

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
UNIDADE ACADÊMICA DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
BACHARELADO EM ODONTOLOGIA**

**MAYANNA DE FREITAS FERNANDES**

**EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE DIACETATO DE  
CLOREXIDINA EM CIMENTOS IONOMÉRICOS SOBRE A  
BIOCOMPATIBILIDADE *IN VIVO***

**PATOS – PB**

**2015**

**MAYANNA DE FREITAS FERNANDES**

**EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE DIACETATO DE  
CLOREXIDINA EM CIMENTOS IONOMÉRICOS SOBRE A  
BIOCOMPATIBILIDADE *IN VIVO***

Trabalho de conclusão de curso (TCC) apresentado à coordenação do curso de Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Odontologia

**Orientador:** Prof. Dr. Rogério Lacerda dos Santos

**PATOS – PB**

**2015**

F363e Fernandes, Mayanna de Freitas

Efeito de diferentes concentrações de diacetato de clorexidina em cimentos ionoméricos sobre a biocompatibilidade *in vivo* / Mayanna de Freitas Fernandes. – Patos, 2015.

45f.: il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Odontologia) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2015.

“Orientação: Prof. Dr. Rogério Lacerda dos Santos”

Referências.

1. Cimentos de ionômeros de vidro. 2. Histocompatibilidade.
3. Clorexidina. I. Título.

CDU 616.314:615.46

**MAYANNA DE FREITAS FERNANDES**

**EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE DIACETATO DE  
CLOREXIDINA EM CIMENTOS IONOMÉRICOS SOBRE A  
BIOCOMPATIBILIDADE *IN VIVO***

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC), apresentado à Coordenação do Curso de Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Odontologia.

Aprovado em \_\_/\_\_/\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Rogério Lacerda dos Santos - Orientador  
Universidade Federal de Campina Grande – UFCG

---

Prof. MSc.. Elizandra Silva da Penha - 1º Membro  
Universidade Federal de Campina Grande – UFCG

---

Prof. Dra. Camila Helena Machado da Costa- 2º Membro  
Universidade Federal de Campina Grande - UFCG

*Dedico este trabalho aos meus Pais Marcos Fernandes da Costa e Arleide Cruz de Freitas Fernandes, os quais têm todo o meu amor e minha gratidão, à minha irmã, avós, amigos e demais familiares.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, todo poderoso, por ter me concedido a graça de poder chegar até aqui, me dando força e coragem durante toda a caminhada e nunca me desamparando nos momentos difíceis.

Aos meus pais Marcos Fernandes da Costa e Arileide Cruz de Freitas Fernandes, os quais, gratuita e imensuravelmente, têm todo o meu amor e admiração, exemplos de caráter e determinação e que nunca mediram esforços por suas filhas. A vocês, minha eterna gratidão!

À minha irmã Mayara de Freitas Fernandes, por estar sempre presente.

Aos meus avós Antônio Fernandes da Costa, Neuza Antônio da Costa, Dilene Cruz de Freitas Albuquerque e Antônio de Freitas Albuquerque Filho (em memória), que onde estiver, tenho certeza que está feliz com essa conquista.

A todos os demais familiares, tios, tias e primos.

Aos amigos, companheiros de longas datas, em especial, Aline Maria, Laís Guedes, Maria Menezes, Regina Helena, Thais Rodrigues, Rafael Diego e Rennam Virginio, por sempre se fazerem presente, mesmo na distância.

A todos os meus Amigos de Universidade, que se tornaram minha família durante a minha estadia em Patos, em especial, Kyara Dayse, Hyago Marx, Luana Balduino, Dayane Siqueira e Diogo Andrade, por todo conhecimento trocado e experiências vividas.

Àqueles que estavam presente no momento mais difícil dessa jornada, Sergia Landara, Rafael Peixoto, Vicente Jadson e Lucas Duarte, por terem sido o meu suporte nesse período.

À professora Andreza Costa, por toda a paciência e auxílio durante o período de regime domiciliar.

À minha prima Joyce Barreto, companheira durante os 5 anos de graduação.

A Ivanildo Júnior (John) por todas as caronas.

A José Arnaldo de Assis Pina Neto, por todo apoio, carinho, compreensão e por sempre ter estado disposto a me ajudar quando precisei.

Ao meu orientador, Dr. Rogério Lacerda dos Santos, por toda dedicação e paciência, por ter se feito sempre acessível durante a elaboração deste trabalho, por todo conhecimento transmitido e apoio concedido.

A todos professores, que me acompanharam ao longo dessa caminhada, em especial aos professores do curso de Odontologia da UFCG, responsáveis pela minha formação acadêmica. Obrigada por todo conhecimento e por serem exemplos de profissionais dedicados, por nos transmitir princípios éticos e morais, visando sempre o bem estar de nossos pacientes.

Aos pacientes, o quais foram fundamentais para o meu aprendizado, me permitindo colocar em prática o que foi aprendido na teoria, obrigada pela confiança.

A todos os funcionários do CSTR, pelos serviços prestados.

À Universidade Federal de Campina Grande.

E a todos que, de forma direta ou indireta, contribuíram para a conclusão deste trabalho.

A todos vocês meu muito obrigada!

*“Se fui capaz de ver mais longe,  
é porque me apoiei em ombros  
de gigantes.”*

*Isaac Newton*



## RESUMO

Este estudo teve como foco testar a hipótese nula de que não existe diferença entre a biocompatibilidade de cimento ortodôntico modificado por diacetato de clorexidina (DC) em diferentes concentrações. Foram utilizados 60 ratos Wistar machos, distribuídos em 5 grupos (n=12), sendo: Grupo C (controle, tubo de polietileno), Grupo P (Cimento de ionômero de vidro convencional, Precedent) e Grupos PD1, PD2 e PD3 (Precedent, modificado com 1%, 2% e 3% de DC, respectivamente). Os animais foram sacrificados após 7, 15 e 30 dias e os tecidos analisados em microscopia óptica, quanto aos eventos de infiltrado inflamatório, edema, necrose, tecido de granulação, células gigantes, fibroblastos jovens e fibras colágenas. Os resultados foram analisados pelos testes de Kruskal-Wallis e Dunn ( $p < 0.05$ ). No período inicial, intenso infiltrado inflamatório foi demonstrado principalmente nos grupos PD1, PD2 e PD3, com diferença estatisticamente significativa entre o Grupo Controle e PD3 ( $P = 0.009$ ) nos tempos de 7, 15 e 30 dias. Células gigantes multinucleadas mostraram-se mais presentes no Grupo PD3, com diferença estatística com o Grupo Controle nos períodos de tempo de 7 ( $P = 0.021$ ) e 15 dias ( $P = 0.042$ ). O Grupo PD3 demonstrou as menores quantidades de fibras colágenas entre os grupos, com diferença estatística com o Grupo controle no período de tempo de 15 ( $P = 0.049$ ) e 30 dias ( $P = 0.029$ ). A hipótese nula foi parcialmente aceita. Precedent modificado com DC a 3% influenciou mais no processo inflamatório, células gigantes e quantidade de fibras colágenas que as concentrações de 1% e 2%.

**Palavras-chave:** Cimentos de ionômeros de vidro, Histocompatibilidade, Clorexidina.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> - Fotomicrografias das amostras histológicas.....	32
---	----

## LISTA DE TABELA

**Tabela 1** - Materiais testados no estudo.....27

**Tabela 2** - Média dos escores atribuídos aos cimentos, após os intervalos de tempo de 7, 15 e 30 dias, para as sete condições avaliadas.....31

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CHX	Clorexidina
CIV	Cimento de Ionômero de vidro
CIVMR	Cimento de ionômero de vidro modificado por resina
cm	Centímetros
CSTR	Centro de Saúde e Tecnologia Rural
DC	Diacetato de Clorexidina
Grupo C	Grupo controle, tubo de polietileno
Grupo P	Cimento de ionômero de vidro convencional, Precedent
HE	Hematoxilina e Eosina
HEMA	2-hydroxethyl metacrilato
Kg	Quilogramas
Mg	Miligramas
mm	Milímetros
PD1	Precedent modificado com 1% de diacetato de clorexidina
PD2	Precedent modificado com 2% de diacetato de clorexidina
PD3	Precedent modificado com 3% de diacetato de clorexidina
UFCG	Universidade Federal de Campina Grande

## LISTA DE SÍMBOLOS

%	Por Cento
<	Menor que
=	Igual a
>	Maior que
$\text{Al}_2\text{O}_3$	Alumina
$\text{CaF}_2$	Fluoreto de Cálcio
$^{\circ}\text{C}$	Graus Celsius
$\text{SiO}$	Sílica

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	13
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	15
REFERÊNCIAS.....	19
3. ARTIGO.....	23
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	41
ANEXO A.....	42
ANEXO B .....	43

## 1. INTRODUÇÃO

O cimento de Ionômero de vidro (CIV) é um material bastante difundido na odontologia e tem uma vasta aplicabilidade clínica devido às suas propriedades mecânicas e biológicas, sendo amplamente utilizado para cimentação de coroas protéticas, pinos intracanal metálicos ou não, ou CIV para base de forramento de cavidades dentárias, selamentos de fôssulas e fissuras e tratamentos endodônticos e CIV para restauração (SILVA, 2007). Criado por Wilson & Kent na década de 70 (WILSON; KENT, 1972), o cimento de Ionômero de Vidro se trata de uma combinação das propriedades dos cimentos de silicato e de policarboxilato de zinco (GUGLIELMI et al., 2011). É composto basicamente de pó e líquido (SILVA et al., 2010).

