



Evaluación de la actividad antibacterial de ionómeros de vidrio modificados por la incorporación de clorhexidina y su impacto sobre la resistencia a la compresión y a la adhesión

Mayra Liset García González,* Aileen Naomi Caudillo Guardado,[§] David Hernández Maldonado,[†] José Zacarías Jaime Flores León,^{*}|| Eduardo Castro Ruiz,^{*}|| Rubén Abraham Domínguez Pérez^{*}||

* Laboratorio Multidisciplinario de Investigación Odontológica, Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Querétaro. México.

[§] Estudiante de Licenciatura en Odontología, Escuela Nacional de Estudios Superiores Unidad León, UNAM. México.

[†] Estudiante de Licenciatura en Cirujano Dentista de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. México.

|| Departamento de Especialización en Prosthodontia, Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Querétaro. México.

RESUMEN

Introducción: Se ha demostrado que los cementos de ionómero de vidrio no poseen actividad antimicrobiana suficiente a pesar de poseer excelentes propiedades que lo hacen un material con muy diversas aplicaciones clínicas. **Objetivo:** Determinar si la incorporación de clorhexidina a los cementos de ionómero de vidrio les proporciona mayor actividad antimicrobiana y si esta incorporación afecta su resistencia a la compresión y a la adhesión. **Material y métodos:** Se incorporaron diferentes proporciones de clorhexidina al 0.2% a ionómeros tipo I y II. Se realizaron pruebas de difusión en agar y de resistencia a la compresión y a la adhesión a la dentina. **Resultados:** Se observó un aumento estadísticamente significativo en la actividad antimicrobiana de los cementos al incorporar la clorhexidina y no se encontraron diferencias significativas en la resistencia a la compresión ni a la adhesión a la dentina. **Conclusión:** La incorporación de clorhexidina en las proporciones estudiadas parece ser una opción para proveer de una mayor actividad antimicrobiana a los cementos de ionómero de vidrio sin afectar algunas de sus propiedades físicas.

Palabras clave: Cemento de ionómero de vidrio, clorhexidina, *S. mutans*, resistencia a la compresión, resistencia a la adhesión.

INTRODUCCIÓN

En la odontología actual los cementos de ionómero de vidrio (CIV) son ampliamente utilizados en los tra-

tamientos preventivos y restaurativos, su uso extendido es gracias a sus excelentes propiedades que lo hacen un material versátil y con muy diversas aplicaciones clínicas.¹

Su bajo pH durante el fraguado y la liberación de iones de flúor son los responsables de contribuir en la remineralización de la dentina y de su efecto antibacteriano.^{2,3} Sin embargo, se ha demostrado que este efecto no es suficiente para evitar la adherencia o formación de biopelículas, principalmente por el *Streptococcus mutans*.^{4,5}

Así como ésta se han descrito algunas otras limitantes de los CIV, y desde hace tiempo se han realizado diversos trabajos en busca de perfeccionarlos, mejorar aquellas pocas propiedades que resultan deficientes al incorporarles diferentes aditivos como el quitosano,⁶ caseína,⁷ hidroxiapatita,⁸ partículas bioactivas de vidrio,⁹ zirconia¹⁰ y clorhexidina (CHX),¹¹⁻¹⁵ con esta última se busca principalmente un incremento en sus propiedades antibacteriales.

La CHX es una sustancia antiséptica ampliamente utilizada en la odontología, posee un amplio espectro antibacterial, tanto para Gram positivos como para Gram negativos e incluso contra algunos hongos. Es considerada un compuesto seguro con mínimos efectos adversos. Se puede encontrar en diversas presentaciones, las principales son en líquidos, geles y aerosoles.¹⁶ Además de sus usos comunes también ha sido agregada a diversos materiales, incluidos los CIV, en un intento de proveerlos de una mejor actividad antimicrobiana. Sin embargo, estas incorporaciones de otras sustancias muchas veces han alterado otras propiedades de los CIV, principalmente físicas y/o mecánicas.^{12,15,17}

Debido a que en los estudios disponibles en donde a los CIV les incorporan CHX tipo grado reactivo y/o

Recibido: Septiembre 2019. Aceptado: Enero 2020.

Citar como: García GML, Caudillo GAN, Hernández MD, Flores LJZJ, Castro RE, Domínguez PRA. Evaluación de la actividad antibacterial de ionómeros de vidrio modificados por la incorporación de clorhexidina y su impacto sobre la resistencia a la compresión y a la adhesión. Rev Odont Mex. 2020; 24 (3): 198-205.

