



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
ODONTOLOGIA - MESTRADO



ROBERTA BENTO RODRIGUES

Avaliação *in vitro* da ação anti-bacteriana de um adesivo auto-condicionante acrescido de clorexidina

Cascavel-PR
2016

ROBERTA BENTO RODRIGUES

Avaliação *in vitro* da ação anti-bacteriana de um adesivo auto-condicionante acrescido de clorexidina

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Odontologia

Área de concentração: Odontologia

Orientador: Prof. Dr. Veridiana Camilotti

Co-Orientador: Prof. Dr Márcio Mendonça

Cascavel-PR
2016

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

R616a

Rodrigues, Roberta Bento

Avaliação in vitro da ação anti-bacteriana de um adesivo auto-condicionante acrescido de clorexidina. /Roberta Bento Rodrigues. Cascavel, PR: UNIOESTE, 2016.

22 f.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Veridiana Camilotti

Coorientador: Prof. Dr. Márcio Mendonça

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Cascavel, 2016

Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde.

1. Adesivo dentinário. 2. Dentina. 3. Adesivo de dois passos. 4. Agente antibacteriano. I.Camilotti, Veridiana. II. Mendonça, Márcio. III. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. IV. Título.

CDD 21.ed. 617.6

CIP-NBR 12899

Ficha catalográfica elaborada por Helena Soterio Beijo CRB-9^a/965



unioeste

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Cascavel CNPJ 78680337/0002-65
Rua Universitária, 2069 - Jardim Universitário - Cx. P. 000711 - CEP 85819-110
Fone:(45) 3220-3000 - Fax:(45) 3324-4566 - Cascavel - Paraná



PARANÁ
GOVERNO DO ESTADO

ROBERTA BENTO RODRIGUES

Avaliação in vitro da ação anti-bacteriana de um adesivo auto-condicionante de dois passos acrescido de clorexidina.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestra em Odontologia, área de concentração Odontologia, linha de pesquisa Materiais dentários aplicados à clínica odontológica, APROVADO(A) pela seguinte banca examinadora:

Orientador(a) Veridiana Camilotti

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)

Nereida Mello da Rosa Gioppo

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)

Priscilla do Monte Ribeiro Busato

Associação Brasileira de Odontologia

Cascavel, 13 de dezembro de 2016

Dissertação elaborada e formatada
conforme as normas das publicações
científicas: *Revista de Odontologia da
UNESP*. Disponível em:
<http://www.scielo.br/revistas/rounesp/pinstruc.htm>

Avaliação *in vitro* da ação anti-bacteriana de um adesivo auto-condicionante acrescido de clorexidina

RESUMO

A tecnologia adesiva vem se desenvolvendo rapidamente desde que foi introduzida há mais de 50 anos. Seu principal objetivo é alcançar um íntimo contato entre a estrutura dental e o material restaurador e fornecer adequada adesão entre o esmalte e a dentina. Falhas nesse processo adesivo podem resultar em microinfiltração marginal com passagem de bactérias, fluidos ou íons entre a parede cavitária e o material restaurador. Recentes estudos têm demonstrado que a utilização da clorexidina associada ao sistema adesivo pode ser capaz de inibir a ação das bactérias. O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito antibacteriano de um sistema adesivo auto-condicionante de dois passos associado a diferentes concentrações de solução de digluconato de clorexidina. A solução de digluconato de clorexidina a 20% foi adicionada ao primer do sistema adesivo nas concentrações de 0,5, 1,0 e 2,0% e distribuídas em quatro grupos (G1, G2, G3 e G4). Para o teste de atividade antibacteriana foram utilizadas amostras de saliva (N=10) semeadas em meio de ágar sangue e discos de papel filtro contendo os diferentes grupos. Após incubação, as amostras foram inspecionadas quanto à formação de halo de inibição dos microrganismos através da utilização do paquímetro digital de precisão(0,0001mm) (Mitutoyou Sul Americana Ltda/ Starret Tools®). Este trabalho demonstrou que, *in vitro*, a adição de diferentes concentrações de digluconato de clorexidina ao sistema adesivo produziu halo de inibição dos microrganismos presentes nas amostras de saliva, independente da concentração utilizada.

Palavras-chave: Adesivo dentinário; Dentina; Adesivo de dois passos; Agente antibacteriano

In vitro evaluation of the antibacterial behavior of a self-etch adhesive incorporated with chlorhexidine

ABSTRACT

Adhesive technology has been developed quickly since its introduction about fifty years ago. Its goal is to produce a close contact within enamel and dentin. Failures in this process could result in microleakage, and allow the infiltration of bacteria, fluids and ions. Recent studies have been shown the use of chlorhexidine associated with adhesive systems can be able to inhibit the bacteria action. The aim of this study was to evaluate the addition of different percentages of chlorhexidine to a self-etch adhesive. The solution of digluconate chlorhexidine was increased to the primer of the two pass self-etch adhesive to create a 0,5%, 1,0% and 2,0% chlorhexidine primer solution and after they were distributed in four groups (G1, G2, G3 and G4). Saliva samples (N=10) were used to test bacteria activity. They were spread in a blood medium with filter paper disks containing the different treatments. After the incubation, the inhibitions halos formation were evaluated. This study demonstrated that, *in vitro*, the addition of different percentages of chlorhexidine digluconate to the self-etch adhesive induced inhibited halos at bacteria of saliva samples, independent from their concentration.

