

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA  
DOUTORADO EM ODONTOLOGIA  
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO CLÍNICA ODONTOLÓGICA - MATERIAIS DENTÁRIOS

INCORPORACIÓN DE MYRISTYLTRIMETHYLAMMONIUM BROMIDE EN UN  
ADHESIVO EXPERIMENTAL

GUSTAVO HUERTAS MOGOLLÓN

ORIENTADOR: DR. VICENTE LEITUNE

PORTO ALEGRE, OUTUBRO DE 2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA  
DOUTORADO EM ODONTOLOGIA  
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO CLÍNICA ODONTOLÓGICA - MATERIAIS DENTÁRIOS

LINHA DE PESQUISA: BIOMATERIAIS E TÉCNICAS TERAPÊUTICAS EM  
ODONTOLOGIA

INCORPORACIÓN DE MYRISTYLTRIMETHYLAMMONIUM BROMIDE EN UN  
ADHESIVO EXPERIMENTAL

Defesa de tese de doutorado, requisito obrigatório para a obtenção do título de Doutor em Odontologia, Clínica Odontológica – Materiais Dentários.

GUSTAVO HUERTAS MOGOLLÓN

ORIENTADOR: DR. VICENTE CASTELO BRANCO LEITUNE

PORTO ALEGRE, OUTUBRO DE 2022

## CIP - Catalogação na Publicação

Huertas Mogollón, Gustavo Augusto  
INCORPORACIÓN DE MYRISTYLTRIMETHYLAMMONIUM BROMIDE  
EN UN ADHESIVO EXPERIMENTAL / Gustavo Augusto Huertas  
Mogollón. -- 2022.  
42 f.  
Orientador: Vicente Leitune.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul, Faculdade de Odontologia, Programa de  
Pós-Graduação em Odontologia, Porto Alegre, BR-RS,  
2022.

1. Polymerization. 2. Tooth decay. 3. Streptococcus  
mutans. I. Leitune, Vicente, orient. II. Título.

## **DEDICATORIA**

Dedico este trabajo primero a Dios, a mis padres, porque gracias a ellos, soy lo que soy ahora; a mi esposa Andrea y a mi hijo Alejandro que son el motor de mi vida y también a todos los que me enseñaron en este largo camino académico, compañeros y profesores.

## AGRADECIMIENTOS

A **mis padres**, Segundo y Lourdes porque siempre nunca dudaron de mi capacidad y me brindaron todo lo que estuvo a su alcance. A **mis hermanos**, que siempre me han acompañado y espero ser ejemplo para ellos.

A **Andrea**, por ser mi compañera de vida y me permite seguir creciendo y es siempre un apoyo valioso en todos los proyectos que tenemos juntos. Gracias por ser lo más importante en mi vida, y a nuestro hijo **Alejandro**, quien ha cambiado nuestras vidas para bien a partir de su llegada.

Un agradecimiento a mi orientador, **Dr. Vicente Leitune**, por haberme ayudado en la formación del proyecto y desenvolvimiento del presente trabajo. Ha sido siempre un ejemplo a seguir para mí.

Al **Dr. Fabrício Collares**, por su apoyo constante en este proceso académico en mi formación como doctorando.

A **Isadora Martini Garcia**, por su dedicación y gran apoyo. Gracias por demostrarme no sólo su amplio conocimiento, sino también su amistad a lo largo de este tiempo.

A todos los colegas del **Laboratório de Materiais Dentários (LAMAD)**, por la ayuda constante en la realización de mi trabajo.

Finalmente agradezco a la **Universidad Federal Rio Grande do Sul (UFRGS)** por abrirme las puertas y darme la posibilidad de poder estudiar en esta etapa académica de mi vida profesional, y a la **Universidad Científica del Sur (UCSUR)** porque gracias a ella y al convenio interinstitucional permite que los profesores podamos seguir creciendo en nuestra formación.