© 2020 Universidad Nacional Autónoma de México, [Facultad de Odontología]. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

en formulaciones que no están fácilmente al alcance del odontólogo es que se decidió utilizar para este estudio CHX comercial y de uso odontológico para así determinar si esta mezcla de materiales comunes presenta mayor actividad antimicrobiana y si esta incorporación de CHX afecta su resistencia a la compresión y a la adhesión.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los materiales utilizados para esta investigación fueron los CIV tipo I (GC Gold Luting & Lining Cement®) y tipo II (GC Gold Label Universal Restorative®), y la CHX al 0.2% (Viarclean-up®). Las preparaciones fueron realizadas conforme a las instrucciones del fabricante, para el cemento tipo I (1:2) y para el tipo II (1:1). Para lograr esto con exactitud se pesaron polvos y líquidos.

Todas las preparaciones se realizaron en el Laboratorio de Investigación Odontológica Multidisciplinaria a 25 ± 1 °C y humedad relativa de $50 \pm 10\%$. Para cada prueba se realizaron especímenes distintos y con las características necesarias para cada una, éstas se detallan más adelante. En cada prueba y para cada tipo de CIV se analizaron cuatro grupos: el grupo 1 en donde los materiales no incluyeron la incorporación de CHX; en el grupo 2 se incorporó 5% (v/v) de CHX al líquido del CIV justo antes de la mezcla; en el grupo 3 se le añadió 10% (v/v) y en el grupo 4, 15% (v/v) de CHX.

Actividad antibacterial

Para la evaluación de la actividad antibacterial se utilizó la prueba de difusión en agar, la cual es y ha sido ampliamente utilizada para determinar el potencial antibacterial que tienen los materiales.¹⁸

Se utilizaron 20 cajas de cultivo (10 para evaluar al CIV tipo I y 10 para el tipo II) con agar cerebro corazón. La cepa seleccionada fue el *Streptococcus mutans* (ATCC 35665) a partir del cual se cultivó en 10 mL de infusión cerebro corazón (BHI) a 37 °C. Veinticuatro horas después se ajustó la suspensión con una turbidez comparable con la escala 0.5 de McFarland que corresponde a aproximadamente 1.5×10^8 UFC/mL, la cual se verificó usando un espectrofotómetro.

Se procedió a colocar 300 μ L de la suspensión en cada una de las cajas y a distribuirlo de manera uniforme sobre la superficie, dejándolo durante 30 minutos a temperatura ambiente mientras se pesaban los componentes de todas las mezclas de los CIV. Una vez realizada cada una de las mezclas se empaparon por un solo lado discos de papel filtro de 6 mm de diámetro. Se colocó un disco correspondiente a cada grupo por caja de cultivo, posteriormente en el centro

de cada una de las cajas se colocó un papel filtro con 6 μ L de CHX como control.

Todas las cajas se colocaron en un recipiente con cierre hermético y anaerobiosis parcial a 37 °C durante 24 horas. Una vez concluidas se midieron los halos de inhibición de cada una de las mezclas y los valores fueron registrados en una base de datos.

Resistencia a la compresión

Se fabricaron 48 especímenes cilíndricos (seis especímenes por grupo para cada CIV) de 4 mm de diámetro y 6 mm de espesor. Para la elaboración de los mismos se utilizó un molde prefabricado de aluminio en el cual se compactaron los materiales inmediatamente después de la mezcla e incorporación (en su caso) de la CHX. Una vez que los especímenes fraguaron se retiraron del molde y se revisaron en un microscopio estereoscópico en busca de irregularidades o defectos en su superficie, se descartaron aquellos especímenes defectuosos. Cada espécimen fue pesado en una balanza analítica y también fueron descartados aquellos cuyo peso fuera ± 0.005 g del promedio de cada grupo. Posterior a ello cada espécimen fue transferido a un tubo Eppendorf con 1 mL de agua destilada estéril y mantenido a 37 °C durante 24 horas.

Cumplidas las 24 horas cada muestra se colocó entre los aditamentos de compresión de la máquina universal de pruebas (CMS Metrology), la cual se programó a una velocidad de cruce de 1 mm/min. La fuerza de compresión máxima que se registró en Newtons (N) fue hasta la fractura del espécimen y esa se consideró como la «resistencia a la compresión» de cada uno.