Keywords: Dentin adhesive, Dentin, Self-etch systems, Antibacterial agent.

SUMÁRIO

1 Introdução.....	08
2 Metodologia.....	10
3 Resultados.....	13
4 Discussão.....	15
5 Conclusão.....	17
6 Referências bibliográficas.....	18
8. Anexos.....	21

CAPÍTULO I

Artigo: “Avaliação *in vitro* da ação anti-bacteriana de um adesivo auto-condicionante acrescido de clorexidina”.

Introdução

A tecnologia adesiva vem se desenvolvendo rapidamente desde que foi introduzida há mais de 50 anos (Masarwa et al, 2016; Gianinni et al, 2015; Van Meerbeek et al, 2011; Tyas, M.J. & Burrow, M.F., 2004). O principal objetivo da adesão é alcançar um íntimo contato entre a estrutura dental e o material restaurador e fornecer adequada união entre o esmalte e a dentina. Devido a sua histologia com estrutura menos mineralizada e com maior quantidade de fibras colágenas, e água a adesão à dentina é mais difícil de acontecer em comparação ao esmalte que é uma estrutura altamente mineralizada (Van Meerbeek, 2011; Masarwa et al, 2016).

A manutenção da integridade da união e do selamento marginal são essenciais para manter a vitalidade pulpar e aumentar a longevidade clínica das restaurações (Majety & Pujar, 2011). Estes correspondem a alguns dos desafios a serem contornados em restaurações com término cervical sem esmalte. Em íntimo contato com o periodonto marginal e com o fluido crevicular gengival, essas cavidades exigem bom selamento marginal, sem falhas ou excessos de material restaurador a fim de evitar o acúmulo de placa e a inflamação gengival (Kubo et al, 2005). As falhas nas margens de restaurações cervicais podem ser atribuídas às tensões geradas por forças oclusais que se concentram na região cervical e resultam em descolamento, manchamento, insuficiência de retenção e, por fim, infiltração na interface adesiva (Araújo et al, 2015).

A degradação na interface adesiva e a formação de GAPS podem resultar na passagem de bactérias, fluidos ou íons entre a parede cavitária e a resina composta, processo este chamado de microinfiltração marginal (Van Meerbeek, 2003). No entanto, a degradação pode afetar outros componentes além da camada híbrida, como a matriz de colágeno. Quando as fibras colágenas ficam desprotegidas dos monômeros resinosos elas se tornam vulneráveis a ação das enzimas colagenolíticas ativadas pela segregação de bactérias oriundas da placa bacteriana ou pela ativação da matriz de metaloproteinase (MMPs) e cisteínascatepsinas, que atuam degradando a interface de união entre o material restaurador e o substrato dental. (Araújo et al, 2015; Montagner et al, 2014; Nishitani et al, 2013; Campos et al, 2009)

Diferentes sistemas adesivos foram introduzidos para reduzir a microinfiltração marginal das restaurações com resina composta, no entanto a grande maioria continua não sendo totalmente eficaz na prevenção desta (Cobanoglu, 2014). Recentes estudos têm demonstrado a utilização da clorexidina (CHX) associada ao sistema adesivo pode

ser capaz de inibir a ação das metaloproteínas e cisteínascatepsinas. (Araújo, 2015; Nishitani et al, 2013; Imazato, 2003).

As vantagens de adicionar agentes antimicrobianos dentro de materiais resinosos, como os compósitos e os sistemas adesivos dentinários, com o intuito de impedir a formação de biofilme ao redor de restaurações foram discutidas por Imazato em 2003, e o uso de CHX pode ser uma opção. Descoberta em 1940, começou a ser utilizada em 1954 como anti-séptico tópico. Sua forma mais comum de apresentação é como digluconato, podem ser encontrada também nas formas de acetato e hidrocloreto. É um anti-séptico químico, antifúngico e bactericida capaz de eliminar tanto bactérias Gram+ quanto Gram-. Além disso, possui capacidade bacteriostática, impedindo a proliferação de bactérias (Hugo, 1964; Hjeljord et al, 1973). A possibilidade de adicionar CHX, em baixa concentração, em materiais resinosos sem grandes alterações em suas propriedades físico-químicas, foi demonstrada em estudos prévios (Morais et al, 2008; Pashley et al, 2013; Pashley et al, 2016; Inagaki et al, 2016). A avaliação da capacidade antimicrobiana é um importante passo durante o desenvolvimento de novos materiais restauradores (Pupo et al, 2014).

