

# AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIMICROBIANO DO DIACETATO DE CLOREXIDINA EM DOIS CIMENTOS DE IONÔMERO DE VIDRO

*Data de submissão: 13/06/2023*

*Data de aceite: 03/07/2023*

### **Renato Mayhé**

School of Dentistry, State University of Rio de Janeiro - Rio de Janeiro, Brazil  
<https://orcid.org/0009-0007-2527-1818>

### **Simone Gomes de Oliveira**

Piracicaba School of Dentistry, UNICAMP – São Paulo, Brazil  
School of Dentistry, State University of Rio de Janeiro - Rio de Janeiro, Brazil  
<https://orcid.org/0000-0002-1414-3155>

### **Flávio Henrique Baggio Aguiar**

Piracicaba School of Dentistry, UNICAMP – São Paulo, Brazil  
<https://orcid.org/0000-0003-3389-5536>

### **Hélio Rodrigues Sampaio Filho**

Faculdade de Odontologia da UERJ - Rio de Janeiro, Brazil  
<https://orcid.org/0000-0003-4264-9118>

**RESUMO:** O objetivo deste estudo foi avaliar a ação antibacteriana contra *S. mutans* de dois cimentos de ionômero de vidro (GIC) adicionados de diacetato de clorexidina (dCHX). As amostras GIV Maxxion R (MAX) e Vitro Fil R (VIT) foram preparadas com 0,5%, 1% e 2% dCHX. Seis grupos experimentais e dois grupos de

controle (sem dCHX) (n=10) foram testados. A atividade antibacteriana foi avaliada por difusão em ágar (24h e 7, 15, 30 e 40 dias) e pela exaustão de dCHX (7 e 15 dias). O efeito do fluoreto de sódio na ação antibacteriana da dCHX também foi investigado. Os resultados foram analisados por ANOVA e teste de Student-Newman-Keuls com nível de significância de  $p < 0,05$ . Todos os grupos experimentais apresentaram ação antibacteriana. O tamanho dos halos de inibição variou de 2,29mm a 6,82mm nos grupos MAX e de 1,73mm a 8,97mm nos grupos VIT. Apenas os grupos VIT com 0,5% e 1% dCHX não variaram significativamente entre si. O 15º dia apresentou a maior atividade antibacteriana para ambos os GICs, exceto para MAX com 1% dCHX. A inibição de *S. mutans* foi mantida após 7 e 15 dias de exaustão. Nenhum efeito antagonista foi observado na capacidade antibacteriana de dCHX na presença de fluoreto de sódio. A inibição de *S. mutans* foi dependente da concentração de dCHX. A associação da dCHX ao GIC não alterou a capacidade antibacteriana do dCHX. A ação antibacteriana da dCHX sobre o GIC manteve-se efetiva por até 15 dias de exaustão e o fluoreto de sódio não interferiu na atividade antibacteriana da dCHX.

**PALAVRAS-CHAVE:** Cimentos de ionômeros de vidro. Clorexidina. *Streptococcus mutans*.

## EVALUATION OF THE ANTIMICROBIAL EFFECT OF CHLORHEXIDINE DIACETATE ON TWO GLASS IONOMER CEMENT

**ABSTRACT:** The aim of this study was to evaluate the antibacterial action against *S. mutans* of two glass ionomer cement (GIC) added with chlorhexidine diacetate (dCHX). GIV Maxxion R (MAX) and Vitro Fil R (VIT) samples were prepared with 0.5%, 1%, and 2% dCHX. Six experimental groups and two control groups (without dCHX) (n=10) were tested. The antibacterial activity was evaluated by agar diffusion (24h and 7, 15, 30, and 40 days) and by dCHX exhaustion (7 and 15 days). The effect of sodium fluoride on the antibacterial action of dCHX was also investigated. Results were analyzed by ANOVA and Student-Newman-Keuls test at the significance level of  $p < 0.05$ . All experimental groups showed antibacterial action. The size of the inhibition halos ranged from 2.29mm to 6.82mm in the MAX groups and from 1.73mm to 8.97mm in the VIT groups. Only the VIT groups with 0.5% and 1% dCHX did not vary significantly from each other. The 15th day showed the highest antibacterial activity for both GICs, except for MAX with 1% dCHX. *S. mutans* inhibition was maintained after 7 and 15 days of exhaustion. No antagonistic effect was observed on the antibacterial ability of dCHX in the presence of sodium fluoride. Inhibition of *S. mutans* was dependent on dCHX concentration. The association of dCHX to GIC did not change the antibacterial capacity of dCHX. The antibacterial action of dCHX on the GIC remained effective for up to 15 days of exhaustion and sodium fluoride did not interfere with the antibacterial activity of dCHX.

