*, além de testar o efeito anti-microbiano eles testaram também resistência à compressão, a força de ligação à dentina e tempo de presa em tratamentos restauradores atraumáticos. Os autores concluíram com este estudo que a adição de diacetato de clorexidina a 1% apresenta bom efeito antimicrobiano e é importante quanto às suas propriedades físicas foi o que melhor apresentou os resultados.

Frencken et al. (2007) realizaram um estudo in vivo, no qual restauraram provisoriamente dentes cariados que possuíam cavidades na superfície oclusal. Os dentes foram preparados e selados com CIV convencional e CIV modificado com diacetato de clorexidina a 1% e esta restauração provisória foi removida após sete dias. Amostras de dentina infectada e afetada antes e após a restauração foram anaerobicamente e aerobicamente cultivadas para a contagem total de bactérias dos tipos estreptococos do grupo mutans e lactobacilos. Com este estudo os autores observaram que houve diferença significativa na redução de microrganismos quando utilizado o CIV modificado.

Türkün et al. (2008), testaram diversas proporções de diacetato de clorexidina (pó) e digluconato (líquido) no CIV em meios de cultura para estreptococos, lactobacilos e cândidas. Após as análises microbiológicas realizadas, os autores afirmaram que o CIV modificado com clorexidina possui efeito antibacteriano superior ao CIV convencional e

que a forma de diacetato de clorexidina 2,5% apresentou melhores resultados para *Streptococcus mutans*. Além disso, os autores demonstraram resultados nulos para a inibição de *C. albicans*.

Hoszek e Ericson (2008) realizaram um estudo in vitro, no qual testaram as propriedades físicas e seus efeito antimicrobianos foram testados para *Streptococcus mutans* do CIV, CIV+ vaselina, CIV+ gluconato de clorexidina 10%, CIV+gluconato de clorexidina 10%+ ácido tartárico11% e CIV+ gluconato de clorexidina 10%+ácido tartárico 11%+ vaselina. Os autores concluíram que há a liberação do flúor e o efeito antibacteriano sobre *Streptococcus mutans*, in vitro, e este efeito inibidor irá depender da quantidade de clorexidina adicionada ao cimento, da quantidade liberada de fluoreto e clorexidina e também do tempo de retenção do material, que depende da concentração de clorexidina adicionada ao cimento.

Deepalakshmi et al. (2010), através de testes físicos e microbiológicos in vitro com *Lactobacillus casei*, também concluíram que o CIV contendo diacetato de clorexidina 1% é eficaz na inibição de bactérias associadas com cárie e pode ser adicionado sem afetar as propriedades físicas do cimento. Entretanto, os autores sugerem que investigações futuras sejam necessárias para analisar os efeitos em biofilmes mais complexos.

Farret et al. (2011), realizaram um estudo in vitro sobre cimentação de bandas ortodônticas com CIVs aos quais foram adicionados digluconato de clorexidina nas concentrações de 10 e 18% em duas marcas comerciais diferentes de cimentos. Observaram que não há diferença na adição de digluconato de clorexidina, uma vez que não influencia significativamente a resistência à tração, à compressão, ou à resistência ao cisalhamento. Além disso, os autores relataram que os CIVs mostraram efeito antibacteriano com a adição de 10% e 18% de digluconato de clorexidina, durante um período de tempo relativamente longo e que uma maior concentração de clorexidina apresenta uma liberação mais duradoura.

Jardim et al. (2011) realizaram um trabalho para avaliar as propriedades antimicrobianas, a longo prazo, da associação do cimento de ionômero de vidro com digluconato de clorexidina. Comprovaram que não houve inibição no crescimento do *A. actinomycetemcomitans*, apresentando uma limitação no auxílio do controle do biofilme

periodontopatogênico. Os resultados diferem quanto a ação na inibição do *Streptococcus mutans* apresentando um resultado relevante frente ao biofilme dental.

Estudo realizado por Ahluwalia et al. (2012), no qual o diacetato de clorexidina a 1% foi incorporado ao CIV, verificaram resultados semelhantes para a resistência a tração e a microinfiltração quando eram comparados o CIV convencional com o CIV modificado, podendo este ser um substituto do cimento convencional.

Du et al. (2012), realizaram um estudo in vivo de boca dividida, no qual o diacetato de clorexidina 2% foi adicionado ao CIV convencional e ao CIV resinoso, para selamento de fissuras de primeiros molares superiores. A avaliação antimicrobiana foi feita após 4h e 24h e os autores concluíram que a adição de diacetato de clorexidina ao cimento determina a diminuição de micro-organismos sem prejuízo a resistência do material.

