

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)  
autor(a), o texto completo deste  
trabalho será disponibilizado  
somente a partir de  
21/09/2019.



**UNESP - Universidade Estadual Paulista**  
**“Júlio de Mesquita Filho”**  
**Faculdade de Odontologia de Araraquara**



**VICTOR TRASSI FERNANDES SILVA DE SOUZA**

**EFEITO DE ADESIVOS MODIFICADOS POR NANOPARTÍCULAS DE  $\text{TiO}_2$   
DECORADAS OU NÃO COM PRATA EM DIFERENTES PROPRIEDADES**

**Araraquara**

**2017**



**UNESP - Universidade Estadual Paulista**  
**“Júlio de Mesquita Filho”**  
**Faculdade de Odontologia de Araraquara**



**VICTOR TRASSI FERNANDES SILVA DE SOUZA**

**EFEITO DE ADESIVOS MODIFICADOS POR NANOPARTÍCULAS DE  $\text{TiO}_2$   
DECORADAS OU NÃO COM PRATA EM DIFERENTES PROPRIEDADES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas, área de concentração em Dentística Restauradora, da Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista – UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Odontológicas.

Orientador: Profa. Dra. Alessandra Nara de Souza Rastelli

**Araraquara**

**2017**

Souza, Victor Trassi Fernandes Silva de

Efeito de adesivos modificados por nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  decoradas ou não com prata em diferentes propriedades / Victor Trassi Fernandes Silva de Souza.-- Araraquara: [s.n.], 2017

77 f.; 30 cm.

Dissertação (Mestrado em Dentística Restauradora) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia

Orientadora: Profa. Dra. Alessandra Nara de Souza Rastelli

1. Streptococcus mutans 2. Prata 3. Nanopartículas 4. Titânio  
5. Cura luminosa de adesivos dentários I. Título

**VICTOR TRASSI FERNANDES SILVA DE SOUZA**

**EFEITO DE ADESIVOS MODIFICADOS POR NANOPARTÍCULAS DE  $\text{TiO}_2$   
DECORADAS OU NÃO COM PRATA EM DIFERENTES PROPRIEDADES**

Dissertação para Obtenção do Grau de Mestre

**Comissão Julgadora**

**Presidente e orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Alessandra Nara de Souza Rastelli**

**2º Examinador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Patrícia Petromilli Nordi Sasso Garcia**

**3º Examinador: Prof. Dr. Clovis Wesley Oliveira de Souza**

**Araraquara, 21 de setembro de 2017**

## **DADOS CURRICULARES**

**VICTOR TRASSI FERNANDES SILVA DE SOUZA**

**NASCIMENTO:** 19/06/1993 – São Paulo – São Paulo

**FILIAÇÃO:** Simone Fernandes Silva  
Wagner Aparecido de Souza

**2011-2014:** Curso de Graduação em Odontologia pela Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP

**2015-2017:** Curso de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas, Área de Concentração em Dentística Restauradora, nível Mestrado, pela Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho, em primeiro lugar, ao nosso todo poderoso Senhor Deus, que sempre iluminou minha vida e permitiu que estivesse onde estou hoje.

Aos meus pais, **Wagner** e **Simone**, por serem minha fortaleza e sempre me proverem os melhores conselhos e apoio possíveis. Aos meus irmãos **Bruno** e **Lídia** por tornarem essa família completa e perfeita.

À minha namorada, **Isadora**, por seu infinito amor, carinho, compreensão e companheirismo nessa reta final. Você me tornou uma pessoa melhor e foi decisiva para eu conseguir completar essa pesquisa. Te amo mais do que é possível imaginar!

“A sabedoria é um paradoxo. O homem que mais sabe é aquele que mais reconhece a vastidão  
de sua ignorância.”

Friedrich Nietzsche



## AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP, na presença de seu Magnífico Reitor, Prof. Dr. Sandro Roberto Valentini e Vice-Reitor Prof. Dr. Sérgio Roberto Nobre.

À Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, representada pela Profa. Dra. Elaine Maria Sgavioli Massucato (Diretora) e Prof. Dr. Edson Alves de Campos (Vice-Diretor).

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas, da Faculdade de Odontologia de Araraquara, coordenado pela Prof<sup>ca</sup>. Dr<sup>a</sup>. Fernanda Lourenção Briguenti.

Aos docentes da disciplina de Dentística Restauradora: **Profa. Dra. Alessandra Nara de Souza Rastelli, Profa. Dra. Andrea Abi Rached Dantas, Prof. Dr. Edson Alves de Campos, Prof. Dr. José Roberto Cury Saad, Prof. Dr. Marcelo Ferrarezi Andrade, Prof. Dr. Osmir Batista de Oliveira Junior e Prof. Dr. Sizenando de Toledo Porto Neto** pela recepção na faculdade, ajuda e ensinamentos.

À **Profa. Dra. Alessandra Nara de Souza Rastelli**, pela oportunidade ímpar que me proporcionou de estar nessa ilustre Faculdade e desfrutar de tudo que ela me ofereceu. Agradeço efusivamente pelos conselhos, pelo apoio, pelos ensinamentos, pela compreensão e por me conduzir nos meus primeiros passos dentro da vida acadêmica. Por tudo isso serei eternamente grato.

Aos colegas de pós-graduação e graduação que tive o prazer de conhecer nesta jornada, especialmente ao **Hércules Bezerra Dias** por ter me auxiliado constantemente na realização deste trabalho.

À **Profa. Dra. Taís Maria Bauab**, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP, por ter disponibilizado as dependências de seu laboratório para parte importante deste trabalho e pela grande ajuda fornecida.

Aos colegas e funcionários do laboratório de Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP, por terem me auxiliado incontáveis vezes durante o tempo em que utilizei as dependências da Faculdade.

Ao **Prof. Dr. Luís Geraldo Vaz** pela disponibilização do Laboratório de Ensaio Mecânicos da Faculdade de Odontologia de Araraquara -UNESP.

