

Propriedades antibacterianas de materiais forradores - revisão de literatura

*Patrícia Almada SACRAMENTO^a, Anna Maria Cia PAPA^a,
Fabiola Galbiatti de CARVALHO^b, Regina Maria PUPPIN-RONTANI^c*

^a*Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Odontopediatria,
Faculdade de Odontologia, UNICAMP, 13414-903 Piracicaba - SP, Brasil*

^b*Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Materiais Dentários,
Faculdade de Odontologia, UNICAMP, 13414-903 Piracicaba - SP, Brasil*

^c*Departamento de Odontopediatria, Faculdade de Odontologia, UNICAMP,
13414-903 Piracicaba - SP, Brasil*

Sacramento PA, Papa AMC, Carvalho FG, Puppini-Rontani RM. Antibacterial properties of lining materials – a review. Rev Odontol UNESP. 2008; 37(1): 59-64.

Resumo: Os materiais restauradores atuais não permitem um perfeito selamento marginal. Desta forma, microrganismos podem penetrar pela interface dente-restauração causando inflamação pulpar, sensibilidade e cárie secundária. Com o intuito de minimizar a presença de microrganismos, seja por bactérias remanescentes nas cavidades preparadas ou por microinfiltração, é importante que o material forrador de cavidade possua atividade antibacteriana. O objetivo dessa revisão de literatura foi discutir as propriedades e os mecanismos de ação antibacteriana de materiais forradores de cavidade comerciais, como o cimento de óxido de zinco e eugenol, hidróxido de cálcio, ionômero de vidro convencional e alguns sistemas de união, bem como materiais experimentais, como o cimento de ionômero de vidro modificado pela adição de clorexidina. Concluiu-se que os materiais abordados apresentaram resultados positivos no controle bacteriano, porém mais estudos clínicos longitudinais são necessários para determinar o tempo de ação destes materiais.

Palavras-chave: *Materiais forradores; atividade antibacteriana; cárie secundária; microinfiltração.*

Abstract: The current restorative materials do not allow a perfect marginal sealing. Microorganisms can penetrate in the tooth/restoration gap causing pulp inflammation, postoperative sensitivity and secondary caries. In order to reduce the number of microorganisms, either for remaining bacteria in the cavities or for microleakage, it is important that liners materials have antibacterial activity. The objective of this literature review was to describe the antibacterial properties and mechanisms of commercially available lining materials, i.e. zinc and eugenol oxide cement, calcium hydroxide, conventional and resin modified glass-ionomer cements, and adhesive systems, experimental materials, and glass-ionomer modified by chlorhexidine addition (experimental material). All materials evaluated presented antibacterial effect, however, more longitudinal clinical studies are necessary to determine the duration of their antibacterial effect.

Keywords: *Liners dental materials; antibacterial activity; secondary caries; microleakage.*

Introdução

A presença de bactérias remanescentes na cavidade após a remoção de cárie ou através da microinfiltração resulta em inflamação pulpar, aumento da sensibilidade e cárie secundária¹, sendo esta última a principal causa de troca de restaurações de amálgama ou resina composta². Os materiais restauradores não permitem um perfeito selamento marginal, havendo a presença de interface entre o material e a superfí-

cie dentária pela qual os microrganismos podem penetrar³. Deste modo, é importante que o material restaurador ou forrador possua atividade antibacteriana propiciando um melhor prognóstico para as restaurações.

Os materiais usados como forradores cavitários como os cimentos de óxido de zinco e eugenol, hidróxido de cálcio, ionômero de vidro e alguns sistemas de união pos-

suem propriedades antibacterianas, reduzindo o número de microrganismos⁴ e promovendo mudanças na estrutura da dentina, como a remineralização⁵. O efeito antibacteriano destes materiais é geralmente atribuído à liberação de íons⁶, ao pH alcalino⁷, ou ao pH ácido⁸, além da presença de componentes antibacterianos⁹⁻¹¹.