Resistencia de adhesión a la dentina

Para esta prueba se utilizaron 40 dientes anteriores maxilares y mandibulares íntegros, los cuales fueron donados por pacientes de las clínicas odontológicas de la Facultad de Medicina de la UAQ (durante 2018-2019) que requirieron extracciones por motivos periodontales y/o protésicos. Todos fueron almacenados en agua destilada hasta completar el número final. Se excluyeron dientes con fisuras y/o fracturas y aquellos con caries o restauraciones en la superficie vestibular. Los dientes extraídos se colocaron en moldes de plástico y fueron recubiertos con acrílico autocurable, dejando la porción coronaria libre para realizar el desgaste y exposición de la dentina. Se utilizó una pieza de alta velocidad con una fresa de carburo troncocónica de 0.4 mm de diámetro para estandarizar el desgaste. Después, se utilizó un disco de carburo de

3.6 mm de diámetro para uniformar la superficie de la dentina. Todo el proceso de desgaste se llevó a cabo con irrigación constante y dentro de una campana de extracción. Cada diente fue evaluado en un microscopio estereoscópico para verificar que la superficie fuera uniforme y no quedaran restos de esmalte. Se lijaron con una lija de grano extrafino del «600» en sentido vertical de manera uniforme durante 30 segundos y con irrigación constante, se lavaron y colocaron en tina ultrasónica con agua destilada estéril durante 10 minutos.

Se diseñaron cuadrados de 1.5 cm por lado en cera rosa de 3 mm de espesor y en el centro se realizó una perforación circular de 3 mm de diámetro con ayuda de una punta estandarizada. Usando estos moldes sobre la superficie de la dentina se colocaron y compactaron las diferentes mezclas de CIV respectivas.

Por último, las piezas dentales con su «incremento» de CIV se mantuvieron sumergidas en agua destilada estéril a 36 °C durante 24 horas. Transcurrido este tiempo se procedió a realizar la prueba de resistencia a la adhesión (cizallamiento). Se aplicó una carga de corte en la unión entre el CIV y la dentina a una velocidad de cruce de 0.5 mm/min, registrando los Newtons (N) de fuerza necesarios hasta el desprendimiento total.

Se calculó la resistencia a la adhesión en megapascuales (MPa), de acuerdo con la fórmula: resistencia a la adhesión = F/A, en la que F es la fuerza registrada en N y A es el área en mm² de la superficie del CIV colocado sobre la dentina.

Una vez realizadas las pruebas se inspeccionaron las superficies de dentina en donde se colocó el CIV, se utilizó el microscopio estereoscópico y se clasificaron en tres de acuerdo con el tipo de falla presente: 1. Falla adhesiva, en la que se observó de 0-5% de remanente de CIV sobre la superficie de la dentina, 2.

Falla cohesiva, en donde se contempló más del 90% de la superficie de la dentina un remanente de CIV, y 3. Falla mixta, en la cual se advirtió entre seis y 89% de remanente de cemento sobre la dentina.

Análisis estadístico

Todos los resultados fueron recolectados en una base de datos. Se determinó la distribución de los valores cuantitativos a través de la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Los resultados se presentan como promedios, desviación estándar y rango en tablas y gráficas. Para determinar la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre los grupos se aplicó ANOVA y la prueba *post hoc* de Tukey. Para la única variable cualitativa (tipo de falla) se presenta frecuencia y porcentaje. Se consideró significancia estadística cuando $p \leq 0.05$.

RESULTADOS

Los resultados de la prueba de actividad antibacterial por difusión en agar se muestran en la *Figura 1*, en la cual se puede observar que ambos CIV sin CHX poseen nula inhibición del crecimiento de *Streptococcus mutans* (se reportan los 6 mm de diámetro del disco solamente), esta inhibición fue detectable a partir de la incorporación de CHX al 5%; sin embargo, esto no fue estadísticamente significativo. A partir de la incorporación de 10% de CHX se observó un aumento estadísticamente significativo en la actividad antibacterial frente a *Streptococcus mutans*, siendo la incorporación de CHX al 15% la que presentó mayor inhibición; sin embargo, no existió diferencia estadísticamente significativa entre la inhibición mostrada con 10 y 15%. El control con CHX mostró la mayor inhi-

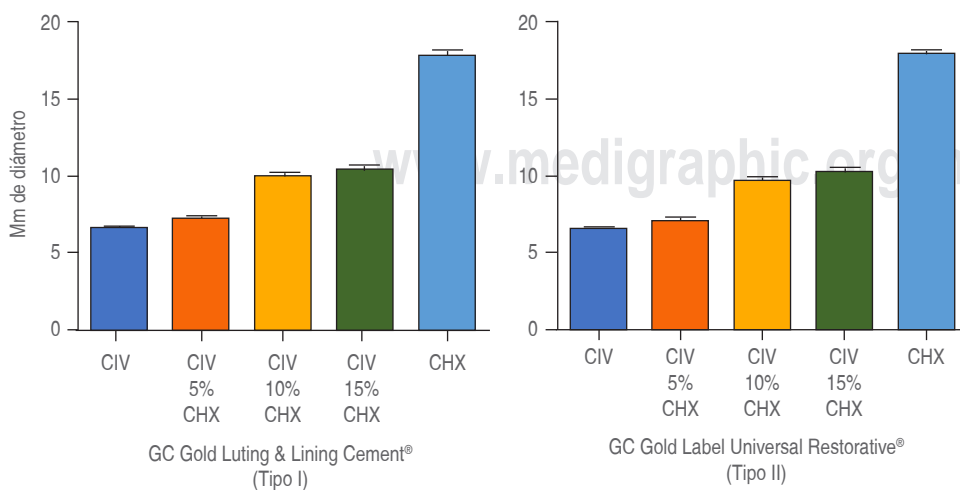


Figura 1:

Prueba de actividad antibacterial por difusión en agar.