Aos técnicos João Luiz e Naira do Laboratório Multiusuário de Análises Químicas do Instituto de Química – UNESP, pela ajuda durante a utilização do laboratório.

Aos funcionários Cristiano e José Alexandre da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP.

Às funcionárias Creusa e Alessandra do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo aporte financeiro fornecido durante o curso de Mestrado.

E a todos que de alguma forma, mesmo sem saber, me ajudaram a concluir esta etapa.

Souza VTFS. Efeito de adesivos modificados por nanopartículas de TiO<sub>2</sub> decoradas ou não com prata em diferentes propriedades. [Dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2017.

## RESUMO

O presente estudo teve como objetivo a avaliação do efeito antibacteriano de sistemas adesivos modificados com nanopartículas (NPs) de dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>) decoradas ou não por prata (Ag) em diferentes concentrações, assim como o grau de conversão e a resistência de união à dentina sendo avaliada imediatamente e após três meses em saliva artificial. Os sistemas adesivos Adper™ Scotch Bond Multi Purpose e Adper™ Single Bond (3M Espe), e Clearfil SE Bond (Kuraray) foram modificados com concentrações 0 (controle); 1; 2 e 5% de NPs de TiO<sub>2</sub> (com e sem Ag). Foram confeccionados espécimes cilíndricos em resina composta (Filtek™ Z250XT, 3M Espe) na cor A<sub>2</sub> com matrizes metálicas (4x2mm), nos quais foram aplicados os sistemas adesivos modificados ou não, de acordo com as instruções dos fabricantes, para o teste de atividade antibacteriana por contato direto. Os espécimes foram colocados em placa de 24 poços e incubados por 18 horas a 37°C em atmosfera de microaerofilia juntamente com 100µL de suspensão bacteriana padronizada contendo *Streptococcus mutans* e 900µL de BHI caldo + sacarose (1%). Para a contagem de unidades formadoras de colônias (UFC/mL), foram realizadas diluições seriadas com as soluções resultantes e 50µL dessas diluições foram plaqueadas em placas de petri contendo BHI ágar, sendo incubadas a 37°C em 10% de CO<sub>2</sub> por 48 horas. O grau de conversão foi avaliado por espectroscopia infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR) para todos os adesivos modificados ou não em todas as concentrações, sob resolução de 4cm<sup>-1</sup>, 64 escaneamentos de 400-4000cm<sup>-1</sup>. Para o teste de microcisalhamento, os espécimes foram confeccionados incluindo fragmentos de dentes bovinos (13mm comprimento x 7mm largura x 2mm espessura) em tubos de PVC (1,2cm x 1,2cm) com resina acrílico autopolimerizável. Nestes espécimes, corpos-de-prova foram confeccionados utilizando-se a resina composta Filtek™ Z250XT (3M Espe) utilizando-se matrizes de teflon em substrato bovino, sobre os quais os sistemas adesivos foram aplicados, sendo feitas as análises de resistência adesiva imediata e após armazenamento em água destilada a 37°C (±1°C) por 3 meses. O padrão de fratura dos espécimes foi analisado por microscopia óptica (lupa estereoscópica, 40x de

