

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

ANA HELENA SCHAUENBERG MACHADO

INFLUÊNCIA DA QUITOSANA COM TRICLOSAN NAS PROPRIEDADES DE UMA
RESINA ADESIVA EXPERIMENTAL

Porto Alegre
2018

ANA HELENA SCHAUENBERG MACHADO

INFLUÊNCIA DA QUITOSANA COM TRICLOSAN NAS PROPRIEDADES DE UMA
RESINA ADESIVA EXPERIMENTAL

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Odontologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para obtenção do título de Cirurgiã Dentista.

Orientador: Prof. Dr. Fabrício Mezzomo Collares

Porto Alegre

2018

AGRADECIMENTOS

À minha mãe, **Méri Lúcia Schauenberg** e aos meus dois pais, **Argus Oliveira Machado** e **Cesar Henrique Mallmann**, por sempre me proporcionarem o melhor que podem, abdicando dos seus sonhos pelos meus.

Às minhas irmãs, **Ana Laura Schauenberg Machado** e **Ana Júlia Schauenberg Machado**, pela torcida e por ser meu apoio nesses cinco anos longe de casa.

Ao meu irmão, **Lucas Henrique Mallmann**, que desde pequeno me ensinou muito sobre amor e responsabilidade, com uma sensibilidade que só ele tem.

A minha madrinha, **Claúdia Machado Wallauer**, pela preocupação e por em meio a correria do dia a dia, frequentemente encontrar algum momento para dedicar à mim.

A toda minha **grande família**, Schauenberg e Machado, por me ensinarem o verdadeiro significado de união. Vocês são muito melhor do que eu poderia um dia pedir a Deus.

A todos os meus **amigos e amigas**, que de longe ou de perto, tornaram essa jornada muito mais leve e alegre.

A toda **equipe do Laboratório de Materiais Dentários (LAMAD)** - alunos de iniciação científica, mestrandos, doutorandos e professores - pelos momentos de convivência e auxílio no desenvolvimento desse trabalho.

Ao meu orientador, **Dr. Fabrício Mezzomo Collares**, e ao professor **Dr. Vicente Castelo Branco Leitune** pela dedicação, paciência e orientação em diversos momentos ao longo da graduação; por instigar o raciocínio e instigar entusiasmo pela pesquisa científica.

A amiga e banca, **Me. Isadora Martini Garcia**, por ser peça fundamental no desenvolvimento, entendimento e sucesso desse trabalho; obrigada pela paciência, doação e atenção.

“É muito melhor lançar-se em busca de conquistas grandiosas, mesmo expondo-se ao fracasso, do que alinhar-se com os pobres de espírito, que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem numa penumbra cinzenta, onde não conhecem nem vitória, nem derrota.”

Theodore Roosevelt

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar as propriedades físico-químicas e antibacteriana da incorporação de quitosana com triclosan e da incorporação de quitosana pura em flocos em uma resina adesiva experimental. Uma resina adesiva experimental foi formulada proporcionando 66,66% de Bis-GMA e 33,33% de HEMA. Foram adicionados 1% de Canforoquinona e 1% de EDAB, em mol, em todos os grupos. A formulação de quitosana com triclosan foi realizada na proporção 1:1 em peso, utilizando acetona como solvente. Para a confecção dos grupos foram adicionados à resina adesiva 2% ou 5%, em peso, de quitosana com triclosan (2%QT e 5%QT); 2% ou 5%, em peso, de quitosana em pó (2%Q e 5%Q), e confeccionado um grupo controle para cada ensaio somente com a matriz polimérica. As partículas foram caracterizadas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia Ramam. Os materiais experimentais foram avaliados quanto ao Grau de Conversão (GC) por espectroscopia Ramam, à Radiopacidade, ao Amolecimento em Solvente (AS), à Resistência de União à Microtração imediata e longitudinal e à Atividade Antibacteriana contra *Streptococcus mutans*. Os dados foram analisados por ANOVA de uma via e Tukey, quando necessário, com nível de significância de 5%. A análise por MEV indicou um aglomerado homogêneo do triclosan sobre as partículas de quitosana. Os espectros obtidos por Espectroscopia Ramam apresentaram bandas de espalhamento referente à quitosana e triclosan conforme o esperado e relatado na literatura e não indicaram ligação entre as duas substâncias. Os valores de GC variaram de 84,12% a 86,61%, sem diferença estatística significativa ($p=0,458$); os valores de Radiopacidade variaram de 21,7 a 27,9 pixels, sem diferença estatística significativa ($p=0,861$). Quanto ao AS, 2%Q e 5%Q apresentaram diferença estatística de 0%, 2%QT e 5%QT, sendo que o grupo 2%Q apresentou o maior percentual de redução da dureza após duas horas de imersão em etanol. Os grupos 2%QT e 5%QT não apresentaram diferença estatística significativa quando comparados a 0% ($p < 0,05$). No ensaio de Resistência de União à Microtração, 0% e 2%Q apresentaram redução significativa da propriedade através do tempo ($p < 0,05$). As resinas adesivas experimentais apresentaram atividade antibacteriana contra *Streptococcus Mutans* somente quando associação de quitosana com triclosan ($p < 0,05$). A adição de 2% e 5% de quitosana com triclosan em uma resina adesiva experimental não alterou as propriedades físico-químicas avaliadas e conferiu atividade antibacteriana contra *Streptococcus mutans*.

Palavras-chave: Adesivos dentinários. Antibacteriano. Quitosana. Triclosan.

ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate the physicochemical and antibacterial properties of chitosan with triclosan incorporation and chitosan powder pure incorporation in an experimental adhesive resin. An experimental adhesive resin was formulated with 66.66% Bis-GMA and 33.33% HEMA. 1% Canphorquinone and 1% EDAB were added, in mol, in all groups as photoinitiation system. The chitosan with triclosan formulation was made in the ratio 1:1 by weight, using acetone as the solvent. Study groups were formulated by adding to the adhesive resin 2%wt or 5%wt by of chitosan with triclosan (2% QT and 5% QT); 2%wt or 5%wt of chitosan powder (2% Q and 5% Q), and a control group without chitosan or triclosan addition. The particles were characterized by Scanning Electron Microscopy (SEM) and Raman Spectroscopy. Experimental materials were evaluated by Degree of Conversion (DC) with Raman spectroscopy, Radiopacity, Softening in Solvent (SS), Microtensile Bond Strength (immediate and longitudinal analyses) and Antibacterial activity against *Streptococcus mutans*. Data were analyzed by one-way ANOVA and Tukey, when necessary, with a significance level of 5%. SEM analysis indicated a homogeneous clustering of triclosan on chitosan particles. The spectra obtained by Raman Spectroscopy showed scattered bands related to chitosan and triclosan as expected and reported in the literature and did not indicate link between the two substances. DC values ranged from 84.12% to 86.61%, with no statistically significant difference ($p = 0.458$); the values of Radiopacity ranged from 21.7 to 27.9 pixels, with no significant statistical difference ($p = 0.861$). As for SS, 2% Q and 5% Q presented a statistical difference of 0%, 2% QT and 5% QT, and the 2% Q group had the highest percentage of hardness reduction after two hours immersion in ethanol. The 2% QT and 5% QT groups did not present a significant statistical difference when compared to 0% ($p < 0.05$). In the Microtensile Bond strength test, 0% and 2% Q showed a significant reduction of property over time ($p < 0.05$). The experimental adhesive resins showed antibacterial activity against *Streptococcus mutans* only when association of chitosan with triclosan ($p < 0.05$). The addition of 2% and 5% chitosan with triclosan in an experimental adhesive resin did not alter the physicochemical properties evaluated and conferred antibacterial activity against *Streptococcus mutans*.

Keywords: Dental Adhesive. Antibacterial. Chitosan. Triclosan.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	7
2	OBJETIVOS	11
2.1	OBJETIVO GERAL	11
2.2	OBJETIVO ESPECÍFICO	11
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	12
3.1	REAGENTES.....	13
3.2	FORMULAÇÕES	13
3.3	CARACTERIZAÇÃO DAS PARTÍCULAS	14
3.3.1	Microscopia Eletrônica de Varredura.....	14
3.3.2	Espectroscopia Ramam	14
3.4	AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DOS ADESIVOS..	14
3.4.1	Grau de Conversão.....	14
3.4.2	Radiopacidade	15
3.4.3	Amolecimento em Solvente	16
3.4.4	Resistência de União à Microtração.....	16
3.5	ANÁLISE DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA.....	17
3.6	ANÁLISE DOS RESULTADOS.....	18
3.7	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	19
4	RESULTADOS	20
4.1	CARACTERIZAÇÃO DAS PARTÍCULAS	20
4.2	AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DOS ADESIVOS..	24
4.3	ANÁLISE DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA.....	26
5	DISCUSSÃO	28
6	CONCLUSÃO.....	34
	REFERÊNCIAS	35
	ANEXO A	40
	ANEXO B	41
	ANEXO C	42
	ANEXO D	43

1 INTRODUÇÃO

Diversos fatores contribuem para longevidade de restaurações; esses abrangem questões físicas e químicas relacionadas ao material utilizado, às condições clínicas e técnica do procedimento e ao operador - influenciando na adaptação marginal da restauração - e à higienização do paciente (OGLIARI, 2015). Uma falha existente na interface dente restauração muitas vezes resulta na penetração bacteriana ou infiltração de componentes de saliva, causando cáries adjacentes (SADEK et al., 2003). O desenvolvimento de lesões de cárie adjacente próximas às margens das restaurações é uma das causas mais significativas para a substituição de restaurações (TYAS et al., 2000; OPDAM et al., 2014; SCHIMIDT; IWASAKY, 2014; OGLIARI, 2015). Na tentativa de minimizar tais problemas, há um esforço contínuo para desenvolver propriedades antibiofilme de materiais dentários (MENEZES et al., 2012).

Biofilmes orais formam-se não só no tecido duro dental, mas também sobre materiais dentários. A incorporação de uma quantidade adequada de agente antibacteriano poderia fornecer aos materiais dentários uma melhoria na atividade antibiofilme, inibindo a aderência de bactérias, ou eliminando microrganismos nos biofilmes formados in vitro, sem influenciar significativamente as suas propriedades mecânicas (WANG; SHEN; SAAPASALO, 2014).

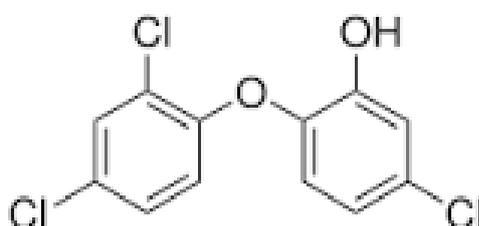
Já existem materiais restauradores com características antimicrobianas que poderiam reduzir a formação de biofilme na interface das restaurações. Thome et al. (2009) desenvolveu e avaliou uma resina composta antibacteriana pela incorporação de monômero MDPB; Chai et al. (2011) avaliou a incorporação de monômero antibacteriano DMAE-CB à um adesivo dental experimental; Rolland et al. (2011) comparou a atividade antibacteriana dos adesivos comerciais Clearfil SE Bond (SE; Kuraray Medical, Japan) e Clearfil Protect Bond (PB; Kuraray Medical) que contém monômero MDPB; Zhand et al. (2013) desenvolveu e avaliou uma resina adesiva com a incorporação de dois agentes antibacterianos combinados - monômero MDPB e nanopartículas de prata; Stanislawczuk et al. (2013) avaliou a incorporação de clorexidina à uma resina adesiva experimental..