O objetivo deste estudo, portanto, foi avaliar o efeito antibacteriano de um adesivo auto-condicionante de dois passos associado a diferentes concentrações de solução de digluconato de clorexidina (DCHX).

Metodologia

2.1) Obtenção das amostras

As amostras de saliva da microbiota bucal(n=10) utilizadas nesta pesquisa fazem parte de amostras que apresentaram culturas descartadas pelo Laboratório de Análises Clínicas - setor de Bacteriologia do Hospital Universitário do Oeste do Paraná, Cascavel/PR.

2.2) Preparação do adesivo autocondicionante contendo clorexidina

O adesivo autocondicionante de dois passos AdheSe® (Ivoclar Vivadent, Sacha, Lichstein, Alemanha) foi utilizado nesse estudo. A solução aquosa de digluconato de clorexidina 20% foi adicionada ao *primer* do adesivo autocondicionante para preparar misturas contendo três diferentes concentrações de clorexidina: 0,5%, 1% e 2%. (Tabela 02) e distribuídos em 4 grupos experimentais (G1, G2, G3 e G4) e dois grupos controle (CP, CN) conforme tabela 03.

Tabela 01 – descrição do material

MATERIAL	COMPOSIÇÃO
Adesivo AdheSe (Ivoclar/Vivadent)	<i>Primer:</i> dimetacrilato, acrilato do ácido fosfônico, indicadores e estabilizadores , água <i>Adesivo:</i> 2-hidroxietilmetacrilato (HEMA), dimetacrilato, dióxido de silício, iniciadores e estabilizadores
Digluconato de Clorexidina 20%	Solução aquosa de clorexidina a 20%

Tabela 02 – Composição de adesivo AdheSe®e do digluconato de clorexidina em diferentes concentrações

MATERIAL	Quantidade		
	0,5%	1%	2%
Adesivo AdheSe® (Ivoclar/Vivadent)	487,5 µl	475µl	450 µl
Digluconato de Clorexidina 20%	12,5µl	25µl	50µl

Tabela 03 - Distribuição do material em diferentes concentrações nos grupos amostrais(G1, G2, G3 e G4) e controle

Grupo	Composição dos grupos
G1	ADH 500 µl
G2	ADH+ CHX -0,5%
G3	ADH + CHX – 1%
G4	ADH + CHX – 2%

CP	CHX 20%
CN	discos de papel filtroestéril
ADH - Adesivo AdheSe®; CHX - digluconato de clorexidina; CP - controle positivo; CN – controle negativo	

2.3) Teste de difusão em ágar (TDA)

As amostras de saliva da microbiota bucal foram semeadas em placas de ágar sangue, incubadas a $37 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 24 horas e após o crescimento das colônias foram preparados inóculos para a realização do Teste de difusão em ágar (TDA). Para isso foi utilizado *swab* estéril, raspando aleatoriamente sobre as diferentes colônias presentes no ágar sangue e inoculadas em salina até turvação 05 da escala de MacFarland, equivalente a $1,5 \times 10^8$ UFC/mL de salina. O TDA foi realizado em placas de Petri contendo meio de ágar sangue. Sobre este foram posicionados quatro discos de papel absorvente de 04 mm de diâmetro conforme os grupos descritos na tabela 02, juntamente com os controles positivo e negativo. As placas de ágar contendo as amostras ficaram incubadas por 24hs, em estufa bacteriológica a $37 \pm 2^\circ\text{C}$, e foram então inspecionadas quanto à ocorrência de formação de halo de inibição dos microrganismos. O maior diâmetro do halo foi mensurado com a ajuda de um aparelho de medição de precisão denominado de paquímetro digital de precisão(0,0001mm) (Mitutoyou Sul Americana Ltda/ Starret Tools®). Todas as amostras foram realizadas em duplicata. Também foram feitos esfregaços de cada amostra da microbiota bucal e coradas pela técnica de Gram com posterior análise das características morfotintoriais (Figura 1).

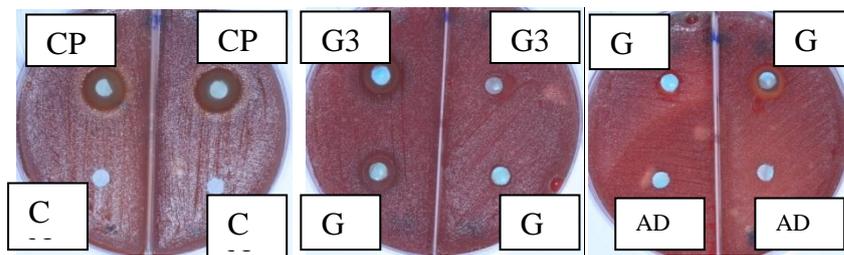


Fig 1 -- Imagens representativas dos meios de cultura: grupos experimentais e controle.