aumento). Os pressupostos de normalidade e homocedasticidade foram atendidos e os dados obtidos foram analisados por Análise de Variância ANOVA (3 fatores) e teste de Tukey (5%). As médias e desvio padrão do grau de conversão foram  $25,58 \pm 2,25$  (SB),  $32,48 \pm 7,3$  (SBM) e  $9,63 \pm 7,19$ (CB); TiO<sub>2</sub> (1%):  $29,57 \pm 1,4$  (SB)  $32,72 \pm 8,48$  (SBM)  $31,66 \pm 4,78$  (CB); TiO<sub>2</sub> (2%):  $30,14 \pm 8,23$  (SB)  $35,08 \pm 7,57$  (SBM)  $27,19 \pm 8,74$  (CB); TiO<sub>2</sub> (5%):  $27,19 \pm 12,11$  (SB)  $35,77 \pm 7,91$  (SBM)  $39,63 \pm 6,95$  (CB); AgTiO<sub>2</sub>-1%  $27,35 \pm 10,36$  (SB)  $38,03 \pm 7,30$  (SBM)  $37,47 \pm 7,37$ (CB); AgTiO<sub>2</sub>-2%  $27,72 \pm 10,05$  (SB)  $33,57 \pm 10,19$  (SBM)  $34,13 \pm 8,06$  (CB); AgTiO<sub>2</sub>-5%  $28,21 \pm 9,03$  (SB)  $38,7 \pm 8,15$  (SBM)  $31,33 \pm 8,5$  (CB) ( $p < 0,05$ ). As médias log<sub>10</sub> e desvio padrão para o teste antibacteriano por contato direto foram:  $6.5 \pm 0,30$  (SB),  $6.63 \pm 0,19$ (SBM) e  $6.62 \pm 0,14$  (CB); TiO<sub>2</sub> (1%):  $5,50 \pm 0,40$ (SB)  $5,62 \pm 0,29$  (SBM)  $5,61 \pm 0,19$ (CB); TiO<sub>2</sub> (2%):  $5,44 \pm 0,36$ (SB)  $5,30 \pm 0,50$ (SBM)  $5,55 \pm 0,08$  (CB); TiO<sub>2</sub> (5%):  $5,46 \pm 0,49$ (SB)  $5,47 \pm 0,39$ (SBM)  $5,57 \pm 0,1$  (CB); AgTiO<sub>2</sub>-1%  $5,84 \pm 0,16$  (SB)  $5,56 \pm 0,22$  (SBM)  $5,54 \pm 0,07$ (CB); AgTiO<sub>2</sub>-2%  $5,68 \pm 0,45$  (SB)  $5,41 \pm 0,10$  (SBM)  $5,56 \pm 0,12$ (CB); AgTiO<sub>2</sub>-5%  $5,47 \pm 0,14$  (SB)  $5,50 \pm 0,14$ (SBM)  $5,52 \pm 0,11$ (CB) ( $p < 0,05$ ). As médias dos valores resistência adesiva em MPa e desvio padrão para o teste de microcisalhamento (imediate) foram:  $19,3 \pm 2,7$  (SB),  $22,4 \pm 3$  (SBM) e  $16,6 \pm 2,9$  (CB); TiO<sub>2</sub> (1%):  $18,7 \pm 2,4$  (SB)  $22,8 \pm 4,8$  (SBM)  $15,2 \pm 2,7$  (CB); TiO<sub>2</sub> (2%):  $17,9 \pm 2,7$  (SB)  $21,5 \pm 2,8$  (SBM)  $17,9 \pm 3,4$  (CB); TiO<sub>2</sub> (5%):  $18,2 \pm 3,01$ (SB)  $21,9 \pm 3,9$ (SBM)  $17,5 \pm 3,99$  (CB); AgTiO<sub>2</sub>-1%  $19,5 \pm 3,2$  (SB)  $23,5 \pm 3,8$  (SBM)  $16,5 \pm 3,1$  (CB); AgTiO<sub>2</sub>-2%  $18,1 \pm 3,1$  (SB)  $24,2 \pm 3,9$  (SBM)  $14,8 \pm 3,2$  (CB); AgTiO<sub>2</sub>-5%  $17,2 \pm 4,5$  (SB)  $23,3 \pm 4$  (SBM)  $14,1 \pm 5$  (CB) ( $p < 0,05$ ). As médias dos valores resistência adesiva em MPa e desvio padrão para o teste de microcisalhamento (3 meses) foram:  $18,3 \pm 1,83$  (SB),  $18,58 \pm 2,31$  (SBM) e  $18,58 \pm 2,23$  (CB); TiO<sub>2</sub> (1%):  $17,92 \pm 1,98$  (SB)  $18,25 \pm 2,05$  (SBM)  $17,5 \pm 1,8$  (CB); TiO<sub>2</sub> (2%):  $17,83 \pm 1,85$  (SB)  $18,17 \pm 2,04$  (SBM)  $17 \pm 2,59$  (CB); TiO<sub>2</sub> (5%):  $17,75 \pm 1,96$  (SB)  $18,17 \pm 2,17$  (SBM)  $18,75 \pm 2,01$  (CB); AgTiO<sub>2</sub>-1%  $17,75 \pm 1,87$  (SB)  $17,33 \pm 1,88$  (SBM)  $17,42 \pm 1,44$  (CB); AgTiO<sub>2</sub>-2%  $17,50 \pm 2,28$  (SB)  $17,25 \pm 1,96$  (SBM)  $17,33 \pm 2,31$  (CB); AgTiO<sub>2</sub>-5%  $18,25 \pm 1,91$  (SB)  $18,3 \pm 2,54$  (SBM)  $19,17 \pm 2,21$  (CB) ( $p < 0,05$ ). Os resultados mostraram que todos os sistemas adesivos exibiram atividade antibacteriana independente do tipo de nanopartículas utilizada ( $p < 0,05$ ). Porém, nenhuma diferença foi constatada quando comparadas as diferentes concentrações e os diferentes tipos de adesivo ( $p < 0,05$ ). A adição de nanopartículas não afetou o grau de conversão dos sistemas adesivos, não sendo também constatada diferença nos valores de resistência de união, considerando todas as variáveis e os

dois períodos de tempo utilizados. Pode-se concluir que a adição de nanopartículas com propriedades antibacterianas promoveram atividade antibacteriana, sobre *Streptococcus mutans*, aos adesivos odontológicos, sem prejudicar o grau de polimerização e a adesão, podendo ser uma técnica viável para tornar adesivos odontológicos bioativos e diminuir a infiltração de bactérias em restaurações adesivas.

**Palavras-chave:** Streptococcus mutans. Prata. Nanopartículas. Titânio. Cura luminosa de adesivos dentários.

Souza VTFS. Effect of adhesives modified with TiO<sub>2</sub> nanoparticles decorated or not with silver on different properties [Dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2017.

## ABSTRACT

The present study evaluated the antibacterial effect, the degree of conversion and the micro-shear bond strength (immediate and after three months of water storage) of modified dental adhesive systems with TiO<sub>2</sub> or Ag/TiO<sub>2</sub> nanoparticles at different concentrations. The adhesive systems Adper™ Single Bond (SB), Adper™Scotch™ Bond Multi Purpose (3M Espe) (SBM) and Clearfil SE Bond (Kuraray) (CB) were modified with 1.0, 2.0 and 5.0 wt% of NPs. For the direct-contact test, sterilized specimens (n=36) were made using a metallic matrix (4x2mm) with the composite resin Filtek™Z250 XT (3M Espe), on which the dental adhesive systems were applied according to the manufacturer's instructions. Both materials were photo-activated using a LED light-curing unit (LED Radii Plus, SDI). The specimens were placed in a 24-well plate with 100µL of *Streptococcus mutans* standardized suspension on their surfaces, 900µL of BHI broth and incubated for 18 hours at 37°C under an atmosphere containing 5% CO<sub>2</sub>. A six-fold serial dilution was performed with the resultant solutions. Fifty microliters (50µL) from each dilution was retrieved and spread on brain-heart infusion agar plates and incubated at 37°C under an atmosphere containing 5% of CO<sub>2</sub> for 48h and the colony forming units (CFU's) were registered. For the evaluation of the DC, the specimens were made by the modification of the dental adhesive systems with all concentrations of nanoparticles and stored for 24hs at 37°C in an incubator. The FTIR analysis was conducted using an attenuated total reflectance unit (ATR) at a 4cm<sup>-1</sup> resolution and 64 scans. For the micro-shear bond strength test, One hundred and twenty six standardized dentin specimens were made from bovine incisors and divided into twenty-one groups. The control and modified adhesive systems were applied on the surfaces of the specimens according to the manufacturer's instructions and composite resin cylinders (Filtek™ Z250XT) were inserted into the bonded surfaces using a Teflon matrix. The test was performed using a universal testing machine, at a cross-head speed of 0,5mm/min until the specimen rupture. The failure modes of the specimens was determined using a stereomicroscope at 40x and was divided into adhesive, cohesive and mixed. The data was assessed by three-way ANOVA and Tukey's