A literatura também relata a eficácia antimicrobiana na incorporação de triclosan a adesivos dentais (MELINTE et al., 2013; DEGRAZIA et al., 2017, no prelo; GENARI et al., 2017). O triclosan - 5-Chloro-2-(2,4-dichlorophenoxy)phenol - é

uma substância amplamente utilizada em produtos de cuidado pessoal (CHENG; WANG; DING, 2011); é um agente antibacteriano de amplo espectro de ação (JONES; JAMPANI; LEE, 2000) eficaz em relação a diversas bactérias presentes na cavidade oral e no biofilme, constatada, por experimentos in vitro (PINTO; GONÇALVES, 2013), incluindo *Streptococcus Mutans* (MOREIRA et al., 2009; AQUINO et al., 2009); bactérias gram positivas e gram negativas; e bactérias anaeróbias (MOREIRA et al., 2009), devido a sua atuação, bloqueando a biossíntese bacteriana de ácidos graxos (NUDERA et al., 2007). Moreira et al. (2009) confirma a eficácia terapêutica de triclosan como agente antimicrobiano; o estudo de Rathke et al. (2010) relata que uma pequena quantidade de triclosan é suficiente para produzir efeitos antibacterianos – a adição de 0,3% em peso de triclosan à uma resina composta mostrou efeito contra *Streptococcus mutans*.

O triclosan apresenta baixa toxicidade e não provoca desequilíbrio na cavidade bucal (SABA-CHUJFI et al., 1998; GEBRAN; GEBERT, 2002) sendo, dessa forma, promissor para os mais diversos usos em odontologia. Entretanto, devido a sua rápida liberação, sua substantividade é considerada baixa, devendo, portanto, ser associado a produtos que aumentem sua adsorção nos sítios bucais (AQUINO et al., 2004). O estudo de Detomini e Giroto (2009) avaliou a liberação de triclosan em uma resina polimérica durante 14 dias, indicando uma liberação mais acentuada até 2,5 horas, atribuída à lixiviação mais rápida na superfície da amostra, tornando-se gradativamente constante no restante do ensaio.

Figura 1 - Estrutura química do Triclosan.



Fonte: DEGRAZIA, 2016b, p. 1135.

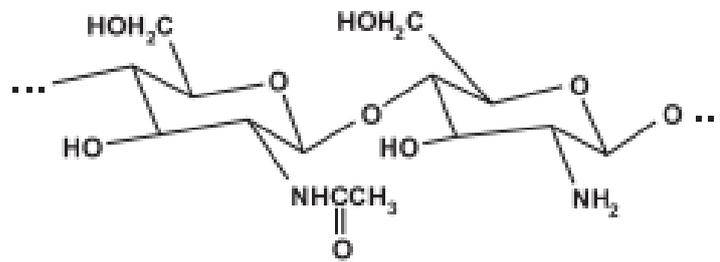
Recentemente, uma substância chamada quitosana vem sendo muito utilizada na área biomédica e em engenharia de tecidos (PENG et al., 2016). A quitosana - poly (b-(1-4)-N-acetyl-D-glucosamine) - é um polissacarídeo derivado do processo de desacetilação da quitina – poly (b-(1-4)-N-acetyl-glicosamine) -

abundantemente encontrado na natureza como arcabouço esquelético de crustáceos e insetos. Por ser um material de baixa citotoxicidade e imunogeneticidade, biocompatível, biodegradável (OUERGHEMMI et al., 2016) e renovável, a quitosana é atraente para diversos usos, e sua aplicação na Odontologia é particularmente interessante pelas suas propriedades antimicrobianas bacteriostática (VIRGA et al., 2002) e bactericida (BUSSCHER et al., 2008; COSTA et al., 2013), apresentando-se como um agente eficaz contra bactérias da cavidade oral, incluindo *Streptococcus mutans* (COSTA, 2015; TAVARIA et al., 2013; OLIVEIRA, 2004). O espectro de ação da quitosana abrange fungos filamentosos, leveduras e bactérias, sendo, no entanto, mais eficaz contra bactérias gram-positivas (TAVARIA et al., 2013).

Além das excelentes propriedades anteriores, a quitosana ainda apresenta propriedades mucoadesivas (DEBNATH et al., 2017; GIUNDECHI et al., 2002), devido às suas cargas positivas, que permitem uma interação iônica com as cargas negativas de resíduos de ácido siálico do muco (GIUNDECHI et al., 2002) e características antiaderentes. Tarsi et al. (1997) demonstrou que a quitosana consegue influenciar a adesão de *S. mutans*. Neste estudo foi testada a capacidade de uma quitosana de baixo peso molecular em prevenir a adesão de *Streptococcus mutans* à hidroxiapatita (HA). Os resultados mostraram que a presença de quitosana pôde prevenir a ligação do *Streptococcus mutans* à HA, confirmando assim a possibilidade de utilização da quitosana como agente preventivo da formação de biofilmes.

Em Odontologia, a quitosana foi aplicada como solução irrigadora de canais radiculares apresentando eficácia contra *E. Faecalis* (ELSAKA; ELNAGHY, 2012) e em primers autocondicionantes para cimentação de pinos radiculares (ELSAKA; ELNAGHY, 2012). Entretanto, ainda não foi avaliada a sua incorporação em resinas adesivas para sistemas adesivos dentinários. A associação das substâncias triclosan e quitosana, poderia fornecer a um material dentário um largo espectro antibacteriano, eliminando microrganismos cariogênicos, além de uma melhoria na atividade antibiofilme, devido à propriedade antiaderente da quitosana. Ainda, a baixa substantividade do triclosan pode ser compensada pela propriedade de mucoaderência da quitosana. Portanto, a formulação de sistemas adesivos com a incorporação das duas substâncias torna-se necessária para a obtenção de um material que alie sinergicamente as propriedades da quitosana e triclosan.

Figura 2 – Estrutura química da quitosana.



Fonte: LARANJEIRA; FAVÉRE, 2009, p. 672.

2 OBJETIVO

2.1 OBJETIVO GERAL

Formular e avaliar uma resina adesiva com a incorporação de quitosana com triclosan e com a incorporação de quitosana em flocos.

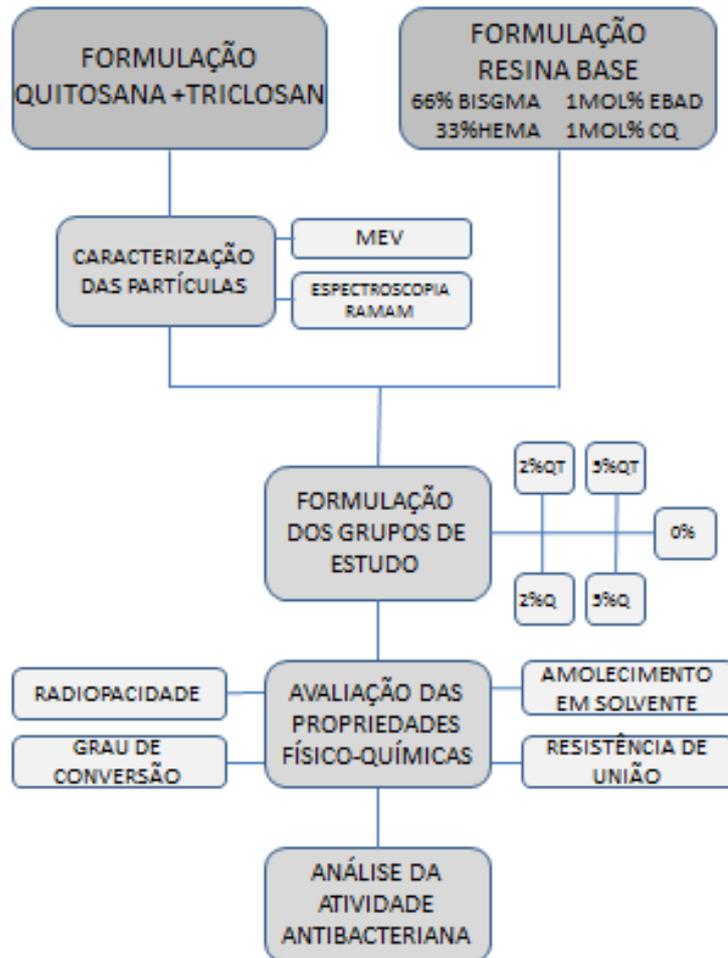
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) caracterizar partículas de um composto de quitosana com triclosan; partículas de quitosana e partículas de triclosan;
- b) avaliar as propriedades físico-químicas da incorporação de quitosana com triclosan e de quitosana em flocos em uma resina adesiva experimental;
- c) avaliar a atividade antibacteriana da incorporação de quitosana com triclosan e de quitosana em flocos em uma resina adesiva experimental.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo tem caráter experimental, in vitro e controlado. O delineamento do estudo está especificado no fluxograma abaixo:

Figura 3 - Fluxograma - Delineamento do estudo.



Fonte: da autora, 2018.

Este estudo foi realizado no Laboratório de Materiais Dentários (LAMAD) da Faculdade de Odontologia da UFRGS; Laboratório de Bioquímica e Microbiologia (LABIM) da Faculdade de Odontologia da UFRGS; Laboratório de Microbiologia da UFRGS e no Centro de Microscopia e Microanálise da UFRGS. O número amostral de cada ensaio foi estabelecido de acordo com outros estudos realizados pelo grupo de pesquisa, levando em um nível de significância de 5% e um poder de estudo de

80% (COLLARES et al., 2013a; COLLARES et al., 2013b; LEITUNE et al., 2013a; LEITUNE et al., 2013b; LEITUNE et al., 2013c; PORTELLA et al., 2014).

3.1 REAGENTES

Bisfenol A Glicerolato Dimetacrilato (Bis-GMA), Metacrilato de 2-hidroxietila (HEMA), Canforoquinona (CQ) e 4-dimetilaminobenzoato de etil (EDAB) foram adquiridos de Aldrich Chemical Co (Milwaukee, EUA). Para realizar a fotoativação do monômero foi utilizada uma unidade de luz LED (Radii Cal, SDI, Austrália) e o valor da irradiação da luz foi aferido através de um radiômetro digital (Ophir Optronics, Danvers, MA, EUA).