**KEYWORDS:** Glass ionomer cements. Chlorhexidine. *Streptococcus mutans*.

## 1 | INTRODUÇÃO

Desde sua introdução no mercado os CIV têm sofrido transformações em sua composição com o objetivo de melhorar suas propriedades como material restaurador. Essas melhorias contribuem para a recuperação da forma anatômica e funcionalidade ideais, e para a menor remoção de estrutura dentária, abrindo caminho para tratamentos restauradores odontológicos de intervenção mínima.

Dentre as novas tendências de desenvolvimento dos materiais restauradores, o desenvolvimento de materiais com funções bioativas capazes de proporcionar efeitos terapêuticos, tem se transformado em um desafio atual e de grandes perspectivas. Tradicionalmente o efeito terapêutico esperado pelos CIV se baseiam no controle e prevenção da doença cárie. A incorporação de agentes antimicrobiano aos CIV tem na clorexidina (CHX) um dos principais agentes microbianos com os melhores resultados in vitro (BOROMPIYASAWAT et al., 2022; DA MOTA MARTINS et al., 2022; RATNAYAKE et al., 2022).

A CHX é um detergente catiônico, da classe das bisbiguanidas e é comercializada desde 1950 como antisséptico. É disponível nas formas de acetato, hidrocloreto e digluconato. Apresenta amplo espectro de atuação, atuando sobre bactérias gram-positivas,

gram-negativas, fungos, leveduras e vírus lipofílicos. Seu uso na odontologia possui um papel de destaque dentre os antissépticos por apresentar boa estabilidade, absorção mínima pela mucosa e pele e não promover efeitos tóxicos e colaterais sistêmicos, mesmo quando utilizadas por longos períodos (BROOKES et al., 2020).

A associação da CHX ao CIV tem se mostrado promissora, possibilitando uma boa estratégia, principalmente para pacientes com alto risco da doença cárie, pacientes refratários aos métodos tradicionais ou pacientes cujo fluxo salivar esteja alterado qualitativa ou quantitativamente, como nos casos de pacientes sindrômicos ou que se sob tratamento radioterápico na região de cabeça e pescoço (DA MOTA MARTINS et al., 2022; HONG et al., 2018; RATNAYAKE et al., 2022).

## 2 | OBJETIVO

O presente estudo tem como objetivo avaliar o efeito da ação antimicrobiana do dCHX incorporado a CIV e a influência do fluoreto de sódio neste efeito.

## 3 | MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Amostras de dois CIV convencionais foram incorporadas a 0,5%, 1% e 2% de diacetato de CHX (dCHX) e distribuídas em 6 grupos experimentais (n=10). Foi utilizado um grupo controle (n=10) de cada CIV sem a incorporação de dCHX. A atividade antibacteriana contra o *S. mutans* foi investigada por difusão em ágar e após a exaustão por lixiviação em água destilada e deionizada estéril. A avaliação da inibição da ação do fluoreto de sódio frente a dCHX foi testada pela formação de halo de inibição em ágar.

### 3.2 PREPARO DAS AMOSTRAS

Foram utilizados os CIV Maxxion R® (FGM Prod. Odontol. Ltda, Joinville, SC, Brasil) (MAX) e Vitro Fil R® (Nova DFL Ind. Com. S. A., Rio de Janeiro, RJ, Brasil) (VIT), na cor A3. O preparo das amostras seguiu a orientação dos fabricantes. Quantidades de 0,5%, 1% e 2% de dCHX foram incorporadas ao líquido durante a manipulação do material restaurador, por um único operador, em ambiente laboratorial com temperatura média de  $23 \pm 2$  °C. As amostras foram confeccionadas nas dimensões de 4 mm de diâmetro por 2 mm de espessura. As amostras foram mantidas em estufa a 37 °C até a realização dos ensaios.