Test ( $p \leq 0.05$ ). The mean values and standard deviation for the control groups of the DC test were:  $25,58 \pm 2,25$  (SB),  $32,48 \pm 7,3$  (SBM) e  $9,63 \pm 7,19$ (CB);  $\text{TiO}_2$  (1%):  $29,57 \pm 1,4$  (SB)  $32,72 \pm 8,48$  (SBM)  $31,66 \pm 4,78$  (CB);  $\text{TiO}_2$  (2%):  $30,14 \pm 8,23$  (SB)  $35,08 \pm 7,57$  (SBM)  $27,19 \pm 8,74$  (CB);  $\text{TiO}_2$  (5%):  $27,19 \pm 12,11$  (SB)  $35,77 \pm 7,91$  (SBM)  $39,63 \pm 6,95$  (CB);  $\text{AgTiO}_2$ -1%  $27,35 \pm 10,36$  (SB)  $38,03 \pm 7,30$  (SBM)  $37,47 \pm 7,37$ (CB);  $\text{AgTiO}_2$ -2%  $27,72 \pm 10,05$  (SB)  $33,57 \pm 10,19$  (SBM)  $34,13 \pm 8,06$  (CB);  $\text{AgTiO}_2$ -5%  $28,21 \pm 9,03$  (SB)  $38,7 \pm 8,15$  (SBM)  $31,33 \pm 8,5$  (CB) ( $p < 0,05$ ). The mean  $\log_{10}$  values and standard deviation for the antibacterial test were:  $6.5 \pm 0,30$  (SB),  $6.63 \pm 0,19$ (SBM) e  $6.62 \pm 0,14$  (CB);  $\text{TiO}_2$  (1%):  $5,50 \pm 0,40$ (SB)  $5,62 \pm 0,29$  (SBM)  $5,61 \pm 0,19$ (CB);  $\text{TiO}_2$  (2%):  $5,44 \pm 0,36$ (SB)  $5,30 \pm 0,50$ (SBM)  $5,55 \pm 0,08$  (CB);  $\text{TiO}_2$  (5%):  $5,46 \pm 0,49$ (SB)  $5,47 \pm 0,39$ (SBM)  $5,57 \pm 0,1$  (CB);  $\text{AgTiO}_2$ -1%  $5,84 \pm 0,16$  (SB)  $5,56 \pm 0,22$  (SBM)  $5,54 \pm 0,07$ (CB);  $\text{AgTiO}_2$ -2%  $5,68 \pm 0,45$  (SB)  $5,41 \pm 0,10$  (SBM)  $5,56 \pm 0,12$ (CB);  $\text{AgTiO}_2$ -5%  $5,47 \pm 0,14$  (SB)  $5,50 \pm 0,14$ (SBM)  $5,52 \pm 0,11$ (CB) ( $p < 0,05$ ). The mean bond strength values (MPa) and standard deviation for the microshear test (immediate) were:  $19,3 \pm 2,7$  (SB),  $22,4 \pm 3$  (SBM) e  $16,6 \pm 2,9$  (CB);  $\text{TiO}_2$  (1%):  $18,7 \pm 2,4$  (SB)  $22,8 \pm 4,8$  (SBM)  $15,2 \pm 2,7$  (CB);  $\text{TiO}_2$  (2%):  $17,9 \pm 2,7$  (SB)  $21,5 \pm 2,8$  (SBM)  $17,9 \pm 3,4$  (CB);  $\text{TiO}_2$  (5%):  $18,2 \pm 3,01$ (SB)  $21,9 \pm 3,9$ (SBM)  $17,5 \pm 3,99$  (CB);  $\text{AgTiO}_2$ -1%  $19,5 \pm 3,2$  (SB)  $23,5 \pm 3,8$  (SBM)  $16,5 \pm 3,1$  (CB);  $\text{AgTiO}_2$ -2%  $18,1 \pm 3,1$  (SB)  $24,2 \pm 3,9$  (SBM)  $14,8 \pm 3,2$  (CB);  $\text{AgTiO}_2$ -5%  $17,2 \pm 4,5$  (SB)  $23,3 \pm 4$  (SBM)  $14,1 \pm 5$  (CB) ( $p < 0,05$ ). The mean bond strength values (MPa) and standard deviation for the microshear test (3 months) were:  $18,3 \pm 1,83$  (SB),  $18,58 \pm 2,31$  (SBM) e  $18,58 \pm 2,23$  (CB);  $\text{TiO}_2$  (1%):  $17,92 \pm 1,98$  (SB)  $18,25 \pm 2,05$  (SBM)  $17,5 \pm 1,8$  (CB);  $\text{TiO}_2$  (2%):  $17,83 \pm 1,85$  (SB)  $18,17 \pm 2,04$  (SBM)  $17 \pm 2,59$  (CB);  $\text{TiO}_2$  (5%):  $17,75 \pm 1,96$  (SB)  $18,17 \pm 2,17$  (SBM)  $18,75 \pm 2,01$  (CB);  $\text{AgTiO}_2$ -1%  $17,75 \pm 1,87$  (SB)  $17,33 \pm 1,88$  (SBM)  $17,42 \pm 1,44$  (CB);  $\text{AgTiO}_2$ -2%  $17,50 \pm 2,28$  (SB)  $17,25 \pm 1,96$  (SBM)  $17,33 \pm 2,31$  (CB);  $\text{AgTiO}_2$ -5%  $18,25 \pm 1,91$  (SB)  $18,3 \pm 2,54$  (SBM)  $19,17 \pm 2,21$  (CB) ( $p < 0,05$ ). The results showed that all adhesive systems exhibited effective antibacterial activity, regardless of the NPs used ( $\text{TiO}_2$  or  $\text{TiO}_2/\text{Ag}$ ). However, no statistical difference was observed between the different concentrations and also when the three types of adhesive systems were compared. The addition of NPs did not exert any influence on the DC and on the bond strength values. No significant difference was found between the control and experimental groups, considering both types of nanoparticles, all concentrations used and both periods of time. It can be concluded that the addition of antibacterial nanoparticles to dental adhesive systems can provide antibacterial activity to

these adhesive systems, without compromising their mechanical and adhesion properties, which may reveal a viable technique to reduce the amount of bacteria in adhesive restorations.