3.2 FORMULAÇÕES

Uma resina adesiva experimental contendo 66,66% de Bis-GMA e 33,33% de HEMA, em peso, foi formulada. Foram adicionados 1% de Canforoquinona e 1% de EDAB, em mol, como sistema fotoiniciador. Então, foi preparada uma mistura de quitosana de baixo peso molecular (75-85% desacetilada) (Sigma Aldrich), em flocos, com triclosan puro (Sigma Aldrich) na proporção de 1:1 em peso e etanol absoluto e, após evaporação total do solvente, foram confeccionados os grupos de estudo. Para a confecção dos grupos do estudo foram adicionados à resina experimental: 2% e 5% em peso, de quitosana com triclosan; 2% e 5% em peso de quitosana de baixo peso molecular em flocos e foi confeccionado um grupo controle para cada ensaio apenas com a matriz polimérica. A composição e a nomenclatura dos grupos obtidos estão especificadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Composição e nomenclatura dos grupos de estudo

Composição	Nome do Grupo
1% Quitosana : 1% Triclosan	2%QT
2,5% Quitosana : 2,5% Triclosan	5%QT
2% de Quitosana	2%Q
5% de Quitosana	5%Q
Somente matriz polimérica	0% (controle)

Todos materiais foram pesados em balança de alta precisão (AUW220D; Shimadzu, Quioto, Japão).

3.3 CARACTERIZAÇÃO DAS PARTÍCULAS

Foi realizada caracterização das partículas de quitosana e triclosan em pó, partículas de quitosana de baixo peso molecular em flocos e partículas de triclosan puro.

3.3.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

O ensaio de MEV foi realizado no Centro de Microscopia e Microanálise da UFRGS (ANEXO A). As características morfológicas das partículas foram avaliadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) (EVO MA10, Zeiss, Oberkochaen, Germany) com voltagem de 10 kV. As amostras foram fixadas em um porta-amostras com uma fita de carbono condutora e revestidas por uma fina camada de ouro.

3.3.2 Espectroscopia Raman

As partículas foram analisados por Espectroscopia microRaman usando o equipamento Senterra (Bruker OptikGmbH, Ettlingen, Baden-Württemberg, Alemanha) realizando 10 coadições por 5 s de irradiação, usando um laser de diodo de 100 mW, com um comprimento de onda de 785 nm e tamanho de abertura de $25 \times 1000 \mu\text{m}$. As amostras em pó foram dispensadas em uma matriz com 1mm de espessura sobre uma placa de vidro e os espectros foram obtidos com uma resolução espectral de $\sim 3,5 \text{ cm}^{-1}$ a 413 a 1775 cm^{-1} de alcance. A aquisição dos dados e tratamento dos espectros foram desenvolvidos através do pacote computacional OPUS 6.5, próprio do equipamento.

3.4 AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DOS ADESIVOS

3.4.1 Grau de Conversão

Os espécimes de cada grupo ($n = 3$), foram analisados por Espectroscopia microRaman usando o equipamento Senterra (Bruker OptikGmbH, Ettlingen, Baden-Württemberg, Alemanha) realizando 5 coadições por 3s de irradiação, usando um

laser de diodo de 100 mW, com um comprimento de onda de 785 nm e tamanho de abertura de $25 \times 1000 \mu\text{m}$. Os espectros foram obtidos com uma resolução espectral de $\sim 3,5 \text{ cm}^{-1}$ a 413 a 1775 cm^{-1} de alcance.

Os espectros foram coletados no adesivo em três pontos individuais e a porcentagem de ligações duplas carbono-carbono não reagidas (%C=C) foi determinada através do quociente das intensidades de absorbâncias entre as ligações duplas de carbono alifáticas (pico em 1640 cm^{-1}) e o padrão interno, antes e após a fotoativação das amostras. A absorbância do estiramento simétrico da ligação dupla aromática entre carbonos (pico em 1610 cm^{-1}) foi usada como padrão interno. O grau de conversão (GC) foi determinado por meio da subtração da %C=C, de 100%. Para a obtenção do grau de conversão foi utilizada a equação 1:

Equação 1

$$GC = 1 - \left[\frac{\text{ABSORBÂNCIA (1640cm}^{-1}) / \text{ABSORBÂNCIA (1610 cm}^{-1}) \text{ POLÍMERO}}{\text{ABSORBÂNCIA (1640cm}^{-1}) / \text{ABSORBÂNCIA (1610 cm}^{-1}) \text{ MONÔMERO}} \right] \times 100$$

A aquisição dos dados e tratamento dos espectros foram desenvolvidos através do pacote computacional OPUS 6.5, próprio do equipamento.

3.4.2 Radiopacidade

O ensaio de radiopacidade foi realizado no Laboratório de Bioquímica e Microbiologia da Faculdade de Odontologia da UFRGS (ANEXO B). Para avaliar a radiopacidade dos adesivos formulados foram confeccionados corpos de prova ($n=5$) com $6 \pm 0,1 \text{ mm}$ de diâmetro e $1,0 \pm 0,01 \text{ mm}$ de espessura, com auxílio de uma matriz de polivinilsiloxano (ADSIL, VIGODENT; Rio de Janeiro, Brasil). Foram obtidas imagens radiográficas em um sistema digital, usando um tempo de exposição de $0,4 \text{ s}$ e uma distância focal de 40 cm . A fonte de raios X utilizada será operada a 70 kV e 8 mA . Foram realizadas cinco radiografias, alocando aleatoriamente um corpo de prova de cada grupo junto a uma escala de alumínio em cada placa de fósforo. As imagens foram salvas em formato tiff e a densidade de pixels de cada corpo de prova e de cada degrau da escala de alumínio foram aferidas em software específico, avaliando-se uma área padronizada no centro de cada espécime. As médias dos níveis de cinza de cada grupo foram comparadas entre si e com os

níveis de cinza equivalentes na escala de alumínio para obtenção dos valores da radiopacidade.

3.4.3 Amolecimento em solvente

Para avaliação do amolecimento em solvente do adesivo, cinco amostras por grupo (n=5), foram confeccionadas com auxílio de uma matriz de polivinilsiloxano (ADSIL, VIGODENT; Rio de Janeiro, Brasil) com $6\pm 0,1$ mm de diâmetro e $1,0\pm 0,01$ mm de espessura. Os corpos de prova foram fotoativados por 30 segundos em cada lado com LED (Radii; SDI, Bayswater, Australia) e foram embutidos em resina acrílica e polidos em politriz elétrica rotativa com sistema de polimento múltiplo usando lixas de carbetto de silício com granulação 600, 1200 e 2000, seguidas de disco de feltro com pasta de óxido de alumínio. Os corpos de prova foram armazenados por 24 horas e então a microdureza Knoop inicial foi obtida através de um microdurômetro digital (HMV-2, Shimadzu, Kyoto, Japão) com uma carga de 10g por 10s. Cinco endentações foram realizadas na superfície de cada corpo de prova e a dureza foi dada pela média das mensurações, de acordo com a equação 2.

Equação 2

$$KHN = [(14228 c) / (d^2)] (2),$$

em que: 14228 é o valor de uma constante, c é a carga aplicada em gramas e d é a maior diagonal deixada pela penetração em micrometros. O valor médio das endentações de cada amostra foi o valor da dureza Knoop inicial (KHN1).

Então, os corpos de prova foram armazenados em etanol (96%) durante duas horas para avaliação da dureza Knoop final (KHN2). A diferença entre KHN1 e KHN2, em porcentagem, foi calculada para obter o resultado final do amolecimento em solvente.

3.4.4 Resistência de união à microtração

Para a análise de Resistência de União à Microtração imediata e longitudinal foram utilizados 120 incisivos bovinos extraídos (n=12), limpos e armazenados em água destilada a 4°C, em análise imediata (7 dias) e longitudinal (6 meses). Esses dentes foram obtidos através de doação de mandíbulas por um frigorífico (ANEXO

C). A superfície dentinária foi exposta em recortador de gesso e a smear layer foi formada pelo polimento da dentina com lixas de carbetto de silício com granulação 600, durante 1 min. Essa superfície foi condicionada com ácido fosfórico, 37%, por 15 s, lavada por 10 s e seca com papel absorvente. Um primer comercial (3M ESPE Adper Scotchbond 3008) foi aplicado ativamente por 20 segundos com o uso de micro aplicadores e após foi realizada a evaporação dos solventes com jato de ar por 10s. Os adesivos formulados foram aplicados separadamente com auxílio de outro micro aplicador e fotopolimerizados por 20s com um equipamento de LED (Radium; SDI, Bayswater, Australia) com irradiação de 1200 mW/cm^2 . Uma restauração com resina comercial (Z350 XT, 3M ESPE, St. Paul, EUA) foi construída em dois incrementos, de aproximadamente 2 mm, em cada superfície dentinária e fotoativada por 20 s por incremento, totalizando 40 s).

As amostras foram cortadas perpendicularmente à interface adesiva, com o auxílio de um disco em cortadeira de precisão (ISOMETTMLowSpeedSaw, Buehler®, Lake Bluff, EUA), com irrigação constante de água destilada, produzindo palitos com área de interface adesiva de aproximadamente $0,7 \text{ mm}^2$. Os palitos foram armazenados em água destilada, a 37°C , por 24 h e os ensaios de resistência de união à microtração foram realizados após sete dias (imediato) e após seis meses (longitudinal) de armazenamento. Esses palitos foram fixados em um dispositivo próprio para ensaios de microtração, com auxílio de um adesivo à base de cianoacrilato. O teste de microtração foi realizado em uma máquina de ensaios mecânicos universal (EZ-LX/EZ-SX Series, SHIMADZU, Quioto, Japão), com uma velocidade de carregamento de 1 mm/min equipada com uma célula de carga de 500 N. Os valores de força foram registrados em Newtons (N) e calculados em megapascal (MPa) utilizando a área de interface de cada palito. O resultado de cada amostra foi obtido através da média dos palitos, já que o dente foi considerado como unidade amostral.