Desta forma, o objetivo desta revisão de literatura será discutir as propriedades e os mecanismos de ação antibacteriana dos materiais forradores citados acima. Para esta revisão de literatura, foram analisados artigos do período de 1972 a junho de 2007, nas bases de dados PubMed, Lilacs, BBO, SciELO e BIREME.

Cimento de óxido de zinco e eugenol (ZOE)

Estes cimentos apresentam variadas formulações, sendo disponíveis para uso como restaurações temporárias, forradores cavitários, bases para isolamento térmico e para cimentação temporária e permanente. Apresentam pH neutro, no momento em que estão sendo inseridos na cavidade, e são considerados os cimentos menos irritantes entre todos os materiais odontológicos.

O efeito antibacteriano do cimento de óxido de zinco e eugenol (ZOE) está relacionado com a presença do eugenol. Durante a manipulação do material, o óxido de zinco é hidrolisado ao entrar em contato com a água, resultando em hidróxido de zinco e eugenol, formando a base para a disponibilização de moléculas de eugenol livre^{1,9}.

Vários estudos *in vitro* avaliaram a atividade antimicrobiana do ZOE com outros materiais, como o cimento de ionômero de vidro convencional (CIV), o cimento de ionômero de vidro modificado por resina, o hidróxido de cálcio e a resina composta¹²⁻¹³. O ZOE apresentou o maior potencial antibacteriano em intervalos de até 7 dias em detrimento do efeito do eugenol. Com o objetivo de melhorar a atividade antibacteriana, Chandler, Heling aumentaram a quantidade de eugenol da mistura convencional e demonstraram que esta possui maior atividade após 24 horas e até 7 dias, devido à maior quantidade de eugenol livre liberada. Entretanto, a proporção pó:líquido não deve ser modificada, pois altera as propriedades físico-mecânicas do material.

A atividade antibacteriana do ZOE também foi verificada *in vivo* por Fairbourn et al., os quais realizaram um experimento em que lesões de cárie foram seladas com IRM e hidróxido de cálcio, utilizados como capeamento pulpar indireto. Após 5 meses, os materiais foram removidos e a dentina remanescente foi utilizada para a contagem de microrganismos. Os autores concluíram que ambos os materiais causaram redução do número de bactérias viáveis nas cavidades profundas e podem ser utilizados para este procedimento.

Cimento de hidróxido de cálcio

O cimento à base de hidróxido de cálcio tem sido amplamente utilizado no forramento de cavidades profundas

com cárie residual devido ao pH alcalino, estimulação de deposição de dentina reparadora e diminuição de microrganismos presentes^{4, 14}.

A propriedade antibacteriana do cimento de hidróxido de cálcio é atribuída à alta alcalinidade⁷. Como outros materiais, a reação de presa ocorre por uma reação ácido-base. Uma vez tomada a presa, a ação antibacteriana dependerá da liberação de íons livres de hidróxido de cálcio, os quais proporcionam alta alcalinidade no meio, tornando-o desfavorável para o crescimento bacteriano^{7,9}. O exato mecanismo de dano às células bacterianas ainda não está bem estabelecido¹⁵. A liberação de íons hidroxila em um meio aquoso causaria danos à membrana citoplasmática e ao DNA bacterianos, além de desnaturar as proteínas¹⁶. O outro mecanismo de ação é atribuído à capacidade de reagir com o dióxido de carbono¹⁷, dificultando a sobrevivência de bactérias CO₂-dependentes. Durante a reação de presa, o pH dos cimentos de hidróxido de cálcio é aproximadamente 10, passando para 9,2 após 120 minutos. Bactérias como os estreptococos possuem dificuldade de proliferação nesse meio em decorrência da capacidade de multiplicação ocorrer em pH entre 3 e 8.

A ação antibacteriana do hidróxido de cálcio na eliminação de bactérias dos canais radiculares na terapia endodôntica é divulgada na literatura e tem sido amplamente utilizado com este propósito¹⁸. Entretanto, quanto à ação na dentina em preparos cavitários poucos são os estudos.