**Keywords:** Streptococcus mutans. Silver. Nanoparticles. Titanium. Luminous cure of dental adhesives.



## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

TiO<sub>2</sub> – Dióxido de titânio

Ag/TiO<sub>2</sub> – Partículas de dióxido de titânio decoradas com prata

SB – Single Bond

SBM – ScotchBond Multipurpose

CB – Clearfil SE Bond

GC – Grau de conversão

NPs – Nanopartículas

UFC – Unidades Formadoras de Colônias

PBS – Phosphate Buffered Saline (Solução Salina Tamponada Fosfatada)

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>17</b>
<b>2 PROPOSIÇÃO .....</b>	<b>22</b>
<b>3 PUBLICAÇÃO 1 .....</b>	<b>23</b>
<b>4 PUBLICAÇÃO 2 .....</b>	<b>45</b>
<b>5 CONCLUSÃO .....</b>	<b>66</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>67</b>
<b>APÊNDICE A .....</b>	<b>71</b>
<b>APÊNDICE B .....</b>	<b>75</b>
<b>ANEXO A .....</b>	<b>77</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O uso dos sistemas adesivos e de materiais restauradores na Odontologia sedimentou-se ao longo dos anos como uma ferramenta indispensável para o restabelecimento da estética e da função dentária nos pacientes em ambiente clínico, e também como um campo de pesquisa extremamente vasto para os cientistas no ambiente laboratorial. Sua utilização estabelece-se hoje como um dos mais importantes pilares do tratamento odontológicos nas mais diversas esferas e por todo o mundo.

Uma das mais importantes indicações dos sistemas adesivos odontológicos incluem a restauração de lesões cariosas. Nesse sentido, sabe-se que a cárie dental é uma doença crônica, infecto contagiosa, já estudada e conhecida há muito tempo, e seu estabelecimento está ligado a tipos específicos de patógenos (Leites et al.<sup>21</sup>, 2006). Um deles, o *Streptococcus mutans*, vem sendo estudado extensivamente há décadas, sendo uma das principais bactérias relacionadas ao processo carioso. São cocos gram positivos, acidogênicos, acidúricos, microaerófilos e anaeróbios facultativos (Hamada et al.<sup>16</sup>, 1980). Possuem potencial altamente cariogênico devido à sua alta capacidade de colonizar a superfície dentária (Florio et al.<sup>13</sup>, 2002), produção de polissacarídeos extracelulares do tipo glicana (Cowman et al.<sup>6</sup>, 1979), capacidade de produção de ácidos (Menaker<sup>24</sup>, 1984), capacidade de sobrevivência em meio ácido, desenvolvendo suas atividades metabólicas (Hamada et al.<sup>16</sup>, 1980), estando a presença desse microorganismo relacionada à alta prevalência de cárie (Leites et al.<sup>21</sup>, 2006). Sendo assim, essa bactéria se constitui como elemento chave no panorama microbiológico da cárie dental, o que justifica os estudos sobre sua resposta frente a substâncias antibacterianas.

Observando o panorama da saúde pública mundial, constata-se que a cárie dental permanece ainda hoje como um grande desafio, sendo a infecção bacteriana mais comum em humanos e uma ameaça à saúde oral e sistêmica, demonstrando-se ainda um fator de grande impacto econômico e social para a humanidade (Kopperud et al.<sup>20</sup>, 2012; Cheng et al.<sup>5</sup>, 2012; Featherstone<sup>10</sup>, 2004). Nesse cenário, compósitos resinosos, em combinação com os sistemas adesivos, desempenham papel importante na Odontologia Restauradora, já que demonstram boa performance restauradora e ótima estética (Mjor et al.<sup>25</sup>, 2000). Entretanto, alguns desafios impõem problemas a essa opção restauradora . As lesões cariosas secundárias

se constituem como um deles (Frost<sup>14</sup>, 2002; Mjor et al.<sup>25</sup>, 2000), juntamente com a dificuldade na remoção completa do tecido cariado e permanência de contaminação bacteriana nos preparos cavitários (Sakaguchi<sup>31</sup>, 2005; Chen et al.<sup>4</sup>, 2012; Almeidas Neves et al.<sup>1</sup>, 2011). As cáries secundárias são, de fato, a maior razão pela qual as restaurações adesivas falham (Frost<sup>14</sup>, 2002; Ferracane<sup>12</sup>, 2013). Isso devido ao acúmulo de resíduos alimentares e formação de biofilme às suas margens (Svanberg et al.<sup>32</sup>, 1990; Drummond et al.<sup>8</sup>, 2008), bem como à característica demonstrada pelos compósitos, que tendem a acumular mais biofilme do que outros materiais restauradores (Sakaguchi<sup>31</sup>, 2005; Beyth et al.<sup>2</sup>, 2007). Portanto, passou-se a pensar na hipótese de que atividade antibacteriana que acontecesse adicionalmente após a confecção de preparos e restaurações poderia trazer uma nova luz para essa questão (Sahoo et al.<sup>29</sup>, 2007). Com isso, e levando em consideração os fatores citados, nota-se que o investimento em estudos sobre materiais restauradores e adesivos inovadores que contenham propriedades antibacterianas e bioativas é imprescindível, com o objetivo de diminuir ou controlar a ameaça bacteriana secundária e aumentar a longevidade das restaurações adesivas.