### 3.3 DIFUSÃO EM ÁGAR

Placas de petri estéreis de poliestireno de 90x15 mm foram preparadas com 20 mL

de Trypticase Soy Agar (TSA) e mantidas em estufa a 37 °C, para testar sua esterilidade. Em seguida, foram mantidas em refrigeração (4°C). O inóculo foi preparado com o liofilizado de *S. mutans* (ATCC 25175), transferido para um frasco com 5 mL de caldo Brain Heart Infusion (BHI, Difco, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e incubado a 37 °C, por uma noite. Este procedimento foi repetido por três dias. No quarto dia, com uma alça descartável, uma placa de BHI ágar foi inoculada por esgotamento e incubada por 18 h a 37 °C. Após o crescimento em placa, cinco colônias foram selecionadas e incubadas em 5 mL de caldo BHI a 37 °C, por quatro horas até alcançar a turbidez 0,5 (padrão da escala nefelométrica de Mc Farland). A turbidez foi ajustada com espectrofotômetro para 580 nm, através da determinação da absorbância ( $0,10 \pm 0,02$ ), para obter uma concentração bacteriana final de aproximadamente  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL. A superfície do ágar BHI foi inoculada com o *swab* em toda a sua superfície estéril e distribuídas duas amostras de cada grupo segundo a concentração de dCHX incorporado (0,5%, 1% e 2%), além dos grupos controle. Após 48 h de incubação a 37 °C, em capnofilia (5% CO<sub>2</sub>), as placas foram examinadas para avaliar o efeito antimicrobiano do material, a uniformidade do crescimento bacteriano e a presença de contaminantes. As medições foram feitas diametralmente em três pontos com um paquímetro digital calibrado (SC-6 paquímetro digital, Mitutoyo, Tóquio, Japão) e calculado o valor médio do halo para cada corpo de prova. Todas as amostras experimentais e de controle foram testadas nos tempos de 24h e 7, 15, 30 e 40 dias, todos em triplicata.

### 3.4 ENSAIO DE EXAUSTÃO

As amostras foram submetidas à exaustão do dCHX dos íons fluoretos e do dCHX através de trocas diárias de 250 µl de água destilada e deionizada, por 7 e 15 dias. Amostras não submetidas à exaustão foram utilizadas como controle. Poços com o microorganismo (*S. mutans*) e o meio de cultura serviram como controle positivo. Um inóculo da mesma cepa de *S. mutans* ( $1,5 \times 10^8$  UFC/mL) foi preparado e mantido a 37°C, por 24 h, em meio TSA. Uma amostra desta solução foi diluída à concentração de  $10^{-5}$  e foram dispostos 20 µl desta solução sobre cada corpo de prova testado e nos poços que serviram de controle. Após uma hora foi dispensado 200 µl de meio TSA acrescido de cloreto 2,3,5-trifeniltetrazólio (TTFC) a 0,01%. Após a solidificação do meio, as placas mantidas a 37°C, por 48 h em capnofilia. O crescimento de colônias de *S. mutans* foi quantificado com um microscópio estereoscópio binocular após 48 e 96 horas.

### 3.5 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA NA PRESENÇA DO FLUORETO DE SÓDIO

Um inóculo de *S. mutans* (ATCC) com turbidez na escala 0,5 de Mc Farland foi inoculado em placas-teste com ágar-sangue, de forma semelhante ao descrito no ensaio em difusão em ágar. As placas foram mantidas abertas por alguns minutos até que a solução pudesse ser absorvida pelo meio. As soluções de dCHX (0,5%, 1% e 2%) foram

preparadas a partir de uma solução a 2% em água destilada e deionizada e posteriormente diluída às concentrações de 1% e 0,5%. Para a completa solubilização de fluoreto de sódio a 10%. Uma vez preparadas, foram dispostas em filtros de papel de 5 mm de diâmetro sobre a superfície de ágar-sangue, distribuídas de forma a testar as concentrações de dCHX com as soluções de Tween 80 a 33% (controle positivo) e de fluoreto de sódio a 10%. Foram aplicados 20  $\mu$ l das diferentes soluções sobre os filtros de papel e incubadas a 37°C por 48 horas.

### 3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados pelo Software Priimer for Biostatistic e avaliados quanto à normalidade e homoscedasticidade. As diferenças entre os grupos, foram avaliadas segundo o tempo de confecção das amostras e a concentração de dCHX pelos testes One way ANOVA e Student-Newman-Keuls (SNK). Todos os testes foram realizados com nível de significância de 0,05.

## 4 | RESULTADOS

O ensaio de difusão em ágar teve como objetivo observar a inibição do crescimento de *S. mutans* através da formação de halo ao redor das amostras. Foram observados halos em ambos os CIV para as diferentes concentrações de dCHX. O aumento da inibição se mostrou associado ao aumento da concentração de dCHX. Nos grupos controle (sem dCHX) não houve a formação de halo. A curva de tendência de inibição de *S. mutans* dos grupos experimentais foram semelhantes entre ambos os CIV, variando entre 3,64 mm e 5,73 mm no MAX e 3,18 mm e 6,74 mm no VIT (Tabela 1). A diferença entre os grupos experimentais foi significativa para todos os grupos, com exceção entre VIT 0,05% e 1% (Tabela 1).