Tüzüner, Ulusu (2012), em um estudo in vitro, avaliaram a resistência a compressão do material. Relataram que o CIV modificado pela adição de diacetato de clorexidina nas concentrações de 1 e 2% apresentam resultados antimicrobianos satisfatórios e quando essa concentração é elevada para 2% este cimento apresenta menor resistência à compressão.

Em 2013, Castilho et al., fizeram uma investigação *in vivo* e *in vitro* do comportamento mecânico e biológico do CIV enriquecido com clorexidina. Para os estudos *in vitro* foram associados ao ionômero a clorexidina com 0,2, 0,5, 1,25 e 2,5%. O teste de difusão foi em ágar sobre bactérias cariogênicas durante 24 h. Observaram que a utilização de clorexidina a 1,25 % melhorou significamente os efeitos do ionômero sem qualquer efeito prejudicial, concluindo que essa combinação pode oferecer melhor proteção contra bactérias cariogênicas e devem evitar a progressão da cárie, usado especialmente em procedimentos de remoção de lesões de cárie parcial.

Korkmaz et al. (2013) realizaram um estudo para avaliar a atividade antibacteriana em superfícies rugosas de CIVs. Analisaram também a resistência à flexão e solubilidade da cimentação convencional e daquela com cimentos que contenham acetato de clorexidina. Neste estudo os micro-organismos usados foram o *Streptococcus mutans* e o *L. casei*. No grupo controle, o CIV convencional apresentou inibição limitada do crescimento microbiano, já o CIV modificado apresentou uma proteção significamente maior e mais duradoura por até 180 dias. Concluíram que essa mistura altera os padrões de rugosidade da superfície prolongando a ação antibacteriana.

Mathew et al. (2013) afirmaram a partir de seu estudo *in vivo*, que a incorporação de diacetato de clorexidina 1% no CIV da marca Fuji IX, foi de considerável valia devido às suas propriedades antibacterianas e considerável vedação marginal, sendo de grande importância em técnicas menos invasivas e de utilidade geral em odontopediatria.

Pereira et al. (2013) concluíram em seu trabalho que a associação de clorexidina ao CIV foi efetiva *in vitro* contra os micro-organismos *Streptococcus mutans* e *L. acidophilus*, no entanto afeta a liberação de flúor dos CIVs.

Um estudo comparativo foi realizado por Prabhakar et al. (2013) para avaliar a estabilidade de cor e liberação de flúor após a associação de diacetato de clorexidina com CIV. No grupo modificado foi incorporado a clorexidina de 1,25 e 2,5% e analisados após 24 horas, 7 dias e 1 mês. Dentro das limitações do estudo concluíram que após a incorporação de diacetato de clorexidina ao CIV teve uma baixa na estabilidade de cor e liberação de fluoretos.

Hook et al. (2014) desenvolveram um novo CIV de liberação de antimicrobianos com nanopartículas de clorexidina. Observaram que sua liberação é dose/dependente e ocorre pelos próximos 33 dias. A liberação de flúor não foi significativamente afetada pela substituição de nanopartículas e a estrutura interna apareceu inalterada. A resistência à tração diametral diminuiu numericamente, mas não foi estatisticamente significativa.

2 PROPOSIÇÃO

Verificar a efetividade microbiológica *in vitro* do cimento de ionômero de vidro enriquecido com diacetato de clorexidina a 1% contra *Streptococcus mutans*.

3 METODOLOGIA

3.1 Preparação das amostras

Os materiais utilizados neste estudo foram o Cimento de Ionômero de Vidro Fuji IX (GC Corporation, Tóquio, Japão) e Cimento de Ionômero de Vidro (CIV) Fuji IX (GC Corporation, Tóquio, Japão) modificado por diacetato de clorexidina a 1% manipulado pelo Laboratório de Farmácia do UNIFEB.

Utilizando discos de resina composta fotopolimerizável de 2 mm de diâmetro por 1 mm de altura foram confeccionados moldes em silicone de condensação para moldagem odontológica. Nos moldes obtidos foram posteriormente inseridos os cimentos em questão, obedecendo aos critérios de manipulação preconizados pelo fabricante. Após a geleificação do material, foram obtidos 30 discos de CIV, sendo 15 referentes ao cimento convencional e 15 composto pelo cimento enriquecido com clorexidina. Estes discos foram embalados em papel grau cirúrgico, autoclavados e mantidos em ambiente seco e protegidos da luz.

Os discos de CIV convencional constituíram o grupo controle (G C) e os enriquecidos com diacetato de clorexidina 1% constituíram o grupo experimental (G E).

As amostras dos cimentos foram inseridas em tubos de vidro contendo 5 ml de solução salina estéril, na condição de cinco amostras em cada tubo perfazendo um total de seis tubos.