Vários tipos de agentes antibacterianos vêm sendo utilizados com esta finalidade, sendo adicionados tanto em resinas compostas quanto nos sistemas adesivos (Cheng et al.<sup>5</sup>, 2012). Entretanto, suas propriedades físicas e mecânicas podem ser afetadas (Saito et al.<sup>30</sup>, 2007). Entre os principais agentes usados, podemos citá-los de acordo com a forma com que são usados: liberados pelos sistemas adesivos ao longo do tempo (clorexidina e cloreto de benzalcônio), agentes que se copolimerizam junto à matriz resinosa (brometo de metacrilóiloxidodecilpiridínio – MDPB) e preenchedores inorgânicos (dióxido de titânio e óxido de zinco). No que tange aos agentes solúveis, Hiraishi et al.<sup>17</sup> (2010) demonstraram que a adição de clorexidina ao *primer ED 2.0* (Kuraray) permite efeito antibacteriano significativo para todas as concentrações (1 e 2%), tendo o Grupo com 2% de concentração demonstrado resistência à microtração consideravelmente diminuída. Saito et al.<sup>30</sup> (2007) também demonstraram que, adicionando-se BAC (cloreto de benzalcônio) a um adesivo ortodôntico (Superbond C&B, Sun Medical Co), em concentrações variando de 0.25 a 2.5%, obteve-se atividade antibacteriana significativa em comparação ao Grupo controle. Esta atividade aumentou de acordo com a concentração de BAC.

Para investigar melhor o desempenho dos agentes que se unem à matriz, Zhang et al.<sup>38</sup> (2013) incorporaram nanopartículas de MDPB (brometo de

metacrilóiloxidodecílpiridínio) e Ag em sistema adesivo universal de 3 passos (Scotch Bond Multipurpose, 3M Espe) para avaliar seu efeito antibacteriano, levando em conta a viabilidade e atividade metabólica do biofilme, bem como a resistência de união à dentina. Os resultados mostraram que a combinação do adesivo com as nanopartículas não trouxe perda à resistência de união e reduziu substancialmente a atividade metabólica do biofilme, sendo a combinação de MDPB e Ag a mais eficaz. Em 2014, Wang et al.<sup>34</sup> (2014) obtiveram resultados semelhantes, também em sistemas adesivos, desta vez somente com a incorporação de MDPB e sua ação sobre *S. mutans*.

Com o objetivo de estudar as nanopartículas inorgânicas, Tavassoli et al.<sup>33</sup> (2013) avaliaram a ação de nanopartículas de ZnO em resinas compostas do tipo *flow* (Heliomolar Flow, Ivoclar Vivadent AG) na inibição de *S. mutans*, realizando testes antibacterianos e investigando propriedades mecânicas e profundidade de polimerização. Os resultados demonstraram que o comportamento mecânico não era comprometido, enquanto que a profundidade de polimerização foi menor e a resistência adesiva aumentou com a presença de nanopartículas de ZnO. Além disso, com o aumento do conteúdo de nanopartículas, o crescimento bacteriano reduziu significativamente; no entanto, com o passar do tempo, a ação antibacteriana diminuiu. Kasrei et al.<sup>19</sup> (2014) também estudaram as propriedades antibacterianas do ZnO juntamente com a Ag utilizando-se resina composta do tipo *flow* (Opallis, FGM, Joinville, SC, Brasil), em *S. mutans* e *Lactobacillus*. Os compósitos contendo nanopartículas exibiram maior atividade antibacteriana em relação ao Grupo controle; o efeito do ZnO foi maior em *S. mutans* e não houve diferença significativa em *Lactobacillus*.

Na função de preenchedores inorgânicos temos, além do ZnO, o TiO<sub>2</sub>, definido como uma substância fotocatalítica que se estabelece em dois importantes polimorfos: a fase rutilo estável e a anatase metaestável. Estes compostos polimorfos exibem características discrepantes e, invariavelmente, diferentes performances fotocatalíticas (Maness et al.<sup>23</sup>, 1999). O surgimento de espécies reativas de oxigênio (radicais livres) causa a morte de bactérias e vírus, sendo essa formação proveniente da liberação de energia resultante de sua foto indução (Cui et al.<sup>7</sup>, 2012; Fu et al.<sup>15</sup>, 2005). O mecanismo de ação bactericida do TiO<sub>2</sub> se deve ao fato destes radicais agirem em fosfolipídios, lipoproteínas e ácidos nucleicos na membrana e parede celular, levando à destruição das

mesmas e à perda de estruturas imprescindíveis à vida da célula bacteriana (Cai et al.<sup>3</sup> 2014; Rai et al.<sup>28</sup>, 2009). Por sua vez, a prata deve seus efeitos à ligação que possui com os grupos tiol presentes em enzimas respiratórias nas bactérias, inibindo, desse modo, o processo de respiração celular (Feng et al.<sup>11</sup>, 2000).

Na primeira pesquisa a estudar o ação antibacteriana do TiO<sub>2</sub> com irradiação UV (1.2 e 7.5 mW/cm<sup>2</sup>) em sistemas adesivos, realizada por Welch et al.<sup>37</sup> (2010), observou-se diminuição no número das colônias bacterianas, dependendo da intensidade de irradiação e também do tempo ao qual as mesmas eram submetidas, não estabelecendo interferências nas propriedades mecânicas até proporção de 30% de nanopartículas na composição. Em 2014, Cai et al.<sup>3</sup> (2014) concluíram que um sistema adesivo (de formulação própria dos autores do estudo) contendo TiO<sub>2</sub>, fazendo uso de 8,4 J/cm<sup>2</sup> de irradiação UV-A, permitiu diminuição quantitativa significativa das culturas bacterianas, da ordem de 90%, aproximadamente, sem comprometer as propriedades mecânicas.