De acordo com as suas aplicações clínicas são classificados em: Tipo I, para cimentação ou fixação de restaurações rígidas. Tipo II, para restaurações diretas, estéticas e intermediárias ou reforçadas. Tipo III, para forramento ou base e selamentos de cicatrículas e fissuras (CASALINO; PINEDO, 2006).

A atividade antimicrobiana e anti-cariogênica do CIV se dá pela liberação do flúor que atua aumentando a resistência à desmineralização e facilitando a remineralização (SILVA et. al., 2010). Na tentativa de melhorar a atividade antimicrobiana, foi proposta a incorporação do diacetado de clorexidina ao CIV.

A clorexidina (CHX) age interferindo no metabolismo da bactéria, inibindo assim, o seu crescimento. Apresenta efeito bacteriostático em baixas concentrações e bactericida em concentrações mais elevadas. É eficaz contra micro-organismos Gram positivos e Gram negativos, anaeróbicos facultativos, aeróbicos e leveduras, sendo assim, considerado um agente de amplo espectro (HORTENSE et.al., 2010).

Devido ao reduzido número de estudos na literatura, o presente estudo visa avaliar a biocompatibilidade *in vivo* do CIVs associados a diferentes concentrações de diacetato de clorexidina.



## 2. REVISÃO DE LITERATURA

Surgindo a partir dos estudos de Wilson & Kent, 1972 no início da década de 70 (1972), o cimento de ionômero de vidro tem passado por sucessivas modificações tais como a incorporação de resina, a fim de melhorar suas propriedades físicas, de resistência e longevidade, além de atender às necessidades clínicas individuais (BENGTSON et.al., 2005; CORRÊA & OGASAWARA, 2006). Trata-se de uma combinação das propriedades dos cimentos de silicato e de policarboxilato de zinco (GUGLIELMI et al., 2011). De acordo com a sua composição química, os CIVs podem ser classificados como convencionais, reforçados por metais, alta viscosidade e modificados por resina (COIMBRA et al., 2006; CORRÊA & OGASAWARA, 2006).

O cimento de ionômero de vidro convencional apresenta-se sob a forma de pó e líquido. O pó é composto de sílica (SiO), alumina (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) e fluoreto de cálcio (CaF<sub>2</sub>), sendo de caráter básico (WANDERLEY et al., 2011). Estes elementos são responsáveis pelas características de resistência, rigidez e liberação de flúor (VIEIRA et al., 2006). Magnésio e sódio também são adicionados ao pó, porém em quantidades menores (KNIBBS, 1987). O líquido contém ácido policarboxílico sob a forma de co-polímero com o ácido itacônico, tricarbálico, malêico ou tartárico, que aumentam a reatividade e diminuem a viscosidade do produto. (WANDERLEY et al., 2011).

O ácido tartárico é responsável por aumentar o tempo de trabalho do material (NICHOLSON et al., 1988), enquanto o ácido itacônico é incorporado ao líquido a fim de impedir ou retardar a reação química dos ácidos, quando armazenado. Em alguns produtos, o ácido poliacrílico é substituído pelo ácido polimaleico (NICHOLSON, 1998). Quando misturados o pó e o líquido, inicia-se

uma reação de presa do tipo ácido-base para formar um sal hidratado, que atua como matriz de ligação entre as partículas de vidro (WANDERLEY et al., 2011).

Os cimentos de ionômero de vidro convencionais têm como propriedades a biocompatibilidade, ação anticariogênica (devido à liberação de flúor), aderência à estrutura dental, coeficiente de expansão térmica baixa e próximo aos valores da estrutura dentária (SILVA et al., 2010). Apesar das vantagens desse material, os CIVs convencionais são susceptíveis à desidratação, apresentam alto grau de solubilidade e degradação, possuem propriedades mecânicas insatisfatórias e longo tempo de presa (CUI et al., 2011).

Com o objetivo de suprir as limitações do CIV convencional, foi desenvolvido o cimento de ionômero de vidro modificado por resina (CIVMR). A modificação do CIV convencional se dá pela incorporação de monômeros polimerizáveis aquosos, como o HEMA (2-hidroxetil metacrilato), o que favorece as propriedades mecânicas desse material. Entretanto, devido ao lançamento deste monômero e sua difusão através da dentina, a incorporação do HEMA na sua formulação produziu o aumento do seu efeito tóxico, quando comparado com o CIV convencional (AZEVEDO et al., 2010).

A ação antimicrobiana do CIV se dá pela liberação do flúor, a qual pode ser afetada por alguns fatores como: a diferença da composição, a difusão do íon fluoreto em cada material, a energia de superfície, a solubilidade do material, a sua porosidade e a proporção de pó e líquido utilizada na manipulação (PEDRINI, 2003). A utilização do flúor no CIV, além de apresentar atividade anticariogênica, melhora as propriedades de manipulação e a resistência do material (MARTINS et al., 2006). Os CIVs possuem reação de presa de 12 à 24h,

podendo ocorrer uma grande movimentação iônica, facilitando a liberação de íons ativos, entre eles o fluoreto (PAOLANTONIO et al., 2004)

Para melhorar a ação antimicrobiana, alguns autores sugerem a associação de agentes antissépticos ao CIV (BECCI et al., 2014). A idéia de usar antissépticos para controlar a cárie dental foi originalmente sugerida por Miller em 1890. No entanto, foi somente em 1964 que a evidência convincente que agentes antimicrobianos poderiam reduzir a atividade de cárie em seres humanos. Subsequentemente, em 1970, foi relatado que um agente antimicrobiano seguro chamado clorexidina, que tinha sido amplamente utilizado no campo médico, pode, eficazmente, reduzir a formação de biofilme e gengivite experimental (KIDD, 1991).

A atividade antimicrobiana da clorexidina tem sido estudada desde as últimas décadas e foi considerado o mais potente agente quimioterápico contra *Streptococcus mutans* e cárie dentária (EMILSON, 1994). É um antisséptico catiónico pertencente ao grupo químico das bisbiguanidas e consiste de 1,6-bis-p-clorofenil-biguainidohexane (VAN et al., 1997).

Diferentes sais de clorexidina foram avaliados quanto à sua eficácia antimicrobiana. Os dois sais de clorexidina mais incorporados em cimentos dentários, experimentalmente, com a finalidade de aumentar a eficácia antimicrobiana são digluconato de clorexidina e diacetato de clorexidina. Estudos revelaram que o diacetato de clorexidina é mais estável, não propenso à decomposição, e pode ser facilmente misturado com o CIV (JEDRYCHOWSKI et al., 1983; BECCI et al., 2014). A adição da clorexidina em concentrações elevadas (5%) tem demonstrado degradação do material enquanto que a adição

de 1% de clorexidina ao CIV exibiram atividade antimicrobiana ótima, sem afetar as características de resistência (JEDRYCHOWSKI et al., 1983).

A clorexidina como aditivo ao CIV ganhou popularidade, já que aumentou a propriedade antibacteriana destes cimentos sem interferir com a sua liberação de flúor (AHLUWALIA et al., 2012). Estas combinações podem ser uma alternativa para os procedimentos de última geração para proporcionar efeitos antibacterianos benéficos (TÜZÜNER et al., 2011). No entanto, faz-se necessário avaliar se o CIV com a adição de concentrações maiores de acetato clorexidina podem gerar danos teciduais.

A adição da clorexidina ao CIV pode alterar propriedades de biocompatibilidade in vitro. Foi demonstrado que a clorexidina tem efeitos tóxicos graves sobre diversas células, tais como fibroblastos gengival, células endoteliais, osteoblastos alveolares e odontoblastos (IZ, et al., 2013).

Lessa et al., (2010) avaliou a citotoxicidade de 0,06, 0,12, 0,2, 1 e 2% clorexidina nas células odontoblásticas para 60s a 24h, e observaram que a toxicidade do antimicrobiano dependeu da dose e do tempo de contato.

Quanto maior a concentração da clorexidina e o seu tempo de contato com as células, mais intenso é o efeito citotóxico do agente químico (CASTILHO et al., 2013). No estudo de CASTILHO et al. (2013) concentrações de 0,2-1,25% de digluconato de clorexidina em 24h não aumentaram a toxicidade nas células odontoblásticas. No entanto, a concentração de 2,5% de digluconato de clorexidina reduziu significativamente o metabolismo celular e mudou a morfologia celular.