Results of agar diffusion test for antibacterial activity.

Tabla 1: Comparación de la resistencia a la compresión (N) y la resistencia a la adhesión (MPa) de los dos tipos de cements de ionómero de vidrio sin clorhexidina y con las tres diferentes concentraciones.

Comparison of the compressive strength (N) and the bond strength (MPa) of the two types of glass ionomer cements without chlorhexidine and with the three different concentrations.

| | Control (n = 6) | CHX 5% (n = 6) | CHX 10% (n = 6) | CHX 15% (n = 6) | p |
|-----------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|--------|
| Resistencia a la compresión | Media ± DE (rango) | | | | |
| Tipo I | 620 ± 136 (444-750) | 612 ± 93 (468-745) | 634 ± 200 (279-699) | 513 ± 151 (208-633) | 0.5268 |
| Tipo II | 633 ± 247 (481-1,077) | 618 ± 161 (465-697) | 543 ± 286 (256-946) | 750 ± 133 (598-930) | 0.4416 |
| Resistencia a la adhesión | Media ± DE (rango) | | | | |
| Tipo I | 6.86 ± 0.22 (6.66-7.20) | 6.71 ± 0.73 (5.66-7.70) | 6.46 ± 0.72 (5.66-7.46) | 5.96 ± 1.17 (4.70-7.66) | 0.2479 |
| Tipo II | 6.30 ± 0.86 (5.33-7.42) | 6.23 ± 0.62 (5.43-6.99) | 5.79 ± 0.48 (5.12-6.32) | 5.84 ± 0.84 (4.98-7.23) | 0.5137 |

DE = desviación estándar. ANOVA.

bición siendo diferente estadísticamente de todos los grupos.

En la *Tabla 1* se muestra la comparación entre los diferentes grupos con respecto a la resistencia a la compresión (N) y a la adhesión (MPa) de ambos cements con la incorporación de los diferentes porcentajes de CHX, para ningún caso existió diferencia estadísticamente significativa.

El 87 y 95.8% de las pruebas realizadas con los CIV tipo I y con tipo 2, respectivamente, presentaron fallas adhesivas, mientras que el resto fueron mixtas y en ningún caso se presentó falla cohesiva.

DISCUSIÓN

La incorporación de compuestos antibacteriales en los CIV es prometedora y con mucho potencial, pues traería diversos beneficios para los pacientes, se lograría prevenir caries recurrentes, sobre todo en los márgenes de la restauración, se inhibiría la formación de placa en sus superficies y en superficies dentales cercanas a la restauración, e incluso se contribuiría a reducir el número de bacterias en la saliva y en la cavidad oral en general.¹⁵

La incorporación de CHX parece ser una buena opción pues se han realizado diversos reportes en donde al incorporarla al CIV le confiere propiedades antibacteriales, aunque de manera controvertida algunos autores han reportado que esta incorporación perjudica algunas de sus propiedades físicas.¹²

Dos de las propiedades físicas más importantes del CIV son la resistencia a la compresión y la resistencia a la adhesión, la primera proporciona información acerca de la resistencia que tendrá el material frente a las fuerzas de la masticación, y la segunda permite dar una idea de la adecuada retención a la estructura dental, además está directamente relacionada con el

sellado marginal y, por lo tanto, con evitar la microfiliación marginal.

Es bien sabido que las propiedades físicas de los CIV están influenciadas por cómo los cements son preparados, incluyendo la relación polvo-líquido, el tamaño de partícula en el polvo e incluso el envejecimiento de los especímenes. Además de que cada marca de CIV presenta variaciones en sus componentes y éstas podrían incluso variar en una misma marca con diferentes lotes de producción. Por todo esto, se debe tener cuidado al generalizar acerca de las propiedades de los CIV, sobre todo cuando se le incorporan productos o son modificadas sus proporciones de mezcla.

En esta investigación, al utilizar los CIV tipo I GC Gold Luting & Lining Cement® y tipo II GC Gold Label Universal Restorative® en preparación estricta a como lo indica el fabricante y con la incorporación de CHX al 0.2% (Viarclean-up®) en diferentes proporciones, observamos que se obtuvo un efecto antibacterial que fue incrementando conforme aumentaba la proporción de CHX, esto coincide con reportes previos de Botelho¹¹ y Ribeiro,¹⁴ pero no con Jedrychowski¹⁵ ni con Takahashi.¹⁹ Sin embargo, aunque se observó que el efecto aumentaba, este aumento no fue estadísticamente significativo para todos los casos, lo que indicaría que la proporción ideal a incorporar sería el 10% para ambos CIV.