## RESUMO

O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da adição de brometo de miristil trimetil amônio nas propriedades físico-químicas e biológicas de uma resina adesiva experimental. A resina adesiva foi formulada com monômeros de metacrilato e sistema fotoiniciador. O composto quaternário de amônio brometo de miristiltrimetil amônio foi adicionado em 0,5 (G<sub>0,5%</sub>); 1 (G<sub>1%</sub>) e 2% (G<sub>2%</sub>) na resina adesiva. Um grupo sem a adição desse composto foi usado como controle (G<sub>Ctrl</sub>). As resinas foram avaliadas quanto à cinética de polimerização, grau de conversão (n=3) e resistência cohesiva (n=5), ângulo de contato e energia livre de superfície (n=5), citotoxicidade (n=5) e atividade antibacteriana contra formação de biofilme (n=3) e bactérias planctônicas (n=3). A cinética de polimerização foi similar entre os grupos e não houve diferença estatística em relação à resistência cohesiva (p>0.05). Diferenças significativas foram encontradas apenas entre G<sub>0,5%</sub> e G<sub>1%</sub> para o grau de conversão, porém não houve diferença entre os grupos para o ângulo de contato com água (p>0.05). G<sub>2%</sub> apresentou maior valor de ângulo de contato com  $\alpha$ -bromonaftaleno (p<0.05), mas não houve diferença entre os grupos quanto à energia livre de superfície (p>0.05). Os valores de viabilidade celular variaram entre 90,43% ( $\pm$ 3,35) para G<sub>Ctrl</sub> e 40,79% ( $\pm$ 8,44) para G<sub>2%</sub>, sem diferença estatística entre G<sub>Ctrl</sub> e G<sub>0,5%</sub> (p>0.05). Todos os grupos com o composto quaternário apresentaram atividade antibacteriana nos dois testes realizados (p<0,05). Concluiu-se que a adição de 0,5% de brometo de miristiltrimetil amônio induziu atividade antibacteriana, sem efeito citotóxico e sem alterar as propriedades físico-químicas da resina adesiva.

Palavras-chave: Polimerização; Cárie dentária; Streptococcus mutans; adesivos dentinarios; antibacterianos.

## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of the addition of myristyl trimethyl ammonium bromide on the physicochemical and biological properties of an experimental adhesive resin. The adhesive resin was formulated with methacrylate monomers and a photoinitiator system. The quaternary ammonium compound myristyltrimethyl ammonium bromide was added at 0.5% ( $G_{0.5\%}$ ); 1% ( $G_{1\%}$ ) and 2% ( $G_{2\%}$ ) in the adhesive resin. A group without the addition of this compound was used as a control ( $G_{Ctrl}$ ). The resins were evaluated for polymerization kinetics, degree of conversion ( $n=3$ ) and cohesive strength ( $n=5$ ), contact angle and surface free energy ( $n=5$ ), cytotoxicity ( $n=5$ ) and antibacterial activity against biofilm formation ( $n=3$ ) and planktonic bacteria ( $n=3$ ). The polymerization kinetics were similar between all groups and there was no difference regarding ultimate tensile strength too ( $p>0.05$ ), but there was difference only between  $G_{0.5\%}$  and  $G_{1\%}$  for degree of conversion. There was no difference between groups for the water contact angle ( $p>0.05$ ).  $G_{2\%}$  had the highest contact angle value with  $\alpha$ -bromonaphthalene ( $p<0.05$ ), but there was no difference between groups regarding surface free energy ( $p>0.05$ ). Cell viability values ranged between 90.43% ( $\pm 3.35$ ) for  $G_{Ctrl}$  and 40.79% ( $\pm 8.44$ ) for  $G_{2\%}$ , with no statistical difference between  $G_{Ctrl}$  and  $G_{0.5\%}$  ( $p>0.05$ ). All groups with the quaternary compound showed antibacterial activity in the two tests ( $p<0.05$ ). It was concluded that the addition of 0.5% of myristyltrimethyl ammonium bromide induced antibacterial activity, without a cytotoxic effect and without altering the physicochemical properties of the adhesive resin.

Keywords: Polymerization; Dental Caries; Streptococcus mutans; Dentin-bonding agents; Antibacterial agents.

## SUMÁRIO

ANTECEDENTES Y JUSTIFICATIVA	
.....	<b>8</b>
OBJETIVO	
.....	<b>12</b>
CONSIDERACIONES	
FINALES.....	<b>13</b>
REFERENCIAS .....	<b>15</b>

## 1. ANTECEDENTES Y JUSTIFICATIVA

En la actualidad, la resina compuesta es el material más utilizado en la odontología restauradora y rehabilitación oral debido a sus propiedades estéticas y mecánicas, capacidad adhesiva con los tejidos dentarios, y su bajo costo. Sin embargo, uno de los problemas en la actualidad que se presentan con mayor frecuencia es la presencia de caries adyacentes a las restauraciones de resina (**Nedeljkovic y cols. 2015**), generando una mayor predisposición a la falla (**Opdam y cols. 2012; Demarco y cols. 2012**). De manera general, a causa para el desarrollo de lesiones de caries involucra múltiples factores como: la dieta cariogénica, biofilm cariogénico maduro, mala higiene oral, condiciones del medio bucal (fuerza oclusal y cambio de pH), así como la técnica del operador y las características del material restaurador relacionados a su composición (**Kubo y cols. 2011; Demarco y cols. 2017**).