O tempo de 15 dias foi o de maior inibição ao *S. mutans*, independentemente do material restaurador ou da concentração de dCHX (Tabela 2). A concentração de dCHX não interferiu com o padrão da ação antibacteriana ao longo do período, e o período de 15 dias foi o de maior ação contra o crescimento bacteriano (Figura 1).

Material	Concentração de dCHX	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
MAX	0,5%	30	3,64 <sup>A</sup>	0,71	2,29	4,83
	1%	30	4,40 <sup>B</sup>	0,49	3,62	5,18
	2%	30	5,73 <sup>C</sup>	0,57	4,89	6,82
VIT	0,5%	30	3,18 <sup>A</sup>	0,69	1,73	4,73
	1%	30	4,15 <sup>A</sup>	1,27	2,63	7,09
	2%	30	6,74 <sup>B</sup>	1,22	5,01	8,97

Nota: Letras correspondem às diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as concentrações de diacetato de clorexidina para cada cimento de ionômero de vidro.

Tabela 1: Ação antibacteriana segundo a concentração de diacetato de clorexidina

Material	Tempo	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
MAX	24 horas	30	4,72 <sup>A</sup>	0,95	3,01	6,05
	7 dias	30	4,69 <sup>A</sup>	1,38	2,29	6,82
	15 dias	30	4,97 <sup>B</sup>	1,09	3,52	6,81
	30 dias	30	4,30 <sup>A</sup>	0,94	3,05	5,73
	40 dias	30	4,27 <sup>A</sup>	0,73	2,93	5,33
VIT	24 horas	30	4,09 <sup>A</sup>	0,98	2,77	5,99
	7 dias	30	4,06 <sup>A</sup>	1,89	1,73	7,24
	15 dias	30	6,03 <sup>C</sup>	2,18	3,60	8,97
	30 dias	30	4,57 <sup>A</sup>	1,59	2,91	7,56
	40 dias	30	4,69 <sup>A</sup>	1,89	2,58	6,95

Nota: Letras maiúsculas correspondem à diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

Tabela 2: Ação antibacteriana segundo o tempo de confecção das amostras

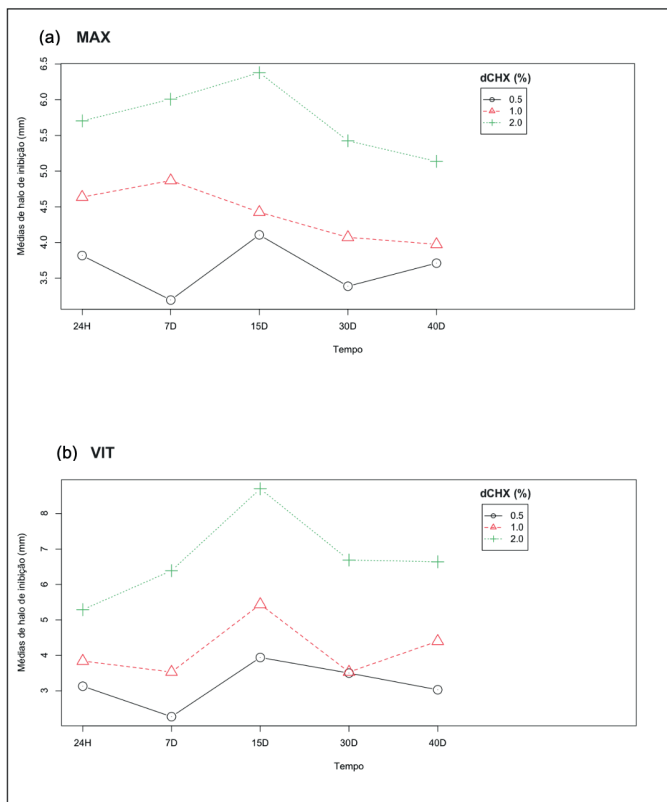


Figura 1: Curva de tendência da ação antibacteriana dos cimentos de ionômero de vidro (MAX: Maxxion R®, FGM Prod. Odontol. Ltda, Joinville, SC, Brasil) (MAX) e VIT: Vitro Fil R®, Nova DFL Ind. Com. S. A., Rio e Janeiro, RJ, Brasil, segundo a concentração de diacetato de clorexidina.

O crescimento de colônias foi observado apenas no controle positivo para ambos os períodos de exaustão (7 dias e 15 dias) (Figura 2A). Após 96 horas de incubação sob as mesmas condições, foram observadas colônias de *S. mutans* na superfície dos poços dos grupos do cimento VIT sem dCHX, com 0,05% de dCHX que não sofreram exaustão e nos que sofreram exaustão por 7 e 15 dias (Figura 2B). O número de colônias destes grupos variou entre 2 a 5, enquanto que os controle positivos tiveram em média 9,13 colônias de *S. mutans*.