Por otro lado, la misma incorporación de CHX no mostró cambios estadísticamente significativos en la resistencia a la compresión ni en la adhesión. Nuestros resultados son distintos a lo reportado por Palmer y colaboradores,¹² quienes reportaron que conforme aumenta la cantidad de CHX incorporada a los CIV se observa disminución de la fuerza a la compresión de los mismos.

Es una realidad que los estudios realizados *in vitro* no contemplan todas las variables presentes en la

boca, y por lo tanto los resultados que éstos generan no pueden ser extrapolados a una situación clínica, por lo que más estudios *in vitro* que consideren otras variables y que evalúen otras propiedades físicas que podrían verse alteradas deben ser realizados, además de ser necesaria la realización de ensayos clínicos para considerar efectuar esta práctica de incorporar CHX durante la preparación de estos CIV.

Por lo pronto, los CIV tipo I GC Gold Luting & Lining Cement® y tipo II GC Gold Label Universal Restorative® modificados por la incorporación de CHX 0.2% (Viarclean-up®) parecen ser una opción prometedora que les provee propiedades antibacteriales significativas sin alterar su resistencia a la compresión ni a la adhesión a la dentina de forma significativa.

CONCLUSIÓN

La incorporación de CHX al 0.2% (Viarclean-up®) al cinco, 10 o 15% incrementa la actividad antibacteriana de los cementos de vidrio tipo I GC Gold Luting & Lining Cement® y tipo II GC Gold Label Universal Restorative® sin comprometer de manera significativa la resistencia a la compresión ni la resistencia a la adhesión a la dentina.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos el apoyo a los programas: Verano de la Ciencia UAQ 2019, 21° Verano de la Ciencia Región Centro 2019 y al XXIX Verano de la Investigación Científica de la Academia Mexicana de las Ciencias. Gracias a su apoyo tres alumnos de pregrado (autores de este artículo) pudieron conocer y trabajar en este proyecto de investigación en el Laboratorio de Investigación Odontológica Multidisciplinaria de la Universidad Autónoma de Querétaro.

Original research

Evaluation of the antibacterial activity of glass ionomers modified by the incorporation of chlorhexidine and its impact on the compressive strength and bond strength

Mayra Liset García González,*
Aileen Naomi Caudillo Guardado,§
David Hernández Maldonado,¶
José Zacarías Jaime Flores León,*||

Eduardo Castro Ruiz,*||
Rubén Abraham Domínguez Pérez*||

* Laboratorio Multidisciplinario de Investigación Odontológica, Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Querétaro. México.

§ Estudiante de Licenciatura en Odontología, Escuela Nacional de Estudios Superiores Unidad León, UNAM. México.

¶ Estudiante de Licenciatura en Cirujano Dentista de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. México.

|| Departamento de Especialización en Prosthodontia, Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Querétaro. México.

ABSTRACT

Introduction: Even though glass ionomer cements have excellent properties for various clinical applications, they have been shown not to have sufficient antimicrobial activity. **Objective:** To determine if the incorporation of chlorhexidine into glass ionomer cements provides them with greater antimicrobial activity and if this incorporation affects their bond strength and compressive strength.

Material and methods: Different proportions of 0.2% chlorhexidine were incorporated to ionomers type I and II. Compressive strength, bonding to dentin and agar diffusion tests were performed. **Results:** When incorporating chlorhexidine, a statistically significant increase in the antimicrobial activity of the cements was observed and no significant differences were found in compressive strength or bonding to dentin. **Conclusion:** The incorporation of chlorhexidine in the proportions studied seems to be an option to provide greater antimicrobial activity to glass ionomer cements without affecting some of their physical properties.

Keywords: Glass ionomer cement, chlorhexidine, *S. mutans*, compressive strength, bond strength.

INTRODUCTION

Glass ionomer cement (GICs) are widely used in preventive and restorative dental treatments, as their excellent properties make them a versatile material with very diverse clinical applications.¹ The fluoride ions they release and their low pH during setting contribute to the remineralization of dentin and its antibacterial effect.^{2,3}

However, it has been shown that this effect is not sufficient to prevent adherence or formation of biofilms, mainly due to *Streptococcus mutans*.^{4,5}

For a long time, various works have been carried out in order to improve GICs by incorporating different additives such as chitosan,⁶ casein,⁷ hydroxyapatite,⁸ bioactive glass particles,⁹ zirconia,¹⁰ and chlorhexidine (CHX),¹¹⁻¹⁵ the latter mainly seeking to increase their antibacterial properties.