2.4) Características morfotintoriais

Após realizar os esfregaços de cada amostra da microbiota bucal, os quais foram corados pela técnica de Gram e posterior análise das características morfotintoriais, foram encontrados os seguintes resultados:

Tabela 04 – Características morfotintoriais das amostras coradas pela técnica de Gram.

AMOSTRAS	CARACTERÍSTICAS MORFOTINTORIAL				
	CGP	CGN	BGP	BGN	LEV
01	+++	+	+	++	NE
02	raros	+++	NE	raros	NE
03	+	+++	NE	raros	NE
04	+	+++	++	raros	+
05	++	+++	+	NE	NE
06	++	+++	+	NE	NE
07	+++	++	++	+	NE
08	+++	++	++	raros	NE
09	+++	raros	++	NE	NE
10	++	+++	raros	raros	NE

CGP – cocos Gram positivos; CGN – cocos Gram negativos; BGP – bacilos Gram positivos; BGN – bacilos Gram negativos; LEV - leveduras

2.5) Análise estatística

Os dados médios obtidos para os halos de inibição foram analisados por meio do software Bioestat 5.3 (Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá, Tefé- AM). Para isso, os valores foram submetidos inicialmente ao teste de aderência a curva de normalidade, Shapiro Wilk. Considerando o resultado positivo de aderência a curva de normalidade, os dados foram submetidos à Análise de Variância, ANOVA, e em seguida pós teste de Tukey, $p < 0,05$.

Resultados

Halos de inibição foram encontrados ao redor de todos os discos de filtro em que foram aplicados o primer acrescido de clorexidina mais o adesivo, bem como ao redor dos discos do controle positivo. Ao redor dos discos do controle negativo e dos discos com primer e adesivo não modificados não foram observados halos de inibição (Tabela 04 e 05).

Tabela 05 –Leitura dos diâmetros dos halos de inibição (mm) nos grupos G1. G2. G3 e G4, em duplicata.

Amostra	G1	G1'	G2	G2'	G3	G3'	G4	G4'
1	N	N	8,37	8,33	5,62	6,51	8,59	7,15
2	N	N	6,76	9	8,86	8,54	7,84	5,98
3	N	N	9,01	9,37	10,16	13,49	7,72	7,2
4	N	N	6,82	12,22	6,17	6,59	7,75	5,43
5	N	N	5,67	6,52	5,27	7,28	10,4	7,09
6	N	N	9,11	15,72	7,27	9,26	8,07	6,12
7	N	N	9,12	8,98	8,84	13,86	9,39	7,14
8	N	N	5,91	15,64	5,24	7,31	7,14	7,15
9	N	N	5,67	6,81	8,24	10,69	11,09	6,83
10	N	N	7,11	6,22	7,18	8,23	11,52	11,35

N - negativo

Tabela 06- Leitura dos diâmetros dos halos de inibição (mm) dos controles positivo e negativo, em duplicata.

Amostra	CP	CP'	CN	CN'
01	13,26	13,17	N	N
02	13,23	11,86	N	N
03	14,14	12,97	N	N
04	17	12,94	N	N
05	16,93	15,7	N	N
06	18,27	16,2	N	N
07	14,05	16,43	N	N
08	11,92	12,57	N	N
09	14,3	15,86	N	N
10	14,14	15,99	N	N