Os tubos foram nomeados da seguinte maneira:

- G C 1 – Tubo contendo solução salina estéril no qual cinco discos de ionômero de vidro convencional ficaram imersos por 24 horas
- G E 1 – Tubo contendo solução salina estéril no qual cinco discos de ionômero de vidro os enriquecidos com diacetato de clorexidina 1% ficaram imersos por 24 horas
- G C 2 – Tubo contendo solução salina estéril no qual cinco discos de ionômero de vidro convencional ficaram imersos por 48 horas
- G E 2 – Tubo contendo solução salina estéril no qual cinco discos de ionômero de vidro os enriquecidos com diacetato de clorexidina 1% ficaram imersos por 48 horas
- G C 3 – Tubo contendo solução salina estéril no qual cinco discos de ionômero de vidro convencional ficaram imersos por 72 horas

- G E 3 – Tubo contendo solução salina estéril no qual cinco discos de ionômero de vidro os enriquecidos com diacetato de clorexidina 1% ficaram imersos por 72 horas

3.2 Preparo das cepas padrão

A atividade antibacteriana de cada material foi analisada por meio do teste de formação de halo de inibição em ágar para *Streptococcus mutans* (ATCC # 25175).

As cepas bacterianas foram semeadas em caldo BHI (Brain Heart Infusion - BHITM, DifcoLaboratories, Detroit, MI) e incubadas em estufa bacteriológica a 37°C, por 48h. Os micro-organismos resultantes foram repicados em 5ml de caldo BHI e incubados em estufa bacteriológica a 37°C, por 24h, para obtenção de uma suspensão, denominada inóculo com concentração aproximada de $1,5 \times 10^8$ UFC/ml de meio de cultura.

3.3 Análise Microbiológica

Em cada placa de Petri esterilizada, foi preparada uma camada-base contendo 15ml do meio de cultura BHI ágar para cultivo de *Streptococcus mutans*. Após a solidificação do meio de cultura, foi realizada a semeadura das placas, sendo que cada placa foi acrescida de 200µl do inóculo.

Aguardado o período para secagem das placas e após os períodos específicos de permanência dos discos nos tubos contendo solução salina, os espécimes foram inseridos em poços de 2 mm de diâmetro confeccionados nas placas contendo o micro-organismo citado (2 discos por placa). As placas foram, então, incubadas em jarra de microaerofilia e o crescimento microbiano foi avaliado 48hs de incubação em estufa bacteriológica a 37°C.

Após o período de incubação, os halos de inibição foram medidos em milímetros, utilizando régua milimetrada de uso em Endodontia. Todas as medidas foram determinadas a partir de dois pontos opostos localizados nos limites mais externos de cada halo formado ao redor de cada poço/disco. Dois examinadores, previamente treinados, realizaram as medições. Essas medidas foram repetidas três vezes e obteve-se a média para cada halo. A

área dos halos foi calculada através da fórmula utilizada para estimativa da área em círculos, por meio da média dos raios obtidos ($A = \pi \times R^2$).

3.4 Análise Estatística

Para o confronto estatístico dos resultados obtidos nos grupos controle e experimental, foi utilizada a prova U de Mann-Whitney. Por se tratar de um dos mais eficientes testes não paramétricos e constitui uma alternativa extremamente útil para a prova paramétrica t.

4 RESULTADOS

Na tabela 1 são apresentados os valores individuais e as médias dos halos de inibição promovidos pelo ionômero de vidro convencional imerso em solução salina por 24 horas (G C 1) e pelo ionômero enriquecido com diacetato de clorexidina 1% (G E 1) nas mesmas condições. A análise permite a verificação de que os espécimes do grupo experimental promoveram halos inibitórios com uma média de 56,91 mm² ao contrário dos representantes do grupo controle que não produziram o halo de inibição.

Tabela 1. Valores em milímetros quadrados (mm²) da área do halo de inibição promovido em culturas de *Streptococcus mutans* por ionômero de vidro convencional (G C 1) e por ionômero enriquecido com clorexidina 1% (G E 1) imersos em solução salina pelo período de 24 horas. Teste de Mann-Whitney.

G C 1	G E 1
0	50,24
0	63,58
0	50,24
0	63,58
0	56,91
又	又
0	56,91
U calc: 0*	
p [U]: 0,004	

*estatisticamente significante para $\alpha < 0,01$

A tabela 2 apresenta os valores individuais e as médias dos halos de inibição promovidos pelo ionômero de vidro convencional imerso em solução salina por 48 horas (G C 2) e pelo ionômero enriquecido com diacetato de clorexidina 1% (G E 2) nas mesmas condições. A análise permite a verificação de que os espécimes do grupo experimental promoveram halos inibitórios com uma média de 209,26 mm² ao contrário dos representantes do grupo controle que não produziram o halo de inibição.