CHX is an antiseptic substance widely used in dentistry. It has a broad antibacterial spectrum, both for Gram-positive and Gram-negative and even against some fungi. It is considered a safe compound with minimal adverse effects. It can be found in various presentations, the main ones being liquids, gels, and

aerosols.¹⁶ However, these incorporations of other substances have often altered other properties of GICs, mainly physical and/or mechanical.^{12,15,17}

Available studies reporting the incorporation of CHX to GICs use reagent grade CHX and/or in formulas that are not easily available to the dentist. For this paper, it was decided to use commercial dental CHX in order to determine if this mixture of common materials has greater antimicrobial activity and if it affects its bond strength and compressive strength.

MATERIAL AND METHODS

The materials used for this research were type I GIC (GC Gold Luting & Lining Cement[®]) and type II GIC (GC Gold Label Universal Restorative[®]) and CHX at 0.2% (Viarclean-up[®]). The preparations were made according to the manufacturer's instructions: for cement type I (1:2) and type II (1:1). To achieve this accurate powders and liquids were weighed.

All preparations were made in a multidisciplinary dental research laboratory at 25 ± 1 °C and relative humidity of $50 \pm 10\%$. Different specimens were used for each test and with the necessary characteristics for each one, which are detailed further on.

In each test and for each type of GIC, 4 groups were analyzed. Group 1 in which CHX was not incorporated into the materials; group 2 in which 5% (w/w) of CHX was incorporated to the GIC liquid just before mixing; group 3 to which 10% (w/w) was incorporated and group 4, to which 15% (w/w) of CHX was incorporated.

Antibacterial activity

To evaluate the antibacterial activity, the agar diffusion test was used, widely used to determine the antibacterial potential of the materials.¹⁸

Twenty culture boxes (10 to evaluate type I and 10 for type II GIC) were used with brain-heart agar. *Streptococcus mutans* (ATCC 35665) were grown in a 10 mL infusion at 37 °C. 24 hours later, the suspension was adjusted to turbidity comparable to McFarland's 0.5 scale corresponding to approximately 1.5×10^8 CFU/mL, which was verified with a spectrophotometer.

300 μ L of the suspension was placed in each of the boxes and distributed evenly on the surface, left for 30 minutes at room temperature while the components of all the GIC mixtures were weighed. 6 mm diameter filter paper discs were soaked on one side with each of the mixtures. A disc corresponding to each group was placed per culture box. Subsequently, in the center of each of the boxes, a filter paper with 6 μ L of CHX as control, was placed.

All boxes were placed in a hermetically sealed container with partial anaerobiosis at 37 °C for 24 hours and then the inhibition halos of each of the mixtures were measured and the values were registered in a database.

Compressive strength

48 cylindrical specimens (6 specimens per group for each GIC) of 4 mm in diameter and 6 mm thick were manufactured using a precast aluminum mold in which the materials were compacted immediately after mixing and incorporation (if applicable) of the CHX. Once the specimens had been set, they were removed from the mold and checked under a stereomicroscope for irregularities or defects on their surface, discarding those defective specimens.

Each specimen was weighed on an analytical balance and those whose weight was ± 0.005 g of the average of each group were also discarded. After that, each specimen was transferred to an Eppendorf tube with 1 mL of sterile distilled water and kept at 37 °C for 24 hours.

After 24 hours, each sample was placed between the compression attachments of the universal testing machine (CMS Metrology) which was programmed at a cruising speed of 1 mm/min. The maximum compression force that was recorded in Newtons (N) was until the specimen fracture and this was considered as the «compressive strength» of each one.

Bonding to dentin

For this test, 40 intact maxillary and mandibular anterior teeth were used, which were donated by patients from the dental clinics of the *Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Querétaro* (during 2018-2019) that required extractions for periodontal and/or prosthetic reasons. All were stored in distilled water until completing the final number.

Teeth with fissures and/or fractures and those with caries or restorations on the vestibular surface were excluded.

Extracted teeth were placed in plastic molds and covered with auto-curing acrylic, leaving the coronal portion free to wear and expose the dentin.

A high-speed part with a 0.4 mm diameter frustoconical carbide bur was used to standardize wear.

Subsequently, a 3.6 mm diameter carbide disc was used to uniform the dentin surface. The entire wear process was carried out with constant irrigation and inside an extraction hood.

Each tooth was evaluated under a stereomicroscope to verify that the surface was uniform and that there

were no traces of enamel. They were sanded with a fine-grit «600» sandpaper vertically and uniformly for 30 seconds and with constant irrigation, they were washed and placed in an ultrasonic tub with sterile distilled water for 10 minutes.