CP – controle positivo; CN – controle negativo

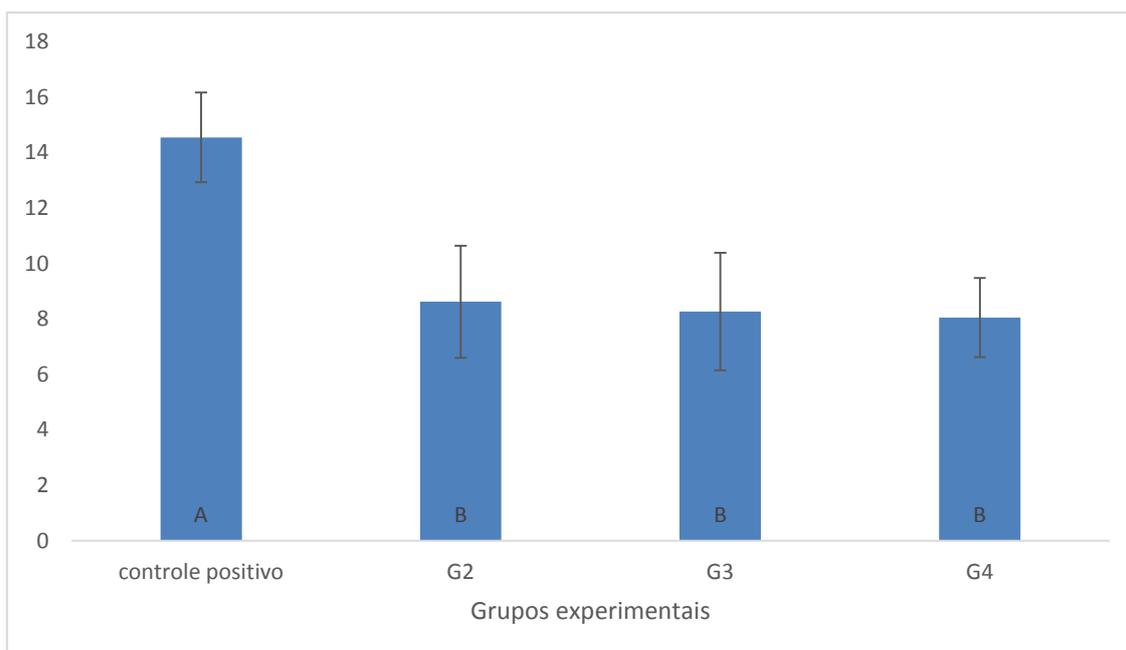


Figura 1 - Média +- desvio padrão da variável quantitativa em relação aos grupos experimentais. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas entre os grupos ($p < 0.05$).

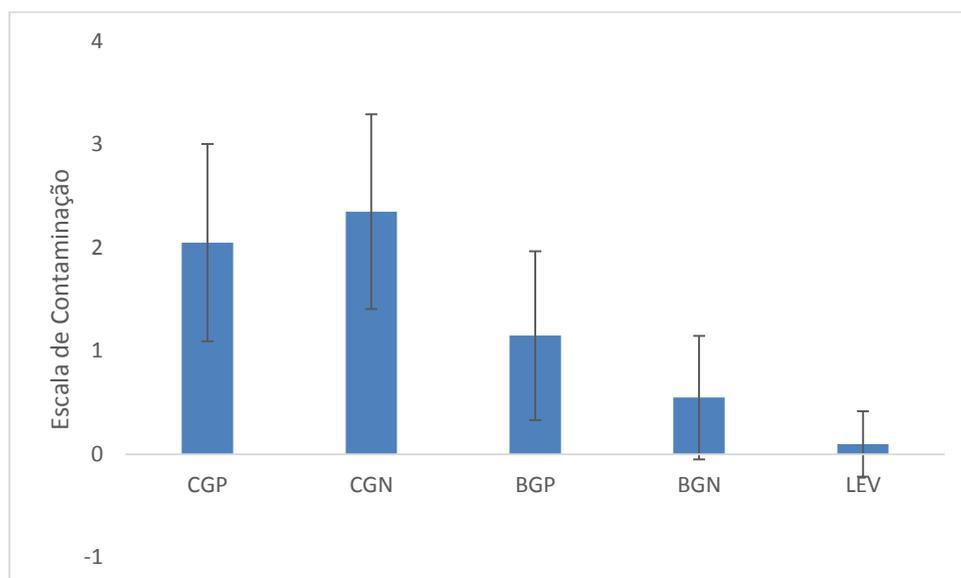


Figura 2 – Escala de contaminação. CGP – cocos Gram positivo; CGN – cocos Gram negativo; BGP – bacilos Gram positivo; BGN – bacilos Gram negativos; LEV – leveduras.

Discussão

No presente estudo foi possível observar a presença de halos de inibição para todos os grupos, com exceção do controle negativo. Este fato pode ter ocorrido em função da presença de diferentes concentrações de CHX, um agente antibacteriano de largo espectro. Autores (Jacobó et al, 2013; Chaharom et al, 2014; Penmetsa et al, 2014) sugerem que a atividade bactericida dos sistemas adesivos é afetada por propriedades inerentes de cada material como pH, viscosidade, capacidade de difusão e, claro, a presença de agentes antibacterianos. Devido ao pH ácido dos adesivos auto-condicionantes, sugere-se que essa maior acidez dos *primers* seria a chave da atividade bactericida desses materiais. No entanto, outros estudos recentes não encontraram uma relação significativa entre a acidez dos adesivos auto-condicionantes e seus efeitos antibacterianos (Li et al, 2009; Zhang et al, 2012), o presente estudo também não demonstrou tal característica, visto que para todas as amostras de microbiota, não houve formação de halo de inibição (G1).