Figura 2: Exaustão do diacetato de clorexidina: (A) inibição antibacteriana de amostra de CIV com dCHX e controle positivo com colônias de *S. mutans*; (B) setas apontam colônias em amostra de VIT com 0,5% de dCHX, após 7 dias de exaustão e 96 horas de incubação.

Material	dCHX	exaustão		sem exaustão	controle positivo
		7 dias	15 dias		
MAX	sem dCHX	-	-	-	13
	0,5%	-	-	-	7
	1%	-	-	-	9
	2%	-	-	-	8
VIT	sem dCHX	2	4	5	11
	0,5%	3	2	2	10
	1%	-	-	-	7
	2%	-	-	-	8

Tabela 3: Crescimento de colônias de *S. mutans* após a incubação de 96 horas

A formação de halo em todas as concentrações testadas de dCHX, na presença de fluoreto de sódio, indica a não interferência do fluoreto de sódio no efeito antibacteriana da dCHX (Figura 3).



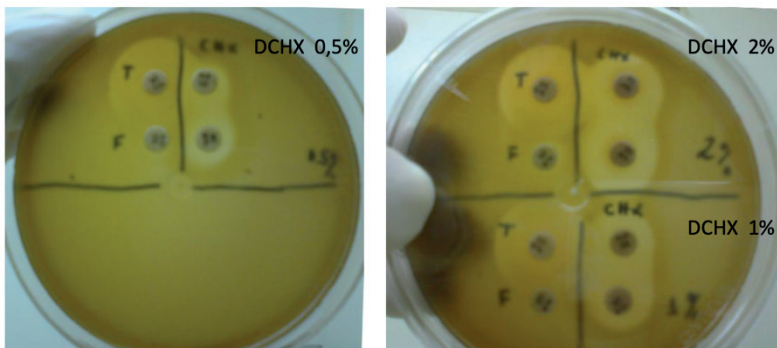


Figura 3: Efeito do fluoreto de sódio na ação antibacteriana do diacetato de clorexidina. Observação: dCHX (diacetato de clorexidina); F (fluoreto de sódio a 10%); T (Tween 80 – controle positivo).

## 5 | DISCUSSÃO

O presente trabalho avaliou se CIV com 0,5%, 1% ou 2% dCHX seriam capazes de inibir o crescimento bacteriano do *S. mutans*. A escolha de *S. mutans* se deve por seu reconhecido papel como agente etiológico da cárie e por ser frequentemente utilizado em testes de atividade antimicrobiana de materiais restauradores. Principalmente em estudos que avaliam os sais de digluconato (HOTWANI et al., 2013), diacetato (DEEPALAKSHMI et al., 2010; TAKAHASHI et al., 2006; TÜZÜNER et al., 2011) e dihidroclorato (BOTELHO, 2000; TAKAHASHI et al., 2006) de clorexidina.

Ensaio de difusão em ágar frequentemente utilizam amostras com dimensões entre 10 mm (DEEPALAKSHMI et al., 2010; TAKAHASHI et al., 2006; TÜZÜNER et al., 2011) a 5 mm de diâmetro e entre 1 mm (HU et al., 2013) a 2 mm de espessura, (DEEPALAKSHMI et al., 2010; TAKAHASHI et al., 2006; TÜZÜNER et al., 2011), podendo chegar a 4 mm (SAINULABDEEN et al., 2010) de espessura. Amostras com dimensões maiores, tem maior superfície em contato com o meio e conseqüentemente, maior área de solubilização do agente antimicrobiano (HOTWANI et al., 2013). No estudo proposto as dimensões das amostras (4 mm de diâmetro por 2 mm de espessura) correspondem a cerca de um terço do volume e da área superficial dos estudos que empregam difusão em ágar. A área de inibição do crescimento bacteriano (Tabelas 1 e 2) observado neste estudo corresponde a cerca de 3, 12 vezes mais que os estudos que utilizam amostras de maior tamanho. A potente ação antibacteriana observada pode ser explicado pela forma de ligação da CHX à apatita (DUQUE et al., 2005), à alta viscosidade dos CIV, decorrente à grande quantidade de vidro (MASSARA; ALVES; BRANDÃO, 2002; TAIFOUR et al., 2002) e pela dureza superficial (OKADA et al., 2001) dos CIV convencionais. O ensaio de difusão em ágar é considerado um teste de rotina de baixo custo e de fácil realização (JORGENSEN; FERRARO, 2009). No entanto, não é possível definir se a ação observada é bacteriostática

ou bactericida. Além disso, o ensaio apresenta uma baixa capacidade de avaliar o efeito antibacteriano de materiais com baixa capacidade de difusão (RIBEIRO; ERICSON, 1991). Por essas razões, o ensaio de difusão em ágar foi realizado em associação à exaustão por 7 e 15 dias (Figura 2), além de permitir avaliar o crescimento de *S. mutans* a partir de um inóculo com concentração definida ( $1,5 \times 10^8$  UFC).

