

# Operatoria dental y endodoncia

## 3. Capacidad de sellado marginal de un sistema adhesivo utilizado con o sin el complemento de clorhexidina

*Operative dentistry and endodontics*

*3. Marginal sealing properties of an adhesive system used with or without chlorhexidine addition*

Presentado: 1 de marzo de 2016  
Aceptado: 12 de abril de 2016

Osvaldo Zmener,<sup>a</sup> Jesús Rodríguez Guillén,<sup>b</sup> Cornelis H. Pameijer<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Carrera de Especialización en Endodoncia, Facultad de Ciencias Médicas, Escuela de Odontología, Universidad del Salvador, Buenos Aires, Argentina

<sup>b</sup> Facultad de Ciencias Médicas, Escuela de Odontología, Universidad del Salvador, Buenos Aires, Argentina

<sup>c</sup> Escuela de Medicina Dental, Universidad de Connecticut, Farmington, Estados Unidos

### Resumen

**Objetivo:** La biodegradación hidrolítica y enzimática de la interfaz resina/dentina constituye uno de los principales motivos del fracaso a distancia de las restauraciones con resinas compuestas. El objetivo de este ensayo *ex vivo* fue investigar si el uso de gluconato de clorhexidina al 2,0%, aplicado previamente al adhesivo, puede mejorar la capacidad de sellado de la interfaz resina/dentina en restauraciones de clase I frente a la penetración bacteriana.

**Materiales y métodos:** Se obtuvieron probetas de dentina en forma de discos de 3 mm de altura a partir de 24 terceros molares humanos sanos extraídos y utilizados dentro de un período de 30 días posextracción. En cada probeta se preparó una cavidad de clase I de 4 × 4 mm con una profundidad de 3 mm, uniendo de esta forma las superficies superior e inferior. Los especímenes se separaron en dos grupos de 10 probetas cada uno (n=10). En el Grupo 1, las cavidades fueron tratadas con ácido fosfórico al 35% y restauradas mediante el sistema adhesivo Klepp Microhybrid Resin System (Klepp-Raysan Int, Estados Unidos). En el Grupo 2, las cavidades se restauraron de manera similar a las del Grupo 1 pero, previamente a la aplicación del adhesivo, las paredes dentinarias se trataron con gluconato de clorhexidina al 2,0%. Dos de las cuatro

probetas restantes se utilizaron en el Grupo 1 como controles positivos (n=1) y negativos (n=1), y las otras dos fueron empleadas de la misma forma que en el Grupo 2. Todos los especímenes fueron termociclados a 5-55 °C (1.000 ciclos de 20 segundos de duración cada uno) y tratados mediante un proceso de simulación de la agresión hídrica en el medio oral. Finalmente, se los sometió a un ensayo de filtración bacteriana (*Enterococcus faecalis*) con un sistema de doble cámara, controlado diariamente, durante 60 días. Los datos registrados se analizaron con la prueba de Log-Rank, el test de supervivencia de Kaplan Meyer y la prueba exacta de Fischer, con un nivel de significación de p<0,05.

**Resultados:** Los controles positivos demostraron filtración bacteriana dentro de las primeras 48 horas. No hubo filtración en los controles negativos. Luego de 60 días, no se registraron diferencias significativas entre ambos grupos experimentales (p>0,05).

**Conclusiones:** Al finalizar la experiencia, las restauraciones realizadas en cada grupo experimental revelaron un sellado marginal similar frente a la filtración de *E. faecalis*.

**Palabras clave:** Clorhexidina, degradación hidrolítica, dentina, *Enterococcus faecalis*.

### Abstract

**Aim:** The hydrolytic and enzymatic biodegradation of the resin-dentin interface constitutes one of the main causes of long-term composite restoration failure. The objective of the present *ex vivo* assay was to investigate if the use of 2.0%

chlorhexidine before the application of the resin adhesive system improves the sealing properties of the resin-dentin interface against bacterial microleakage in Class I restorations.