## REFERÊNCIAS

1. 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**, Chandigarh, v. 30, n. 1, p. 41 – 46, Jan – Mar, 2012.
2. AZEVEDO, M; BOAS, D; DEMARCO, F; ROMANO. Where and how are Brazilian dental students using Glass Ionomer Cement? **Brazilian Oral Research**, São Paulo, v.24, n. 4, p. 482 – 487, Out – Dec, 2010.
3. BECCI, A.C.O; MARTI, L.M; ZUANON, A.C.C; BRIGHENTI, F.L; SPOLIDÓRIO, D.M.P; GIRO, E.M.A. Influence of the addition of chlorhexidine diacetate on bond strength of a high-viscosity glass ionomer cement to sound and artificial caries-affected dentin. **Revista de Odontologia da UNESP**, Araraquara, v.43, n.1, p. 1 – 7, Jan – Feb, 2014.
4. BENGTON, N.G.; FREIRE, M.I.; BENGTON, C.R.G.; BENGTON, A.L. Variação do ph em meio aquoso de alguns materiais restauradores com flúor na composição. **Publicatio UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde**, Ponta Grossa, v.11 n. 2 p. 21 – 26, jun, 2005.
5. CASALINO, D. P.; PINEDO, M. L. Los cementos ionómeros de vidrio y el mineral trióxido agregado como materiales biocompatibles usados en la proximidad del periodonto. **Revista Estomatológica Herediana**, Lima, v.16, n.1, p. 59 – 63, jan – jun, 2006.
6. CASTILHO, A.R.F; DUQUE, C; NEGRINI, T.C; SACONO, N.T; PAULA, A.B; COSTA, C.A.S; SPOLIDÓRIO, D.M.P; PUPPIN-RONTANI, R.M. In vitro and in vivo investigation of the biological and mechanical behaviour of resin-modified glass-ionomer cement containing chlorhexidine. **Journal of Dentistry**, Guildford, v. 41, n. 2, p.155 – 163, fev, 2013.
7. COIMBRA, L.R.; GIRO, E.M.A.; ARANHA, A.M.F.; COSTA, C.A.S. Citotoxicidade de cimentos de ionômero de vidro restauradores sobre células de linhagem odontoblástica. **Revista Odonto Ciência –**

- Faculdade de Odontologia/PUCRS**, Porto Alegre, v. 21, n. 54, out - dez, 2006.
8. CORRÊA, L.G.P.; OGASAWARA, T. Estudos comparativos de alguns cimentos ionoméricos convencionais. **Revista Matéria**, Rio de Janeiro, v. 11, n. 3, p. 297 – 305, jul - set, 2006.
  9. CUI, C; ZHOU, XN; CHEN, WM. Self-etching adhesives: possible new pulp capping agents to vital pulp therapy. **Frontiers of Medicine**, Pequim, v. 5, n. 1, p. 77 – 79, mar, 2011.
  10. EMILSON, CG. Potential efficacy of chlorhexidine against mutans Streptococci and human dental caries. **Journal of Dental Research**, Washington, v. 73, n. 3, p. 682 – 691, mar, 1994.
  11. GUGLIELMI, C.A.B; RAGGIO, D.P; TAKEUT, M.L; CAMARGO, L.P; IMPARATO, J.C.P. Liberação e reincorporação de fluoretos de cimento de ionômero de vidro utilizados no tratamento restaurador atraumático. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, João Pessoa, v.11, n. 4, p. 561 - 565, out - dec, 2011.
  12. HORTENSE, S.R.; CARVALHO, E.S.; CARVALHO, F.S.; SILVA, R.P.R.; BASTOS, J.R.M.; BASTOS, R.S. Uso da Clorexidina Como Agente Preventivo e Terapêutico na Odontologia. **Revista de Odontologia da Universidade de São Paulo**, v. 22, n. 2, p. 178 – 184, mai - ago, 2010.
  13. IZ, S.G; Ertugrul, F; EDEN, E; GURHAN, S.I.D. Biocompatibility of glass ionomer cements with and without chlorhexidine. **European Journal of Dentistry**, Ankara, v. 7, n. 1, p. 89-93, Setembro, 2013.
  14. JEDRYCHOWSKI, J.R; CAPUTO, A.A; KERPER, S. Antibacterial and mechanical properties of restorative materials combined with chlorhexidines. **Journal of Oral Rehabilitation**, Oxford, v. 10, n. 5, p. 373 - 381, set, 1983.
  15. KIDD, E.A. Role of chlorhexidine in the management of dental caries. **International Dental Journal**, Londres, v. 41, n. 5, p. 279 - 286, out, 1991.

16. KNIBBS, P.J. Toxicity to the pulp of a glass-ionomer cement. **British Dental Journal**, Londres, v. 40, n. 2, p. 163, jul, 1987.
17. LESSA, F.C; ARANHA, AM; NOGUEIRA, I; GIRO, E.M; HEBLING, J; COSTA, C.A. Toxicity of chlorhexidine on odontoblast-like cells. **Journal of Applied Oral Science**, Bauru, v. 18, n. 1, p. 50 – 58, jan.- fev., 2010.
18. MARTINS, L.R.M.; SILVA, A.L.F.; CURY, J.A.; FRANCISCHONE, C.E. Liberação de flúor de restaurações de ionômero de vidro e a sua incorporação ao esmalte dental após ciclos de desmineralização/remineralização. **Revista Odonto Ciência – Fac. Odonto/PUCRS**, Porto Alegre, v. 21, n. 51, jan – mar, 2006.
19. NICHOLSON, J.W; BROOKMAN, P.J; LACY, O.M; WILSON, A.D. Fourier transform infrared spectroscopic study of the role of tartaric acid in glass-ionomer dental cements. **Journal of Dental Research**, Washington, v. 67, n. 12, p.1451 – 1454, Dez, 1988.
20. NICHOLSON, J.W. Chemistry of glass-ionomer cements: a review. **Biomaterials**, Guildford, v. 19, n. 6, p. 485 – 494, Mar, 1998.
21. PAOLANTONIO, M; D'ERCOLE, S; PERINETTI, G; TRIPODI, D; CATAMO, G; SERRA, E; BRUÈ, C; PICCOLOMINI, R. Clinical and microbiological effects of different restorative materials on the periodontal tissues adjacent to subgingival class V restorations. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, v. 31, n. 3, p. 200 – 207, mar, 2004.
22. PEDRINI, D. Fluoride release by restorative materials before and after a topical application of fluoride gel. **Pesquisa Odontológica Brasileira**, São Paulo, v. 17, n. 2, p. 137 – 141, abr. – jun., 2003.
23. SILVA, B.M.H. Avaliação de quatro agentes cimentantes, quanto às resistências ao cisalhamento por punção, à compressão axial e diametral. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Bauru. Universidade de São Paulo. Bauru, 2007, p. 69.
24. SILVA, F.D.S.C.M; DUARTE, R.M; SAMPAIO F.C. Liberação e recarga de flúor por cimentos de ionômero de vidro. **Revista Gaúcha de Odontologia**, Porto Alegre, v. 58, n.4, p. 437 – 443, out. – dez., 2010.
25. TÜZÜNER, R.T.;GÖZ, A.K.; ATER, K.;TAS, DEMI R.T.; BURUK, K.;KEMER, B.. Antibacterial Activity and Physical Properties of Conventional Glass-ionomer Cements Containing Chlorhexidine

- Diacetate/Cetrimide Mixtures. **Journal of Esthetic and Restorative Dentistry**, Hamilton, v. 23, n. 1, p. 46 – 55, fev., 2011.
26. VIEIRA, I.M.; LOURO, R.L.; ATTA, M.T.; NAVARRO, M.F.L.; FRANCISCONI, P.A.S. O cimento de ionômero de vidro na odontologia. **Revista Saúde.Com**, Bauru, v. 2, n. 1, p. 75 – 84, ago., 2006.
27. WANDERLEY, F; SILVA, G; QUEIROZ, A; FREITAS, A; ASSED, S. Glass Ionomer cement in pediatric dentistry. **Odontologia Clínica-Científica**, Recife, v. 10, n. 1, p. 13 - 17, jan - mar, 2011.
28. WILSON, AD; KENT, BE. A new translucent cement for dentistry. The glass ionomer cement. **British Dental Journal**, Londres, v.132, n. 4, p. 133 – 135, fev.,1972.