Diversas propriedades são determinantes para o bom desempenho clínico e laboratorial dos sistemas adesivos odontológicos atuais e variáveis como os valores de resistência de união e o grau de conversão são essenciais para que as restaurações adesivas mantenham-se funcionais por períodos longos de tempo (Faria-e-Silva et al.<sup>9</sup>, 2010; Lodovici et al.<sup>22</sup>, 2009; Watts et al.<sup>36</sup>, 2003). O grau de conversão pode ser definido como a porcentagem da matriz resinosa total presente no adesivo que se polimeriza durante a exposição à luz (Kanehira et al.<sup>18</sup>, 2006). Já está estabelecido que a alteração nos valores dessa propriedade podem levar a problemas na performance desses materiais, levando a valores menores de resistência de união, maior porosidade e permeabilidade da camada adesiva, maior eluição dos monômeros, e conseqüentemente, piores propriedades mecânicas (Kanehira et al.<sup>18</sup>, 2006; Navarra et al.<sup>26</sup>, 2012; Wang et al.<sup>35</sup>, 2010). Já foi observado que a porcentagem de conversão para os sistemas adesivos varia entre 60 a 80% e que os resultados do grau de conversão variam após a modificação com compostos inorgânicos metálicos, tanto melhorando a porcentagem quanto levando a uma perda na qualidade da polimerização (Paul et al.<sup>27</sup>, 1999).

Constata-se, entretanto, que uma avaliação mais extensa, minuciosa e criteriosa do TiO<sub>2</sub>, sem a utilização da luz, em diferentes tipos de sistemas adesivos de diferentes protocolos de adesão e composição química, e em sua associação com a prata e outras

nanopartículas, carece de investigação mais profunda, clínica e laboratorial. Levando em conta o explicitado acima, podemos observar que, ao passo em que algumas modalidades de nanopartículas já foram estudadas quanto a seu potencial antimicrobiano nas resinas compostas e sistemas adesivas, muitas lacunas no que diz respeito a esse campo de estudo ainda não foram preenchidas e o mesmo ainda oferece diversas perspectivas para maior investigação, principalmente com relação à definição de um sistema adesivo modificado que proponha ação antibacteriana prolongada, aplicável clinicamente e que não comprometa as suas propriedades físicas e mecânicas, o que poderia colocar em risco a eficácia da adesão, restando aos pesquisadores a continuidade dos estudos.

## 5 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados constatados em ambos os artigos contemplados nesta dissertação, podemos concluir que:

- todos os sistemas adesivos modificados com nanopartículas mostraram atividade antibacteriana estatisticamente significativa, para todas as concentrações e para ambos os tipos de partículas;

- o aumento da concentração e o tipo de sistema de adesivo não exerceu influência no poder da atividade antibacteriana;

- a modificação dos sistemas adesivos não comprometeu a resistência adesiva (imediate e após armazenamento) ao microcisalhamento, tampouco o grau de conversão;

- nenhuma relação ficou estabelecida entre a modificação de sistemas adesivos e o tipo de falha apresentada pelos espécimes.

Após a análise dos resultados, é possível afirmar que a associação entre materiais restauradores adesivos e nanopartículas inorgânicas metálicas podem consistir em uma possibilidade viável para a redução da contaminação bacteriana residual e ajudar a diminuir a prevalência da necessidade de troca de restaurações adesivas. Por mais que os estudos e a literatura atual nos deem um bom entendimento dessa área de estudo, diversas novas pesquisas devem ser conduzidas, especialmente na área clínica, para determinar se esses sistemas são utilizáveis corriqueiramente na prática clínica e se essa manutenção das propriedades mecânicas se mantém, principalmente em estudos com acompanhamento clínico mais longo.



## REFERÊNCIAS\*

1. Almeida Neves A, Coutinho E, Cardoso MV, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Current concepts and techniques for caries excavation and adhesion to residual dentin. *J Adhes Dent.* 2011; 13(1):7-22.
2. Beyth N, Domb AJ, Weiss EI. An in vitro quantitative antibacterial analysis of amalgam and composite resins. *J Dent.* 2007; 35(3):201-3.
3. Cai Y, Stromme M, Melhus A, Engqvist H, Welch K. Photocatalytic inactivation of biofilms on bioactive dental adhesives. *J Biomed Mater Res Part B.* 2014; 102(1):62-7.
4. Chen L, Shen H, Suh BI. Antibacterial dental restorative materials: a state-of-the-art review. *Am J Dent.* 2012; 25(6):337-46.
5. Cheng L, Zhang K, Weir MD, Melo MA, Zhou X, Xu HH. Nanotechnology strategies for antibacterial and remineralizing composites and adhesives to tackle dental caries. *Nanomedicine.* 2015; 10(4):627-41.
6. Cowman RA, Schaefer SJ, Fitzgerald RJ, Rosner D, Shklair IL, Walter RG. Differential utilization of proteins in saliva from caries-active and caries-free subjects as growth substrates by plaque-forming streptococci. *J Dent Res.* 1979; 58(10):2019-27.
7. Cui CX, Gao X, Qi YM, Liu SJ, Sun JB. Microstructure and antibacterial property of in situ TiO<sub>2</sub> nanotube layers/titanium biocomposites. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2012; 8:178-83.
8. Drummond JL. Degradation, fatigue, and failure of resin dental composite materials. *J Dent Res.* 2008; 87(8):710-9.
9. Faria-e-Silva AL, Lima AF, Moraes RR, Piva E, Martins LR. Degree of conversion of etch-and-rinse and self-etch adhesives light-cured using QTH or LED. *Oper Dent.* 2010; 35(6):649-54.
10. Featherstone JD. The continuum of dental caries--evidence for a dynamic disease process. *J Dent Res.* 2004; 83(1): 39-42.
11. Feng QL, Wu J, Chen GQ, Cui FZ, Kim TN, Kim JO. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J Biomed Mater Res.* 2000; 52(4):662-8.