**Materials and methods:** Dentine sections 3.0 mm in height were obtained from 24 healthy extracted third molar teeth within 30 days after extraction. In each dentin section a class I cavity (4 mm × 4 mm) was prepared through the entire height of the sample. They were then randomly assigned to two groups of 10 samples each (n=10). In Group 1, the cavities were treated with 35% phosphoric acid and restored with the adhesive system Klepp Microhybrid Resin System (Klepp-Raysan, USA). In Group 2, the cavity walls were pre-treated with 2% chlorhexidine after etching with 35% phosphoric acid and then restored similarly as Group 1. Of the remaining four sections, two were used in Group 1, one as a positive control, one as negative control. The other two sections were used in a similar manner for Group 2. All

specimens were thermocycled and subjected to a procedure of water ageing mimicking the action of saliva in the oral environment. Finally, the samples were subjected to a bacterial microleakage assay (*Enterococcus faecalis*) using a double camera system which recorded data daily during 60 days. Data were statistically analyzed with the Log-Rank test, the Kaplan Meyer survival test and the Fischer exact test. The significance level was established at  $p < 0.05$ .

**Results:** The positive controls revealed bacterial microleakage within the first 48 hours while no leakage was registered in the negative controls. After 60 days no significant differences were seen between both experimental groups ( $p > 0.05$ ).

**Conclusions:** At the end of the experiment the restorations performed in each experimental group showed a similar marginal seal against microleakage of *E. faecalis*.

**Key words:** Chlorhexidine, dentin, *Enterococcus faecalis*, hydrolytic degradation.

## Introducción

La mayor parte de las investigaciones relacionadas con las resinas adhesivas han enfocado sus objetivos en el análisis de la durabilidad de las restauraciones.<sup>1</sup> En ese sentido, es importante remarcar que la degradación hidrolítica de la interfaz resina/dentina, como consecuencia de la muy variable estabilidad de los polímeros hidrófilos contenidos en la fórmula de los sistemas adhesivos modernos, continúa siendo un motivo de preocupación.<sup>2-4</sup> En la situación clínica, las resinas son aplicadas de forma directa en el interior de cavidades terapéuticas preparadas en dentina, cuya configuración (factor-C)<sup>5</sup> incide en el desarrollo de un importante grado de fuerzas de contracción. Bajo estas condiciones, la interfaz resina/dentina es altamente susceptible a la degradación hidrolítica provocada por absorción acuosa. Este fenómeno, junto con la degradación de la capa híbrida provocada por la acción colagenolítica de las metaloproteinasas (MMPs) y otras enzimas proteolíticas contenidas en la dentina,<sup>6-8</sup> constituyen un importante factor que altera la capacidad de adhesión en la interfaz, facilitando la filtración de bacterias, la formación de caries recurrente, hipersensibilidad, y el desarrollo de diferentes grados de inflamación pulpar,<sup>9</sup> cuyos efectos deletéreos suelen derivar en la indicación de un tratamiento endodóntico. Por otra parte, la degradación de la interfaz resina/dentina conlleva la pérdida de retención de la restauración.<sup>10</sup>

Diferentes investigaciones realizadas tanto *ex vivo*<sup>11,12</sup> como *in vivo*<sup>13,14</sup> han sugerido que la aplicación de gluconato de clorhexidina (CHX) al 2,0% sobre la dentina como paso previo al uso del agente