A modificação dos materiais adesivos pode ser realizada, basicamente, por dois métodos: adição de agentes antibacterianos solúveis e a imobilização de componentes antibacterianos na matriz ou sistemas adesivos (Imazato, 2003). Trabalhos citaram situações prejudiciais após a adição de agentes antibacterianos solúveis, entre elas a diminuição drástica e rápida dos níveis do agente antibacteriano e dificuldade de entendimento da cinética desse processo e os efeitos adversos nas propriedades físico-mecânicas (Imazato et al, 2003; Shafei et al, 2013; Cocco et al, 2015). No entanto, alguns estudos *in vitro* mostram que adição de CHX em pequenas concentrações não altera as propriedades físico-mecânicas (Loguercio et al, 2013; Breschi et al, 2010; Zhou et al, 2009) bem como *in vivo* (Ricci et al, 2010; Dua et al, 2013). Castilho et al (2013) avaliaram *in vivo* e *in vitro* o comportamento de um cimento de ionômero de vidro modificado por resina quando a ele se adicionou diferentes concentrações de CHX, os resultados mostraram que o uso de 1,25% CHX aumentou significativamente os efeitos antibacterianos encontrados no cimento, sem prejudicar as propriedades mecânicas bem como a resposta dos odontoblastos, o que pode possibilitar a remoção parcial da cárie abrindo novas perspectivas para o tratamento conservador.

O biofilme oral é um material altamente complexo, formado por centenas de espécies bacterianas (Li et al, 2014; Sim et al, 2016). Existe enorme variedade de modelos de biofilmes utilizados em pesquisas *in vitro* no intuito de avaliar agentes

anticariogênicos (Sim et al, 2016). Um biofilme ideal *in vitro* deve apresentar algumas características, tais como: ser representativo da diversidade natural do meio bucal e biofilme, o meio de crescimento deve simular o comportamento salivar e demonstrar a farmacocinética do agente pesquisado tal como em boca (Sim et al, 2016). No entanto, Li et al (2016) consideram que um bom modelo de biofilme para o estudo *in vitro* é aquele que pode ser retirado diretamente do meio bucal, através de *swabs*, e então transportados para um modelo de meio de crescimento que represente a cavidade oral. No presente estudo utilizamos as amostras de saliva da microbiota bucal com este mesmo intuito.

Dentro dos sistemas fechados de modelos para promover o crescimento bacteriano, a placa de Agar representa o mais simples deles, e o meio de crescimento em placas de Petri garantem a mesma facilidade de trabalho do meio em Agar, mas com maior garantia do crescimento bacteriano devido à presença de proteínas e carboidratos. Para que esse meio de cultura se tornasse ideal, seria necessária a presença de enzimas salivares e também um suprimento de gradual de sacarose simulando o ambiente bucal (Li et al, 2015; Sim et al, 2016). Neste trabalho foi utilizado um meio de cultura, e as espécies bacterianas inoculadas após o tempo de crescimento de 24 horas, foram avaliadas em suas características morfológicas e tintoriais. Em relação à escala de contaminação por microrganismos, foi possível observar entre as amostras avaliadas que todas (100%) apresentaram contaminação por CGN (cocos gram-negativos), apresentando um grau de contaminação médio de 2.35 ± 0.94 +, bem como por CGP (cocos gram-positivos), com um grau de contaminação de 2.05 ± 0.96 +, fato semelhante ao que se encontra nas placas dentárias com potencial cariogênico, sendo o *S. mutans* o principal formador das mesmas. Esteves et al (2014) avaliaram a atividade antibacteriana de vários adesivos auto-condicionantes em relação a diferentes espécies de estreptococos, utilizando como meio de crescimento BHI (brain-heart-infusion), e como dentre as espécies estudadas, o *S. oralis* foi o mais sensível a todos os sistemas adesivos testados, apresentando o maior diâmetro dos halos de inibição.

Conclusão

O presente trabalho demonstrou que a adição de diferentes concentrações de Digluconato de clorexidina ao *primer* do adesivo auto-condicionante Adhese® (Ivoclar Vivadent) se mostrou eficaz em promover inibição, *in vitro*, da atividade bacteriana sobre as amostras de saliva

Referências bibliográficas

Abu Nawareg M, Elkassas D, Zidan A, Abuelenain D, Abu Haimed T, Hassan AH, Chiba A, Bock T, Agee K, Pashley DH. Is chlorhexidine-methacrylate as effective as chlorhexidine digluconate in preserving resin dentin interfaces? *Journal of Dentistry*. 2016; 45:7–13.

Araújo MS, Souza LC, Apolonio FM, Barros LO, Reis A, Loguercio AD, Saboia VP. Two-year clinical evaluation of chlorhexidine incorporation in two-step self-etch adhesive. *J Dent*. 2015; 43(1):140-8.

Breschi L, Cammelli F, Visintini E, Mazzoni A, Vita F, Carrilho M et al. Influence of chlorhexidine concentration on the durability of etch-and-rinse dentin bonds: a 12-month in vitro study. *Adhes Dent*. 2009; 11(3): 191–198.