Tabela 2. Valores em milímetros quadrados (mm²) da área do halo de inibição promovido em culturas de *Streptococcus mutans* por ionômero de vidro convencional (G C 2) e por ionômero enriquecido com clorexidina 1% (G E 2) imersos em solução salina pelo período de 48 horas. Teste de Mann-Whitney.

G C 2	G E 2
0	209,33
0	213,52
0	200,96
0	213,52
0	209,33
又	又
0	209,26
U calc: 0*	
p [U]: 0,004	

*estatisticamente significante para $\alpha < 0,01$

Na tabela 3 pode ser verificado que, como nos períodos de 24 e 48 horas, há formação de halo inibitório para o grupo experimental enquanto que para o grupo controle não há inibição do crescimento de *Streptococcus mutans*.

Tabela 3. Valores em milímetros quadrados (mm²) da área do halo de inibição promovido em culturas de *Streptococcus mutans* por ionômero de vidro convencional (G C 3) e por ionômero enriquecido com clorexidina 1% (G E 3) imersos em solução salina pelo período de 72 horas. Teste de Mann-Whitney.

G C 3	G E 3
0	103,62
0	188,40
0	176,62
0	143,18
0	152,95
又	又
0	152,95
U calc: 0*	
p [U]: 0,004	

*estatisticamente significante para $\alpha < 0,01$

A tabela 4 apresenta comparação entre os resultados dos halos de inibição em colônias de *Streptococcus mutans* dos grupos experimentais 1, 2 e 3. As análises estatísticas permitem a afirmação de que o período de maior inibição de crescimento de micro-organismos é o de 48 horas seguido pelo grupo de 72 horas e de 24 horas.

Tabela 4. Valores em milímetros quadrados (mm²) da área do halo de inibição promovido em culturas de *Streptococcus mutans* por ionômero de vidro enriquecido com diacetato de clorexidina 1% (G E 1) imerso pelo período de 24 horas (G1), 48horas (G2) e 72 horas (G3). Teste de Mann-Whitney.

G E 1	G E 2	G E 3
50,24	209,33	103,62
63,58	213,52	188,40
50,24	200,96	176,62
63,58	213,52	143,18
56,91	209,33	152,95
又	又	又
56,91^a	209,26^b	152,95^c
U calc: 0*		
p [U]: 0,004		
^{a, b, c} letras diferentes representam resultados com diferença estatisticamente significativa		

*estatisticamente significativa para $\alpha < 0,01$

5 DISCUSSÃO

Desde o seu desenvolvimento na década de 70, o cimento de ionômero de vidro tem sido amplamente usado na rotina odontológica em função de suas capacidades anticariogênicas, de liberação/receptação de flúor e adesão à estrutura dentária (Wilson, Kent, 1972). Contudo, este material também apresenta desvantagens, as quais têm sido questionadas ao longo dos anos por meio das verificações clínico-científicas, como menor resistência mecânica com conseqüente desenvolvimento de cárie secundária. Em caso de micro fraturas marginais, microrganismos cariogênicos podem invadir o espaço resultante iniciando-se um processo carioso secundário (Dowling, Stamboulis, Fleming, 2006). A presença de cárie secundária corresponde a um critério para considerar o aumento da possibilidade de falha do CIV como material restaurador definitivo (Van Amerongen, 1996; Du et al., 2013).

Com o intuito de minimizar possíveis desvantagens, nos últimos anos aditivos tem sido utilizado para proporcionar melhor desempenho ao CIV. A adição de substâncias como hidroxiapatita, vidro bioativo, estrôncio, metais (prata e amálgama) e clorexidina objetivam a melhora das condições físico-químicas do material e/ou a potencialização de seus efeitos antimicrobianos (Gu et al., 2005; Yli-Urpo et al., 2005; Botelho, 2003; Dabsie et al., 2009).

A adição de diacetato de clorexidina ao pó do CIV tem sido testada ao longo dos anos e diversos autores têm comprovado que na proporção de 1% não há reduções em suas capacidades mecânicas bem como não há interferência em sua importante função de liberação de fluoreto na cavidade bucal (Deepalakshmi et al., 2010).

Além das qualidades apresentadas, e conhecidas cientificamente da clorexidina, há que se considerar que quando utilizada na forma de bochecho podem ocorrer interações químicas que diminuirão o seu efeito inibidor de micro-organismos. Para a ação de inibição bacteriana, a concentração mínima de clorexidina capaz de produzir este efeito é de 0,12%. Contudo, quando utilizada imediatamente após a escovação, o monofluorofosfato de sódio, comumente encontrado em dentifrícios, interage com a clorexidina formando sais de baixa solubilidade diminuindo a ação de ambos.