Cimento de ionômero de vidro (CIV)

Os cimentos de ionômero de vidro são compostos de pó de fluoraluminossilicato de cálcio solúvel no líquido de ácido poliacrílico na concentração de 40 a 50%¹⁹. Estes cimentos são utilizados para prevenção e controle da cárie dentária²⁰ devido ao principal efeito de liberação de flúor, o qual influencia no processo de desmineralização e remineralização da estrutura dentária.

Vários estudos relataram que a propriedade antibacteriana do CIV é atribuída ao baixo pH inicial²⁰⁻²¹, à liberação de íons flúor²³ e a outros constituintes químicos encontrados na fração pó do material (alumínio, cálcio e magnésio)²⁴.

O flúor liberado do CIV apresenta influência sobre o crescimento bacteriano, havendo boa correlação ($r^2 = 0,97$) entre a liberação de flúor e a inibição do crescimento bacteriano. Em altas concentrações de flúor, o metabolismo eletrólito das bactérias, especialmente *Streptococcus mutans*, é afetado²⁰. O exato mecanismo como isto ocorre não se encontra definido²⁵.

A liberação de flúor pode tornar o esmalte mais ácido-resistente. Na dentina, parece ocorrer efeito similar, mas esta necessita de maior quantidade de flúor. A remineralização da dentina resultante da liberação de flúor pelo CIV não está completamente demonstrada *in vivo*, entretanto, há indicações de que a hipermineralização possa ocorrer como resultado do uso deste material²⁶.

A liberação dos íons flúor é maior durante a fase inicial de presa, decrescendo significativamente em algumas semanas após a inserção do material^{9,20}. Existem controvérsias com relação à liberação do íon flúor pelo CIV modificado por resina, podendo ser similar ou inferior ao do CIV convencional^{27,28}.

A liberação de outros íons pelo CIV também contribui para sua atividade antibacteriana, dentre eles o íon prata, presente no ionômero de vidro modificado por prata (*Cermet*). Estes íons liberados possuem a capacidade de inibir a acidogenicidade do biofilme²⁹. Svanberg et al.³⁰ (1990) demonstraram in vivo que o *Cermet* a longo prazo mostrou inibição do crescimento de *Streptococcus mutans*.

A grande quantidade de íons cálcio liberada na fase fluida do CIV e presente no meio extracelular é absorvida pelas células bacterianas, desempenhando um efeito coadjuvante antibacteriano. Isso é explicado, pois os íons cálcio são levados para o interior da célula por um transporte ativo, e o alto conteúdo deste íon no citoplasma causa aglutinação dos íons fosfato, os quais são necessários para as funções metabólicas das células bacterianas. Esta aglutinação foi observada como cristais de apatita dentro de células de algumas amostras de *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sanguis* que cresceram em altas concentrações de cálcio¹⁰.

Outro íon que está relacionado com a propriedade antibacteriana do CIV é o magnésio. Durante a reação de presa, o pH do meio é alterado tornando-se extremamente ácido. Nesse meio, os cátions celulares essenciais, como magnésio, tendem a ser extruídos durante a fermentação, cujo acúmulo celular é minimizado³¹. Bender et al.³² demonstraram grave dano na membrana celular de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivaris* e *Streptococcus sanguis* indicado pela liberação de magnésio intracelular bacteriano em pH em torno de 4,0, tendo ocorrido dano mais intenso ao redor de pH 3,0 ou inferior.

Entretanto, é importante ressaltar que a apreciada capacidade do CIV de afetar a produção ácida e o metabolismo eletrólito bacteriano é temporária e se torna pequena ou desaparece completamente com o tempo³³.

Cimento de ionômero de vidro modificado pela adição de clorexidina

A adição de clorexidina aos materiais restauradores e forradores tem demonstrado inibição do crescimento de colônias bacterianas, através de danos na membrana, inibição de enzimas e sistemas de transportes das bactérias³⁴. Os sais de clorexidina podem ser adicionados ao cimento de ionômero de vidro (CIV) na forma líquida (gluconato de clorexidina e diacetato de clorexidina) e em pó (dihidroclorato de clorexidina), nas concentrações até 10%, promovendo aumento da atividade antibacteriana destes cimentos^{21,35}.