Campos EA, Correr GM, Leonardi DP, Pizzatto E, Morais EC. Influence of chlorhexidine concentration on microtensile bond strength of contemporary adhesive systems. *Braz Oral Res*. 2009; 23(3):340-5.

Carvalho RM, Manso AP, Geraldeli S, Tay FR, Pashley DH. Durability of bonds and clinical success of adhesive restorations. *Dent Mater*. 2012 January ; 28(1): doi:10.1016/j.dental.2011.09.011.

Castilho ARF, Duque C, Negrini TC, Sacono NT, de Paula AB, de Souza Costa CA, Spolidório DMP, Puppim-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; 41: 155 – 163.

Chaharom MEE, Ajami AA, Kahnamouei MA, Navimipour EJ, Techranchi P, Zandi V et al. Antibacterial Effect of All-in-one Self-etch Adhesives on *Enterococcus faecalis*. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospect*. 2014; 8(4): 225-229.

Cobanoglu N, Ozer F, Demirci M, Erganis O, Imazato S. Bacterial penetration of restored cavities using two self-etching bonding systems. *Eur J Dent*. 2014; 8(2):166-71.

Cocco, A.R.; da Rosa, W.R.O.; da Silva, A.R.; Lund, R.G.; Piva, E. A systematic review about antibacterial monomers used in dental adhesive systems: Current status and further prospects. *Dental Materials*. 2015; 31:1345-1362.

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.

Esteves, C.M.; Ota-Tsuzuki, C.; Reis, A.F.; Rodrigues, J.A. Antibacterial Activity of Various Self-etching Adhesive Systems Against Oral Streptococci. *Operative Dentistry*, (2014); 35-4, 448-453.

- Giannini, M, Makishi P, Ayres APA, Vermelho PM, Fronza BM, Nikaido T et al. Self-Etch Adhesive Systems: A Literature Review. *Brazilian Dental Journal*. 2015; 26(1): 3-10.
- Hjeljord LG, Rolla G, Bonesvoll, P. Chlorhexidine-protein interactions. *Journal of Periodontal Research*. 1973; 8: 11-16.
- Hugo WB, Longworth AR. Some aspects of the mode of action of chlorhexidine. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 1964; 16(10): 655-662.
- Imazato S. Antibacterial properties of resin composites and dentin bonding systems. *Dental Materials*. 2003. 19: 449-57.
- Imazato S, Ma S, Chen J, Xu HHK. Therapeutic polymers for dental adhesives: Loading resins with bio-active components. *Dent Mater*. 2014; 30(1): 97–104.
- Inagaki LT, Dainezi VB, Alonso RCB, De Paula AB, Garcia-Godoy F, Puppim-Rontani RM et al. Evaluation of sorption/solubility, softening, flexural strength and elastic modulus of experimental resin blends with chlorhexidine. *Journal of Dentistry*. 2016; 49: 40-45.
- Jacobo C, Torrella F, Bravo-González LA, Ortiz AJ, Vicente A. *In vitro* study of the antibacterial properties and microbial colonization susceptibility of four self-etching adhesives used in orthodontics. *European Journal of Orthodontics*. 2014; 36: 200–206.
- Li F, Weir MD, Chen J, Xu HHK. Comparison of quaternary ammonium-containing with nanosilver-containing adhesive in antibacterial properties and cytotoxicity. *Dent Mater*. 2013 April ; 29(4): 450–461.
- Li Y, Carrera C, Chen R, Li J, Patricia L, Rudney JD et al. Degradation in the Dentin-Composite Interface Subjected to Multi-Species Biofilm Challenges. *Acta Biomater*. 2014 January ; 10(1): . doi:10.1016.
- Li F, Weir MD, Fouad AF, Xu HHK. Effect of salivary pellicle on antibacterial activity of novel antibacterial dental adhesives using a dental plaque microcosm biofilm model. *Dental Mater*. 2014; 30(2): 182-191.
- Li F, Wang P, Weir MD, Fouad AF, Xu HHK. Evaluation of antibacterial and remineralizing nanocomposite and adhesive in rat tooth cavity model. *Acta Biomater*. 2014 June ; 10(6): 2804–2813.
- Li F, Majd H, Weir MD, Arola DD, Xu HHK. Inhibition of matrix metalloproteinase activity in human dentin via novel antibacterial monomer. *Dental Materials*. 2015; 31: 284-292.
- Masarwa N, Mohamed A, Abou-Rabii I, Abu Zaghlan R, Steier L. Longevity of self-etch dentin bonding adhesives compared to etch-and-rinse dentin Bonding adhesives: a systematic review. *J Evid Base Dent Pract*. 2016: 16 (2): 96-106.