La proliferación y crecimiento de la placa bacteriana está fuertemente relacionada con el proceso de desmineralización de los tejidos dentarios y con la degradación de los materiales restauradores (**Sterzenbach y cols. 2020; Beyth y cols. 2008**). Debido a estos procesos, la degradación de la interfase adhesiva es causada por la presencia del agua, enzimas salivales y bacterianas (**Cai y cols 2014**). El agua y las enzimas rompen los enlaces éster de los monómeros basados en metacrilato (**Bourbia y cols. 2018**). Además, muchos de estos fragmentos degradados de monómeros como subproductos contribuyen a un mayor crecimiento bacteriano debido a su potencial cariogénico.

Por otro lado; la degradación interna puede ocurrir por bacterias residuales y por la actividad enzimática de las metaloproteinasas (MMPs), degradando además el colágeno presente en la capa híbrida. (**Delaviz y cols 2014; Spencer y cols. 2014**). Además, el envejecimiento de la interface de los sistemas adhesivos (**Breschi y cols 2008**) que es

independiente del sistema adhesivo utilizado (**Hashimoto y cols. 2011**), está directamente relacionado con su estabilidad adhesiva, menor hidrofiliidad y acidez. (**Bedran-Russo y cols 2017**) que influyen en la longevidad de la interfase adhesiva. Con la finalidad de lograr mayor durabilidad de la interfase adhesiva, el uso de inhibidores de MMPs y agentes antimicrobianos, como amonios cuaternarios, además de agentes reticuladores y agentes remineralizantes, han sido utilizados (**Frasetto y Cols. 2016; Tjäderhane y Cols. 2013**).

Una de las formas más estudiadas para lograr un efecto inhibitorio bacteriano incorporado en los materiales restauradores es incorporando monómeros antibacterianos que quedan fijados en la matriz orgánica a través de la copolimerización para tener un efecto más prolongado, sin provocar alteraciones en las propiedades mecánicas del material (**Imazato y Cols 2012**). Específicamente los compuestos quaternarios de amonio son un grupo de antimicrobianos catiónicos que al ser combinados con un grupo metacrilato son inmovilizados al polimerizar y generan un efecto antibacteriano estable por contacto. (**Imazato y Cols 2014**).

El mecanismo de acción de estos monómeros que contienen compuestos cuaternarios de amonio (CQA) es "muerte por contacto directo". La larga cadena alquílica lipofílica permite unirse a los fosfolípidos de membrana alterando su permeabilidad (**P. Maris y cols. 1995**) y penetrando en las membranas celulares bacterianas provoca daño citoplasmático, y muerte celular (**Makvandiy Cols 2018**). Específicamente existen tres posibles procesos consecutivos del mecanismo de acción: (1) Contacto con la bacteria que presenta carga negativa; (2) Difusión a través de la pared celular y unión a la membrana citoplasmática aumentando la presión osmótica y (3) Desintegración de la membrana citoplasmática, liberación de componentes citoplasmáticos y muerte celular. (**Cocco y Cols 2015**).

Es importante como objetivo de éstos monómeros antibacterianos que tengan amplio espectro biocida y presenten menor citotoxicidad (**Fang Li y cols. 2013**) y sobretodo que puedan

presentar su efecto en el tiempo (**Chai y cols. 2011**) y (**Xiao y cols. 2009**). Se ha demostrado de manera experimental el efecto de diversos agentes antimicrobianos en distintas concentraciones sin alterar las propiedades físico-mecánicas del material restaurador (**Collares y cols. 2017**; **Schiroky y cols. 2017**).

Los CQA convencionales presentan en su extremo de la cadena lipofílica un metacrilato que permite copolimerizar con otros monómeros y quedar inmovilizado en la matriz orgánica, sin embargo, algunos CQA que no copolimerizan por la ausencia de tener metacrilato y terminan quedando libres con mayor posibilidad de dispersión. Un factor adicional a la estabilidad del monómero antibacteriano es la longitud de la cadena, y la densidad del CQA. Se sabe que una mayor longitud de la cadena (longitud=16) permite un mejor efecto antibacteriano, a diferencia de las longitudes de cadena corta que sólo depende de la carga positiva alterando el equilibrio de iones esenciales e interrumpen la actividad proteica y que por ser más hidrófilas comprometen el grado de conversión (**Li y cols. 2013**; **Li y cols. 2014**).