adhesivo, o bien incorporada en su fórmula, reduce significativamente la degradación de la interfaz resina/dentina. En ese sentido, Breschi *et al.*<sup>15</sup> y Gendron *et al.*<sup>16</sup> sugieren que la CHX al 2,0% podría inhibir la acción de las enzimas colagenolíticas responsables de la degradación de la capa híbrida, aumentando de esta forma la longevidad de las restauraciones. El objetivo del presente ensayo *ex vivo* fue analizar –por medio de un modelo de filtración bacteriana– la estabilidad obtenida en la interfaz resina/dentina en obturaciones realizadas con el sistema de restauración Klepp Microhybrid Resin System (KMRs; Klepp-Raysan Int, Estados Unidos) –de reciente introducción en el mercado–, que incorpora el uso tópico de CHX al 2,0% sobre la superficie dentinaria, previamente a la aplicación del adhesivo, en comparación con el mismo material sin el complemento de CHX. Tomando en consideración las expectativas de la duración de una restauración efectuada mediante un sistema adhesivo, la hipótesis nula postula que, cuando KMRs se utiliza sin la aplicación previa de CHX, la estabilidad de la interfaz resina/dentina se reduce significativamente, permitiendo una mayor filtración bacteriana.

## Materiales y métodos

El protocolo de este ensayo fue revisado y aprobado por la Comisión de Ética para la Investigación Científica de la Asociación Odontológica Argentina. Se utilizaron 24 terceros molares humanos superiores e inferiores, extraídos por razones ortodónticas o quirúrgicas, obtenidos en diferentes servicios hospitalarios, clínicas o consultorios privados. Todos

los pacientes firmaron un consentimiento informado luego de que se les explicara el objetivo para el cual serían utilizadas las piezas dentarias. Éstas se conservaron a 4 °C en suero fisiológico con cristales de timol, y fueron empleadas dentro de los primeros 30 días posextracción. En cuanto a los criterios de inclusión, todos los dientes presentaban corona y raíz completas, libres de caries, fisuras o cualquier otro deterioro estructural visible en el examen realizado mediante una lupa estereoscópica (Carl Zeiss, Oberkochen, Alemania).

**Preparación de los dientes.** Las cúspides de los molares fueron eliminadas con piedras de diamante rotando a alta velocidad y refrigeración constante con spray de suero fisiológico. Posteriormente, se efectuó, en cada uno de los dientes, una sección horizontal aproximadamente a 0,7 mm por debajo de la superficie con un micrótopo para tejidos duros (Isomet 1000, Buehler, Lake Bluff, IL, Estados Unidos), lo que permitió obtener una superficie de dentina lisa y plana. La superficie fue examinada cuidadosamente con la lupa bajo luz reflejada. Los especímenes que revelaban la presencia de fisuras o tejido pulpar expuesto fueron descartados y reemplazados por otros, preparados de manera similar. Se realizó, de la misma forma, una segunda sección horizontal paralela a la anterior, de manera tal que se obtuvieron probetas en forma de discos con una altura estandarizada de 3 mm. Las superficies superiores e inferiores de las probetas se pulieron con papel abrasivo silicónado (Buehler), granos 320, 400 y 600. En todas las muestras y en el centro de la superficie dentinaria, se realizaron cavidades estandarizadas de 3 mm de profundidad (comunicando las superficies superior e inferior) y una extensión de 3 mm en sentido vestíbulo-lingual y 4 mm en sentido mesio-distal, con fresas de carburo de tungsteno #245 de extremo plano (Jet; Beavers Dental Div, Sybron, Morrisburg, ON, Canadá), rotando a alta velocidad bajo refrigeración constante, con spray de suero fisiológico y la ayuda de una matriz de acrílico con las medidas predeterminadas. Los ángulos internos de las cavidades se prepararon en forma redondeada, y los márgenes de ambas superficies no fueron biselados. En todas las muestras, las paredes de las cavidades fueron lavadas con agua deionizada estéril durante 20 segundos, secadas con aire a presión filtrado y libre de impurezas, y posteriormente, tratadas con ácido fosfórico al 35% (Ultraetch; lote 13311; Ultradent, South Jordan, UT, Estados Unidos) durante 15 segundos. Finalmente, se lavaron copiosamente con agua deionizada y se secaron con aire a presión, dejando la superficie interna li-