Montagner AF, Sarkis-Onofre R, Pereira-Cenci T, Cenci MS. MMP inhibitors on dentin stability: a systematic review and metanalysis. *J Dent Res*. 2014; 93(8): 733-43.

Nishitani Y, Hosaka K, Hoshika T, Yoshiyama M, Pashley DH. Effects of chlorhexidine in self-etching adhesive: 24 hours results. *Dental Materials Journal*. 2013; 32(3): 420–424.

Pashley DH, Tay FR, Yiu CKY, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho R, et al. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *J Dent Res*. 2004; 83:216–221.

Penmetsa RKR, Sri Rekha A, Poppuri KC, Prashanth Sp, Garapati S. An *In Vitro* Evaluation of Antibacterial Properties of Self Etching Dental Adhesive Systems. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2014; Jul, Vol-8(7): ZC01-ZC05.

Pupo YM, Farago PV, Nadal JM, Simão LC, Esmerino LA, Gomes OMM, Gomes JC. Effect of a Novel Quaternary Ammonium Methacrylate Polymer (QAMP) on Adhesion and Antibacterial Properties of Dental Adhesives. *International Journal of Molecular Science*. 2014; 15: 8998-9015.

Ricci, H.A.; Sanabe, M.E.; de Souza Costa, C.A.; Pashley, D.H.; Hebling, J. Chlorhexidine increases the longevity of *in vivo* resin–dentin bonds. *Eur J Oral Sci*. 2010; 118:411–416.

Shafie F, Alikhani A, Alavi AA. Effect of chlorhexidine on bonding durability of two self-etching adhesives with and without antibacterial agent to dentin. *Dental Research Journal*. 2013; 10(6): 795-801.

Sim CPC, Dashper SG, Reynolds EC. Oral microbial biofilm models and their application to the testing of anticariogenic agents. *Journal of Dentistry*. 2016; 50: 1–11.

Tyas, MJ.; Burrow, MF. Adhesive restorative materials: A review. *Australian Dental Journal*. 2004; 49(3): 112-121.

Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, et al. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: Current status and future challenges. *Oper Dent*. 2003; 28:215–35.

Van Meerbeek B, Yoshihara K, Yoshida Y, Mine A, De Munck J, Van Landuyt KL. State of the art of self-etch adhesives. *Dental Materials*. 2011; 27: 17-28.

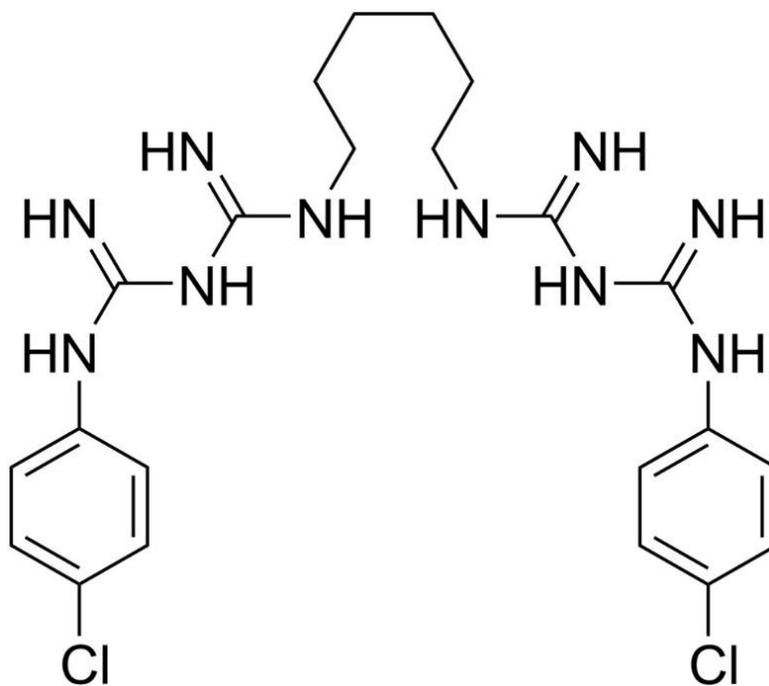
Zhang K, Wang S, Zhou X, Xu HHK, Weir MD, Ge1 Y et al. Effect of Antibacterial Dental Adhesive on Multispecies Biofilms Formation. *Journal of Dental Research*. 2015; 94(4): 622–629.

Zhang, K. et al. Effect of Antibacterial Dental Adhesive on Multispecies Biofilms Formation. *Journal of Dental Research*. 2012; 94(4): 622–629.

Zhou J, Tan J, Yang X, Xu X, Li D, Chen L. MMP-Inhibitory Effect of Chlorhexidine Applied in a Self-etching Adhesive. *J Adhes Dent*. 2011; 13(2): 111-115.

ANEXOS

Figura 01 – Estrutura molecular da clorexidina.



Fonte: <http://qnint.s bq.org.br>.