1.5 squares per side were designed in 3 mm thick pink wax and a 3 mm diameter circular perforation was made in the center using a standardized tip. Using these molds on the dentin surface the different respective GICs mixtures were placed and compacted.

Finally, the teeth with GICs were immersed in sterile distilled water at 36 °C for 24 hours. And then the bonding strength test (shear) was carried out.

A shear load was applied at the junction between the GICs and the dentin at a cruising speed of 0.5 mm/min, recording the Newtons (N) of force required until total detachment.

The bond strength was calculated in MPa, according to the formula: bond strength = F/A, where F is the force recorded in N and A is the area in mm² of the surface of the GIC placed on the dentin.

Once the tests had been carried out, the dentin surfaces where the GICs was incorporated were inspected using the stereomicroscope and classified according to the type of failure: 1. Adhesive failure, where 0 to 5% of the remaining GIC was observed on the dentin surface. 2. Cohesive failure, where a remnant of the GICs was observed over 90% of the dentin surface, and 3. Mixed failure where between 6 and 89% of the cement remainder on the dentin was observed.

Statistical analysis

All the results were collected in a database. The distribution of quantitative values was determined through the Smirnov Kolmogorov test. The results are presented as means, standard deviation and range in tables and graphs.

To determine statistically significant differences between the groups, ANOVA and Tukey's post hoc test were applied. For the only qualitative variable (type of failure) frequency and percentage are presented. Statistical significance was considered when $p \leq 0.05$.

RESULTS

The results of the agar diffusion test for antibacterial activity are shown in *Figure 1*, where it can be seen that both GIC without CHX have zero inhibition of the growth of *Streptococcus mutans* (the 6 mm disc diameter is only reported). This inhibition was detectable from 5% CHX incorporation. However, this was not statistically significant.

From 10% CHX incorporation, a statistically significant increase in antibacterial activity against *Streptococcus mutans* was observed, and it was the 15% CHX incorporation that presented the greatest inhibition. However, there was no statistically significant difference between the inhibition shown with 10 and 15%. The control with CHX showed the highest inhibition, being statistically different from all of the groups.

Table 1 shows the comparison between the different groups regarding the compressive strength (N) and the bond strength (MPa) of both types of cements with the incorporation of the different percentages of CHX. In no case was there a statistically significant difference.

87% and 95.8% of the tests carried out with type I GICs and type 2 GICs, respectively, presented adhesive failures, while the rest were mixed, and in no case did the cohesive failure occurs.

DISCUSSION

Incorporating antibacterial compounds in GICs is promising and has great potential, as it would bring several benefits to patients. Recurrent caries would be prevented, especially on margins of restoration; the formation of plaque on their surfaces and dental surfaces close to the restoration would be inhibited, and it would even contribute to reducing the number of bacteria in saliva and the oral cavity in general.¹⁵

Several studies have been carried out that report that incorporating CHX into GICs confers them antibacterial properties. However, other investigations have concluded that it damages some of their physical properties.¹²

Two of the most important physical properties of GICs are compressive strength and bond strength. The first one provides information about the resistance that the material will have against the forces of mastication. The second one allows to have an idea of adequate retention to the dental structure and is also directly related to marginal sealing and therefore avoiding marginal microfiltration.

It is known that the physical properties of GICs can be affected by the way in which the cements are prepared, including the powder-liquid ratio, the particle size in the powder, and even the aging of the specimens. Besides, each GIC commercial brand presents variations in its components and could even vary in different production batches of the same brand. For all this, care must be taken when generalizing about properties of the GICs, especially when products are incorporated or their mixing proportions are modified.

In this research, the GICs type I GC Gold Luting & Lining Cement® and type II GC Gold Label Universal Restorative® were used in strict preparation, as indica-

ted by the manufacturer and with the incorporation of CHX at 0.2% (Viarclean-up®) in different proportions, an antibacterial effect was obtained that increased as the proportion of CHX increased. This is consistent with previous reports by Botelho¹¹ and Ribeiro¹⁴ but not with Jedrychowski¹⁵ or Takahashi.¹⁹

It was observed that although the effect increased, this was not statistically significant for all the cases, which would indicate that the ideal proportion to incorporate would be 10% for both GICs.

On the other hand, the same incorporation of CHX did not show statistically significant changes in compressive strength or bond strength. Our results are different from those reported by Palmer et al.¹² who concluded that as the amount of CHX incorporated into GICs increases, a decrease in compressive strength is observed.

As for the in vitro studies, these do not contemplate all the variables present in the mouth, so their results cannot be extrapolated to a clinical situation, so more in vitro studies should be carried out that consider other variables and that evaluate other physical properties that could be altered. Clinical trials are also necessary to consider carrying out the practice of incorporating CHX during the preparation of these GICs.