La cetrimida es un agente antiséptico utilizado con varias aplicaciones como para análisis de diagnóstico, formulaciones tópicas y en tratamientos dentales. También conocida como Myristyltrimethylammonium bromide 99% (MYTAB), este CQA presenta un peso molecular de 336.39 y tiene una formulación:  $C_{17}H_{38}BrN$ . Además, presenta propiedades tensoactivas, gracias a su extremo catiónico que permite mayor adherencia bacteriana (**McDonnell y cols. 1999**) generando un colapso de la fuerza motriz de protones demostrado en *S. aureus* (**Denyer y cols. 1977**). Se ha demostrado su efecto específico en la alteración del metabolismo celular y la citocinesis celular (**Joshi y cols. 2010**). Existen pocos estudios que han demostrado el efecto antibacteriano del MYTAB en sellantes (**Mena y cols. 2020**) ó con CAQ semejantes asociados a nanotubos de Halloysita en selladores endodónticos (**Monteiro y cols. 2019**), sin aún haber sido evaluado en sistemas adhesivos.

Por tales motivos, el presente estudio tiene como objetivo evaluar la influencia de Myristyltrimethylammonium bromide 99% (MYTAB) en un adhesivo experimental con diferentes concentraciones, a través de pruebas biológicas, físicas y mecánicas.

## **2. OBJETIVO**

Evaluar la influencia de la incorporación de Myristyltrimethylammonium bromide en las propiedades biológicas, físicas e mecánicas de una resina adhesiva experimental.

### 3. CONSIDERACIONES FINALES

Debido a las fallas asociadas a la interfase adhesiva en las restauraciones con resina compuesta, se han desarrollado materiales bioactivos que puedan interactuar con los tejidos duros principalmente presentando propiedades antibacterianas ó remineralizadoras (**Zhou y cols. 2019**). La integridad de la interface queda comprometida por dos factores principalmente: la hidrólisis de los componentes resinosos y la degradación de colágeno por MMPs (**Huang B y cols. 2018**; **Perdigao y Cols. 2013**).

Dentro de la gran variedad de agentes antibacterianos: la clorhexidina presenta un efecto inhibitorio de MMPs, pero su efectividad está limitada a su concentración (2.0%) y al tiempo (**De Souza y Cols. 2000**). El flúor también puede interferir a través de su liberación con el metabolismo bacteriano y por ende con la colonización bacteriana (**Wang y Cols. 2014**). Por otro lado, los óxidos metálicos también han demostrado que pueden inhibir el crecimiento microbiano y además puede alterar el transporte y metabolismo provocando un efecto negativo en la producción enzimática (**Degrazia y Cols 2016**; **García y Cols 2018**).

Los CQA están siendo estudiado ampliamente debido a su eficacia (**Makvandiy Cols 2018**) relacionada a su estructura que comprende de una cadena alquilo, una carga catiónica que generalmente produce el efecto antibacteriano por contacto y el extremo metacrilato para poder copolimerizar. Uno de los monómeros antibacterianos más estudiados es el 12-methacryloyloxydodecylpyridinium bromide (MDPB), que ha sido en sus inicios incorporado en un primer (5% MDPB) obteniendo incluso un efecto bactericida antes de polimerizarse (**Imazato y Cols 1998**) y un efecto limitado de carácter bacteriostático por la inmovilización después de la polimerización. Por otro lado, este efecto limitado bacteriostático debido al estado inmovilizado ya descrito también se debe a la densidad del MDPB que expuesto en la superficie

externa no es lo suficientemente alta como para matar células bacterianas (**Imazato y Cols 1997**).

Cetrimida es un CQA utilizado en soluciones irrigantes en dentinas infectadas debido a su efecto antibacteriano gracias a su baja tensión superficial que contribuye a una mayor remoción de smear layer (**Giardino y cols. 2016**) y superior a la Clorhexidina al 2% incrementando su efecto a los 3 minutos (**Wang y cols. 2012**) e incluso previamente al proceso de cementación reduciendo la actividad bacteriana hasta un mes posterior al procedimiento (**Singh y cols. 2016**) ó dentro de la composición de los mismos asociados con Clorhexidina por ejemplo (**Korkmaz y cols. 2013**).

Con los pocos antecedentes y con los resultados del presente trabajo, se pudo concluir que al incorporar 0,5% en masa de MYTAB, las propiedades físico-químicas en un adhesivo experimental no son alteradas obteniendo un efecto antibacteriano y no generando citotoxicidad.

Una de las recomendaciones para estudios futuros es evaluar los efectos en resistencia adhesiva en el tiempo con test de microtensión longitudinal (**VanMeerbeek 2010**); así como estudios clínicos con dispositivos intraorales (**Prada-López 2016; Abdullah y Cols. 2019**) donde se pueda exponer este CQA a un ambiente de múltiples microorganismos en el tiempo para evaluar su efecto con un mayor impacto clínico (**Kreth y Cols. 2019**).