3.5 ANÁLISE DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

A análise da atividade antibacteriana foi realizada no Laboratório de Microbiologia da UFRGS (ANEXO D). Para avaliar a atividade antibacteriana dos adesivos formulados, os corpos de prova foram confeccionados com auxílio de uma matriz de polivinilsiloxano (ADSIL, VIGODENT; Rio de Janeiro, Brasil) com 1 mm de espessura por 5 mm de diâmetro. Os corpos de prova foram fotoativados por 30

segundos em cada lado com LED (Radii; SDI, Bayswater, Australia). Três corpos de prova por grupo permaneceram em água destiladas por 6 meses a 37°C. As amostras (n=6) foram fixadas em matrizes de teflon (6 mm x 6 mm x 8 mm) fixadas na tampa de uma placa com 48 poços. Todos os materiais foram esterilizados em autoclave, com exceção da tampa com os corpos de prova, esterilizados por plasma de peróxido de hidrogênio. 200 µL de estoques congelados de *Streptococcus mutans* (NCTC 10449, INCQS 00446, Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Brasil) em skim milk foram adicionados a 3 mL de BHI caldo com 1% de sacarose e incubados por 24h a 37°C. Em seguida, 100 µL desse caldo com as bactérias foram plaqueados em BHI ágar e incubados durante 48h a 37°C. As colônias foram transferidas para caldo BHI com 1% de sacarose. As soluções foram levadas ao vortex por 15s e incubadas durante 24h a 37°C. Após esse período, as soluções foram novamente levadas ao vortex e foram adicionados 100 µL (6,46 (±0,01) log UFC/mL) desse caldo em cada poço da placa de 48 poços juntamente a 900 µL de BHI caldo com 1% de sacarose. Ainda, foi realizado um controle negativo sem nenhum corpo de prova; apenas com BHI caldo, sacarose e *Streptococcus mutans*. A placa foi fechada com a tampa contando os teflons e as amostras e o conjunto foi incubado por 24h a 37 °C. Para a análise de formação de biofilme sobre as amostras, as mesmas foram removidas da placa e agitadas durante 1 min em solução salina. Em seguida, 100 µL do conteúdo de cada um dos poços foi diluído em solução salina. As diluições de 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵ e 10⁻⁶ foram plaqueadas com 2 gotas de 25 µL cada uma em ágar BHI sobre uma placa de Petri dividida em seis espaços. As placas foram armazenadas a 37°C e, após 48 h, o número de colônias foi contado utilizando-se microscópio óptico e os valores foram transformado em unidades formadoras de colônia (UFCs) por mL, considerando as diluições. Para a análise de atividade contra células planctônicas, 100 µL do caldo de cada poço foi diluído em solução salina e foi realizada diluição em série, plaqueamento e contagem assim como foi realizado para a análise de formação de biofilme.

3.6 ANÁLISE DOS RESULTADOS

A normalidade dos valores obtidos de cada ensaio foi testada através do teste Kolmogorov-Smirnov. Quando houve normalidade, o teste estatístico escolhido foi o ANOVA de uma ou duas vias e, havendo diferença, foi aplicado o teste de

comparações múltiplas de Tukey. Nos casos de não-normalidade, os dados sofreram um procedimento estatístico de transformação dos dados em uma tentativa de priorizar a realização da análise paramétrica. Quando não houve distribuição normal dos dados, o teste realizado foi o de Kruskal-Wallis. O nível de significância foi de 5% para todos os testes.

3.7 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Os dentes utilizados neste trabalho são bovinos, que são materiais biológicos descartáveis. A obtenção se deu através de um matadouro, do qual foram aproveitados os dentes de animais com abatimento previamente marcado para fins comerciais (ANEXO III). O presente estudo teve início a partir da aprovação do projeto pela Comissão de Pesquisa da Faculdade de Odontologia da UFRGS.

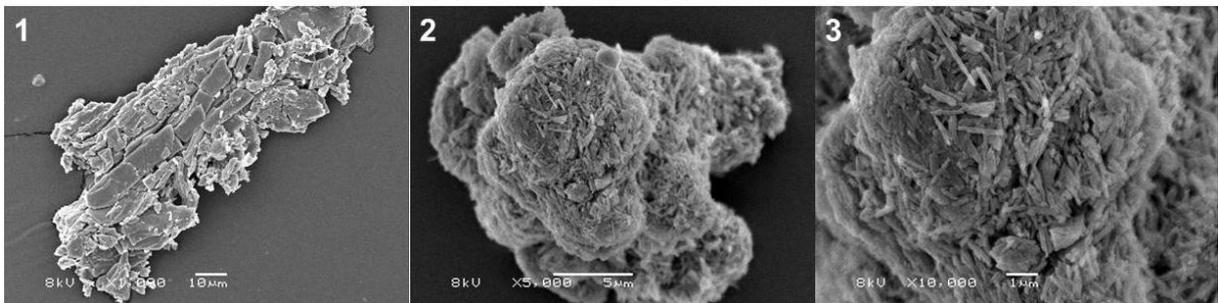
4 RESULTADOS

4.1 CARACTERIZAÇÃO DAS PARTÍCULAS

As imagens geradas por análise por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das partículas de triclosan indicaram um arranjo morfológico cristalino (FIGURA 4), devido a sua composição química ordenada, a partir da repetição no espaço da estrutura elementar. Na Figura 5, podem ser observadas as imagens obtidas por MEV da quitosana de baixo peso molecular, em flocos. A quitosana, por ser uma substância orgânica, apresentou estrutura amorfa e desorganizada.

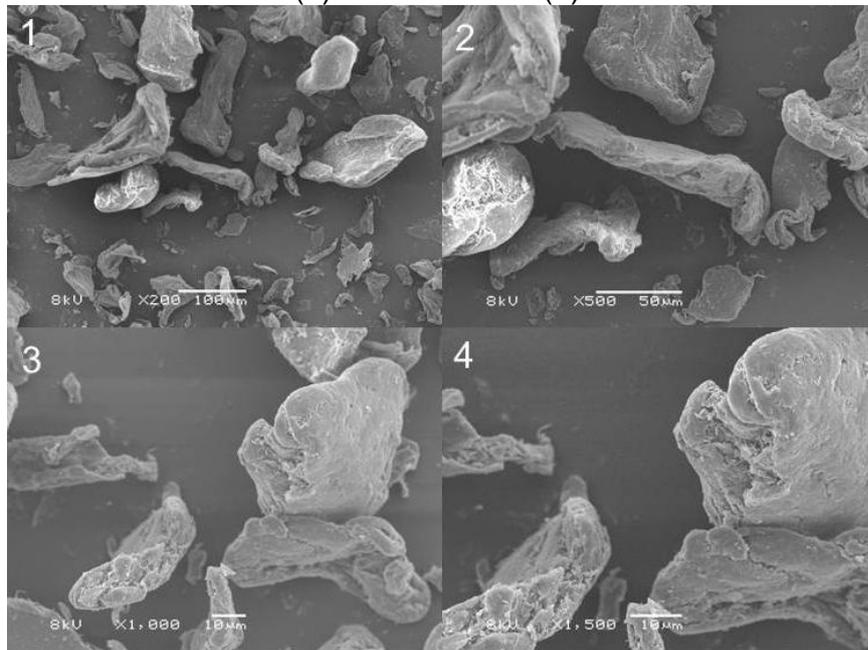
As imagens referentes à formulação de quitosana de baixo peso molecular com triclosan (FIGURA 6) demonstraram uma aglomeração das partículas de triclosan na superfície das partículas de quitosana.

Figura 4 – Imagem de amostra de triclosan, após análise por MEV, com aumento de 1000 vezes (1), 5000 vezes (2) e 10000 vezes (3).



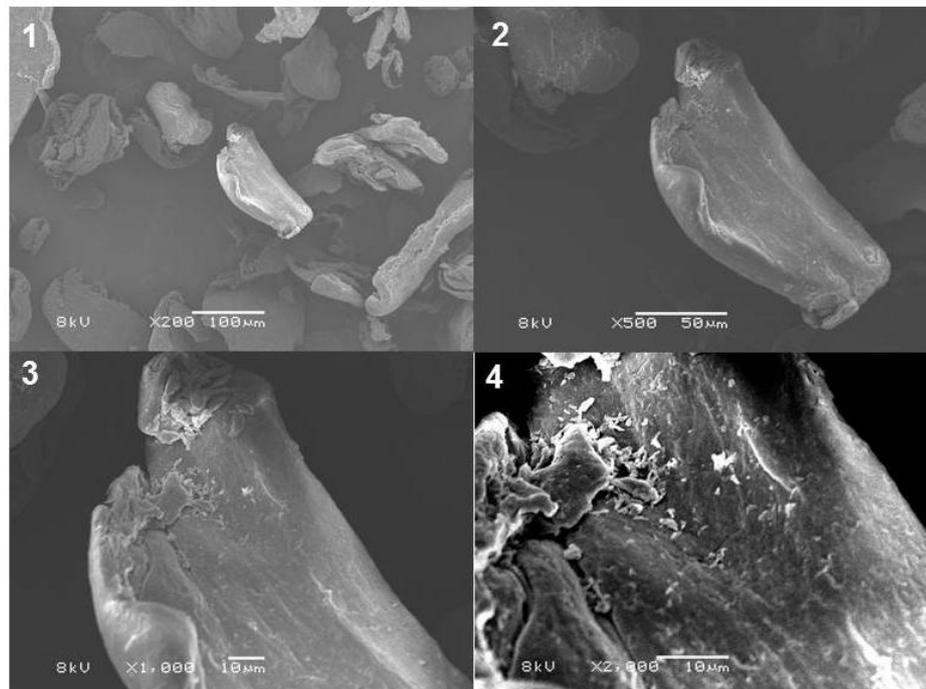
Fonte: da autora, 2018.

Figura 5 – Imagem de amostra de quitosana de baixo peso molecular, em flocos, após análise por MEV, com aumento de 200 vezes (1), 500 vezes (2), 1000 vezes (3) e 1500 vezes (4).



Fonte: da autora, 2018.

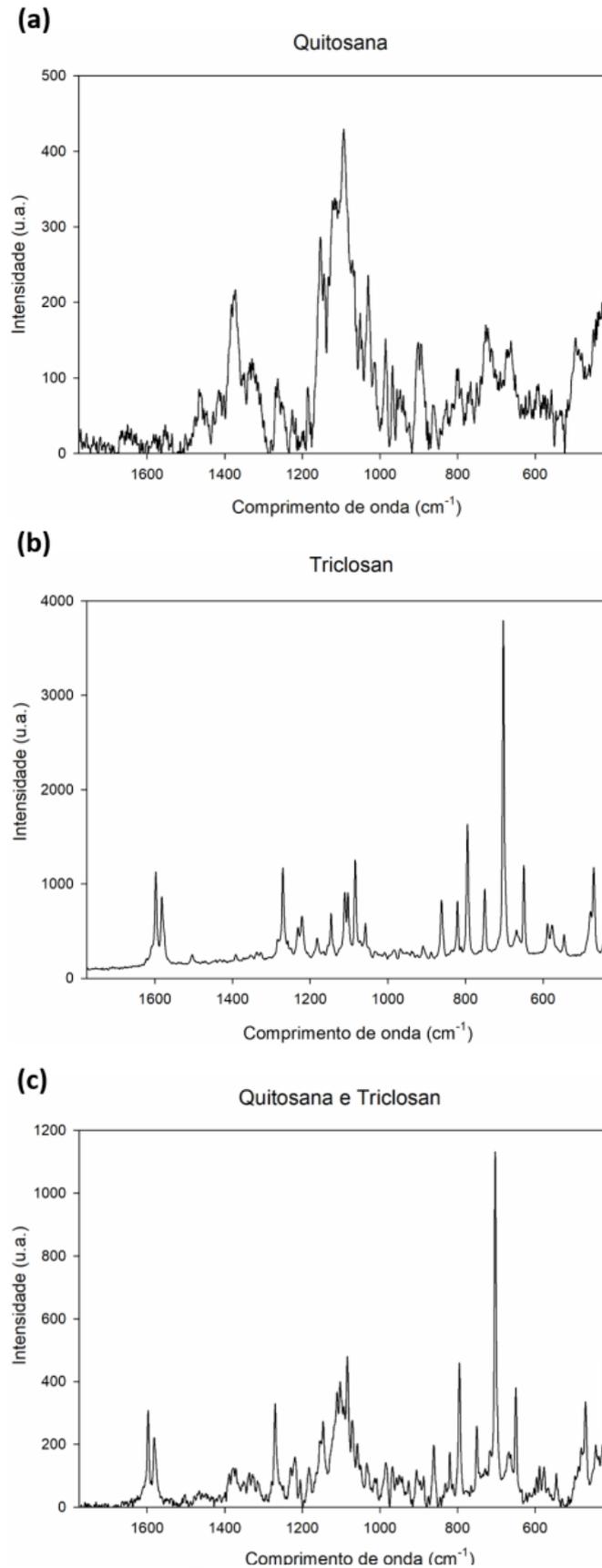
Figura 6 – Imagem de amostra da formulação em pó de quitosana de baixo peso molecular com triclosan, após análise por MEV, com aumento de 200 vezes (1), 500 vezes (2), 1000 vezes (3) e 2000 vezes (4).