Jedrychowski et al.³⁵ (1983) demonstraram, pelo teste de difusão em ágar inoculado com bactérias encontradas na

cavidade bucal, que o gluconato de clorexidina adicionado ao CIV promoveu maior inibição quando comparado ao dihidroclorato. Do mesmo modo, Ribeiro, Ericson (1991) e Jedrychowski et al.³⁵ (1983) encontraram que o digluconato e o diacetato de clorexidina adicionados ao CIV demonstraram aumento da atividade antibacteriana. Frencken et al.³⁶ (2007) em um estudo in vivo verificaram menor contagem de microrganismos em cavidades restauradas com CIV contendo clorexidina, quando comparadas a cavidades restauradas com CIV convencional. Essa diferença foi notada tanto na dentina afetada quanto na dentina infectada. A inibição do crescimento de colônias bacterianas parece primeiramente estar associada com a liberação dos íons de clorexidina e do tipo de sal (antimicrobiano) incorporado, sendo liberado do material apenas 0,3% a 5,0% de clorexidina²¹. A concentração liberada é em decorrência da formação de sais insolúveis que ocorre na combinação da clorexidina com silicatos e fosfatos presentes no CIV.

Entretanto, a adição de antimicrobiano ao CIV altera as propriedades mecânicas do material, podendo afetar o desempenho clínico³⁷. Palmer et al.³⁷ (2004) confirmaram que a resistência à compressão do CIV diminui em proporções diretas à quantidade de diacetato de clorexidina adicionada, enquanto o tempo de trabalho e presa aumenta. A diminuição na resistência ao cisalhamento também foi encontrada quando o gluconato de clorexidina foi adicionado ao CIV³⁵. Apenas o sal dihidroclorato de clorexidina não demonstrou afetar as propriedades mecânicas do CIV³⁵. Ribeiro, Ericson²¹ (1991) demonstraram que a degradação do CIV é diretamente proporcional à quantidade de antimicrobiano incorporado ao material, sendo que os espécimes que continham maior quantidade de clorexidina, após 15 dias, encontravam-se em grande parte solubilizados.

A incorporação de clorexidina ao CIV ainda está sob investigação clínica e não é comercializado até o momento.

Sistemas de união à dentina

O completo selamento na união das superfícies é um pré-requisito para o sucesso das restaurações dentárias. Sistemas de união dentinários com atividade antibacteriana após a polimerização seriam benéficos para eliminar os efeitos nocivos causados pela microinfiltração e bactérias remanescentes após remoção da cárie¹¹.

A comprovada ação antibacteriana dos agentes de união depende de vários fatores, dentre eles, destacam-se a composição e a acidez^{22,38,39}. Alguns agentes de união como o *GLUMA Dentin Bond* (Bayer), o *Syntac* (Ivoclar/Vivadent) e o *ProBOND* (LD Caulk/Dentsply) apresentam em sua composição o glutaraldeído.

O glutaraldeído por si só é um agente de fixação biológico que desnatura proteínas do fluido dentinário, fazendo com que haja a formação de um tampão. A maneira sobre como o glutaraldeído age sobre as bactérias não está claro.

Testes feitos *in vitro* com o agente de união *Gluma*, o qual contém 5% p/p de glutaraldeído em solução de beta-hidroxi metacrilato a 35%, demonstraram que este agente reduz ou bloqueia por completo a permeabilidade dentinária, prevenindo a invasão bacteriana por pelo menos 90 dias⁴⁰. Cavidades *in vitro* restauradas com agente de união *GLUMA* apresentaram 100% de cavidades esterilizadas após 90 dias, enquanto aquelas restauradas com *Scotchbond* (3M ESPE), o qual não possui agente antibacteriano, mostraram grande quantidade de bactéria após o mesmo período⁴⁰.

Primers e adesivos apresentam na composição monômeros que possuem um grupo hidrófilo, geralmente ácido, em uma extremidade da molécula, como o fosfato hidrogênico ou o carboxilato⁸, conferindo a quase todos os agentes de união um pH inferior a 4,0, considerado bactericida. Um exemplo é o adesivo *Xeno Bond F* (Dentsply) que apresenta pH 0,85 e o *Single Bond* (3M ESPE) com pH 4,5²².