geramente húmeda. Las muestras se dividieron aleatoriamente en dos grupos de 10 probetas (n=10) cada uno. En ambos grupos, cada una de las probetas fue ubicada sobre un portaobjetos de vidrio con una matriz de celuloide interpuesta, y a continuación fueron sometidas a dos diferentes tipos de tratamiento. En el Grupo 1, se aplicó el adhesivo (Klepp; lote K4032-2) sobre la totalidad de las paredes dentinarias de la cavidad por medio de un aplicador Microbrush (Microbrush Corporation, Grafton, WI, Estados Unidos) y se polimerizó durante 40 segundos. En el Grupo 2, las paredes dentinarias fueron previamente tratadas frotando con una ligera presión el aplicador embebido en clorhexidina al 2,0% (Klepp), y posteriormente se aplicó y polimerizó el adhesivo de la misma forma que en el Grupo 1. En ambos grupos, las cavidades se obturaron a ras con la superficie superior e inferior de la probeta con la resina KMRs (lote K3521-4), que fue incorporada en un solo incremento. Inmediatamente luego de la inserción de KMRs, la superficie superior de la obturación se cubrió con una matriz de celuloide para evitar su contaminación con el oxígeno del aire ambiental, y el exceso de material fue eliminado presionando con un portaobjetos sobre la matriz (fig. 1). Luego, el portaobjetos fue retirado manteniendo la matriz en posición, y se adaptó un soporte especialmente diseñado para esta experiencia que permitía alinear de forma estandarizada y reproducible el extremo emisor de la unidad de fotopolimerización a una distancia constante de 3 mm de la superficie superior de cada una de las obturaciones, las cuales fueron polimerizadas durante 40 segundos. En todos los casos, la polimerización de la resina fue realizada mediante el diodo emisor de luz de una unidad de curado Bluephase 16i (Ivoclar-Vivadent AG, Amherst, NY, Estados Unidos) con una intensidad de 1.600 mW/cm<sup>2</sup>. La intensidad de emisión fue controlada con un radiómetro (Demetron Curing Radiometer 100; Demetron Research Corporation, Danbury, CT, Estados Unidos) y corregida por calibración, en caso de ser necesario.

A continuación se removieron los excesos de material de las superficies superior e inferior con una hoja filosa, y los márgenes recibieron un acabado final por medio de discos de pulido flexibles (3M/ESPE, St Paul, MN, Estados Unidos). Posteriormente, se realizó un lavaje con spray de agua deionizada para eliminar cualquier resto de material remanente. En cada grupo se agregaron dos probetas adicionales que fueron utilizadas como controles positivos y negativos. En los controles positivos, las cavidades no fueron obturadas, mientras que en los controles

negativos fueron tratadas de acuerdo a los procedimientos descriptos para ambos grupos. Todas las probetas se conservaron a 37 °C en agua deionizada durante 24 horas, y luego se termociclaron a 5-55 °C (1.000 ciclos de 20 segundos de duración cada uno).

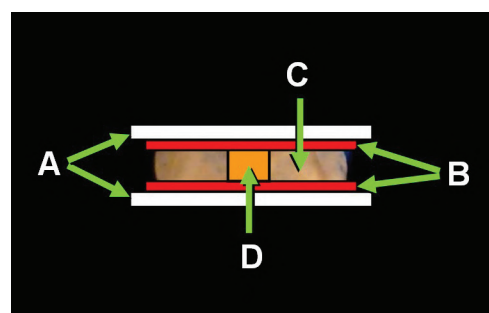
#### Simulación de la acción del medio acuoso oral.

Todos los especímenes fueron sometidos a un proceso de simulación de la agresión del medio bucal. Éste fue realizado de acuerdo a los procedimientos descriptos por Feitosa *et al.*<sup>10</sup> Cada una de las probetas se ubicó en la base de un recipiente individual de vidrio de 22 cm de altura y 4 cm de ancho, que contenía una columna de 20 cm de altura de suero fisiológico (pH 7,4). En estas condiciones, el recipiente fue cerrado herméticamente y se conservó a 37 °C durante 120 días. Finalmente, las superficies externas de todas las probetas se secaron con papel absorbente y se recubrieron con dos capas de esmalte para uñas, llegando en las superficies planas superior e inferior hasta 1 mm alrededor de los bordes de la obturación, de manera tal que, si se producía algún pasaje de bacterias, éste ocurriera solamente a través de la interfaz adhesivo/dentina. En los controles positivos, la cobertura de esmalte fue realizada de la misma forma que en las probetas experimentales, mientras que en los controles negativos las superficies superior e inferior de cada probeta se recubrieron totalmente con el esmalte.