Fonte: da autora, 2018.

Os espectros de referência obtidos, gerados por microRaman, relativos as partículas analisadas estão apresentados na Figura 7. As bandas de espalhamento apresentadas na imagem a são referentes à quitosana. Os picos observados devem-se principalmente a estiramentos simétricos da ligação C-O-C na região dos 850-900 cm^{-1} , atribuídos a configuração estrutural alfa e beta da quitosana, assim como também às ligações glicosídicas. Estiramentos antissimétricos da ligação C-O-C foram identificados na região dos 1150-1060 cm^{-1} . Em 1270 cm^{-1} observa-se o estiramento C-OH; na faixa de 1370 cm^{-1} , CH_3 simétricos. E ainda, CH_2 simétrico em 1464 cm^{-1} (BEZERRA, 2011). O pico em 710 cm^{-1} visualizado na imagem b e c é atribuído à vibração de alongamento da cadeia (C-C) de anéis de benzeno trissubstituídos do triclosan (ICONOMOPOULOU et al., 2005).

Figura 7 – Espectros gerados por microRaman.



Fonte: da autora, 2018.

4.2 AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO ADESIVO

Os resultados de grau de conversão dos adesivos experimentais estão descritos na Tabela 2. Não houve diferença estatística significativa entre os grupos, nem quando comparados ao grupo controle. A média do grau de conversão das amostras foi superior a 84% em todos os grupos.

Tabela 2 – Média e desvio padrão do grau de conversão (%) das resinas adesivas experimentais. Letras iguais indicam ausência de diferença estatisticamente significativa ($p=0,458$).

Grau de conversão (%)	
0%	85,78 ($\pm 2,30$) ^A
2%QT	84,45 ($\pm 1,19$) ^A
5%QT	84,12 ($\pm 1,04$) ^A
2%Q	86,61 ($\pm 2,59$) ^A
5%Q	85,26 ($\pm 1,27$) ^A

A radiopacidade em pixels dos adesivos experimentais está representada na Tabela 3. A média dos resultados variou entre 21,7 pixels (2%QT) a 27,9 pixels (5%QT). Não houve diferença estatística significativa entre nenhum dos grupos estudados.

Tabela 3 – Média e desvio padrão da Radiopacidade, em pixels, das resinas adesivas experimentais. Letras iguais indicam não haver diferença estatística ($p=0,861$)

Radiopacidade (pixels)	
0%	26,8 ($\pm 3,4$) ^A
2%QT	21,7 ($\pm 4,1$) ^A
5%QT	27,9 ($\pm 4,9$) ^A
2%Q	22,3 ($\pm 7,5$) ^A
5%Q	24,4 ($\pm 5,8$) ^A

Os resultados de amolecimento em solvente das amostras estão representados na Tabela 4. A dureza knoop inicial (KHN1) dos adesivos não apresentou diferença estatística, quando comparadas ao controle, para os grupos 2%QT e 5%QT, ao passo que os grupos 2%Q e 5%Q apresentaram menor dureza quando comparados ao controle e aos grupos contendo quitosana e triclosan. Após 2 horas de imersão em solvente, todas as amostras apresentaram amolecimento. A porcentagem de redução entre dureza inicial (KHN1) e a dureza final (KHN2) - % Δ KHN - variou conforme o grupo de estudo. Os grupos 2%QT e 5%QT não apresentaram diferença estatística significativa na % Δ KHN quando comparadas entre elas e com o grupo controle. O grupo 2%Q apresentou a maior amolecimento em solvente, uma % Δ KHN de 57,1 enquanto que o grupo 5%Q apresentou % Δ KHN de 42,1; ambos os grupos diferiram estatisticamente entre si, e quando comparados ao controle e aos grupos com quitosana e triclosan.

Tabela 4 – Amolecimento em solvente: dureza knoop antes (KHN1) e após (KHN2) 2 horas de imersão em etanol 96%, e a porcentagem de redução entre KHN1 e KHN2 (Δ KHN%). Letras maiúsculas iguais indicam não haver diferença estatística significativa nas colunas ($p < 0,05$). Letras minúsculas iguais indicam não haver diferença estatística significativa nas linhas ($p < 0,05$).

	KHN1	KHN2	%ΔKHN
0%	25,0 ($\pm 0,9$) ^{A,a}	20,6 ($\pm 0,8$) ^b	17,3 ($\pm 2,8$) ^A
2%QT	22,1 ($\pm 0,3$) ^{A,B,a}	19,2 ($\pm 0,5$) ^b	13,2 ($\pm 2,1$) ^A
5%QT	24,0 ($\pm 0,1$) ^{A,B,a}	19,3 ($\pm 1,5$) ^b	19,5 ($\pm 6,9$) ^A
2%Q	16,4 ($\pm 1,4$) ^{B,a}	7,0 ($\pm 0,9$) ^b	57,1 ($\pm 4,7$) ^C
5%Q	19,0 ($\pm 0,9$) ^{B,a}	11,0 ($\pm 0,5$) ^b	42,1 ($\pm 3,5$) ^B

Os resultados de resistência de união à microtração imediata obtidos nesse estudo (Tabela 5), não mostraram alteração substancial da propriedade com a incorporação de diferentes quantidades de partículas nos adesivos experimentais. Os grupos estudados não apresentaram diferença estatística significativa entre eles, nem quando comparadas ao grupo controle (0%) nos dois ensaios (imediato e longitudinal). Ao comparar a resistência de união à microtração imediata (sete dias)

e em seis meses, os grupos 0% e 2Q% apresentaram significativa redução da propriedade nesse período; ao passo que os grupos 2%QT, 5%QT e 5%Q não apresentaram diferença estatística quando feita a mesma comparação.

Tabela 5 – Média e desvio padrão, em MPa, da Resistência de União à Microtração dos adesivos experimentais, no ensaio imediato (7 dias) e longitudinal (6 meses). Letras maiúsculas iguais indicam não haver diferença estatística significativa nas colunas ($p < 0,05$). Letras minúsculas iguais indicam não haver diferença estatística significativa nas linhas ($p < 0,05$).

	Imediato	Longitudinal
0%	45,4 ($\pm 12,7$) ^{A,a}	34,1 ($\pm 10,0$) ^{A,b}
2%QT	40,2 ($\pm 10,2$) ^{A,a}	34,1 ($\pm 10,3$) ^{A,a}
5%QT	35,1 ($\pm 12,7$) ^{A,a}	35,0 ($\pm 14,5$) ^{A,a}
2%Q	36,2 ($\pm 10,2$) ^{A,a}	27,0 ($\pm 5,7$) ^{A,b}
5%Q	37,2 ($\pm 10,9$) ^{A,a}	30,5 ($\pm 9,3$) ^{A,a}

4.3 ANÁLISE DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

Os adesivos experimentais apresentaram atividade antibacteriana contra *Streptococcus Mutans* quando há associação de quitosana e triclosan, no ensaio imediato e longitudinal, sendo que quanto maior a concentração de quitosana e triclosan, maior eficácia. Os grupos contendo somente quitosana não apresentaram atividade antibacteriana. Os resultados da análise da atividade antibacteriana estão descritos na Tabela 6.

Tabela 6 – Valores de média e desvio-padrão de unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/mL), com transformação logarítmica, frente à avaliação da atividade antibacteriana das resinas adesivas experimentais. Valores seguidos por letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística na mesma coluna ($p < 0,05$). Valores seguidos por letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística na mesma linha ($p < 0,05$).

	Biofilme		Células planctônicas	
	Imediato	6 meses	Imediato	6 meses
	log UFC/mL	log UFC/mL	log UFC/mL	log (UFC/mL)
0%	4,90 ($\pm 0,11$) ^{Ba}	4,87 ($\pm 0,12$) ^{Ba}	8,21 ($\pm 0,10$) ^{Aa}	8,22 ($\pm 0,09$) ^{Aa}
2%QT	3,71 ($\pm 0,10$) ^{Ca}	3,77 ($\pm 0,13$) ^{Ca}	8,22 ($\pm 0,14$) ^{Aa}	8,22 ($\pm 0,13$) ^{Aa}
5%QT	3,03 ($\pm 0,19$) ^{Da}	2,99 ($\pm 0,11$) ^{Da}	8,23 ($\pm 0,10$) ^{Aa}	8,24 ($\pm 0,15$) ^{Aa}
2%Q	5,07 ($\pm 0,08$) ^{Aa}	5,15 ($\pm 0,09$) ^{Aa}	8,29 ($\pm 0,12$) ^{Aa}	8,28 ($\pm 0,12$) ^{Aa}
5%Q	5,11 ($\pm 0,09$) ^{Aa}	5,14 ($\pm 0,09$) ^{Aa}	8,30 ($\pm 0,08$) ^{Aa}	8,30 ($\pm 0,08$) ^{Aa}
Controle negativo	-	-	8,23 ($\pm 0,13$) ^{Aa}	8,23 ($\pm 0,13$) ^{Aa}

5 DISCUSSÃO

Resinas adesivas antibacterianas são desenvolvidas com o objetivo de reduzir o acúmulo de biofilme na interface dente/restauração e, ainda, fornecer atividade antibacteriana em longo prazo (COLLARES et al., 2017; AGNELLI, 2011). Contudo, ao modificar um material, podem ocorrer interferências nas propriedades do mesmo, tornando necessário ensaiar, além das propriedades antimicrobianas, suas propriedades físico-químicas. No presente estudo, a incorporação de quitosana associada ao triclosan em diferentes concentrações nas resinas adesivas experimentais (2%QT e 5%QT) mostrou efeito antibacteriano contra *Streptococcus mutans*, imediato e em seis meses, e favoreceu, ou manteve estáveis, as propriedades físico-químicas ensaiadas – Grau de Conversão (GC), Radiopacidade, Amolecimento em Solvente (AS) e Resistência de União à Microtração. A atividade antibacteriana foi maior quanto maior a concentração de quitosana com triclosan. Quando analisadas as resinas adesivas contendo somente quitosana (2%Q e 5%Q), os resultados de DS foram inferiores aos resultados das amostras 2%QT e 5%QT, enquanto as demais propriedades físico-químicas avaliadas não demonstraram diferença estatística significativa entre os grupos, nem quando comparados ao grupo controle. Ainda, 2%Q e 5%Q não apresentaram atividade antibacteriana contra *Streptococcus Mutans*.