A não evidenciação de ação antibacteriana nos grupos controle foi semelhante ao observado em outros estudos com dCHX (BOTELHO, 2003; TAKAHASHI et al., 2006), o que pode ser parcialmente explicado pela dificuldade de difusão dos íons fluoreto e à alta viscosidade dos CIV (MASSARA; ALVES; BRANDÃO, 2002; TAKAHASHI et al., 2006). Sob essas condições a função antibacteriana dos íons fluoreto tende a falhar e prejudicar a prevenção da cárie (DEEPALAKSHMI et al., 2010). Sabe-se que ao longo do tempo os níveis dos íons fluoretos em CIV tendem a diminuir.

O baixo pH do CIV durante a reação de presa pode contribuir para a propriedade antibacteriana do material restaurador (VERMEERSCH et al., 2005). O pH também influencia a difusão de íons cálcio, alumínio, hidroxila e fluoreto (HOTWANI et al., 2013), tornando os níveis de fluoreto liberados insuficientes para que seu efeito antibacteriano possa ser avaliado pelo ensaio de difusão em ágar (TAKAHASHI et al., 2006). Para que tenham ação antimicrobiana sobre biofilmes bacterianos com 14 dias de crescimento os níveis de fluoreto devem alcançar cerca 19, 998 ppm e após 43 dias, cerca de 5,019 ppm (FORSS et al., 1991). Neste estudo, a manutenção prolongada da atividade antibacteriana do dCHX nos CIV testados, por até 40 dias (Figura 2) e após 15 dias de exaustão (Figura 1), corrobora a indicação deste sal de clorexidina aos CIV e, conseqüentemente que seja observada a ação efetiva do material restaurador contra *S. mutans*.

Alguns estudos sugerem que 1% ou 2% de dCHX podem reduzir propriedades físicas dos CIV (DEEPALAKSHMI et al., 2010; TÜZÜNER; ULUSU, 2012). A redução do desempenho decorrente da incorporação de sais de CHX tem sido atribuída à ligação entre sais catiônicos, que dificultam a reação de presa dos vidros de ácido poliacrílico, prolongando-a pela interferência gerada pelo ataque de prótons e pela lixiviação dos íons do vidro (TAKAHASHI et al., 2006; TÜZÜNER; ULUSU, 2012). Neste trabalho os percentuais de 0,5% e 1% de dCHX associados ao cimento VIT não apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) da ação antibacteriana, diferentemente do cimento MAX (Tabela 1). De um modo geral, os estudos com CHX não apresentam diferença de capacidade de inibição entre os percentuais de 1% e 2% (DEEPALAKSHMI et al., 2010). No entanto, essas concentrações podem levar à redução da resistência à compressão e o aumento do tempo de presa. Isso sugere que a concentração de 0,5% de dCHX seja a mais indicada por aumentar a ação antibacteriana do material restaurador sem os efeitos indesejáveis sobre suas propriedades físicas.

A longevidade do efeito inibitório ao *S. mutans* obtido por sais de clorexidina incorporados a CIV tem sido observada em outros estudos (BOTELHO, 2000; TÜZÜNER

et al., 2011). No estudo proposto o 15º dia foi o de maior efeito contra *S. mutans*, exceto para o cimento MAX com 1% de dCHX, cujo maior efeito contra *S. mutans* foi observado no 7º dia. A ação a longo prazo da clorexidina parece estar envolvida com sua habilidade de se ligar à hidroxiapatita favorecendo sua liberação de forma gradual e conseqüentemente determinando uma ação bacteriostática por um longo período (DUQUE et al., 2005) Ketac Molar (3M ESPE).