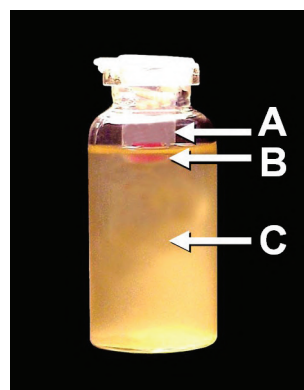
**Ensayo de filtración bacteriana.** Para el ensayo de filtración, se utilizó un sistema de doble cámara de acuerdo a los procedimientos descriptos por Imura *et al.*<sup>17</sup> Se cortó la punta de tubos plásticos Eppendorf de 1,5 ml (que actuó como cámara superior) y en cada tubo se introdujo una probeta con la obturación, de manera tal que sobrepasara aproximadamente 2 mm a través del orificio. La unión entre el tubo Eppendorf y la probeta fue sellada con cianoacrilato (Ciano, Anaeróbicos IWT, BA, Argentina) asegurando que la superficie superior de la resina compuesta quedase dentro de la cámara superior. Cada uno de los tubos con un espécimen se ubicó en un recipiente de vidrio (que actuó como cámara inferior) con 10 ml de caldo tripticasa de soja estéril (Difco Laboratory, Detroit, MI, Estados Unidos), de forma tal que los 2 mm restantes de las probetas quedasen sumergidos en el caldo de la cámara inferior (fig. 2). La unión entre el tubo y el frasco de vidrio también fue sellada con ianoacrilato. Para cada espécimen, el sistema completo se esterilizó con óxido de etileno durante 12 horas, y luego se lo incubó a 37 °C durante 72 horas para confirmar su esterilidad. Si el caldo demostraba turbiedad (indicio de contaminación), el

sistema se descartaba y se reemplazaba por otro. En ese caso, el nuevo sistema de doble cámara con otro espécimen se esterilizó nuevamente, y se repitió el proceso de verificación.

La fase de filtración bacteriana fue realizada por un microbiólogo en un laboratorio especializado y bajo estrictas condiciones de esterilidad. Se introdujo en la cámara superior 1 ml de caldo con un inóculo de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (concentración de 10<sup>8</sup> por ml). El sistema así preparado se incubó durante 60 días a 37 °C, renovando el inóculo de la cámara superior cada 5 días con cultivos frescos de *E. faecalis*. Se controló diariamente si el caldo contenido en la cámara inferior presentaba turbiedad, indicando la presencia de bacterias que filtraron hacia la cámara inferior a través de la interfaz resina/dentina. Cuando se detectaba turbiedad, se registraba la cantidad de días en que esto se producía. También se analizaron muestras tomadas de ambas cámaras,



**Figura 1.** Esquema del procedimiento de obturación de la cavidad preparada en dentina. **A:** Portaobjetos de vidrio. **B:** Matrices de celulósicas. **C:** Probeta de dentina. **D:** Obturación con la resina compuesta KMRs.



**Figura 2.** Sistema de doble cámara para el ensayo de filtración bacteriana. **A:** Cámara superior (tubo de Eppendorf 1,5 ml). **B:** Probeta de dentina. **C:** Cámara inferior con 10 ml de caldo tripticasa de soja estéril.

las cuales se incubaron en agar-sangre para controlar la viabilidad bacteriana, y se observaron las bacterias desde el punto de vista morfológico y con coloración de Gram. Finalmente, se registraron, para cada uno de los grupos, el número de especímenes que demostraron filtración y la cantidad de días en que esto se producía. El tiempo transcurrido hasta que se detectó filtración en cada uno de los grupos se calculó por medio del test de supervivencia de Kaplan-Meyer. Las diferencias entre grupos se analizaron por medio de la prueba de Log Rank y la prueba exacta de Fischer. El nivel de significación se estableció en  $p < 0,05$ .