A mesma situação a respeito de interação química ocorre com o lauril sulfato de sódio que é um detergente muito utilizado em dentifícios. Esta substância liga-se à clorexidina formando sais de baixa solubilidade e, assim, reduz-se a ação do agente quimioterápico. Devido a estas incompatibilidades, o paciente deverá respeitar um intervalo de 30 minutos a 2 horas, preferencialmente, para realizar o bochecho com a solução de clorexidina após a escovação (Ramacciato, 2000).

Devido a essa incompatibilidade entre as substâncias presentes no dentifício e nas soluções de bochecho, seria de grande importância para a população que houvesse um material que liberasse simultaneamente flúor e clorexidina sem comprometimento em suas propriedades físico-químicas de ambos os agentes. Neste sentido justifica-se a idealização de um CIV que seja capaz também de liberar continuamente clorexidina (Gil, 2012).

A análise das tabelas 1, 2 e 3 demonstra, claramente, a superioridade quanto a capacidade inibitória de crescimento de *Streptococcus mutans* do CIV enriquecido com clorexidina a 1% em comparação ao CIV convencional. De fato, médias de halos inibitórios do crescimento do citado micro-organismo de 56,91 mm², 209,26 mm² e 152,95 mm² respectivamente aos grupos experimentais 1, 2 e 3 comparadas ausência de inibição proporcionada pelo CIV convencional convencem sobre as grandes possibilidades de aplicação da clorexidina ao cimento aqui discutido.

A literatura a respeito apresenta artigos que concordam com os resultados desta pesquisa, assim sendo, de acordo com as pesquisas feitas por Jedrychowski et al. (1983), Ferreira (2005), Millett et al. (2005), Takahashi et al. (2006), Frencken et al. (2007), Türkün et al. (2008), Deepalakshmi et al (2010), Farret et al. (2011), Ahluwalia et al. (2012), Du et al. (2012) e Tüzüner, Uluso (2012), o CIV modificado pela clorexidina, seja ela sob forma de digluconato ou diacetato, proporciona um efeito anti-microbiano maior que o CIV convencional.

Independente da concentração e forma da clorexidina adicionada, todos os trabalhos, Frencken et al. (2007), Türkün et al. (2008), Du et al. (2012), que fizeram análise microbiológica são concordantes em relação a inibição do crescimento de micro-organismos relacionados as doenças cárie e periodontal.

O resultado obtido por Frencken et al. (2007), foi semelhante ao resultado obtido por esta pesquisa no que se refere ao *Streptococcus mutans*. Isso pode ser explicado pela

semelhança da forma e concentração da clorexidina utilizada e as análises microbiológicas realizadas, mesmo que no trabalho citado tenham sido realizadas restaurações atraumáticas nos pacientes.

Em concordância também estão os resultados apresentados por Du et al. (2012). Os autores, que realizaram um estudo *in vivo* de boca dividida, no qual também utilizaram o diacetato de clorexidina no CIV convencional e no CIV resinoso. Em concentração maior (2%), afirmaram que a adição clorexidina ao cimento determina melhora na capacidade de inibição do número de micro-organismos sem prejuízo da resistência do material.

Não foram encontrados, até o momento, na literatura trabalhos que discordassem sobre o efeito antimicrobiano do CIV enriquecido com clorexidina. Apenas foi observado que os trabalhos relacionados com CIV enriquecidos com clorexidina em proporções até 20% são discordantes a respeito das interferências deste nas capacidades físico-químicas do cimento (Gil et al., 2012).

Quando da comparação estatística entre os resultados dos grupos enriquecidos com diacetato de clorexidina a 1%, percebe-se que a maior liberação do antimicrobiano ocorre no período de 48 horas de imersão em solução salina. Detecta-se, também, que no período de 72 horas a liberação é menor que no período de 48 horas, contudo maior que no período de 24 horas. Comparando-se estes resultados com os apresentados por Hook et al. (2014) que avaliaram a liberação de clorexidina em diferentes concentrações, nota-se que concordam que há pouca liberação do antimicrobiano nas primeiras 24 horas. Contudo os resultados do presente estudo estão em discordância com os mesmos autores, pois estes afirmam que a citada liberação aumenta continuamente até o período de 791 horas (equivalente há 33 dias). Evidentemente, a técnica do presente estudo não analisou a quantidade de clorexidina que foi liberada ao longo do tempo como o fizeram Hook et al. (2014), mas sim o halo de inibição produzido em colônias de *Streptococcus mutans*.