### 3. ARTIGO

#### Efeito de diferentes concentrações de diacetato de clorexidina em cimento ortodôntico sobre a biocompatibilidade *in vivo*

Rogério Lacerda-Santos<sup>a</sup>  
Mayanna de Freitas Fernandes<sup>b</sup>  
Antonielson dos Santos<sup>c</sup>  
Matheus Melo Pithon<sup>d</sup>  
Cassiano Francisco Weege Nonaka<sup>e</sup>  
Pollianna Muniz Alves<sup>e</sup>

<sup>a</sup> Professor de Ortodontia da Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba, Brasil

<sup>b</sup> Aluna do Curso de Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba, Brasil

<sup>c</sup> Aluno do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba, Brasil

<sup>d</sup> Professor de Ortodontia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Jequié, Bahia, Brasil

<sup>e</sup> Professor do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, Paraíba, Brasil

**Autor correspondente:** Rogério Lacerda-Santos, Universidade Federal de Campina Grande, UFCG, Av. dos Universitários, s/n, Rodovia Patos/Teixeira, Km1, Santa Cecília, CEP 58708-110, Patos, Paraíba, Brasil  
e-mail: lacerdaorto@hotmail.com

## Resumo

Este estudo teve como foco testar a hipótese nula de que não existe diferença entre a biocompatibilidade de cimento ortodôntico modificado por diacetato de clorexidina (DC) em diferentes concentrações. Foram utilizados 60 ratos Wistar machos, distribuídos em 5 grupos (n=12), sendo: Grupo C (controle, tubo de polietileno), Grupo P (Cimento de ionômero de vidro convencional, Precedent) e Grupos PD1, PD2 e PD3 (Precedent, modificado com 1%, 2% e 3% de DC, respectivamente). Os animais foram sacrificados após 7, 15 e 30 dias e os tecidos analisados em microscopia óptica, quanto aos eventos de infiltrado inflamatório, edema, necrose, tecido de granulação, células gigantes, fibroblastos jovens e fibras colágenas. Os resultados foram analisados pelos testes de Kruskal-Wallis e Dunn ( $p < 0.05$ ). No período inicial, intenso infiltrado inflamatório foi demonstrado principalmente nos grupos PD1, PD2 e PD3, com diferença estatisticamente significativa entre o Grupo Controle e PD3 ( $P=0.009$ ) nos tempos de 7, 15 e 30 dias. Células gigantes multinucleadas mostraram-se mais presentes no Grupo PD3, com diferença estatística com o Grupo Controle nos períodos de tempo de 7 ( $P=0.021$ ) e 15 dias ( $P=0.042$ ). O Grupo PD3 demonstrou as menores quantidades de fibras colágenas entre os grupos, com diferença estatística com o Grupo controle no período de tempo de 15 ( $P=0.049$ ) e 30 dias ( $P=0.029$ ). A hipótese nula foi parcialmente aceita. Precedent modificado com DC a 3% influenciou mais no processo inflamatório, células gigantes e quantidade de fibras colágenas que as concentrações de 1% e 2%.

**Palavras-chave:** Cimentos de ionômeros de vidro, Histocompatibilidade, Clorexidina.

## Introdução

As bandas ortodônticas predisõem o acúmulo de biofilme dental nas margens cervicais dos anéis devido à dificuldade na manutenção da higiene e devido ao grande número de sítios disponíveis para a colonização<sup>1-2</sup>. Isto é preocupante, pois pode levar ao desenvolvimento de descalcificação do esmalte adjacente e hiperplasia gengival<sup>1, 3-4</sup>. O material mais usado para a cimentação de bandas ortodônticas é o cimento de ionômero de vidro (CIV)<sup>4-5</sup>, material que apresenta uma liberação e absorção contínua de flúor<sup>4, 6</sup> mas, um potencial bactericida baixo<sup>4, 6-7</sup>.

Diferentes agentes antimicrobianos têm sido testados para a redução do biofilme dental<sup>7-8</sup>, e o diacetato de clorexidina (DC) tem demonstrado ser o agente mais eficaz e seguro para uso clínico<sup>9-11</sup>. A retenção dos sais de clorexidina em estruturas orais e dentais seguida de sua liberação lenta pode tornar seu efeito antibacteriano significativamente mais longo e efetivo comparado a outros agentes<sup>7,12</sup>

Pesquisas<sup>9, 13-15</sup> tem demonstrado que a adição de DC ao CIV para restauração e cimentação pode melhorar significativamente seu efeito antibacteriano sem alterar suas propriedades físicas e mecânicas, sendo que, a clorexidina mostrou ser dose-dependente para o efeito antibacteriano na combinação com CIV<sup>9, 16-17</sup>. Por outro lado, alguns trabalhos têm demonstrado que a clorexidina em altas concentrações pode ser tóxica aos tecidos<sup>12, 18-19</sup>, somado a isto, os CIVs<sup>20-21</sup> podem apresentar efeitos citotóxicos advindos de seus componentes metálicos liberados<sup>21-22</sup> que podem provocar danos ao tecido gengival<sup>20,23</sup> devido à proximidade destes tecidos com as bandas ortodônticas cimentadas com CIV.

Neste sentido, estudos sobre a biocompatibilidade de CIVs<sup>24-25</sup>, seus efeitos antibacterianos<sup>9,11,14</sup> e as propriedades físicas e/ou mecânicas destes cimentos modificados por DC<sup>9,13-15</sup> têm sido conduzidas. No entanto, há uma falta de estudos que relacionam os eventos inflamatórios causados pela ação de CIVs modificados por DC in vivo. Assim, este estudo teve como foco testar a hipótese nula de que não existe diferença entre a biocompatibilidade de cimento ortodôntico modificado por DC em diferentes concentrações.

## **Material e Métodos**

### **Modelo Animal e Grupos Experimentais**

Foram utilizados para este estudo 60 ratos machos Wistar adultos com peso entre 250 g e 350g pertencentes ao Biotério da Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Campina Grande, UFCG, Campus de Patos. Os mesmos foram distribuídos em 5 grupos (12 ratos por grupo): Grupo C (controle, tubo de polietileno), Grupo P (Cimento de ionômero de vidro convencional Precedent) e Grupos PD1, PD2 e PD3 (Precedent modificado com 1%, 2% e 3% de diacetato de clorexidina, respectivamente) (Tabela 1).

Os ratos foram anestesiados utilizando injeção intraperitoneal de tiopental sódico (50 mg/kg) (Cristália, Campinas, São Paulo, Brasil). Foi realizada tricotomia da região dorsal de cada animal com lâminas de barbear para eliminação dos pêlos (4 x 4 cm). O experimento animal foi submetido ao comitê de Ética de pesquisa animal da Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas, CSTR\UFCG, e aprovado sob n.0102012.

**Tabela 1:** Materiais testados no estudo.

Material	Composição	Fabricante	Lote
CIV convencional Precedent	<b>Pó:</b> Vidro de fluorsilicato de alumínio, copolímeros de ácido carbônico e pigmentos  <b>Líquido:</b> Solução de ácido tartárico	Precedent, Reliance, Itasca, USA.	114960
Diacetato de Clorexidina	Sal hidratado de diacetato de clorexidina	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA	P500264

Para anti-sepsia do campo operatório foi utilizado digluconato de clorexidina a 4%. Na linha média, eqüidistante da inserção da cauda e da cabeça do animal, foram realizadas duas incisões de aproximadamente 8 mm de comprimento utilizando lâmina de bisturi nº 15 adaptada a um cabo de bisturi.

Com o auxílio de uma tesoura de ponta romba, o tecido subcutâneo foi divulsionado lateralmente promovendo uma tunelização no sentido lateral, formando duas lojas cirúrgicas, com aproximadamente 18 mm de profundidade cada uma. Cada rato recebeu dois implantes de tubos de polietileno (1,0 cm de comprimento e 1,5 mm de diâmetro interno), previamente mantidos em álcool 70% por 120 minutos, lavados com água deionizada e finalmente autoclavados à temperatura de 110<sup>o</sup> C por 20 minutos e utilizados como veículos de inoculação dos materiais testados.

Os CIVs foram manipulados segundo as instruções dos fabricantes e em seguida introduzidos nas aberturas das extremidades dos tubos, com auxílio de espátula de inserção antiaderente aluminada. Após a presa dos cimentos os tubos foram implantados.

Neste estudo foram utilizados o tubo de polietileno vazio como controle para o trauma induzido e possível contaminação dos mesmos. Após o implante

dos materiais, as lojas cirúrgicas foram suturadas com fio de sutura agulhado 4.0 (Ethicon, Jonhson & Jonhson, São José dos Campos, São Paulo, Brasil) e em seguida os animais receberam injeção de dipirona sódica (0.3 ml/100 g, Novalgina®; Sanofi-Aventis Farmacêutica LTDA, Suzano, São Paulo, Brasil) após o procedimento.

Todos os procedimentos deste estudo foram realizados em conformidade com as orientações do *Canadian Council on Animal Care* (1981). Os animais foram mantidos em gaiolas individuais e condições adequadas com ração balanceada e água *ad libitum*. Após 7, 15 e 30 dias, os animais foram anestesiados para obtenção da biópsia excisional da área do implante, abrangendo tecido normal circundante suficiente. Cada grupo consistiu de 12 ratos com dois implantes, tendo por resultado 24 amostras por grupo. Posteriormente os animais foram sacrificados pela técnica do deslocamento cervical após sedação tiopental sódico (50 mg/kg) (Cristália, Campinas, São Paulo, Brasil).