Para a caracterização das substâncias utilizadas desse estudo, foram realizados os ensaios de Análise por Microscopia Eletrônica de Varredura e Análise por Espectroscopia Ramam. O triclosan é uma substância antibacteriana e antisséptica que, por ser um composto químico derivado do fenol, apresenta estrutura química cristalina, revelada nas imagens analisadas por MEV (Figura 3). As estruturas cristalinas são formadas por células unitárias que são sua unidade básica formadora, pois constituem o menor conjunto de átomos. No caso do triclosan, a unidade básica é o composto $C_{12}H_7Cl_3O_2$ (Figura 1). A quitosana é obtida pela desacetilação da quitina, polissacarídeo encontrado abundantemente na natureza e que constitui os exoesqueletos de insetos e crustáceos. A desacetilação da quitina ocorre em meio alcalino, e raramente é completa (AZEVEDO et al., 2007). As propriedades da quitosana não dependem apenas do seu grau de desacetilação, mas, também da distribuição média dos grupos acetil ao longo da cadeia principal, além do seu peso molecular (KUBOTA; EGUCHI, 1997; RINAUDO; DOMARD,

1989). A desacetilação feita normalmente no estado sólido promove a obtenção de uma estrutura irregular, devido à natureza semicristalina do polímero inicial (AZEVEDO et al., 2007). No presente estudo, foi analisada por MEV a estrutura da quitosana de baixo peso molecular, em flocos. Por ser um polímero orgânico, proveniente da desacetilação da quitina, polímero semicristalino, a quitosana apresenta-se em organização amorfa com superfície porosa (Figura 4). Han, Kimura e Okuda (1999) demonstraram que há uma grande variação no tamanho e morfologia dos poros na superfície das partículas de quitosana.

Quando a quitosana é associada ao triclosan, as imagens obtidas por análise em MEV (Figura 5) indicam um aglomerado de triclosan na superfície das partículas de quitosana, que, por sua vez, apresentam maiores dimensões quando comparada as partículas de triclosan. Pelo fato de o triclosan ser um composto não iônico (MOREIRA et al., 2009), ele não interage quimicamente com a quitosana, um polímero catiônico protonado (AZEVEDO et al., 2007). Esses resultados também podem ser evidenciados por Espectroscopia Ramam. A partir da análise espectros obtidos apresentados na figura 7, podemos inferir que a quitosana e o triclosan não realizam interação química quando associados. Os espectros obtidos quando analisamos as partículas independentemente (FIGURA 7 – IMAGEM a E b) se sobrepõe na análise das partículas associadas (FIGURA 7 – IMAGEM c) e não há identificação de nenhum novo pico de absorbância que poderia ser atribuído à ligação quitosana/triclosan.

Grau de conversão (NAVARRA et al., 2016), Amolecimento em Solvente (COLLARES et al., 2017) e Resistência de União (HORI, 2012) são parâmetros fundamentais para avaliar o desempenho clínico e a estabilidade de adesivos. Os resultados de grau de conversão dos adesivos experimentais não apresentaram diferenças estatísticas significativas e variaram entre 84,12% e 86,61, indicando um alto e satisfatório grau de conversão dos monômeros adesivos, conforme estudos recentes (NAVARRA et al., 2016; DEGRAZIA et al., 2016), contribuindo para a formação de uma interface adesiva estável (NAVARRA et al., 2009). Quanto menor o número residual de ligações duplas entre carbonos após a polimerização, melhores são as propriedades mecânicas do polímero (COLLARES et al., 2011). Uma alta taxa de conversão de monômeros em polímeros implicaria em uma rede polimérica mais forte, com melhores propriedades físico-químicas e, portanto, menos suscetibilidade aos processos de degradação (COLLARES et al., 2011). Ainda, a

degradação hidrolítica de resinas adesivas está relacionada à densidade de ligações cruzadas presentes no polímero. Quanto maior e mais homogênea a sua distribuição, melhores são as propriedades químicas (COLLARES et al., 2011). No presente estudo houve amolecimento em solvente (AS) em todos os grupos, entretanto os grupos 2%Q e 5%Q apresentaram uma redução da dureza consideravelmente maior que os demais grupos (0%, 2%QT e 5%QT), após duas horas de imersão total em etanol (96%), sendo que 2%Q apresentou o maior amolecimento. Ainda, a KHN1 dos grupos 2%Q e 5%Q foram menores quando comparadas às demais resinas experimentais. O grau de conversão está diretamente associado às propriedades mecânicas dos polímeros, entretanto, não necessariamente está relacionado à densidade de ligações cruzadas (COLLARES et al., 2017). Conforme observado, não houve relação entre GC e AS; a incorporação de quitosana com triclosan favoreceu a dureza e a degradação das resinas adesivas experimentais, enquanto que os resultados de grau de conversão não mostraram diferença estatística, ou seja, apesar de uma alta conversão de monômero em polímeros, nos polímeros contendo somente quitosana parece não ter formado, ou ter perdido ligações cruzadas após duas horas de imersão em etanol. Os grupos 2%QT e 5%QT apresentaram KHN1 e amolecimento em solvente semelhante ao grupo controle e superior aos grupos contendo apenas quitosana, ao passo que o grau de conversão das resinas experimentais não apresentou diferença estatística entre os grupos. Possivelmente os resultados obtidos nesses ensaios são influenciados pelas estruturas das substâncias utilizadas.

Polímeros de estrutura organizada, que apresentam um grande número de ligações cruzadas são mais resistentes à degradação e absorção de solventes, enquanto que os polímeros lineares apresentam mais espaço e caminhos para que as moléculas solventes se difundam dentro de sua estrutura (COLLARES et al., 2017). Dessa forma, a estrutura desorganizada da quitosana seria um fator considerável para o acentuado amolecimento em solvente encontrada nos adesivos contendo somente essa substância; enquanto a associação da quitosana com o triclosan, ainda que sem ligações covalentes, manteve estável a referida propriedade mecânica do polímero, mantendo-a semelhante ao resultado obtido para o grupo controle, devido à morfologia cristalina do triclosan e à uma alta massa molar, que favorece propriedades físico-químicas.

Satisfatório grau de conversão e estabilidade colaboram para uma efetividade de resistência de união nas resinas adesivas, aumentando a durabilidade da restauração (HORI, 2012). Nos valores de resistência de união imediata e longitudinal, não houve diferença estatística entre os adesivos experimentais, apenas os grupos 0% e 2%Q apresentarem queda significativa na resistência de união em seis meses. A literatura demonstra que a resistência adesiva tende a cair com o tempo (HORI, 2012). No presente estudo, a resistência de união das resinas adesivas experimentais foi condizente com adesivos comerciais previamente testados em estudos (HORI, 2007; FAVARÃO et al., 2017; SINHORETI et al., 2017) e com os valores de grau de conversão encontrados, os quais demonstraram uma satisfatória polimerização dos monômeros adesivos e conseqüentemente melhora nas propriedades de degradação. A resistência de união das resinas adesivas experimentais não teve relação com Amolecimento em Solvente, assim como Grau de Conversão.

A radiopacidade dos adesivos experimentais não foi influenciada pela adição das substâncias estudadas. A radiopacidade é uma das propriedades desejáveis da maioria dos materiais dentários e é uma característica importante nos procedimentos adesivos em odontologia. Para obter o diagnóstico ideal, é interessante que os materiais restauradores apresentem uma radiopacidade igual ou superior à densidade radiográfica da dentina, que por sua vez tem uma radiopacidade semelhante à de Alumínio. (HEINTZE; ZIRMELLI, 2011; PORTO et al., 2014). De acordo com a Organização Internacional de Padronização, o material restaurador deve ser pelo menos tão radiopaco quanto à mesma espessura de Alumínio (INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, 2000). No presente estudo, não houve diferença estatística significativa para radiopacidade entre os grupos, nem quando comparadas ao grupo controle e todas as concentrações de resina adesiva experimental testadas apresentaram resultado inferior a 1mmEq/Al (58 pixels), ou seja, apresentaram radiolucidez quando comparadas a dentina. Isso se explica pela pequena quantidade de conteúdo inorgânico nas resinas experimentais. A incorporação de constituintes inorgânicos, com alto número atômico, na resina adesiva poderia fornecer uma radiopacidade satisfatória, entretanto há uma grande dificuldade na formulação de um adesivo radiopaco devido à instabilidade das partículas, que tendem a aglomerar e precipitar (KLAPDOHR; MOSZNER, 2005). Ainda que os resultados de radiopacidade obtidos

para as resinas adesivas estudadas não seja satisfatório conforme preconiza a ISO para materiais restauradores, os mesmos encontram-se conforme os resultados relatados na literatura para adesivos comerciais disponíveis no mercado (PORTO et al., 2014) e indicam que a formulação de quitosana com triclosan, bem como a quitosana de baixo peso molecular pura, incorporadas à matriz polimérica, não provocam alteração da referida propriedade físico-química.

Quanto à análise antibacteriana (TABELA 5), os grupos com a associação de quitosana e triclosan (2%QT e 5%QT) apresentaram atividade antibacteriana contra *Streptococcus Mutans* imediata e longitudinal, reduzindo UFC quando comparada ao grupo controle. Ainda, uma maior concentração de quitosana e triclosan apresentou melhores resultados. O triclosan desempenha sua atividade antibacteriana, através da inibição da proteína carreadora enoil-acil redutase (ENR), bloqueando a biossíntese bacteriana de ácidos graxos necessários para funções vitais e estruturação da membrana celular (NUDERA et al., 2007). Uma molécula de triclosan desabilita permanentemente uma molécula de ENR (STEWART et al., 1999), o que explica a grande ação antibacteriana mesmo em baixas concentrações (DEGRAZIA et al., 2017, no prelo; ICONOMOPOULOU et al., 2005; STEWART et al., 1999). No presente estudo, as resinas adesivas experimentais contendo somente quitosana (2%Q e 5%Q) não desempenharam atividade antibacteriana e apresentaram uma maior formação de biofilme na superfície polimérica quando comparada ao grupo 0%, possivelmente devido à superfície porosa da partícula de quitosana. A presença de uma alta porcentagem de grupos amino reativos distribuídos na matriz polimérica da quitosana permite inúmeras modificações químicas e físicas (pó, flocos, microesferas, nanopartículas, membranas, esponjas) (LARANJEIRA; FAVÉRE, 2009). Debnath et al. (2017) e Mishra; Ramesh; Manickam (2017) comprovaram a eficácia antibacteriana contra *Streptococcus mutans*, de quitosana em fase líquida incorporada a um cimento de ionômero de vidro; Elsaka (2012) comprova a eficácia antibacteriana contra *Streptococcus mutans* quando uma solução de quitosana é incorporada à uma resina adesiva experimental. Contudo, o mecanismo de ação antimicrobiana da quitosana ainda é controverso (AZEVEDO et al., 2007) e conforme os resultados obtidos nesse estudo, quitosana de baixo peso molecular em flocos incorporada à uma resina adesiva não desempenha atividade contra *Streptococcus mutans*.