Es interesante poder incorporar agentes antimicrobianos que puedan contrarrestar el crecimiento bacteriano y poder evitar el desarrollo de caries secundaria, debido a que como sabemos la degradación de la capa híbrida es un proceso imposible de evitar y afecta directamente a la longevidad de la interfase adhesiva.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abdullah N, Al-Marzooq F, Mohamad S, Abd Rahman N, Chi Ngo H, Perera Samaranayake L. Intraoral appliances for in situ oral biofilm growth: a systematic review. *J Oral Microbiol.* 2019 Aug 6;11(1):1647757.

Almarroof A, Niazi SA, Rojo L, Mannocci F, Deb S. Influence of a polymerizable eugenol derivative on the antibacterial activity and wettability of a resin composite for intracanal post cementation and core build-up restoration. *Dent Mater.* 2016 Jul;32(7):929-39.

Bedran-Russo, A., Leme-Kraus, A. A., Vidal, C. M. P., & Teixeira, E. C. (2017). An Overview of Dental Adhesive Systems and the Dynamic Tooth–Adhesive Interface. *Dental Clinics of North America*, 61(4), 713–731.

Bendary IM, Garcia IM, Collares FM, Takimi A, Samuel SMW, Leitune VCB. Wollastonite as filler of an experimental dental adhesive. *J Dent.* 2020 Nov; 102:103472.

Bourbia M, Finer Y. Biochemical Stability and Interactions Dental Resin Composites and Adhesives with Host and Bacteria in the Oral Cavity: A Review. *J Can Dent Assoc* 2018; 84:1-7.

Breschi L, Mazzoni A, Ruggeri A, Cadenaro M, Di Lenarda R, Dorigo AND. Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface. *Dental Materials* 2008 (24): 90–101.

Cai K, Delaviz Y, Banh M, Guo Y, Santerre P. Biodegradation of composite resin with ester linkages: Identifying human salivary enzyme activity with a potential role in the esterolytic process. *Dental Materials* 2014 (30): 848–60.

Chai Z, Li F, Fang M, Wang Y, Ma S, Xiao Y, Huang L, Chen J. The bonding property and cytotoxicity of a dental adhesive incorporating a new antibacterial monomer. *J Oral Rehabil.*

2011 Nov;38(11):849-56.

Cocco A, Da Rosa W, Da Silva A, Lund R, Piva E. A systematic review about antibacterial monomers used in dental adhesive systems: Current status and further prospects. *Dental Materials* 31 (2015) 1345–1362

Collares FM, Leitune VCB, Franken P, Parollo CF, Ogliari FA, Samuel SMW. Influence of addition of [2-(methacryloyloxy)ethyl]trimethylammonium chloride to an experimental adhesive. *Braz Oral Res.* 2017 May 4;31:e31.

de Souza AP, Gerlach RF, Line SR. Inhibition of human gingival gelatinases (MMP-2 and MMP-9) by metal salts. *Dent Mater.* 2000 Mar;16(2):103-8.

Degrazia FW, Leitune VC, Garcia IM, Arthur RA, Samuel SM, Collares FM. Effect of silver nanoparticles on the physicochemical and antimicrobial properties of an orthodontic adhesive. *J Appl Oral Sci.* 2016 Jul-Aug;24(4):404-10.

Degrazia FW, Leitune VCB, Samuel SMW, Collares FM. Boron nitride nanotubes as novel fillers for improving the properties of dental adhesives. *J Dent.* 2017 Jul;62:85-90.

Delaviz Y, Finer Y, Santerre P. Biodegradation of resin composites and adhesives by oral bacteria and saliva: A rationale for new material designs that consider the clinical environment and treatment challenges. *Dental Materials* 2014 (30) 16–32.

Demarco FF, Collares K, Correa MB, Cenci MS, Moraes RR, Opdam NJ. Should my composite restorations last forever? Why are they failing? *Braz Oral Res.* 2017 Aug 28;31(suppl 1):e56.

Demarco FF, Corrêa MB, Cenci MS, Moraes RR, Opdam NJ. Longevity of posterior composite restorations: not only a matter of materials. *Dent Mater.* 2012 Jan;28(1):87-101.

Denyer SP, Hugo WB. The mode of action of tetradecyltrimethyl ammonium bromide (CTAB) on *Staphylococcus aureus* [proceedings]. *J Pharm Pharmacol.* 1977 Dec;29 Suppl:66P.

Farrugia C, Camilleri J. Antimicrobial properties of conventional restorative filling materials and advances in antimicrobial properties of composite resins and glass ionomer cements-A literature review. *Dent Mater.* 2015 Apr;31(4): e89-99.

Ferracane JL. Correlation between hardness and degree of conversion during the setting reaction of unfilled dental restorative resins. *Dent Mater.* 1985 Feb;1(1):11-4.

Frasetto A, Breschi L, Turco G, Marchesi G. Mechanisms of degradation of the hybrid layer in adhesive dentistry and therapeutic agents to improve bond durability—A literature review. *Dent Mater.* 2016; 32(2):41-53.