At the moment, the GIC type I GC Gold Luting & Lining Cement® and GIC type II GC Gold Label Universal Restorative® modified by the incorporation of CHX at 0.2% (Viarclean-up®) seem to be a promising option that provides them with important antibacterial properties without altering their compressive strength and dentin bond strength significantly.

CONCLUSION

Incorporating CHX at 0.2% (Viarclean-up®) at 5%, 10%, or 15% increases the antibacterial activity of type I glass cements GC Gold Luting & Lining Cement® and type II GC Gold Label Universal Restorative® without significantly compromising the compressive strength and dentin bond strength.

ACKNOWLEDGEMENTS

Thanks to the support of the programs «Verano de la Ciencia UAQ 2019», «21º Verano de la Ciencia Región Centro 2019» and «XXIX Verano de la Investigación Científica de la Academia Mexicana de las Ciencias», three undergraduate students (authors of this article) were able to meet and work on this project of research in the Laboratorio de Investigación Odontológica Multidisciplinaria de la Universidad Autónoma de Querétaro.

REFERENCIAS / REFERENCES

1. Sidhu SK, Nicholson JW. A review of glass-ionomer cements for clinical dentistry. *J Funct Biomater*. 2016; 7: 16.
2. DeSchepper EJ, White RR, von der Lehr W. Antibacterial effects of glass ionomers. *Am J Dent*. 1989; 2: 51-56.
3. Vermeersch G, Leloup G, Delmee M, Vreven J. Antibacterial activity of glass-ionomer cements, compomers and resin composites: relationship between acidity and material setting phase. *J Oral Rehabil*. 2005; 32: 368-374.
4. Eick S, Glockmann E, Brandl B, Pfister W. Adherence of *Streptococcus mutans* to various restorative materials in a continuous flow system. *J Oral Rehabil*. 2004; 31: 278-285.
5. Mukai Y, ten Cate JM. Remineralization of advanced root dentin lesions in vitro. *Caries Res*. 2002; 36: 275-280.
6. Ibrahim MA, Neo J, Esguerra RJ, Fawzy AS. Characterization of antibacterial and adhesion properties of chitosan-modified glass ionomer cement. *J Biomater Appl*. 2015; 30: 409-419.
7. Al Zraikat H, Palamara JEA, Messer HH, Burrow MF, Reynolds EC. The incorporation of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate into a glass ionomer cement. *Dent Mater*. 2011; 27: 235-243.
8. Lucas ME, Arita K, Nishino M. Toughness, bonding and fluoride-release properties of hydroxyapatite-added glass ionomer cement. *Biomaterials*. 2003; 24: 3787-3794.
9. Yli-Urpo H, Lassila LVJ, Narhi T, Vallittu PK. Compressive strength and surface characterization of glass ionomer cements modified by particles of bioactive glass. *Dent Mater*. 2005; 21: 201-209.
10. Gu YW, Yap AUJ, Cheang P, Koh YL, Khor KA. Development of zirconia-glass ionomer cement composites. *J Non Cryst Solids*. 2005; 351: 508-514.
11. Botelho MG. Inhibitory effects on selected oral bacteria of antibacterial agents incorporated in a glass ionomer cement. *Caries Res*. 2003; 37: 108-114.
12. Palmer G, Jones FH, Billington RW, Pearson GJ. Chlorhexidine release from an experimental glass ionomer cement. *Biomaterials*. 2004; 25: 5423-5431.
13. Sanders BJ, Gregory RL, Moore K, Avery DR. Antibacterial and physical properties of resin modified glass-ionomers combined with chlorhexidine. *J Oral Rehabil*. 2002; 29: 553-558.
14. Ribeiro J, Ericson D. *In vitro* antibacterial effect of chlorhexidine added to glass-ionomer cements. *Eur J Oral Sci*. 1991; 99: 533-540.
15. Jedrychowski JR, Caputo AA, Kerper S. Antibacterial and mechanical properties of restorative materials combined with chlorhexidines. *J Oral Rehabil*. 1983; 10: 373-381.
16. Varoni E, Tarce M, Lodi G, Carrassi A. Chlorhexidine (CHX) in dentistry: state of the art. *Minerva Stomatol*. 2012; 61: 399-419.
17. Botelho MG. Compressive strength of glass ionomer cements with dental antibacterial agents. *SADJ*. 2004; 59: 51-53.
18. Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol*. 1966; 45: 493-496.
19. Takahashi Y, Imazato S, Kaneshiro A V, Ebisu S, Frencken JE, Tay FR. Antibacterial effects and physical properties of glass-ionomer cements containing chlorhexidine for the ART approach. *Dent Mater*. 2006; 22: 647-652.

Correspondencia / Correspondence:

Rubén Abraham Domínguez Pérez, PhD, MSc, DDS.

E-mail: dominguez.ra@uaq.mx