### **Biocompatibilidade**

Após fixação em formaldeído à 4% (solução Milony) por 24 horas, as amostras foram incluídas em parafina e em seguida obtidos cortes histológicos seriados com 6 µm de espessura e corados com hematoxilina e eosina. A reação inflamatória induzida pelos CIVs foi avaliada por um examinador cego usando um microscópio de luz (BX40; Olympus, Hamburg, Germany) em ampliações 100, 200 e 400 x. O examinador foi calibrado antes da análise dos dados, até obtenção de calibração satisfatória ( $\kappa=0.8$ ). Para cada amostra do estudo,

cinco seções representativas da condição histológica do tecido adjacente aos materiais implantados foram avaliados.

Os eventos celulares, quanto à presença de infiltrado inflamatório, edema, necrose, tecido de granulação, células gigantes multinucleares, fibroblastos jovens e colágeno, foram pontuados com os seguintes escores: 1 - ausente (quando ausente no tecido), 2 - escasso (quando pouco presente, ou em grupos muito pequenos), 3 - moderado (quando densamente presente, ou em alguns grupos) e 4 - intenso (quando encontrado em todo o campo, ou presentes em grande número, configurando alta gravidade). Para cada amostra do estudo, foram analisadas cinco seções representativas da condição histológica do tecido, quando todas as cinco seções de tecido demonstraram a mesma condição histológica, as pontuações 1, ausente; 2, escassos; 3, moderado; e 4, intenso representam: 1, ausente (5,00); 2, escasso (10,00); 3, moderada (15,00); e 4, intensa (20,00).

### **Análise Estatística**

Os dados foram tabulados e analisados no programa estatístico BioEstat versão 5.0 (Mamirauá, Manaus, Brasil). Os resultados dos eventos celulares foram submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de Dunn's para determinar as diferenças entre os grupos ( $P < 0,05$ ), por não apresentarem distribuição normal.

### **Resultados**

No período inicial, intenso infiltrado inflamatório foi demonstrado principalmente nos Grupos PD1 (Figura 1A), PD2 (Figura 1B) e PD3 (Figura 1C),

com diferença estatisticamente significativa entre o Grupo Controle e o Grupo PD3 nos períodos de tempo de 7 ( $P= 0,009$ ), 15 ( $P= 0,023$ ) (Figura 1D) e 30 dias ( $P= 0,023$ ) (Tabela 2). A intensidade do infiltrado inflamatório demonstrou ser inversamente proporcional aos tempos experimentais.

Alterações circulatórias (edema) não foram expressivas e não demonstraram diferença estatística entre os grupos avaliados ( $P>0,05$ ). Degeneração do tecido (necrose) demonstrou ser significativa no Grupo PD3, com diferença estatística entre o Grupo PD3 com os Grupos Controle, P e PD1 no período de tempo de 7 dias ( $P=0.001$ ) e entre o Grupo PD3 e todos os Grupos no período de tempo de 15 dias ( $P=0.009$ ). O tecido de granulação mostrou-se densamente presente em Grupos PD2 e PD3 com diferença significativa em relação ao Grupo controle ( $P=0,017$ ), no período de tempo de 7 dias (Tabela 2). Células gigantes multinucleadas mostraram-se mais presentes no Grupo PD3, com diferença estatística com o Grupo Controle nos períodos de tempo de 7 ( $P=0.021$ ) e 15 dias ( $P=0.042$ ).

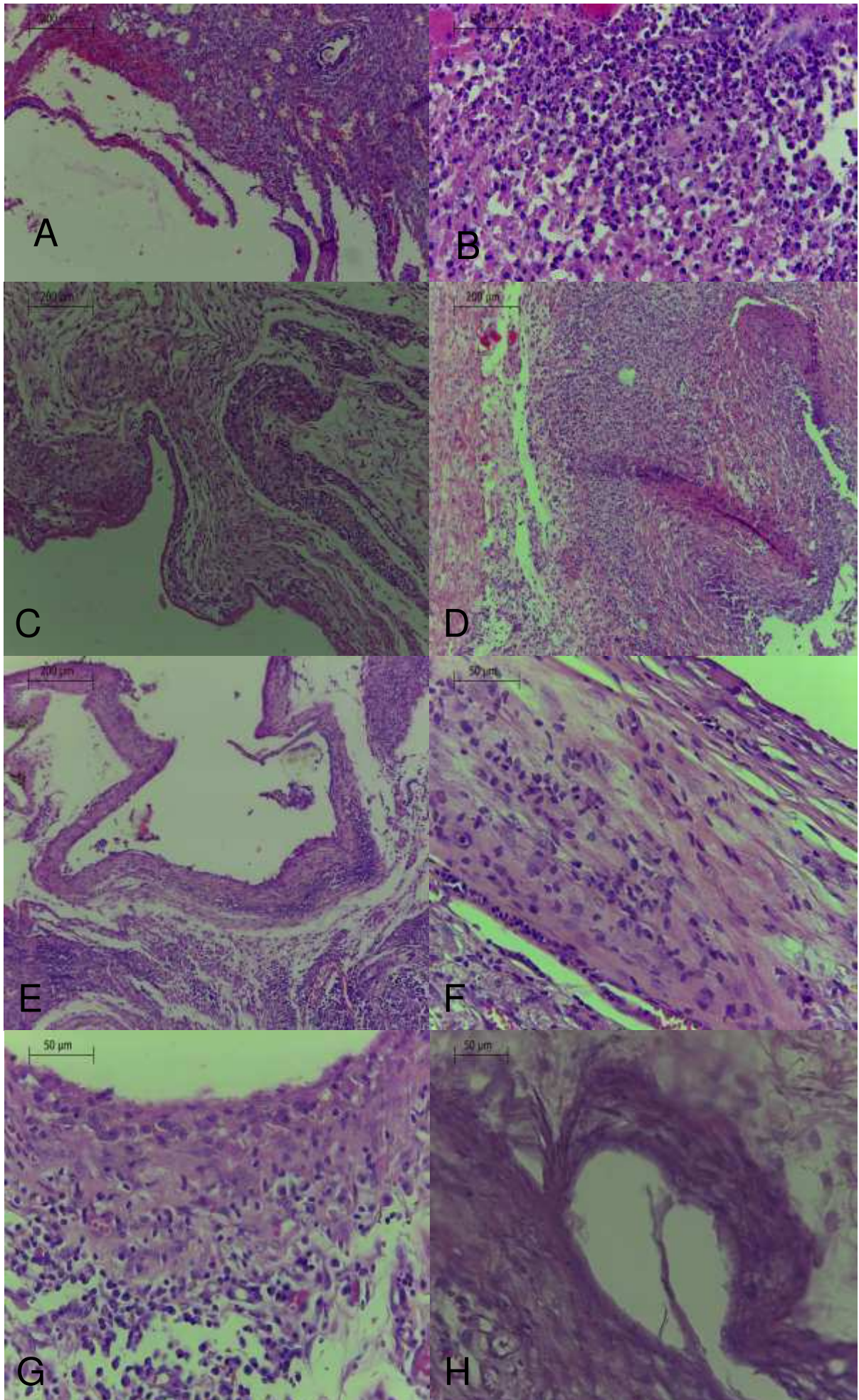
Nos eventos de reparação tecidual, os Grupos PD2 e PD3 demonstraram uma menor quantidade de fibroblatos Jovens no período de tempo de 7 dias e maior com 30 dias, mas demonstrado uma diferença estatisticamente significativa apenas entre o Grupo controle e o Grupo PD3 ( $P=0,026$ ) no período de tempo de 30 dias. A quantidade de fibras colágenas aumentou ao longo dos períodos experimentais (Figuras 1E-G), no entanto, o grupo PD3 demonstrou as menores quantidades entre os grupos, com diferença estatisticamente com o Grupo controle no período de tempo de 15 dias ( $P=0,049$ ) e 30 dias ( $P=0,029$ ) (Figura 1H) (Tabela 2).



**Tabela 2:** Média dos escores atribuídos aos cimentos, após os intervalos de tempo de 7, 15 e 30 dias, para as sete condições avaliadas.