O estudo de Detomini e Giroto (2009) mostrou uma degradação da superfície de uma resina composta ao longo do tempo, quando há incorporação de partículas de triclosan, devido a lixiviação da substância. Contudo, nesse estudo, não foram observados resultados que poderiam ser atribuídos à lixiviação do polímero contendo quitosana e triclosan. Quando há associação do triclosan com quitosana as propriedades da resina adesiva experimental parecem ser beneficiadas. Todos resultados foram todos positivos para os grupos 2%QT e 5%QT; a associação de quitosana com triclosan não apresentou resultados diferentes significativamente da matriz polimérica de controle, ou seja, houve estabilidade das propriedades físico químicas dos adesivos experimentais, além de atividade antibacteriana contra *Streptococcus mutans*.

6 CONCLUSÃO

Baseado nos resultados desse estudo, a incorporação de um pó de quitosana e triclosan a um adesivo experimental foi bem sucedida; não provocou nenhuma alteração significativa das propriedades físico-químicas avaliadas do material e apresentou atividade antibacteriana contra *Streptococcus mutans*, sendo que quanto maior a concentração de quitosana e triclosan, maior o efeito antibacteriano; enquanto que os adesivos experimentais contendo quitosana pura não desempenhou atividade contra *Streptococcus mutans* e apresentou propriedades físico-químicas inferiores aos demais grupos experimentais.

REFERÊNCIAS

- AQUINO, D. R. et al. Ação antimicrobiana do triclosan sobre a microbiota cariogênica. **Rev. Biociênc.**, Taubaté, v. 10, n. 1-2, p. 79-86, jan./jun. 2004.
- AGNELLI, P. B. **Redução do biofilme de Streptococcus mutans sobre um material restaurador dentário modificado com nanopartículas de prata – estudo in vitro**. 2011, 71 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2011.
- AZEVEDO, V. V .C. Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. **Rev. Eletr. Mat. Proces.**, Campina Grande, v. 2, n. 3, p. 27-34, 2007.
- BEZERRA, A. M. **Síntese e avaliações físico-químicas e biológicas de derivados de quitosana de alta e baixa massa molecular**. 201. 72 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Químico-Farmacêutica) – Faculdade de Ciência Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.
- BUSSCHER H. J. et al. Influence of chitosan on oral bacterial adhesion and growth in vitro. **Eur. J. Oral Sci.**, Chichester, v. 116, no. 5, p. 493-495, Oct. 2008.
- CHAI , Z. et al. The bonding property and cytotoxicity of a dental adhesive incorporating a new antibacterial monomer. **J. Oral Rehabil.**, Oxford, v. 38, no. 11, p. 849-856, Nov. 2011.
- CHENG C. Y.; WANG Y. C.; DING W. H. Determination of triclosan in aqueous samples using solid-phase extraction followed by on-line derivatization gas chromatography-mass spectrometry. **Anal Sci.**, Tokyo, v. 27, n. 2, p. 197-202, 2011.
- COLLARES, F. M. et al. Chlorhexidine application in adhesive procedures: a meta-regression analysis. **J. Adhes. Dent.**, New Malden, v. 15, no. 1, p. 11-18, 2013b.
- COLLARES, F.M. Influence of addition of [2(methacryloyloxy)ethyl] trimethylammonium chloride to an experimental adhesive. **Braz. Oral Res.**, São Paulo, v. 31, p. 1-6, 2017.
- COLLARES, F. M. et al. Influence of 2-hydroxyethyl methacrylate concentration on polymer network of adhesive resin. **J. Adhes. Dent.**, New Malden, v. 12, no. 5, p. 1-5; 2011.
- COLLARES, F. M. et al. Influence of radiopaque fillers on physicochemical properties of a model epoxy resin-based root canal sealer. **J. Appl. Oral Sci.**, Bauru, v. 21, no. 6, p. 533-539, 2013a.
- COSTA, B. P. **Síntese, caracterização e efeito inibitório da solução de nanopartículas de quitosana na aderência e no biofilme maduro de Streptococcus mutans**. 2015. 57 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2015.
- COSTA, E. M. et al. Study of the effects of chitosan upon Streptococcus mutans adherence and biofilm formation. **J. Anaer.**, London, v. 20, p. 27-31, 2013.

- DEBNATH, et al. Comparative evaluation of antibacterial and adhesive properties of chitosan modified glass ionomer cement and conventional glass ionomer cement: an in vitro study. **J. Clin. Diagn. Res.**, India, v. 11, no. 3, p. 75-78, Mar. 2017.
- DEGRAZIA, F. W. et al. Effect of silves nanoparticles on the physicochemical and antimicrobial properties of an orthodontic adhesive. **J. App. Oral Sci.**, Bauru, v.24, no. 4, p. 404-410, July/Aug., 2016a.
- DEGRAZIA, F. W. et al. Physicochemical and bioactive properties of innovative resin-based materials containing functional halloysite-nanotubes fillers. **Dent. Mater.**, Copenhagen, v. 32, no. 9, p. 1133-1143, Sept. 2016b.
- DEGRAZIA, F. W. et al. Polymerisation, antibacterial and bioactivity properties of experimental orthodontic adhesives containing triclosan-loaded halloysite nanotubes. **J. Dent.**, Kindlington, Nov. 2017. No prelo.
- DETOMINI, T. R.; GIROTTO, E. M. Resinas poliméricas contendo um bactericida para aplicação em dentística. In: 10º CONGRESSO BRASILEIRO DE POLÍMEROS, 2009, Foz do Iguaçu. **Anais...** São Paulo: Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, 2009.
- ELSAKA, S. Antibacterial activity and adhesive properties of a chitosan-containing dental adhesive. **Quint. Int.**, Berlin, v. 43, no. 7, p. 603-613, July/Aug. 2012.
- ELSAKA, S.; ELNAGHY, A. Effect of addition of chitosan to self-etching primer: antibacterial activity and push-out bond strength to radicular dentin. **J. Biomed. Res.**, Nanjing, v. 26, no. 4, p. 288-294, 2012.
- ELSAKA, S.; ELNAGHY, A. Antibacterial activity of calcium hydroxide combined with chitosan solutions and the outcomes on the bond strength of RealSeal sealer to radicular dentin. **J. Biomed. Res.**, Nanjing, v. 26, no. 3, p.193-199, 2012.
- FAVARÃO, J. et al. Immediate and 6-month bond strengths of different adhesives in the oral environment. **J. Adhes. Dent.**, New Malden, v. 18, p. 475-481, Dec. 2017.
- GEBRAN, M. P; GEBERT, A. P. O. Controle químico e mecânico de placa bacteriana. **Tuiuti: Ciênc. Cult.**, Curitiba, v. 3, n. 26, p. 45-58, jan. 2002.
- GENARI, B. et al. Antimicrobial effect and physicochemical properties of an adhesive system containing nanocapsules. **Dent. Mater.**, Washington, v. 33, no. 6, p. 735-742, June 2017.
- GIUNCHEDI, P. et al. Formulation and in vivo evaluation of chlorhexidine buccal tablets prepared using drug-loaded chitosan microspheres. **Eur. J. Pharmac. Biopharmac.**, Amsterdam, v. 53, no. 2, p. 233-239, Mar. 2002.
- HAN, L. K; KIMURA, Y.; OKUDA, H. Reduction in fat storage during chitin-chitosan treatment in mice fed a high-fat diet. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.**, London, v. 23, no. 2, p. 174-179, 1999.
- HEINTZE, S. D.; ZIMMERLI, B. Relevance of in vitro tests of adhesive and composite dental materials – a review in 3 parts – part 1: Approval requirements and standardized testing of composite materials according to ISO specifications. **Schw. Monats. Zahn.**, Bern, v. 121, n. 9, p. 810-816, Sept. 2011.

- HORI, F. S. **Resistência de união e análise quantitativa da camada híbrida através de espectroscopia micro-Raman de quatro sistemas adesivos**. 2012. 88 f. Tese (Doutorado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.
- ICONOMOPOULOU, S. M.; VOYIATZIS G. A., The effect of the molecular orientation on the release of antimicrobial substances from uniaxially drawn polymer matrixes. **J. Contr. Rel.**, Amsterdam, v. 103, no. 2, p. 451-464, Mar. 2005.
- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO Standard 4049**: dentistry resin-based filling materials. Geneva: Switzerland, 2000.
- JONES, R. D.; JAMPANI, H. B.; LEE, A. S. Triclosan: a review off effectiveness and safety in health care settings. **Am. J. Infect. Control.**, St. Louis, v. 28, no. 2, p. 184-196, 2000.
- KLAPDOHR, S.; MOSZNER, N. New inorganic components for dental filling composites. **Monatshefte Chemie.**, Vienna, v. 136, no. 1, p. 21–45, 2005.
- KUBOTA, N.; EGUCHI, Y. Facile preparation of water-soluble N-acetylated chitosan and molecular weight dependence of its water solubility. **Polym. J.**, Tokyo, v. 29, no. 2, p. 123–127, 1997.
- LARANJEIRA, M. C. M.; FÁVERE V. T. Quitosana: biopolímero funcional com potencial industrial biomédico. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 672-678, 2009.
- LEITUNE, V. C. et al. Niobium pentoxide as a novel filler for dental adhesive resin. **J. Dent.**, Kidlington, v. 41, no. 2, p. 106-113, 2013a.
- LEITUNE, V. C. et al. The addition of nanostructured hydroxyapatite to an experimental adhesive resin. **J. Dent.**, Kidlington, v. 41, no. 4, p. 321-327, 2013b.
- LEITUNE, V. C. et al. Niobium pentoxide as a new filler for methacrylate-based root canal sealers. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 46, no. 3, p. 205-210, 2013c.
- MELINTE V. et al. Photopolymerizable phosphate acrylates as comonomers in dental adhesives with or without triclosan monomer units. **Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl.**, Amsterdam, v. 1, no. 34, p. 176-185, Jan. 2014.
- MENEZES, D. P. B.; SANTOS, D. H. F.; PEIXOTO R. F. Potencial antibacteriano dos materiais restauradores frente às bactérias cariogênicas: uma revisão de literatura. **Rev. Bras. Ciênc. Saúde**, João Pessoa, v. 16, n. 3, p. 453-458, 2012.
- MISHRA, A.; PANDEY, R. K.; MANICKAM, N. Antibacterial effect and physical properties of chitosan and chlorhexidine-cetrimide-modified glass ionomer cements. **J. Indian Soc. Pedod. Prev. Dent.**, Chandigarh, v. 35, no. 1, p. 28-33, Jan./Mar. 2017.
- MOREIRA, A. C. A. et al. Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de antissépticos bucais. **Rev. Ciênc. Méd. Biol.**, Salvador, v. 8, n. 2, p. 153-161, maio/ago. 2009.