Salienta-se ainda que a inibição de crescimento menor no grupo de CIV modificado e imerso por 24 horas em comparação aos grupos de 48 e 72 horas também é discordante, respeitando-se as diferenças técnicas, dos resultados de Palmer et al., (2003) e Sacramento et al. (2008), que descreveram que a maior quantidade de clorexidina é liberada do CIV ainda nas primeiras horas, reduzindo-se com o passar do tempo.

A inibição do crescimento de *Streptococcus mutans* pelo CIV convencional é bem documentada na literatura (Ferreira et al., 2011; Sultan et al., 2013; Klai et al., 2014).

Os resultados deste estudo mostram-se satisfatórios quanto à inibição ao longo de 72 horas de *Streptococcus mutans*. Contudo, sugerem-se novos estudos para verificar, entre outros dados, qual é o tempo máximo de liberação de flúor e clorexidina no CIV simultaneamente, sua efetividade em biofilmes mais complexos e a possibilidade de recarga do cimento com clorexidina. Indiscutivelmente, pesquisas para o desenvolvimento de novos materiais são fundamentais no processo de promoção de saúde para a população.

6 CONCLUSÃO

O cimento de ionômero de vidro enriquecido com diacetato de clorexidina a 1 % é efetivo na inibição de colônias de *Streptococcus mutans* em todos os períodos deste estudo, sendo o período de 48 horas o de maior efetividade.

7 REFERÊNCIAS

Abiko Y. Passive immunization against dental caries and periodontal disease: Development of recombinant and human monoclonal antibodies. *Crit Rev Oral Biol Med*, 2000; 11:140-158.

Ahluwalia P, Chopra S, Thomas AM. Strength characteristics and marginal sealing ability of chlorhexidine-modified glass ionomer cement: An *in vitro* study. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*, 2012; 30:41-46.

Almeida RF, Pinho MM, Lima C, Faria I, Santos P, Bosdalo C. Associação entre doença periodontal e patologias sistêmicas. *Rev Port Clin Geral*, 2006; 22:379-390.

Amaral FMF, Ramos PGA, Ferreira SRG. Estudo da frequência de cárie e fatores associados no Diabetes Mellitus Tipo I. *Arq Bras Endocrinol Metab*, 2006; 50:515-522.

Amorim RG, Leal SC, Bezerra ACB Amorim FPLG, Toledo AO. Association of chlorhexidine and fluoride for plaque control and White spot lesion remineralization in primary dentition. *International Journal of Pediatric Dentistry*, 2008; 18:446-451.

Barreto VC. Avaliação das restaurações atraumáticas em pré escolares [Dissertação de Mestrado]. Porto Alegre: UFRGS, 2007.

Bay LM. Effect of Toothbrushing with different concentrations of chlorhexidine on the development of dental plaque and gingivitis. *J Dent Res*, 1978; 57:181-185.

Bernardo PC, Rodrigues CRMD, Souza Paiva JÁ, Singer JM, Sañudo A. avaliação clínica de um cimento de ionômero de vidro utilizado como selante oclusal. *Pesq Odont Bras*, 2000; 14:53-57.

Botelho MG. Inhibitory effects on selected oral bacteria of antibacterial agents incorporated in a glass ionomer cement. *Caries Research*, 2003; 37:108–14.

Bruschi ML, Panzeri H, Freitas O, Lara EHG, Gremião MPD. Sistemas de liberação de fármaco intrabolsa periodontal. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 2006; 42:29-47.

Carvalho EMC & Araújo RPC. A saúde bucal em portadores de transtornos mentais e comportamentais. *Pesq Bras Odontoped Clin Integr*, 2004; 4:65-75.

Castilho ARF, Duque C, Negrini TC, Sacono NT, Paula AB, Costa CAS, Spolidório DMP, Puppini-Rontani RM. In vitro and in vivo investigation of the biological and mechanical behaviour of resin-modified glass-ionomer cement containing chlorhexidine. *Journal of Dentistry*, 2013; 1:155-163.

Dabsie F, Gregoire G, Sixou M, Sharrock P. Does strontium play a role in the cariostatic activity of glass ionomer? Strontium diffusion and antibacterial activity. *Journal of Dentistry*, 2009; 37:554–9.

Deepalakshmi M, Pooni S, Miglani R, Indira R, Ramachandran S. Evolution of the antibacterial and physical properties of glass ionomer cements containing chlorhexidine and cetrimide: An *in vitro* study. *Indian J Dent Res*, 2010; 21:552-6.

Dowling AH, Stamboulis A, Fleming GJ. The influence of montmorillonite clay reinforcement on the performance of a glass ionomer restorative. *Journal of Dentistry*, 2006; 34:802–10.