## Resultados

Un espécimen en el Grupo 1 y dos en el Grupo 2 revelaron signos de contaminación previamente al inicio del ensayo de filtración y fueron reemplazados. Los controles positivos revelaron filtración bacteriana dentro de las primeras 24 horas. Los controles negativos no presentaron filtración en ningún caso. Los resultados totales obtenidos en ambos grupos pueden observarse en la tabla 1. En el Grupo 1, no se detectó turbidez en la cámara inferior hasta los días 45 (2 casos), 50 (1 caso) y 52 (1 caso), mientras que en 6 casos no hubo filtración. En el Grupo 2, no se detectó turbidez en la cámara inferior hasta los días 54 (1 caso), 56 (1 caso) y 57 (1 caso), y en 7 casos no hubo filtración. Para el Grupo 1, la media de supervivencia fue de 55,2 días, con un intervalo de confianza (95%) de 51,4-59; mientras que para el Grupo 2 fue de 58,7 días, con un intervalo de confianza de 57,4-60. Las diferencias entre ambos grupos no fueron estadísticamente significativas ( $p=0,47$ ). En todos los casos donde se produjo filtración, el análisis bacteriológico del contenido de la cámara inferior reveló la presencia de *E. faecalis*.

## Discusión

En este trabajo se evaluó comparativamente el número de especímenes que revelaron filtración de *E. faecalis* en restauraciones adhesivas realizadas mediante KMRs, con o sin el uso de CHX al 2,0%

como paso previo a la aplicación del adhesivo. Se analizó también el tiempo necesario para que las bacterias penetraran a través de la interfaz resina/dentina hasta la cámara inferior. La elección de *E. faecalis* para el ensayo de filtración se debió a que esta bacteria se encuentra habitualmente en la flora oral junto con otras bacterias aerobias y anaerobias facultativas.<sup>18</sup> Todas las probetas fueron termocicladas y, posteriormente, sometidas a la acción de un proceso de agresión hídrica. Estos dos procedimientos son habitualmente utilizados para simular la agresión funcional del medio bucal.<sup>10,19</sup> El posible efecto adicional de la función masticatoria cíclica, de permanente actividad en la situación clínica,<sup>19-21</sup> no fue analizado en el presente ensayo, razón por la que este factor debe ser investigado más exhaustivamente.

La acción del medio hídrico oral sobre la integridad de la interfaz resina/dentina constituye un factor de influencia en su proceso de degradación.<sup>10</sup> De acuerdo al protocolo utilizado en esta experiencia, la exposición a la agresión hídrica fue realizada mediante un procedimiento de laboratorio simulado.<sup>10</sup> Los resultados concuerdan con los de Scovron *et al.*<sup>26</sup> y Van Landuyt *et al.*,<sup>27</sup> cuyas investigaciones realizadas con procedimientos similares también han demostrado que la degradación de la interfaz resina/dentina se produce luego de un período relativamente breve de inmersión en un medio acuoso. En contraposición a estas observaciones, Sano *et al.*,<sup>28</sup> Peumans *et al.*<sup>29</sup> y Opdan *et al.*<sup>30</sup> repitieron *in vivo* las experiencias de laboratorio realizadas previamente por Scovron *et al.*<sup>26</sup> y Van Landuyt *et al.*,<sup>27</sup> y demostraron que la integridad de la interfaz se conservaba durante tiempos significativamente mayores. Feitosa *et al.*<sup>10</sup> sugieren que estas diferencias podrían deberse a que, tal como ocurrió en el presente ensayo, en los trabajos realizados bajo condiciones *ex vivo* se utilizan generalmente pequeñas probetas o varillas de dentina sometidas a la acción de un medio acuoso.<sup>31</sup> Estas condiciones a las que son sometidos los especímenes son diferentes a lo que sucede en la práctica diaria, cuando una pieza dentaria recibe una restauración por medio de un sistema adhesivo. En este caso, la interfaz resina/dentina suele requerir un tiempo más prolongado para que se produzca su deterioro,<sup>10</sup> y en este sentido resulta claro que desde el punto de vista experimental los estudios realizados *in vivo* constituyen el modelo clínico ideal.