- NAVARRA, C. O. et al. Degree of conversion of Filtek Silorane adhesive system and Clearfil SE Bond within the hybrid and adhesive layer: an in situ Raman analysis. **Dent. Mater.**, Copenhagen, v. 25, no. 9, p. 1178-1185, Sept. 2009.
- NAVARRA, C.O. et al., Degree of conversion of self-etch adhesives: In Situ micro-raman analysis. **Op. Dent.**, Seattle, v. 41, no. 5, p. 501-510, Sept./Oct. 2016.
- NUDERA W. J. et al., Antimicrobial effect of triclosan and triclosan with Gantrez on five common endodontic pathogens. **J. Endod.**, New York, v. 33, no.10, p. 1239-1242, Oct. 2007.
- OGLIARI, P.G. **Longevidade das restaurações de resina composta em dentes posteriores – revisão de literatura.** 2015. 38 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade de Santa Cruz do Sul, Santa Cruz do Sul, 2015.
- OLIVEIRA, R. A. **Avaliação do efeito antimicrobiano in vitro de quitosana e da associação quitosana/clorexidina sobre saliva e Streptococcus mutans.** 2004. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia), Universidade de São Paulo, São Carlos, 2004.
- OPDAM, N. J. M. et al. Longevity of posterior composite restorations – a systematic review and meta-analysis. **J. Dent. Res.**, Chicago, v. 93, no. 10, p. 943-949, Oct. 2014.
- OUERGHEMMI, S. et al. Triclosan loaded electrospun nanofibers based on a cyclodextrin polymer and chitosan polyelectrolyte complex. **Int. J. Pharm.**, Amsterdam, v. 513, no. 1-2, p. 483-495, Nov. 2016.
- PENG, P. C. et al. Assessment of photodynamic inactivation against periodontal bacteria mediated by a chitosan hydrogel in a 3D gingival model. **Int. J. Molec. Sci.**, Basel, v. 17, no. 11, p. 1821, 2016.
- PINTO, P. F.; GONÇALVES, E. A. Avaliação da eficácia antimicrobiana dos enxaguatórios bucais contendo como princípios ativos o triclosan, cloreto de cetilpiridínio e óleos essenciais. **HU Rev.**, Juiz de Fora, v. 39, n. 3, p. 45-50, 2013.
- PORTELLA, F. F. Synthesis and characterization of a glycerol salicylate resin for bioactive root canal sealers. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 47, no. 4, p. 339-345, 2014.
- PORTO, I. C. C. M. et al. Comparative radiopacity of six current adhesives systems. **J. Conserv. Dent.**, Mumbai, v. 17, no. 1, p. 65-69, Jan./Feb. 2014.
- RATHKE A. et al. Antibacterial activity of a triclosan-containing resin composite matrix against three common oral bacteria, **J. Mater. Sci. Mater. Med.**, London, v. 21, no. 11, p. 2971–2977, Nov. 2010.
- RINAUDO, M. Chitin and chitosan: properties and applications. **Prog. Pol. Sci.**, London, v. 31, no. 7, p. 603-632, 2006.
- RINAUDO, M.; DOMARD, A. Solution properties of chitosan. In: SKJAK-BRAEK G.; ANTHONSEN T.; SANDFORD P. (Ed.). **Chitin and chitosan. Sources, chemistry, biochemistry, physical properties and applications.** London: Elsevier; 1989. p. 71–86.

- ROLLAND, S. L. et al. A randomised trial comparing the antibacterial effects of dentine primers against bacteria in natural root caries. **Caries. Res.**, New York, v. 45, no. 6, p. 574-580, 2011.
- SADEK, F. T. et al. The effect of long-term storage on the microleakage of composite resin restorations: qualitative and quantitative evaluation. **Pesqui. Odontol. Bras.**, São Paulo, v. 17, no. 3, p. 261-266, 2003.
- SABA-CHUJFI, E. et al. A eficácia da formulação contendo o anti-séptico triclosan associado ao copolímero gantrez e ao flúor, utilizada através de bochecho para controle químico da placa bacteriana. **Rev. Assoc. Bras. Odontol.**, São Paulo, v. 6, n. 3, p. 164-170, 1998.
- SCHIMIDT, R. O.; IWASAKI, K. Razões para substituição de restaurações. **Rev. UNINGÁ**, Iretama, v. 20, n. 2, p. 86-99, dez. 2014.
- SINGH N.J. et al. Structural basis of triclosan resistance. **J. Struct. Biol.**, San Diego, v. 174, no. 9, p. 173-179, Apr. 2011.
- SINHORETI, M. A. C. et al. Microtensile bond strength of adhesive systems in different dentin regions on a Class II cavity configuration. **Braz. Dent. J.**, Ribeirão Preto, v. 28, no. 4, p. 474-481, July/Aug. 2017.
- STANISLAWCZUK, R. et al. Effects of chlorhexidine-containing adhesives on the durability of resin-dentine interfaces. **J. Dent.**, Kidlington, v. 42, no. 1, p. 39-47, Jan. 2014.
- STEWART, M. J. Structural basis an mechanism of enoyl reductase inhibition by triclosan. **J. Mol. Biol.**, v. 290, no. 4, p. 859-865, July 1999.
- TARSI, R. et al. Inhibition of Streptococcus mutans adsorption to hydroxyapatite by low-molecular-weight chitosans. **J. Dent. Res.**, Chicago, v. 76, no. 2, p. 665-672, Feb.1997.
- TAVARIA, F. K. et al. A quitosana como biomaterial odontológico: estado da arte. **Rev. Bras. Eng. Bioméd.**, Rio de Janeiro, v. 29, no.1, p. 110-120, 2013.
- THOME, T. M. et al. In vitro analysis of inhibitory effects of the antibacterial monomer MDPB-containing restorations on the progression of secondary root caries. **J. Dent.**, Kidlington, v. 37, no. 9, p. 705-711, 2009.
- TYAS, M.J. et al. Minimal intervention dentistry-a review. **Int. Dent. J.**, Melbourne, v. 50, no. 12, p. 1-12, 2000.
- VIRGA, C. et al. A comparative study in vivo of the therapeutic effect of triclosan, hexetidine and chitosan. **Acta Odontol. Latinoam.**, Buenos Aires, v. 15, no. 1-2, p. 3-9, 2002.
- WANG, Z.; SHEN, Y.; HAAPASALO, M. Dental materials with antibiofilm properties. **Dent. Mater.**, Copenhagen, v. 20, n. 2, p. e1-e16, Feb. 2014.
- ZHANG, K., F. et al. Dual antibacterial agents of nano-silver and 12-methacryloyloxydodecylpyridinium bromide in dental adhesive to inhibit caries. **J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater.**, Hoboken, v. 101, n. 6, p. 929-938, 2013.

**ANEXO A – Carta de Anuência do Centro de Microscopia e Microanálise da
UFRGS**

Centro de Microscopia e Microanálise



DECLARAÇÃO

Declaro para os devidos fins que o Prof. Dr. Fabrício Mezzomo Collares possui projetos cadastrados no Centro de Microscopia e Microanálise d UFRGS para utilização de nossa infraestrutura.

Fátima Costa Rodrigues Gomes
Diretora
Centro de Microscopia e Microanálise
CMM/UFRGS

Porto Alegre, 29 de agosto de 2017.

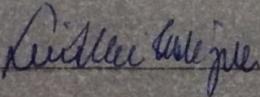
**ANEXO B – Carta de Concordância do Laboratório de Bioquímica e
Microbiologia UFRGS**



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

Venho por meio deste documento comunicar que os alunos participantes de projetos sob coordenação dos professores Fabrício Mezzomo Collares ou Vicente Castelo Branco Leitune estão autorizados a utilizar o equipamento e sistema de digitalização Vistascan para processamento de tomadas radiográficas do Laboratório de Bioquímica e Microbiologia da Faculdade de Odontologia da UFRGS.

Att.


Lina Hashizume

ANEXO C - Carta de Doação dos Dentes Bovinos



Frigorífico São Leopoldo Ltda
CNPJ: 09.249.884/0001-97
Estr. Ivo Afonso Dias, s/n
São Leopoldo – RS



São Leopoldo, 14 abril de 2015.

À equipe do Laboratório de Materiais Dentários de UFRGS,

O Frigorífico São Leopoldo Ltda, fez a doação de 120 (cento e vinte) carcaças de mandíbulas bovinas ao Laboratório de Materiais Dentários da Universidade Federal do Rio Grande Do Sul, para utilização dos dentes em atividades de ensino e pesquisa. Afirmamos que tais carcaças são provenientes de animais de corte, abatidos exclusivamente para consumo de carne, e que seriam descartadas.



Atenciosamente,

Excelência em Qualidade


Roberto Cantarelli Hoffmann
Diretor

DISPOSIÇÃO
Declaração do Estabelecimento: Matadouro Frigorífico de Bovinos
COCIF Nº 09.249.884/0001-97 E 1241048781
Endereço: Rua Ivo Afonso Dias S/N São Leopoldo - RS
Este estabelecimento, sob Inspeção Federal, está transportando
produtos inspecionados, devidamente embalados com rotulagem e/ou
identificação conformada.
Assim, nos termos da Portaria SEARA Nº 007/2009 de 18/01/2009,
pode circular no território do Estado do Rio Grande do Sul sem Certificado
Sanitário de Produtos Carnosos, mas está sujeito a Re-inspeção!

09.249.884/0001 - 97
FRIGORÍFICO SÃO LEOPOLDO LTDA
Rua Ivo Afonso Dias - s/nº
B São Leopoldo - CEP 93032-900
São Leopoldo - RS

ANEXO D – Carta de Concordância do Departamento de Microbiologia do ICBS**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA, IMUNOLOGIA E PARASITOLOGIA**

Venho por meio deste documento, comunicar que o projeto abaixo relacionado encontra-se em desenvolvimento em meu LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA (222-C), localizado no Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia da UFRGS.

PROJETO:

INFLUÊNCIA DA QUITOSANA COM TRICLOSAN NAS PROPRIEDADES DE UMA RESINA EXPERIMENTAL

Aluna: Isadora Martini Garcia

Prof. Fabrício Mezzomo Collares

Faculdade de Odontologia da UFRGS, Departamento de Odontologia Conservadora, Laboratório de Materiais Dentários.

Sem mais
Atenciosamente



Porto Alegre, 30 de outubro de 2017.

Prof Dra Amanda de Souza da Motta

Prof Associado do Demip

Prof.ª Dr.ª Amanda de Souza da Motta
Médica Veterinária

amanda.motta@ufrgs.br

33084111