O emprego do ensaio de exaustão associado ao teste de difusão (PEREZ; HIRATA; SÉRGIO, 2003) ainda não é comum em estudos de atividade antibacteriana. Ele traz inúmeras vantagens sobre o método de difusão em ágar por permitir estabelecer a quantidade determinada de inóculo no material restaurador. A manutenção de todas as faces das amostras totalmente inseridas no poço da placa teste, a maior precisão da quantidade de bactérias em contato com a amostra, a observação quantitativa dos resultados através da visualização e contagem das UFC de *S. mutans* atribuem maior robustez e segurança ao ensaio, além dele ser um método de fácil execução. A presença de colônias na superfície dos poços após 96 horas de incubação nos grupos controle, VIT sem dCHX e VIT 0,5% de dCHX (Tabela 3) sugere que neste material restaurador o dCHX mantenha a ação inibitória mesmo após 15 dias de exaustão, como os demais grupos. Parece, no entanto, que estes grupos necessitam de condições mais apropriadas para a dispersão do sal de clorexidina e conseqüente manutenção do efeito inibitório contra *S. mutans*.

O efeito da interação entre a clorexidina e os íons fluoretos foi avaliado através da ação antibacteriana ao *S. mutans* do dCHX na presença de fluoreto de sódio. A dissolução do vidro pela reação de presa do CIV libera íons cálcio, alumínio, sódio e flúor. Os íons cálcio formam as ligações cruzadas entre as cadeias de ácido poliacrílico e ao longo das primeiras 24 horas estes íons são substituídos por íons alumínio. A não participação dos íons sódio e flúor nas ligações cruzadas para a formação do cimento faz com que estes sejam liberados. Alguns íons sódio podem substituir íons de hidrogênio nos grupos carboxílicos enquanto, que os íons flúor ficam dispersos na matriz do CIV (SIDHU; NICHOLSON, 2016). Neste estudo não houve interação antagonica entre os íons flúor e o dCHX quando a fonte de fluoreto é proveniente do sal de sódio. A evidência de compatibilidade entre o fluoreto e o dCHX é condição essencial para seu uso associado a CIV. A variação das concentrações destes compostos no ambiente bucal pode apresentar alterações regulares, como em aplicações tópicas de fluoretos. Conforme observado neste estudo, mesmo em altas concentrações, a solução de fluoreto a 10% testada não foi capaz de inibir a ação do dCHX contra o *S. mutans*, fortalecendo a indicação de seu uso associado aos materiais restauradores testados.

Estudos clínicos exibem dados conflitantes quanto a capacidade de materiais restauradores disponíveis no mercado capazes de impedir ou inibir cáries secundárias. Estudos *in vivo*, com restaurações de um a três anos de longevidade demonstraram que a concentração de fluoreto liberada não foi suficiente para afetar o metabolismo das

bactérias associadas à placa, como o *S. mutans* (FORSS; NÄSE; SEPPÄ, 1995). Isso ressalta a importância dos resultados obtidos neste estudo sobre o efeito inibitório ao *S. mutans* promovido do dCHX incorporado aos CIV e seu papel no controle e prevenção de cáries secundárias, especialmente para pacientes com alto risco à doença cárie como pacientes imunodeprimidos, com doenças crônicas avançadas que levam a repercussões orais, sindrômicos ou submetidos a quimio e radioterapia em região de cabeça e pescoço.

## CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos pode-se concluir que o efeito da inibição ao *S. mutans* é dependente da concentração do dCHX. A associação do dCHX aos CIV estudados não alterou a capacidade antibacteriana do dCHX. O fluoreto proveniente dos CIV não é suficiente para inibir o crescimento de *S. mutans*. A ação antibacteriana do dCHX nos CIV se mantém eficaz após 15 dias de exaustão, e que o fluoreto de sódio não inibe a atividade antibacteriana do dCHX.

## REFERÊNCIAS

- BOROMPIYASAWAT, P. et al. Chlorhexidine gluconate enhances the remineralization effect of high viscosity glass ionomer cement on dentin carious lesions in vitro. **BMC Oral Health**, v. 22, n. 1, p. 60, dez. 2022.
- BOTELHO, M. G. Fractional inhibitory concentration index of combinations of antibacterial agents against cariogenic organisms. **Journal of Dentistry**, v. 28, n. 8, p. 565–570, nov. 2000.
- BOTELHO, M. G. Inhibitory effects on selected oral bacteria of antibacterial agents incorporated in a glass ionomer cement. **Caries Research**, v. 37, n. 2, p. 108–114, 2003.
- BROOKES, Z. L. S. et al. Current uses of chlorhexidine for management of oral disease: a narrative review. **Journal of Dentistry**, v. 103, p. 103497, dez. 2020.
- DA MOTA MARTINS, V. et al. Does the addition of chlorhexidine to glass ionomer cements influence its antimicrobial effect and survival rate? A systematic review. **European Archives of Paediatric Dentistry**, v. 23, n. 3, p. 365–379, jun. 2022.
- DEEPALAKSHMI, M. et al. Evaluation of the antibacterial and physical properties of glass ionomer cements containing chlorhexidine and cetrimide: An in-vitro study. **Indian Journal of Dental Research**, v. 21, n. 4, p. 552, 2010.
- DUQUE, C. et al. Inhibitory activity of glass-ionomer cements on cariogenic bacteria. **Operative Dentistry**, v. 30, n. 5, p. 636–640, 2005.
- FORSS, H. et al. Fluoride and Mutans Streptococci in Plaque Grown on Glass Ionomer and Composite. **Caries Research**, v. 25, n. 6, p. 454–458, 1991.
- FORSS, H.; NÄSE, L.; SEPPÄ, L. Fluoride Concentration, Mutans Streptococci and Lactobacilli in Plaque from Old Glass Ionomer Fillings. **Caries Research**, v. 29, n. 1, p. 50–53, 1995.