---

\*De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca: <http://www.foar.unesp.br/Home/Biblioteca/guia-de-normalizacao-marco-2015.pdf>

12. Ferracane JL. Resin-based composite performance: are there some things we can't predict? *Dent Mater.* 2013; 29(1) 51-8.
13. Florio FM, Klein MI, Pereira AC, Goncalves BR. Time of initial acquisition of mutans streptococci by human infants. *J Clin Pediatr Dent.* 2004; 28(4):303-8.
14. Frost PM. An audit on the placement and replacement of restorations in a general dental practice. *Prim Dent Care.* 2002; 9(1):31-6.
15. Fu G, Vary PS, Lin CT. Anatase TiO<sub>2</sub> nanocomposites for antimicrobial coatings. *J Phys Chem B.* 2005; 109(18):8889-98.
16. Hamada S, Slade HD. Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. *Microbiol Rev.* 1980; 44(2):331-84.
17. Hiraishi N, Yiu CK, King NM, Tay FR. Effect of chlorhexidine incorporation into a self-etching primer on dentine bond strength of a luting cement. *J Dent.* 2010; 38(6):496-502.
18. Kanehira M, Finger WJ, Hoffmann M, Endo T, Komatsu M. Relationship between degree of polymerization and enamel bonding strength with self-etching adhesives. *J Adhes Dent.* 2006; 8(4): 211-6.
19. Kasraei S, Sami L, Hendi S, Alikhani MY, Rezaei-Soufi L, Khamverdi Z. Antibacterial properties of composite resins incorporating silver and zinc oxide nanoparticles on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus*. *Restor Dent Endod.* 2014; 39(2):109-14.
20. Kopperud SE, Tveit AB, Gaarden T, Sandvik L, Espelid I. Longevity of posterior dental restorations and reasons for failure. *Eur J Oral Sci.* 2012; 120(6):539-48.
21. Leites ACBR, Pinto MB, Sousa ER. Aspectos microbiológicos da cárie dental. *Salusvita.* 2006; 25(2):239-52.
22. Lodovici E, Reis A, Geraldeli S, Ferracane JL, Ballester RY, Rodrigues Filho LE. Does adhesive thickness affect resin-dentin bond strength after thermal/load cycling? *Oper Dent.* 2009; 34(1):58-64.
23. Maness PC, Smolinski S, Blake DM, Huang Z, Wolfrum EJ, Jacoby WA. Bactericidal activity of photocatalytic TiO<sub>2</sub> reaction: toward an understanding of its killing mechanism. *Appl Environ Microbiol.* 1999; 65(9):4094-8.
24. Menaker L. Cáries dentárias: bases biológicas. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1984.
25. Mjor IA, Moorhead JE, Dahl JE. Reasons for replacement of restorations in permanent teeth in general dental practice. *Int Dent J.* 2000; 50(6):361-6.

26. Navarra CO, Breschi L, Turco G, Diolosa M, Fontanive L, Manzoli L, et al. Degree of conversion of two-step etch-and-rinse adhesives: In situ micro-Raman analysis. *J Dent.* 2012; 40(4): 711-7.
27. Paul SJ, Leach M, Rueggeberg FA, Pashley DH. Effect of water content on the physical properties of model dentine primer and bonding resins. *J Dent.* 1999; 27(3): 209-14.
28. Rai M, Yadav A, Gade A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnol Adv.* 2009; 27(1): 76-83.
29. Sahoo SK, Parveen S, Panda JJ. The present and future of nanotechnology in human health care. *Nanomedicine.* 2007; 3(1):20-31.
30. Saito K, Hayakawa T, Kawabata R, Meguro D, Kasai K. Antibacterial activity and shear bond strength of 4-methacryloxyethyl trimellitate anhydride/methyl methacrylate-tri-n-butyl borane resin containing an antibacterial agent. *Angle Orthod.* 2007; 77(3):532-6.
31. Sakaguchi RL. Review of the current status and challenges for dental posterior restorative composites: clinical, chemistry, and physical behavior considerations. Summary of discussion from the Portland Composites Symposium (POCOS) June 17-19, 2004, Oregon Health and Science University, Portland, Oregon. *Dent Mater.* 2005;21(1):3-6.
32. Svanberg M, Mjor IA, Orstavik D. Mutans streptococci in plaque from margins of amalgam, composite, and glass-ionomer restorations. *J Dent Res.* 1990; 69(3):861-4.
33. Tavassoli Hojati S, Alaghemand H, Hamze F, Ahmadian Babaki F, Rajab-Nia R, Rezvani MB, et al. Antibacterial, physical and mechanical properties of flowable resin composites containing zinc oxide nanoparticles. *Dent Mater.* 2013; 29(5):495-505.
34. Wang S, Zhang K, Zhou X, Xu N, Xu HH, Weir MD, et al. Antibacterial effect of dental adhesive containing dimethylaminododecyl methacrylate on the development of *Streptococcus mutans* biofilm. *Int J Mol Sci.* 2014; 15(7):12791-806.
35. Wang Y, Spencer P, Yao X, Ye Q. Effect of coinitiator and water on the photoreactivity and photopolymerization of HEMA/camphoquinone-based reactant mixtures. *J Biomed Mater Res Part A.* 2010; 78(4): 721-8.
36. Watts DC, Marouf AS, Al-Hindi AM. Photo-polymerization shrinkage-stress kinetics in resin-composites: methods development. *Dent Mater.* 2003; 19(1):1-11.
37. Welch K, Cai Y, Engqvist H, Stromme M. Dental adhesives with bioactive and on- demand bactericidal properties. *Dent Mater.* 2010; 26(5):491-9.

38. Zhang K, Li F, Imazato S, Cheng L, Liu H, Arola DD, et al. Dual antibacterial agents of nano-silver and 12-methacryloyloxydodecylpyridinium bromide in dental adhesive to inhibit caries. *J Biomed Mater Res Part B*. 2013; 101(6):929-38.