Condição	Tempo	Grupos					P
		P	PD1	PD2	PD3	C	
Infiltrado Inflamatório	7 dias	12.50 <sup>AB</sup>	17.50 <sup>AB</sup>	17.50 <sup>AB</sup>	18.75 <sup>B</sup>	10.00 <sup>A</sup>	0.009
	15 dias	10.00 <sup>AB</sup>	12.50 <sup>AB</sup>	12.50 <sup>AB</sup>	15.00 <sup>B</sup>	8.75 <sup>A</sup>	0.023
	30 dias	10.00 <sup>AB</sup>	11.25 <sup>AB</sup>	12.50 <sup>AB</sup>	13.75 <sup>B</sup>	6.25 <sup>A</sup>	0.023
Edema	7 dias	5.00	6.25	5.00	6.25	5.00	0.530
	15 dias	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	1.000
	30 dias	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	1.000
Necrose	7 dias	5.00 <sup>A</sup>	5.00 <sup>A</sup>	10.00 <sup>AB</sup>	11.25 <sup>B</sup>	5.00 <sup>A</sup>	0.001
	15 dias	5.00 <sup>A</sup>	5.00 <sup>A</sup>	5.00 <sup>A</sup>	8.75 <sup>B</sup>	5.00 <sup>A</sup>	0.009
	30 dias	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	1.000
Tecido de Granulação	7 dias	15.00 <sup>AB</sup>	17.50 <sup>AB</sup>	18.75 <sup>B</sup>	18.75 <sup>B</sup>	12.50 <sup>A</sup>	0.017
	15 dias	8.75	8.75	11.25	12.50	7.50	0.119
	30 dias	5.00	5.00	6.25	7.50	5.00	0.202
Células Gigantes	7 dias	7.50 <sup>AB</sup>	7.50 <sup>AB</sup>	8.75 <sup>AB</sup>	17.50 <sup>B</sup>	6.25 <sup>A</sup>	0.021
	15 dias	6.25 <sup>AB</sup>	6.25 <sup>AB</sup>	7.50 <sup>AB</sup>	11.25 <sup>B</sup>	5.00 <sup>A</sup>	0.042
	30 dias	5.00	6.25	7.50	8.75	5.00	0.103
Fibroblastos Jovens	7 dias	12.50	12.50	10.00	10.00	12.50	0.246
	15 dias	16.25	15.00	15.00	12.50	17.50	0.078
	30 dias	15.00 <sup>AB</sup>	15.00 <sup>AB</sup>	17.50 <sup>AB</sup>	18.75 <sup>B</sup>	13.75 <sup>A</sup>	0.026
Colágeno	7 dias	6.25	6.25	6.25	5.00	7.50	0.638
	15 dias	15.00 <sup>AB</sup>	13.75 <sup>AB</sup>	12.50 <sup>AB</sup>	11.25 <sup>B</sup>	17.50 <sup>A</sup>	0.049
	30 dias	18.75 <sup>AB</sup>	16.25 <sup>AB</sup>	16.25 <sup>AB</sup>	15.00 <sup>B</sup>	20.00 <sup>A</sup>	0.029

P=Teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de comparações múltiplas de Dunn. <sup>A ou B</sup> Médias seguidas por letras únicas iguais não expressam diferença estatisticamente significativa ( $P>0,05$ ). <sup>AB</sup> Médias seguidas por letras diferentes expressam diferença estatisticamente significativa ( $P<0,05$ ).



**Figura 1:** Fotomicrografias das amostras histológicas. **A)** 7 dias após implantação, Grupo PD1: infiltrado inflamatório moderado com intensa vascularização e áreas de hemorragia (HE, 100X aumento, escala: 200µm). **B)** 7 dias após implantação, Grupo PD2: intenso infiltrado inflamatório misto (HE, 400X aumento, escala: 50µm). **C)** 7 dias após implantação, Grupo PD3: cavidade envolta por intenso infiltrado inflamatório e reação de granulação e áreas de necrose (HE, 100X aumento, escala: 200µm). **D)** 15 dias após implantação, Grupo PD2: presença de moderado infiltrado inflamatório adjacente a cavidade (HE, 100X aumento, escala: 200µm). **E)** 30 dias após implantação, Grupo PD1: processo de colagenização e numerosas células inflamatórias crônicas (HE, 100X aumento, escala: 200µm). **F)** 30 dias após implantação, Grupo PD2: espessa faixa de fibras colágenas e fibroblastos ovóides e fusiformes (HE, 400X aumento, escala: 50µm). **G)** 30 dias após implantação, Grupo PD3: cavidade envolta por espessa faixa de colagenização e evidenciando colagenização, fibroblastos jovens e, adjacente a cavidade, leve infiltrado inflamatório crônico (HE, 400X aumento, escala: 50µm). **H)** 30 dias após implantação, Grupo Controle: fibras colágenas dispostas ora em feixes paralelos ora em feixes variados, envolvendo a área da cavidade (HE, 400X aumento, escala: 50µm).

## Discussão

A adição de clorexidina<sup>9-11</sup> em ionômeros de restauração e cimentação tem sido indicada com a intenção de melhorar o controle bacteriano bucal. No entanto, para que o material seja adequado para uso clínico, os seus componentes devem ser biocompatíveis aos tecidos<sup>26-27</sup>. Estudos demonstraram que o DC é mais estável que o digluconato de clorexidina, não propenso à decomposição, e pode ser facilmente misturado com ao CIV<sup>15-16</sup>.

Pesquisas<sup>13,15</sup> têm demonstrado que uma concentração de 1% de DC nos CIVs é suficiente para a proteção antibacteriana, e que o aumento desta concentração aumenta também seu efeito contra streptococcus mutans, sendo a concentração máxima permitida de DC nos CIVs entre 2 a 3%<sup>9,11,14</sup>. Além disso, autores<sup>9,13-15</sup> têm demonstrado que a adição de até 2,5% de CHX não influencia significativamente as propriedades físicas e/ ou mecânicas dos CIVs convencionais. Assim, o uso de clorexidina permitiria evitar tanto descalcificação do esmalte quanto as doenças periodontais<sup>4-5</sup> em torno das bandas ortodônticas, por outro lado têm se questionado que os sais de clorexidina em altas concentrações podem ser tóxicos aos tecidos<sup>12,18-19</sup>. Assim, o foco deste estudo

foi avaliar os eventos inflamatórios causados pela ação de CIVs modificados por DC *in vivo*.

Neste experimento, pôde-se observar que o grupo P estimulou um processo inflamatório maior comparado ao grupo controle-polietileno, uma resposta à presença de íons metálicos<sup>21-22</sup> como o alumínio e/ou ácidos polialquenoicos<sup>21</sup> e ácido benzóico<sup>28</sup> presente nestes cimentos. No entanto, no grupo PD3 foi evidenciado um infiltrado inflamatório demasiadamente intenso e significativo no 7º dia, que ainda persistiu significativamente nos tempos de 15 e 30 dias. Estes achados estão de acordo com estudos<sup>18-19</sup> que evidenciaram que a clorexidina é citotóxica à células e tecidos, sendo capaz de induzir uma significativa reação inflamatória<sup>12,18-19</sup>.

Embora, a citotoxicidade da clorexidina ocorra por inibição da síntese protéica celular<sup>27</sup> e respiração mitocondrial<sup>29</sup>, indução de apoptose em concentrações baixas e necrose em concentrações elevadas<sup>19,30</sup>, este potencial citotóxico está relacionado com o tempo de exposição celular e a sua concentração<sup>23</sup>.

Neste estudo, a presença de edema foi pouco expressiva. A necrose foi observada nos períodos de tempo de 7 e 15 dias no Grupo PD3, que demonstrou uma capacidade de agressão inicial, mas não persistente aos 30 dias nos cimentos modificados por DC, o que sugere uma baixa capacidade de levar a danos celulares irreversíveis e subsequente morte a longo prazo. Este quadro foi menos expressivo ao encontrado em literatura<sup>18</sup>, onde se utilizou o digluconato de clorexidina em *Chip* sobre o tecido subcutâneo de ratos e de experimentos<sup>12,18-19,31</sup> que evidenciaram morte em cultura de fibroblastos e osteoblastos após o contato. Isto sugere, que o CIV proporcionou uma liberação

lenta e gradativamente menor de DC durante o experimento do que a concentração total utilizada na modificação da fórmula do cimento.

Por outro lado, o tecido de granulação demonstrou-se densamente presente nos grupos PD2 e PD3 no tempo de 7 dias, quadro que não persistiu significativamente nos períodos subsequentes, semelhante aos achados de outros autores<sup>18</sup> que avaliaram a biocompatibilidade do digluconato de clorexidina. Células gigantes multinucleadas demonstraram estarem mais presente no grupo PD3, que corresponde a resposta do organismo em tentar isolar o corpo estranho<sup>18,32-33</sup>.

Na reparação tecidual por fibroplasia, os grupos PD2 e PD3 demonstraram uma diminuição na quantidade de fibras colágenas nos tempos de 7 e 15 dias, e significativamente maior no grupo PD3 com 30 dias. Esta resposta mais lenta no reparo está diretamente ligada as concentrações de DC incorporados nos CIVs quando comparado ao seu respectivo controle, o que está alinhado com estudos que evidenciaram uma diminuição do processo de cicatrização<sup>18,31</sup> com redução da produção de proteína não-colágena e de fibras colágenas<sup>31</sup> após incorporação de clorexidina ao CIV.

Os cimentos que continham DC na formulação demonstraram uma presença de células polimorfonucleares e tecido de granulação que persistiram por um tempo maior e que está ligada a capacidade de reação ativa da clorexidina com o processo de colagenização<sup>18,26,34</sup>, estas respostas teciduais foram significativas no tempo de 15 e 30 dias para o Grupo PD3.