Entretanto, a atividade antibacteriana dos agentes de união associada ao baixo pH não é confiável por ser ineficaz na presença das bactérias ácido-tolerantes, como os *Lactobacilos*. Além disso, a acidez deste produto é tamponada pela diluição do fluido dentinário no contato com a dentina³⁹. Logo, o benefício de um baixo pH exibido pelos agentes de união dentinário parecem ser limitados. Em acréscimo, há variação na atividade antibacteriana dos agentes de união diante da polimerização que diminui o halo de inibição de alguns materiais, devido à diminuição na diluição de componentes antibacterianos polimerizáveis³⁸.

Sistemas de união dentinário quimicamente modificados

Um novo monômero antibacteriano, denominado 12-brometo de metacrilóxi-dodecilmiridínio (MDPB), foi desenvolvido com o objetivo de desinfetar a cavidade após a remoção de cárie, na tentativa de eliminar as bactérias remanescentes, sendo comercializado como *Clearfil Protect Bond* (Kuraray). O MDPB é sintetizado pela combinação do agente antibacteriano amônia quaternária e o grupo metacrilol, cuja incorporação em sistemas adesivos dentinários tem demonstrado efeito antibacteriano antes e depois da polimerização¹¹.

No estágio não polimerizado, o MDPB contido no *primer* atua como solução bactericida, desinfetando a cavidade. O mecanismo antibacteriano deste monômero parece ser decorrente da ligação catiônica aos componentes da parede celular bacteriana, causando distúrbios na função da membrana e acarretando o escape de material citoplasmático¹¹.

A atividade antibacteriana do MDPB é menor que a do cloreto de cetilpiridínio (CPC) e cloreto de benzalcônio (BKC), os quais também são representativos da amônia quaternária. A solubilidade em água do MDPB é menor que a do CPC e BKC, e a influência do grupo metacrilol na molécula do MDPB ante sua capacidade hidrófoba pode

resultar em menor interação com a parede celular bacteriana, quando comparado com o CPC e BKC⁴¹.

O grau de polimerização dos agentes de união dentinários é aproximadamente 70%¹¹. Desta forma, moléculas de MDPB residuais não polimerizadas podem mostrar efeito bactericida mesmo após a polimerização, entretanto, o efeito antibacteriano desta porção residual não deve ser superestimado.

Vários estudos foram realizados para obtenção da concentração ideal de MDPB no sistema adesivo para se obter o efeito antibacteriano sem demonstrar citotoxicidade e prejudicar a resistência de união. Imazato et al.⁴¹ (1999) demonstraram em um estudo *in vitro* que a concentração mínima de 250 µg/mL de MDPB foi efetiva para obtenção de um efeito antibacteriano com redução de 99,99% do número de bactérias após 5 minutos. Entretanto, essa concentração demonstrou-se citotóxica para células da polpa dentária. A resistência de união, *in vitro*, dos *primers* experimentais que contêm entre 1% e 2% de MDPB não foi afetada, entretanto as razões para tal fato não estão claras¹¹.

Além da presença de componentes antibacterianos, como o MDPB, alguns sistemas adesivos também apresentam fluoreto em sua composição, como *Optibond Solo Plus* (Kerr) e *Clearfil Protect Bond*, os quais supostamente podem ser efetivos na inibição de cárie secundária⁴². Estes adesivos são efetivos na prevenção da lesão de parede cavitária, mas não inibem completamente a formação de cárie secundária⁴², assim a liberação de fluoretos dos adesivos não é capaz de inibir o desenvolvimento de cárie secundária diferente dos cimentos de ionômero de vidro⁴³.

Conclusão

Com base nesta revisão de literatura, pode-se concluir que os materiais abordados apresentam resultados positivos no controle bacteriano. Porém, mais estudos, principalmente longitudinais, são necessários para a observação do controle da atividade bacteriana, da ação cariostática e das propriedades de remineralização dentinária.