Garcia IM, Leitune VC, Kist TL, Takimi A, Samuel SM, Collares FM. Quantum Dots as Nonagglomerated Nanofillers for Adhesive Resins. *J Dent Res.* 2016 Nov;95(12):1401-1407.

Garcia IM, Leitune VCB, Arthur RA, Nunes J, Visioli F, Giovarruscio M, Sauro S, Collares FM. Chemical, Mechanical and Biological Properties of an Adhesive Resin with Alkyl Trimethyl Ammonium Bromide-loaded Halloysite Nanotubes. *J Adhes Dent.* 2020;22(4):399-407.

Garcia IM, Leitune VCB, Ferreira CJ, Collares FM. Tantalum oxide as filler for dental adhesive resin. *Dent Mater J.* 2018 Nov 30;37(6):897-903.

Garcia IM, Leitune VCB, Samuel SMW, Collares FM. Influence of Different Calcium Phosphates on an Experimental Adhesive Resin. *J Adhes Dent.* 2017;19(5):379-384.

Garcia IM, Rodrigues SB, de Souza Balbinot G, Visioli F, Leitune VCB, Collares FM. Quaternary ammonium compound as antimicrobial agent in resin-based sealants. *Clin Oral Investig.* 2020 Feb;24(2):777-784.

Garcia IM, Rodrigues SB, Leitune VCB, Collares FM. Antibacterial, chemical and physical properties of sealants with polyhexamethylene guanidine hydrochloride. *Braz Oral Res.* 2019 Mar 18;33: e019.

Garcia IM, Souza VS, Hellriegel C, Scholten JD, Collares FM. Ionic Liquid-Stabilized Titania Quantum Dots Applied in Adhesive Resin. *J Dent Res.* 2019; 98(6):682-688.

Genari B, Leitune VCB, Jornada DS, Camassola M, Arthur RA, Pohlmann AR, Guterres SS, Collares FM, Samuel SMW. Antimicrobial effect and physicochemical properties of an adhesive system containing nanocapsules. *Dent Mater.* 2017 Jun;33(6):735-742.

Giardino L, Andrade FB, Beltrami R. Antimicrobial Effect and Surface Tension of Some Chelating Solutions with Added Surfactants. *Braz Dent J.* 2016;27(5):584-588.

Hardan L, Bourgi R, Cuevas-Suárez CE, Zarow M, Kharouf N, Mancino D, Villares CF, Skaba D, Lukomska-Szymanska M. The Bond Strength and Antibacterial Activity of the Universal Dentin Bonding System: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Microorganisms.* 2021 Jun 6;9(6):1230.

Hashimoto M, Nagano F, Endo K, Ohno H. A review: Biodegradation of resin—dentin bonds. *Japanese Dental Science Review.* 2011; 47: 5-12.

Huang B, Cvitkovitch DG, Santerre JP, Finer Y. Biodegradation of resin-dentin interfaces is dependent on the restorative material, mode of adhesion, esterase or MMP inhibition. *Dent Mater.* 2018 Sep;34(9):1253-1262.

Ibrahim MS, Garcia IM, Kensara A, Balhaddad AA, Collares FM, Williams MA, Ibrahim AS, Lin NJ, Weir MD, Xu HHK, Melo MAS. How we are assessing the developing antibacterial resin-based dental materials? A scoping review. *J Dent.* 2020 Aug;99:103369.

Imazato S, Chen J, Ma S, Izutani N, Li F. Antibacterial resin monomers based on quaternary ammonium and their benefits in restorative dentistry. *Japanese Dental Science Review* (2012) 48, 115—125

Imazato S, Ehara A, Torii M, Ebisu S. Antibacterial activity of dentine primer containing MDPB after curing. *J Dent.* 1998 Mar;26(3):267-71.

Imazato S, Kinomoto Y, Tarumi H, Torii M, Russell RR, McCabe JF. Incorporation of antibacterial monomer MDPB into dentin primer. *J Dent Res.* 1997 Mar;76(3):768-72.

Imazato S, Ma S, Chen J, Xu H. Therapeutic polymers for dental adhesives: Loading resins with bio-active components. *Dental Materials* 2014 30(1) ; 97-104.

Imazato S, Torii Y, Takatsuka T, Inoue K, Ebin, Ebisu S. Bactericidal effect of dentin primer containing antibacterial monomer methacryloyloxydodecylpyridinium bromide (MDPB) against bacteria in human carious dentin. *Journal of Oral Rehabilitation* 2001; 28:314–9.

Imazato S, Torii M, Tsuchitani Y, McCabe JF, Russell RRB. Incorporation of bacterial inhibitor into resin composite. *Journal of Dental Research* 1994; 73:1437–43.