Du X, Huang X, Huang C, Frencken JE, Yang T. Inhibition of early biofilm formation by glass-ionomer incorporated with chlorhexidine in vivo: a pilot study. *Australian Dental Journal*, 2012; 57:58-64.

Eto FS, Raslan SA, Cortelli JR. Características microbianas na saúde e doença periodontal.

Rev Biociênc, 2003; 9:45-51.

Farias NC, Buffon MM, Cini R. Avaliação *in vitro* da ação antifúngica do gluconato de clorexidina e nistatina no controle do crescimento da *Candida albicans*. Visão acadêmica, 2003; 4:83-8.

Farret MM, Lima EM, Mota EG, Oshima HMS, Barth V, Oliveira SD. Can we add chlorhexidine into glass ionomer cements for band cementation? Angle Orthodontist, 2011; 81:496-502.

Ferrarini M, Baby AR, Pinto CASO, Velasco MVR, Pinto TJA, Kaneko TM. Influência do Kollidon® 90F e do Polyox® WSR301NF na força de adesão de comprimidos bucais de clorexidina. Latin American Journal of Pharmacy, 2007; 26:541-7.

Ferreira GLS, Freires IA, Alves LA, Jovito VC, Carvalho FG, Castro RD. Antibacterial activity of glass ionomer cements on cariogenic bacteria – An *in vitro* study. International Journal of Dental Clinics, 2011; 3:1-3.

Ferreira HC. Avaliação *in vitro* de propriedades físico-químicas de cimento de ionômero de vidro convencionais, após adição de própolis e antibiótico [Dissertação de Mestrado] Taubaté: Universidade de Taubaté, 2005.

Frencken JE, Imazato S, Toi C, Mulder J, Mickenautsch S, Takahashi Y, Ebisu S. Antibacterial effect of chlorhexidine-containing glass ionomer cement *in vivo*: A pilot study. Caries Res, 2007; 41:102-7.

Gil MV. Efeito microbiológico do cimento de ionômero de vidro enriquecido com clorexidina. [Dissertação de Mestrado]. Barretos: Unifeb. 2012.

Gu YW, Yap AU, Cheang P, Khor KA. Effects of incorporation of HA/ZrO⁽²⁾ into glass ionomer cement (GIC). Biomaterials, 2005; 26:713–20.

Herrera BS, Mendes GIAC, Porto RM, Rigato HM, Moreira LD, Musacará MN, Magalhães JCA, Mendes GD. O papel da clorexidina no tratamento de pacientes com gengivite no distrito de São Carlos do Jamari-GO. R Periodontia, 2007; 17:60-4.

Hook ER, Owen OJ, Bellis CA, Holder JA, O'Sullivan DJ, Barbour ME. Development of a novel antimicrobial-releasing glass ionomer cement functionalized with chlorhexidine hexametaphosphate nanoparticles. Journal of Nanobiotechnology, 2014; 12:3.

Hoshi AT. Efeitos de um cimento de ionômero de vidro e um selante resinoso e esmalte bovino desmineralizado, submetido ou não a desafio cariogênico – estudo *in situ* [Tese de Doutorado]. Bauru: USP. 2006.

Hoszek A & Ericson D. *In vitro* fluoride release and the antibacterial effect of glass ionomers containing chlorhexine gluconate. Operative Dentistry, 2008; 33:396-701.

Jardim WM, Osório L, Lima EM, Oliveira SD. Avaliação de longo prazo das propriedades antimicrobianas de cimento de ionômero de vidro com digluconato de clorexidina. Salão de Iniciação Científica, 2011.

Jedrychowski JR, Caputo AA, Kerper S. Antibacterial and mechanical properties os restorative materials combined with chlorhexidines. Journal of Oral Rehabilitation, 1983; 10:373-381.

Klai S, Altenburger M, Spitzmüller B, Anderson A, Hellwig E, Al-Ahmad A. Antimicrobial Effects of Dental Luting Glass Ionomer cements on Streptococcus mutans. Scientific World Journal, 2014, Article ID 807086, 7 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2014/807086>.

Korkmaz FM, Tüzüner T, Baygin O, Buruk CK, Durkan R, Bagis B. Antibacterial activity, surface roughness, flexural strength, and solubility of conventional luting cements containing chlorhexidine diacetate/cetrmide mixtures. Journal of Prosthetic Dentistry, 2013;

110:107-115.

Luca-Fraga LR & Pimenta LAF. Clinical evaluation of glass-ionomer/resin-based hybrid materials used as pit and fissure sealants. *Quintessence International*, 2001; 43:463-8.