En la situación clínica, la interfaz resina/dentina no se encuentra en contacto directo con los fluidos del medio bucal porque la adhesión al esmalte actúa como una barrera protectora contra la difusión de la

Tabla 1. Frecuencia de penetración bacteriana luego de 60 días.

|         | n  | Con filtración | Sin filtración |
|---------|----|----------------|----------------|
| Grupo 1 | 10 | 4 (40%)        | 6 (60%)        |
| Grupo 2 | 10 | 3 (30%)        | 7 (70%)        |
| Total   | 20 | 7 (35%)        | 13 (65%)       |

saliva.<sup>32</sup> En el presente ensayo, se prescindió de la adhesión al esmalte y se ubicó la restauración exclusivamente sobre dentina, en un escenario mucho más susceptible a la agresión hídrica y sin ningún tipo de interferencia o efecto protector. Sin embargo, resultó interesante comprobar que, a pesar de que en los especímenes del Grupo 1 se observó una ligera tendencia hacia una mayor filtración de *E. faecalis*, los resultados obtenidos no revelaron diferencias significativas entre grupos. En consecuencia, la hipótesis nula fue rechazada.

De acuerdo a la información provista por el fabricante, el sistema KMRs utiliza un adhesivo de autograbado que también puede emplearse mediante la técnica de grabado total o grabado selectivo. Tal como lo sugieren Breschi *et al.*,<sup>8</sup> en este trabajo se efectuó el grabado total de las paredes dentinarias, y el adhesivo se distribuyó ejerciendo presión sobre el instrumento aplicador. Esto permite especular sobre la posibilidad de que esta modalidad de grabado y aplicación de la resina haya intensificado la impregnación de las fibras colágenas de la dentina, aumentando de esta forma la resistencia de la interfaz a la agresión hídrica.<sup>8</sup> Independientemente del beneficio proporcionado por el procedimiento de impregnación utilizado, la filtración bacteriana observada en algunos especímenes de ambos grupos podría deberse a otros factores tales como una posible polimerización incompleta del adhesivo<sup>33</sup> o la configuración de la cavidad (factor-C), que influyen de modo negativo sobre la contracción de polimerización, en especial en cavidades como las utilizadas en esta experiencia, cuyo diseño simula el de una cavidad de clase I y donde la acción del factor-C es particularmente intensa.<sup>5,28</sup>

La evaluación de los resultados fue realizada durante 60 días de forma cualitativa, es decir, determinando la presencia o la ausencia de turbidez en el medio de cultivo de la cámara inferior. Si bien este período de tiempo ha sido ya utilizado en experiencias anteriores,<sup>22-25</sup> queda claro que 60 días es en realidad un período relativamente breve, si se toma en cuenta la longevidad esperada de una restauración realizada con resinas compuestas. Sin embargo, el ensayo realizado permite comparar de manera efectiva el grado de resistencia de la interfaz resina/dentina a la penetración bacteriana, cuando las restauraciones fueron realizadas con diferentes procedimientos experimentales durante un tiempo preestablecido y bajo estrictas condiciones de control.<sup>22-24</sup> La presencia de turbidez en la cámara inferior indica contaminación bacteriana del medio de cultivo, pero no

permite reconocer el número de bacterias que han penetrado a través de la interfaz resina/dentina. Dado que hasta el momento el número de bacterias necesario para que se desarrolle un proceso inflamatorio en la pulpa dental no ha sido bien determinado, consideramos que las observaciones realizadas no pueden extrapolarse de forma directa a una situación clínica real, y por lo tanto los resultados obtenidos deberían ser interpretados con cautela.