Não se sabe se o DC é liberado apenas na superfície ou também nas seções mais profundas destes cimentos. Se a clorexidina é liberada apenas na superfície, um efeito antibacteriano reforçado poderia ser esperado com o

tempo, a partir da erosão superficial expondo uma superfície nova para liberar clorexidina<sup>7</sup>. Por outro lado, a ação da clorexidina ao longo do tempo interagindo com estruturas celulares pode levar a danos celulares diretos ou inibição do seu metabolismo, este efeito contínuo da clorexidina sobre as células pode ocorrer se considerarmos sua reconhecida substantividade<sup>30,35</sup>.

Os resultados deste experimento sugerem que a incorporação do DC nos CIVs gera em curto prazo um potencial citotóxico capaz de estimular danos celulares locais, a partir de infiltrado inflamatório crônico, tecido de granulação persistente e diminuição da rápida capacidade reparativa. Apesar de ter sido observado diferenças teciduais significativas com 30 dias, novos experimentos com um tempo de acompanhamento maior poderia confirmar se o uso do DC *in vivo* à longo prazo seria danoso aos tecidos, o que poderia fortalecer a indicação da DC nestes cimentos apenas em doses menores.

## **Conclusão**

A hipótese nula foi parcialmente aceita. A intensidade das alterações histológicas nos cimentos com DC demonstraram ser concentração-dependente. Precedent modificado com DC a 3% influenciou mais no processo inflamatório, células gigantes e quantidade de fibras colágenas que as concentrações de 1% e 2%.

## REFERÊNCIAS

1. Sukontapatipark W, el-Agroudi MA, Selliseth NJ, Thunold K, Selvig KA. Bacterial colonization associated with fixed orthodontic appliances. A scanning electron microscopy study. *Eur J Orthod.* Oct 2001;23(5):475- 484. □
2. 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. *Aust Dent J.* Mar 2012;57(1):58-64. □
3. Sehgal V, Shetty VS, Mogra S, et al. Evaluation of antimicrobial and physical properties of orthodontic composite resin modified by addition of antimicrobial agents—an in-vitro study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* Apr 2007;131(4):525-529. □
4. Millett DT, Doubleday B, Alatsaris M, et al. Chlorhexidine-modified glass ionomer for band cementation? An in vitro study. *J Orthod.* Mar 2005;32(1):36-42. □
5. Farret MM, de Lima EM, Mota EG, Oshima HM, Barth V, de Oliveira SD. Can we add chlorhexidine into glass ionomer cements for band cementation? *Angle Orthod.* May 2011;81(3):496-502. □
6. Palmer G, Jones FH, Billington RW, Pearson GJ. Chlorhexidine release from an experimental glass ionomer cement. *Biomaterials.* Oct 2004;25(23):5423-5431. □
7. Hoszek A, Ericson D. In vitro fluoride release and the antibacterial effect of glass ionomers containing chlorhexidine gluconate. *Oper Dent.* Nov-Dec 2008;33(6):696-701. □
8. Ansai T, Tahara A, Ikeda M, Katoh Y, Miyazaki H, Takehara T. Influence of colonization with mutans streptococci on caries risk in Japanese preschool children: 24 month survival analysis. *Pediatr Dent.* Sep-Oct 2000;22(5):377-380.
9. Türkün LS, Türkün M, Ertugrul F, Ates M & Brugger S (2008) Long-term antibacterial effects and physical properties of a chlorhexidine-containing glass

ionomer cement *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*. 2008;20(1):29-44.

**10.** Lewinstein I, Zenziper E, Block J, Kfir A. Incorporation of chlorhexidine diacetate in provisional cements: antimicrobial activity against *Streptococcus mutans* and the effect on tensile strength in vitro. *Int Endod J*. 2012;45(11):1010-7. □

**11.** Korkmaz FM, Tuzuner T, Baygin O, Buruk CK, Durkan R, Bagis B: Antibacterial activity, surface roughness, flexural strength, and solubility of conventional luting cements containing chlorhexidine diacetate/cetrimide mixtures. *J Prosthet Dent* 2013;110(2):107–115.

**12.** Almazin SM, Dziak R, Andreana S, Ciancio SG. The effect of doxycycline hyclate, chlorhexidine gluconate, and minocycline hydrochloride on osteoblastic proliferation and differentiation in vitro. *J Periodontol*. Jun 2009;80(6):999-1005.

**13.** Ahluwalia P, Chopra S, Thomas AM. Strength characteristics and marginal sealing ability of chlorhexidine-modified glass ionomer cement: An in vitro study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*. 2012;30(1):41-6. □

**14.** Tüzüner T, Kurgöv A, Er K, Tasdemir T, Buruk K, Kemer B. Antibacterial activity and physical properties of conventional glass-ionomer containing chlorhexidine diacetate/cetrimide mixtures. *J Esthet Restor Dent*. 2011;23(1): 46-56.

**15.** Becci ACO, Marti IM, Zuanon ACC, Brighenti FL, Spolidório DMP, Giro EMA. Influence of the addition of chlorhexidine diacetate on bond strength of a high-viscosity glass ionomer cement to sound and artificial caries affected dentin. *Ver. Odontol. UNESP*. 2014; 43(1):1-7. □

**16.** Jedrychowski JR, Caputo AA, Kerper S. Antibacterial and mechanical properties of restorative materials combined with chlorhexidines. *J Oral Rehabil*. 1983;10(5):373–81.

**17.** Ribeiro J, Ericson D. In vitro antibacterial effect of chlorhexidine added to glass-ionomer cements. *Scand J Dent Res*. Dec 1991;99(6):533-540. □

**18.** Monteiro AS, Macedo LG, Macedo NL, Feitosa FA, Toyoshima T. Bio-



compatibility of a chlorhexidine local delivery system in a subcutaneous mouse model. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. Mar 2011;16(2):278-284. □

**19.** Faria G, Cardoso CR, Larson RE, Silva JS, Rossi MA. Chlorhexidine-induced apoptosis or necrosis in L929 fibroblasts: A role for endoplasmic reticulum stress. *Toxicol Appl Pharmacol*. Jan 15 2009;234(2):256-265. □

**20.** Ozturk F, Yuksel S, Toy E, L. KE, Kuçuk EB. Genotoxic effects of banding procedure with different orthodontic cements on human oral mucosa cells *Turk J Med Sci*. Jul 2012;42(1):1-9. □

**21.** Coimbra LR, Giro EMA, Aranha AMF, Costa CAS. Cytotoxicity of glass ionomer restoratives on odontoblast cell lineage. *Odonto Ciência*. Jan 2006;54(21):338-345.

**22.** Oliva A, Salerno A, Locardi B, et al. Behaviour of human osteoblasts cultured on bioactive glass coatings. *Biomaterials*. Jun 1998;19(11-12):1019-1025. □

**23.** Souza PP, Aranha AM, Hebling J, Giro EM, Costa CA. In vitro cytotoxicity and in vivo biocompatibility of contemporary resin-modified glass-ionomer cements. *Dent Mater*. Sep 2006;22(9):838-844. □

**24.** Boaventura JMC, Roberto AR, Becci ACO, Ribeiro BCI, Oliveira MRBA. Importance of biocompatibility of new materials: revision to the glass ionomer cement. *Rev Odontol Univ Cid São Paulo*. Nov 2013;24(1):42-50. □

**25.** Lonroth EC, Dahl JE. Cytotoxicity of dental glass ionomers evaluated using dimethylthiazol diphenyltetrazolium and neutral red tests. *Acta Odontol Scand*. Feb 2001;59(1):34-39. □

**26.** Santos RL, Sampaio GA, Carvalho FG, Pithon MM, Guenes GM, Alves PM. Influence of Degree of Conversion on the Biocompatibility of Different Composites In Vivo. *J Adhes Dent* 2014;16:15-20. □

**27.** Santos RL, Pithon MM, Fernandes AB, Cabral MG, Ruellas AC. Biocompatibility of orthodontic adhesives in rat subcutaneous tissue. *J Appl Oral Sci*.

Sep-Oct 2010;18(5):503-508. □

**28.** Ribeiro DA, Marques ME, Salvadori DM. Genotoxicity and cytotoxicity of glass ionomer cements on Chinese hamster ovary (CHO) cells. *J Mater Sci Mater Med.* Jun 2006;17(6):495-500. □

**29.** Pucher JJ, Daniel JC. The effects of chlorhexidine digluconate on human fibroblasts in vitro. *J Periodontol.* Jun 1992;63(6):526-532. □

**30.** Lessa FC, Aranha AM, Nogueira I, Giro EM, Hebling J, Costa CA. Toxicity of chlorhexidine on odontoblast-like cells. *J Appl Oral Sci.* Jan-Feb 2010;18(1):50-58. □

**31.** Mariotti AJ, Rumpf DA. Chlorhexidine-induced changes to human gingival fibroblast collagen and non-collagen protein production. *J Periodontol.* Dec 1999;70(12):1443-1448. □

**32.** Santos RLd, Moura MdFLd, Carvalho FGd, Guenes GMT, Alves PM, Pithon MM. Histological analysis of biocompatibility of ionomer cements with an acid-base reaction. *Brazilian Oral Research* 2014;28:1-7. □

**33.** Lacerda-Santos R, De Farias MI, De Carvalho FG, Pithon MM, Alves PM, Tanaka OM, et al. In vivo biocompatibility versus degree of conversion of resin-reinforced cements in different time periods. *Microsc Res Tech* 2014;77:335-340.