Referências

1. Yap AU, Khor E, Foo SH. Fluoride release and antibacterial properties of new-generation tooth-colored restoratives. *Oper Dent*. 1999;24:297-95.
2. York AK, Arthur JS. Reasons for placement and replacement of dental restorations in the United States Navy Dental Corps. *Oper Dent*. 1993;18:203-8.
3. Shenalz G, Ergücü Z, Hiller KA. Effect of dentin on the antibacterial activity of dentin bonding agents. *J Endod*. 2004;30:352-8.
4. Fairbourn DR, Charbeneau GT, Loesche WJ. Effect of improved Dycal and IRM on bacteria in deep carious lesions. *J Am Dent Assoc*. 1980;100:547-52.

5. Foley J, Blackwell A. *In vivo* cariostatic effect of black copper cement on carious dentine. *Caries Res.* 2003;37:254-60.
6. Weerheijm KL, Kreulen CM, de Soet JJ, Groen HJ, van Amerongen WE. Bacterial counts in carious dentine under restorations: 2 years in vivo effects. *Caries Res.* 1999;33:130-4.
7. Milosevic A. Calcium hydroxide in restorative dentistry: a review. *J Dent.* 1991;19:3-13.
8. Imazato S. Antibacterial properties of resin composites and dentin bonding systems: a review. *Dent Mater.* 2003;19:449-57.
9. Chandler NP, Heling I. Efficacy of three cavity liners in eliminating bacteria from infected dentinal tubules. *Quintessence Int.* 1995;26:655-9.
10. Streckfuss JL, Smith WN, Brown LR, Campbell MM. Calcification of selected strains of *streptococci mutans* and *streptococci sanguis*. *J Bacteriol.* 1974;120:502-6.
11. Imazato S, Kinomoto Y, Iorumi H, Tori M, Russel RRB, Mclabe JF. Incorporation of antibacterial monomer MDPB in dentin primer. *J Dent Res.* 1997;76:768-72.
12. Boeckh C, Schumacher E, Podbielski A, Haller B. Antibacterial activity of restorative dental biomaterials in vitro. *Caries Res.* 2002;36:101-7.
13. Scherer W, Lippman N, Kaim J. Antimicrobial properties of glass ionomer cement and others restoratives materials. *Oper Dent.* 1989;14:77-81.
14. Fisher FJ. The effect of calcium hydroxide/water paste on organisms in carious dentine. *BR Dent J.* 1972;133:19-21.
15. Vianna ME, Gomes BP, Sena NT, Zaia AA, Ferraz CC, Souza Filho FJ. In vitro evaluation of the susceptibility of endodontic pathogens to calcium hydroxide combined with different vehicles. *Braz Dent J.* 2005;16:175-80.
16. Siqueira JF Jr, Lopes HP. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. *Int Endod J.* 1999;32:361-9.
17. Kontakiotis E, Nakou M, Georgopoulou M. In vitro study of the indirect action of calcium hydroxide on the anaerobic flora of the root canal. *Int Endod J.* 1995;28:285-9.
18. Safavi KE, Dowden WE, Introcaso JH, Langeland K. A comparison of antimicrobial effects of calcium hydroxide and iodine-potassium iodide. *J Endod.* 1985;11:454-6.
19. Anusavice KJ. Phillip's science of dental materials. 11th ed. Philadelphia: Saunders; 2003.
20. Seppä L, Torppa-Saarinen E, Luoma H. Effect of different glass ionomers on the acid production and electrolyte metabolism of *Streptococcus mutans* Ingbritt. *Caries Res.* 1992;26:434-8.
21. Ribeiro J, Ericson D. *In vitro* antibacterial effect of chlorhexidine added to glass-ionomer cements. *Scand J Dent Res.* 1991;99:533-40.
22. Meiers JC, Miller GA. Antibacterial activity of dentin bonding systems, resin-modified glass ionomers, and polyacid-modified composite resins. *Oper Dent.* 1996;21:257-64.
23. van Amerongen WE. Dental caries under glass ionomer restoration. *J Public Health Dent.* 1996;56:150-4.
24. DeSchepper EJ, White RR, von der Lerh W. Antibacterial effects of glass ionomer. *Am J Dent.* 1989;2:51-6.
25. van Loveren C, Lammens AJ, Ten Cate JM. Development and establishment of fluoride-resistant strains of *Streptococcus mutans* in rats. *Caries Res.* 1990;24:337-43.
26. Wesenberg G, Hals E. The in vitro effect of a glass ionomer cement on dentine and enamel walls. An electron probe and microradiographic study. *J Oral Rehabil.* 1980;7:35-42.
27. Forss H. Release of fluoride and others elements from light cured glass ionomers in neutral and acidic condition. *J Dent Res.* 1993;72:1257-62.
28. Kantovitz KR, Pascon FM, Correr GM, Borges AFS, Uchoa MNS, Puppim-Rontani RM. Inhibition of mineral loss at the enamel/sealant interface of fissures sealed with fluoride- and non-fluoride containing dental materials in vitro. *Acta Odontol Scand.* 2006;64:376-83.
29. Oppermann RV, Johansen JR. Effect of fluoride and non-fluoride salts of cooper, silver and tin on the acidogenicity of dental plaque in vivo. *Scand J Dent Res.* 1980;88:476-80.
30. Svanberg M, Mjör IA, Ørstavik D. *Mutans streptococci* in plaque from margins of amalgam, composite and glass ionomer restorations. *J Dent Res.* 1990;69:861-4.
31. Luoma AR, Raisanen J. Alternations by Mg and F of fermentative dissolution of F – varnished enamel by *Streptococci* layer measured by micro hardness tester and proton probe microanalysis. *Caries Res.* 1984;18:111-9.
32. Bender GR, Sutton SV, Marquis RE. Acid tolerance, proton permeabilities, and membrane ATPases of oral streptococci. *Infect Immun.* 1986;53:331-8.
33. Luoma H, Luoma A-R, Seppä L. Exchange of fluoride between bovine enamel and the surface related cells of the oral bacterium *Streptococcus mutans*. *Arch Oral Biol.* 1984;29:343-8.
34. Othman S, Haugen E, Gjermo P. The effect of chlorhexidine supplementation in a periodontal dressing. *Acta Odontol Scand.* 1989;47:361-6.
35. Jedrychowski JR, Caputo AA, Kerper S. Antibacterial and mechanical properties of restorative materials combined with chlorhexidines. *J Oral Rehabil.* 1983;10:373-81.
36. Frencken JE, Imazato S, Toi C, Mulder J, Mickenautsch S, Takahashi Y, Ebisu S. Antibacterial effect of chlorhexidine- containing glass ionomer cement in vivo: a pilot study. *Caries Res.* 2007;41:102-7.