HONG, C. H. L. et al. A systematic review of dental disease management in cancer patients. **Supportive Care in Cancer**, v. 26, n. 1, p. 155–174, jan. 2018.

HOTWANI, K. et al. Antibacterial effects of hybrid tooth colored restorative materials against *Streptococcus mutans*: An in vitro analysis. **Journal of Conservative Dentistry**, v. 16, n. 4, p. 319, 2013.

HU, J. et al. Antibacterial and physical properties of EGCG-containing glass ionomer cements. **Journal of Dentistry**, v. 41, n. 10, p. 927–934, out. 2013.

JORGENSEN, J. H.; FERRARO, M. J. Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. **Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 49, n. 11, p. 1749–1755, 1 dez. 2009.

MASSARA, M. L. A.; ALVES, J. B.; BRANDÃO, P. R. G. Atraumatic Restorative Treatment: Clinical, Ultrastructural and Chemical Analysis. **Caries Research**, v. 36, n. 6, p. 430–436, 2002.

OKADA, K. et al. Surface hardness change of restorative filling materials stored in saliva. **Dental Materials**, v. 17, n. 1, p. 34–39, jan. 2001.

PEREZ, C. R.; HIRATA, R.; SÉRGIO, P. P. Evaluation of antimicrobial activity of fluoride-releasing dental materials using a new in vitro method. **Quintessence International (Berlin, Germany: 1985)**, v. 34, n. 6, p. 473–477, jun. 2003.

RATNAYAKE, J. et al. Clinical and Microbiological Evaluation of a Chlorhexidine-Modified Glass Ionomer Cement (GIC-CHX) Restoration Placed Using the Atraumatic Restorative Treatment (ART) Technique. **Materials**, v. 15, n. 14, p. 5044, 20 jul. 2022.

RIBEIRO, J.; ERICSON, D. In vitro antibacterial effect of chlorhexidine added to glass-ionomer cements. **Scandinavian Journal of Dental Research**, v. 99, n. 6, p. 533–540, dez. 1991.

SAINULABDEEN, S. et al. Antibacterial Activity of Triclosan Incorporated Glass Ionomer Cements – An in vitro Pilot Study. **Journal of Clinical Pediatric Dentistry**, v. 35, n. 2, p. 157–161, 1 dez. 2010.

SIDHU, S.; NICHOLSON, J. A Review of Glass-Ionomer Cements for Clinical Dentistry. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 7, n. 3, p. 16, 28 jun. 2016.

TAIFOUR, D. et al. Effectiveness of glass-ionomer (ART) and amalgam restorations in the deciduous dentition: results after 3 years. **Caries Research**, v. 36, n. 6, p. 437–444, 2002.

TAKAHASHI, Y. et al. Antibacterial effects and physical properties of glass-ionomer cements containing chlorhexidine for the ART approach. **Dental Materials**, v. 22, n. 7, p. 647–652, jul. 2006.

TÜZÜNER, T. et al. Antibacterial activity and physical properties of conventional glass-ionomer cements containing chlorhexidine diacetate/cetrimide mixtures. **Journal of Esthetic and Restorative Dentistry: Official Publication of the American Academy of Esthetic Dentistry ... [et Al.]**, v. 23, n. 1, p. 46–55, fev. 2011.

TÜZÜNER, T.; ULUSU, T. Effect of antibacterial agents on the surface hardness of a conventional glass-ionomer cement. **Journal of applied oral science: revista FOB**, v. 20, n. 1, p. 45–49, fev. 2012.

VERMEERSCH, G. et al. Antibacterial activity of glass-ionomer cements, compomers and resin composites: relationship between acidity and material setting phase. **Journal of Oral Rehabilitation**, v. 32, n. 5, p. 368–374, maio 2005.