ISO10993-5 : Biological evaluation of medical devices - Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity

Joshi S, Perera S, Gilbert J, Smith CM, Mariana A, Gordon CP, Sakoff JA, McCluskey A, Robinson PJ, Braithwaite AW, Chircop M. The dynamin inhibitors MiTMAB and OctTMAB induce cytokinesis failure and inhibit cell proliferation in human cancer cells. *Mol Cancer Ther.* 2010 Jul;9(7):1995-2006.

Kazeminia, M., Abdi, A., Shohaimi, S., Jalali, R., Vaisi-Raygani, A., Salari, N., & Mohammadi, M. (2020). Dental caries in primary and permanent teeth in children's worldwide, 1995 to 2019: a systematic review and meta-analysis. *Head & Face Medicine*, 16(1).

Khan AS, Ur Rehman S, AlMaimouni YK, Ahmad S, Khan M, Ashiq M. Bibliometric Analysis of Literature Published on Antibacterial Dental Adhesive from 1996-2020. *Polymers (Basel).* 2020 Nov 29;12(12):2848.

- Korkmaz FM, Tüzüner T, Baygin O, Buruk CK, Durkan R, Bagis B. Antibacterial activity, surface roughness, flexural strength, and solubility of conventional luting cements containing chlorhexidine diacetate/cetrimide mixtures. *J Prosthet Dent.* 2013 Aug;110(2):107-15.
- Kreth J, Ferracane JL, Pfeifer CS, Khajotia S, Merritt J. At the Interface of Materials and Microbiology: A Call for the Development of Standardized Approaches to Assay Biomaterial-Biofilm Interactions. *J Dent Res.* 2019 Jul;98(8):850-852.
- Kubo S. Longevity of resin composite restorations: review article. *Japanese Dental Science Review* (2011) 47, 43—55
- Leitune VC, Collares FM, Takimi A, de Lima GB, Petzhold CL, Bergmann CP, Samuel SM. Niobium pentoxide as a novel filler for dental adhesive resin. *J Dent.* 2013 Feb;41(2):106-13.
- Li F, Wang P, Weir MD, Fouad AF, Xu HH. Evaluation of antibacterial and remineralizing nanocomposite and adhesive in rat tooth cavity model. *Acta Biomater.* 2014 Jun;10(6):2804-13.
- Li F, Weir MD, Chen J, Xu HH. Effect of charge density of bonding agent containing a new quaternary ammonium methacrylate on antibacterial and bonding properties. *Dent Mater.* 2014 Apr;30(4):433-41.
- Li F, Weir MD, Fouad AF, Xu HH. Time-kill behaviour against eight bacterial species and cytotoxicity of antibacterial monomers. *J Dent.* 2013 Oct;41(10):881-91.
- Li F, Weir MD, Xu HH. Effects of quaternary ammonium chain length on antibacterial bonding agents. *J Dent Res.* 2013 Oct;92(10):932-8.
- Makvandi P, Jamaledin R, Jabbari M, Nikfarjam N, Borzacchiello A. Antibacterial quaternary ammonium compounds in dental materials: A systematic review. *Dent Mater.* 2018 Jun;34(6):851-867.

Maris P. Modes of action of disinfectants. *Rev Sci Tech.* 1995 Mar;14(1):47-55.

Maske, Tamires Timm. Secondary caries and local factors related to its development. 2018. 170 f. Tese (Doutorado em Odontologia) - Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2018.

McDonnell G, Russell AD. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clin Microbiol Rev.* 1999 Jan;12(1):147-79. doi: 10.1128/CMR.12.1.147. Erratum in: *Clin Microbiol Rev* 2001 Jan;14(1):227.

Mena Silva PA, Garcia IM, Nunes J, Visioli F, Castelo Branco Leitune V, Melo MA, Collares FM. Myristyltrimethylammonium Bromide (MYTAB) as a Cationic Surface Agent to Inhibit *Streptococcus mutans* Grown Over Dental Resins: An In Vitro Study. *J Funct Biomater.* 2020;11(1):9.

Monteiro JC, Garcia IM, Leitune VCB, Visioli F, de Souza Balbinot G, Samuel SMW, Makeeva I, Collares FM, Sauro S. Halloysite nanotubes loaded with alkyl trimethyl ammonium bromide as antibacterial agent for root canal sealers. *Dent Mater.* 2019 May;35(5):789-796.

Moussa H, Jones MM, Huo N, Zhang R, Keskar M, Visser MB, Swihart MT, Cheng C, Sabatini C. Biocompatibility, mechanical, and bonding properties of a dental adhesive modified with antibacterial monomer and cross-linker. *Clin Oral Investig.* 2021 May;25(5):2877-2889.