37. Palmer G, Jones FH, Billington RW, Pearson GJ. Chlorhexidine release from an experimental glass ionomer cement. *Biomaterials*. 2004;25:5423-31.
38. Emilson CG, Bergenholtz G. Antibacterial activity of dental bonding agents. *Quintessence Int*. 1993;24:511-5.
39. Imazato S, Imai T, Ebsu S. Antibacterial activity of proprietary self-etching primers. *Am J Dent*. 1998;11:106-8.
40. Felton D, Bergenholtz G, Fox CF. Inhibition of bacterial growth under composite following GLUMA pretreatment. *J Dent Res*. 1989;68:491-5.
41. Imazato S, Kinomoto Y, Tarumi H, Ebisu S, Tay FR. Antibacterial activity and bonding characteristics of an adhesive resin containing antibacterial monomer MDPB. *Dent Mater*. 2003;19:313-9.
42. Itthagarun A, King NM, Wefel JS, Tay FR, Pashley DH. The effect of fluoridated and non-fluoridated rewetting agents on in vitro recurrent caries. *J Dent*. 2001;29:255-73.
43. Hara AT, Queiroz CS, Freitas PM, Giannini M, Serra MC, Cury JA. Fluoride release and secondary caries inhibition by adhesive systems on root dentine. *Eur J Oral Sci*. 2005;113:245-50.