**34.** Grecca FS, Kopper PM, Santos RB, et al. Biocompatibility of RealSeal, its primer and AH Plus implanted in subcutaneous connective tissue of rats. *J Appl Oral Sci.* Jan-Feb 2011;19(1):52-56. □□

**35.** Rolla G, Melsen B. On the mechanism of the plaque inhibition by chlorhexidine. *J Dent Res.* Jun 1975;54 Spec No B:B57-62.

#### **4. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A partir deste estudo, pôde-se concluir que os efeitos tóxicos do Diacetato de clorexidina incorporado ao ionômero de vidro está diretamente ligado à sua concentração. Sendo assim, quanto maior a concentração, maior o efeito tóxico. Precedent modificado com DC a 3% influenciou mais no processo inflamatório, células gigantes e quantidade de fibras colágenas que as concentrações de 1% e 2%.

**ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**

Universidade Federal de Campina Grande  
Centro de Saúde e Tecnologia Rural  
Comissão de Ética em Pesquisa  
Av. Sta Cecília, s/n, Bairro Jatobá, Rodovia Patos,  
CEP: 58700 -970, Cx postal 64, Tel. (83) 3511 -3045



Ofício CEP nº 70/2012

**Protocolo CEP nº 0102012**

Ao. Sr. Rogério Lacerda dos Santos

Sr. Santos;

A pesquisa coordenada por V.Sa. intitulada **“Biocompatibilidade *in vivo* de cimentos ortodônticos de reação ácido-base modificados por diferentes substâncias antimicrobianas”**, recebeu parecer FAVORÁVEL após avaliação dos relatores da Comissão de Ética em Pesquisa do Centro de Saúde e Tecnologia Rural – CSTR/UFPA.

Atenciosamente.

Patos, 28 de outubro de 2012.

Onaldo Guedes Rodrigues  
Coordenador do CEP

## ANEXO B – INSTRUÇÃO AOS AUTORES DA ANGLE ORTHODONTIST

### Information for Contributors

---

**Please organize and enter your Original Article manuscript using the following headings** (Case reports and other types of articles may vary):

**COVER LETTER** - Must contain the following:

**Copyright Releases** - The following written statement, signed by one of the authors and acting on behalf of all of the authors, must accompany all manuscripts:

"The undersigned author transfers all copyright ownership of the manuscript (fill in the title of your manuscript) to *The Angle Orthodontist* in the event the work is published. The undersigned author warrants that the article is original, is not under consideration for publication by another journal and has not been previously published. I sign for and accept responsibility for releasing this material on behalf of *any* and all coauthors."

Direct quotations, tables or images that have appeared elsewhere in copyrighted material must be accompanied by a signed release from the copyright owner. Complete information identifying the source of the material is required.

**Patient Releases** - A signed release must be obtained for all images that contain identifiable patients or human subjects. These releases must be retained indefinitely by the Corresponding Author. A cover letter must be submitted with the manuscript attesting to the fact that all applicable patient releases were obtained and are on file with the Corresponding Author.

Each release statement must be on a separate page, include the manuscript title, all authors' names and contain a copy of the following statement signed by the patient:

"I hereby grant all rights to publish photographs or other images of me in the above manuscript where I appear as a patient or subject without payment of any kind. I have been informed that any images of me that do appear may be modified."

- **ARTICLE FILE**

Articles must be original and written in clear English. The total article file must be entered as one document and must contain the Title, Abstract, Text References and Figure Legends. The article file must not exceed a maximum of 3500 words. To determine the number of words in your document, go to the toolbar, click on tools and then click on word count.

For Systematic Reviews, use the PRISMA statement for uniformity in reporting format: (<http://www.prisma-statement.org/2.1.2%20-%20PRISMA%202009%20Checklist.pdf>). Follow the proposed structure and subheadings whenever possible.

**Please enter only the following items in the article file:**

- **Title** of the manuscript
- **Abstract** - *The Angle Orthodontist* is using a structured abstract which must be limited to 250 words. The abstract should conform to the following outline and not contain an introduction, literature review or discussion.

**ABSTRACT**

**Objective:** List the specific goal(s) of the research.

**Materials and Methods:** Briefly describe the procedures you used to accomplish this work. Leave the small details for the manuscript itself.

**Results:** Identify the results that were found as a result of this study.

**Conclusion:** List the specific conclusion(s) that can be drawn based on the results of this study.

- **Manuscript text** - Please remove all references to the author's identity or institutions as manuscripts are peer reviewed anonymously. An original article text will contain the following in order:

*INTRODUCTION* - This section states the purpose of the research and includes a brief summary of the literature describing the current state of the field.

*MATERIALS AND METHODS* -This section states exactly what was done and should enable a reader to replicate the work. Materials or methods described elsewhere in the literature can be referenced without repeating these details. Identify teeth using the full name of the tooth or the FDI annotation. If human subjects or animals were involved in the work, this section must contain a statement that the rights of the human or animal subjects were protected and approval was obtained from an identified institutional review board, or its equivalent.

*RESULTS* - This section should describe the objective findings without any comment on their significance or relative importance. Cite all tables and figures in sequential order in the text.

*DISCUSSION* - Only this section allows you freedom to interpret your data and to give your opinion of the value of your findings relative to previous work. All opinions must be limited to this section.

*CONCLUSION* - This section states what conclusions can be drawn specifically from the research reported. Bullet points are preferred. Do not repeat material from other sections..

*REFERENCES* - References cited must refer to published material. Number references consecutively in order of their appearance in the manuscript using superscript and Arabic numerals. References to "personal communication" or unpublished theses are not acceptable. The style and punctuation of references should strictly conform to *American Medical Association Manual of Style: A Guide for Authors and Editors*, 9th ed (Baltimore, Md: Williams & Wilkins; 1998). Consult previous issues of *The Angle Orthodontist* for guidance (Available at <http://www.angle.org> ).

*FIGURE LEGENDS* - All figures must be numbered sequentially in the manuscript and a legend for each figure must appear in this section.

- **TABLE FILES**

Each table must be in WORD or EXCEL format and entered as a separate file. Each table must have its own legend accompanying it, numbered with Arabic numerals and sequentially referred to in the text. All abbreviations used in the table must be defined in a footnote. Use \*  $P=.05$ ; \*\*  $P=.01$ ; \*\*\*  $P=.001$ ; \*\*\*\*  $P=.0001$  as needed. Tables cannot be in pictorial or image formats. Pictorial or image formats are figures and must be entered as figures.

- **FIGURE FILES**

Each figure must be of sufficient resolution for high quality publication usually in TIFF or EPS format. All images need to be at 300 DPI when the figure is of the size to be used in publication.

If you enter a large image at 300 DPI and reduce it to a much smaller size for publication, this will increase the DPI and the image will be very heavy and slow to open electronically. If you enter a small image (such as a 35 mm picture) and plan to enlarge it for publication, it needs to be entered at more than 300 DPI since enlargement will only reduce the resolution.

Figures in WORD or presentation software such as PowerPoint, Corel Draw or Harvard Graphics do not contain sufficient resolution for publication and will not be accepted. Authors will be charged for publication of figures in color.

**Manuscript Review**

After you have entered your manuscript, you will receive automated responses from the system as the manuscript is processed. You may also follow the progress of your manuscript via the web site and your own password you created when you first entered the system.

Your manuscript will be peer reviewed and the reviewers' comments will be sent to you. Please allow adequate time for this process. Our automated system is instantaneous, but the reviewers are busy people who donate their expertise and time.

A manuscript returned to an author with suggested revisions must be returned within 3 months. Revised manuscripts returned after this time will be considered new submissions.

After the revisions are complete, the editor will submit the manuscript to the printer and an electronic copy of your galley proof will be sent to you for corrections and final approval. Expect the figures in the galley proof to be of low resolution for ease of transmission. The final publication will contain your high quality figures.

**Reprints**

Reprints are available through special order for a nominal charge. Your galley copy will contain an order form for you to request any reprints desired. When you complete this application, return it directly to the printer. Reprints are not sent out or billed to you until the printed copy of your article is mailed out.

**General Information**

The E. H. Angle Education and Research Foundation invites manuscripts concerning the dental and craniofacial complex. Original research, clinical observations and review articles as well as guest editorials, letters to the editor and case reports are welcome.

Articles are peer reviewed and subject to editorial revision. Statements and opinions expressed in articles are not necessarily those of the editor or publisher. The editor and the publisher disclaim any responsibility or liability for such material.