Nedeljkovic I, Teughels W, De Munck J, Van Meerbeek B, Van Landuyt K. Is secondary caries with composites a material-based problem? *Dental supplies* 2015; (31) 247–77.

Opdam NJ, Bronkhorst EM, Loomans BA, Huysmans MC. Longevity of repaired restorations: a practice based study. *J Dent.* 2012 Oct;40(10):829-35.

Perdigão J, Reis A, Loguercio AD. Dentin Adhesion and MMPs: A Comprehensive Review. *J Esthet Restor Dent.* 2013; 25(4):219-41.

Prada-López I, Quintas V, Vilaboa C, Suárez-Quintanilla D, Tomás I. Devices for In situ Development of Non-disturbed Oral Biofilm. A Systematic Review. *Front Microbiol.* 2016 Jul 19; 7:1055.

Quan A, McGeachie AB, Keating DJ, van Dam EM, Rusak J, Chau N, Malladi CS, Chen C, McCluskey A, Cousin MA, Robinson PJ. Myristyl trimethyl ammonium bromide and octadecyl trimethyl ammonium bromide are surface-active small molecule dynamin inhibitors that block endocytosis mediated by dynamin I or dynamin II. *Mol Pharmacol.* 2007 Dec;72(6):1425-39.

Qvist, V. (1993). Resin restorations: leakage, bacteria, pulp. *Dental Traumatology*, 9(4), 127–152.

Schiroky PR, Leitune VCB, Garcia IM, Ogliari FA, Samuel SMW, Collares FM. Triazine Compound as Copolymerized Antibacterial Agent in Adhesive Resins. *Braz Dent J.* 2017 Mar-Apr;28(2):196-200.

Silvestrin LB, Garcia IM, Visioli F, Collares FM, Leitune VCB. Physicochemical and biological properties of experimental dental adhesives doped with a guanidine-based polymer: an in vitro study. *Clin Oral Investig.* 2022;26(4):3627-3636.

Singh Y. Evaluation of Effect of 0.2% Cetrimide on Antibacterial Activity of Resin Cement. *Journal of Dental and Medical Sciences* Vol 15, Issue 7 Ver. I (July 2016), PP 14-20.

Soares CJ, Faria-E-Silva AL, Rodrigues MP, Vilela ABF, Pfeifer CS, Tantbirojn D, Versluis A. Polymerization shrinkage stress of composite resins and resin cements - What do we need to know? *Braz Oral Res.* 2017 Aug 28;31(suppl 1):e62.

Spencer P, Ye Q, A. Misra, Goncalves S, Laurence J. Proteins, Pathogens, and Failure at the Composite-Tooth Interface. *J Dent Res* 2014; 93: 1243.

Sterzenbach, T., Helbig, R., Hannig, C. *et al.* Bioadhesion in the oral cavity and approaches for biofilm management by surface modifications. *Clin Oral Invest* **24**, 4237–4260 (2020)

Tjäderhane L, Nascimento F, Breschi L. Strategies to prevent hydrolytic degradation of the hybrid layer - A review. *Dent Mater.* 2013; 29(10):999-1011.

Van Meerbeek B, Peumans M, Poitevin A, Mine A, Van Ende A, Neves A, De Munck J. Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes. *Dent Mater.* 2010 Feb;26(2):e100-21.

Wang Z, Shen Y, Haapasalo M. Dental materials with antibiofilm properties. *Dent Mater.* 2014 Feb;30(2): e1-16.

Wang Z, Shen Y, Ma J, Haapasalo M. The effect of detergents on the antibacterial activity of disinfecting solutions in dentin. *J Endod.* 2012 Jul;38(7):948-53.

Xiao YH, Chen JH, Fang M, Xing XD, Wang H, Wang YJ, Li F. Antibacterial effects of three experimental quaternary ammonium salt (QAS) monomers on bacteria associated with oral infections. *J Oral Sci.* 2008 Sep;50(3):323-7.

Yu, F., Dong, Y., Yu, Hh. *et al.* Antibacterial Activity and Bonding Ability of an Orthodontic Adhesive Containing the Antibacterial Monomer 2-Methacryloxyethyl Hexadecyl Methyl Ammonium Bromide. *Sci Rep* 7, 41787 (2017).

Zhang Y, Chen Y, Hu Y, Huang F, Xiao Y. Quaternary ammonium compounds in dental restorative materials. *Dent Mater J.* 2018 Mar 30;37(2):183-191.

Zhou, W., Liu, S., Zhou, X., Hannig, M., Rupf, S., Feng, J. Cheng, L. (2019). Modifying Adhesive Materials to Improve the Longevity of Resinous Restorations. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(3), 723.