Machado FC. Avaliação da clorexidina para controle da gengivite e *Candida* spp. em crianças infectadas pelo HIV [Dissertação de Mestrado]. Rio de Janeiro: UFRJ. 2007.

Mathew SM, Thomas AM, Koshy G, Dua K. Evaluation of the microleakage of chlorhexidine-modified glass ionomer cement: an *in vivo* study. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 2013; 6:7-11.

Millett DT, Doubleday B, Alatsaris M, Love J, Wood D, Luther F, Devine D. Chlorhexidine-modified glass ionomer for band cementation? An *in vitro* study. *Journal of Orthodontics*, 2005; 32:36-42.

Mount GJ. Glass ionomers: a review of their current status. *Operative Dentistry*, 1999; 24:115-24.

Oliveira TMMG. Efeito das variáveis microestruturais nas propriedades mecânicas do cimento de ionômero de vidro convencional [Dissertação de Mestrado]. Rio de Janeiro: UFRJ. 2005.

Padovani GC. Avaliação *in vitro*, da atividade antibacteriana, liberação de flúoreto e capacidade de recarga de cimento de ionômero de vidro para base forradora [Dissertação de Mestrado]. Araraquara: UNESP. 2008.

Palmer G, Jones FH, Billington RW, Pearson GJ. Chlorhexidine release from an experimental glass ionomer cement. *Elsevier*, 2003; 12:1-9.

Prabhakar AR, Pattanshetti K, Sugandhan S. A comparative study of color stability and

fluoride release from glass ionomer cements combined with chlorhexidine. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 2013; 6:26-29.

Queiroz VAO. Uso do cimento de ionômero de vidro na prática odontológica [Dissertação de Mestrado]. Bauru: USP. 2003.

Ramacciato JC. Atividade antimicrobiana de soluções à base de alho (*Allium sativum*), óleo de malaleuca (*Melaleuca alternifolia*) e clorexidina sobre microrganismos totais e estreptococos do grupo *mutans*. Estudo in vivo [Dissertação de Mestrado]. Piracicaba: UNICAMP. 2000.

Reche NSG. Controle de placa em deficientes mentais com uso da clorexidina [Dissertação de Mestrado]. Marília: Unimar. 2005.

Ribeiro J & Ericson D. In vitro antibacterial effect of chlorhexidine added to glass ionomer cement. *Scand J Dent*, 1991; 99:333-40.

Sacramento PA, Papa AMC, Carvalho FG, Puppim-Pontani RM. Antibacterial properties of lining material a review. *Rev Odontol UNESP*, 2008; 37:59-64.

Santos PA, Rodrigues JA, Garcia PPNS. Conhecimento sobre prevenção de cárie e doença periodontal e comportamento e higiene bucal em professores do ensino fundamental. *Cienc Odont Bras*, 2003; 6:67-74.

Souza CAS, Souto RM, Colombo APV, Granjeiro JM, Rossi AM, Leão MHMR. Análise ultra-estrutural e microbiológica da associação de clorexidina e hidroxiapatita: potencial material para terapia de doença periodontal. *Revista Fluminense de Odontologia*, 2010; 34:7-12.

Sultan G, Fahinur E, Eden E. Biocompatibility of glass ionomer cements with and without chlorhexidine. *European Journal of Dentistry*, 2013; 7.

Takahashi Y, Imazato S, Kaneshirro AV, Ebisu S, Frenken JE, Tay FR. Antibacterial effects and physical properties of glass-ionomer cements containing chlorhexidine for the ART approach. *Dental Materials*, 2006; 22:647-652.

Türkün LS, Türkün M, Ertugrul F, Ates M, Brugger J. Long-term antibacterial effects and physical properties of a chlorhexidine-containing glass ionomer cement. *Journal Compilation*, 2008; 20:29-44.

Tüzüner T & Ulusu T. Effect of antibacterial agents on the surface hardness of a conventional glass-ionomer cement. *J Appl Oral Sci*, 2012; 20:45-9.

Van Amerongen WE. Dental caries under glass ionomer restorations. *Journal of Public Health Dentistry*, 1996; 56:150-4.

Vieira ALF. Comportamento clinic de cimento de ionômero de vidro utilizados como selante oclusal por meio da técnica do tratamento restaurador atraumático (ART) [Tese de Doutorado]. Bauru: USP. 2004.

Yli-Urpo H, Lassila LV, Narhi T, Vallittu PK. Compressive strength and surface characterization of glass ionomer cements modified by particles of bioactive glass. *Dental Materials*, 2005; 21:201-9.

Wilson AD, Kent BE. A new translucent cement for dentistry. The glass ionomer cement. *British Dental Journal*, 1972; 132:133-5.