Con respecto al uso de CHX, los resultados de este trabajo coinciden con los de Sabatini,<sup>19</sup> pero no concuerdan con los de Toledano *et al.*,<sup>31</sup> Belli *et al.*<sup>32</sup> y Hashimoto *et al.*<sup>34</sup> En una experiencia *ex vivo*, Sabatini<sup>19</sup> no observó diferencias significativas en la resistencia adhesiva de restauraciones en el grupo experimental, en el que se empleó CHX, en comparación con el grupo control, donde la CHX no fue utilizada. Por el contrario, Toledano *et al.*,<sup>31</sup> Belli *et al.*<sup>32</sup> y Hashimoto *et al.*<sup>34</sup> observaron, en experiencias realizadas *ex vivo* e *in vivo*, que se producía la degradación de la resina y de las fibras colágenas de la dentina expuestas por el grabado ácido luego de su exposición a un medio hídrico, o a la saliva, durante un período de observación que varió de 1 a 3 años. Braga *et al.*<sup>35</sup> comprobaron que el 59% de los estudios de adhesión de reciente publicación utilizan una muestra de 10 especímenes (n) por grupo; el 15%, una muestra de 5 a 8 n; y el 26%, una muestra de 11 a 25 n. Comparativamente, la mayor parte de estos estudios arrojan resultados diferentes. Esto remarca la importancia de adecuar el poder de la muestra al tipo de experiencia por realizar. En ese sentido, es probable que el período de exposición hídrica y el poder de la muestra utilizados en el presente estudio hayan sido insuficientes como para detectar diferencias significativas, si las hubo. En ese caso, los resultados obtenidos podrían haber sido diferentes.

Otro factor que requiere ser analizado es la posible acción de las MMPs. Estas enzimas son sintetizadas y liberadas en la matriz dentinaria por odontoblastos, y su acción colagenolítica cumple un rol preponderante en el proceso de degradación de la interfaz.<sup>6,7</sup> En experiencias realizadas *in vivo*, Tezvergil-Mutluay *et al.*<sup>36</sup> y Nishitani *et al.*<sup>37</sup> observaron que las MMPs permanecen fosilizadas en la dentina y se reactivan en presencia de un pH ácido, tal como ocurre durante el empleo de un adhesivo de autograbado, el grabado total de la superficie dentinaria o el desarrollo de un proceso de caries.<sup>36,38</sup> Sulkala *et al.*<sup>6</sup> han demostrado que las MMPs también se encuentran presentes en piezas dentarias extraídas y adecuadamente conservadas durante un período de no más

de 60 días. Sin embargo, aún queda por comprobar si en estas condiciones las MMPs pueden ser reactivadas por medio de diferentes tipos de tratamientos y ejercer su acción colagenolítica en experiencias realizadas *ex vivo* en el laboratorio. En el presente ensayo, la ausencia de diferencias significativas entre las probetas de ambos grupos sugiere que no hubo actividad enzimática en el Grupo 1, en el que la dentina no fue tratada con CHX, un reconocido y potente inhibidor de las MMPs.<sup>7,11</sup>

## Conclusiones

Dentro de las limitaciones de este ensayo *ex vivo*, los resultados sugieren que la penetración bacteriana observada en cuatro casos del Grupo 1 y tres del Grupo 2 se produjo como consecuencia de la degradación hidrolítica de la interfaz adhesivo/dentina. Si bien el uso de clorhexidina al 2,0% no parece influir en el grado de penetración de las bacterias a través de la interfaz, es preciso investigar si, tal como ocurre *in vivo*, las enzimas fosilizadas en la matriz dentinaria pueden también reactivarse en las experiencias realizadas en piezas dentarias extraídas, colaborando mediante su acción colagenolítica en la degradación de la interfaz resina/dentina. Estos aspectos serán analizados en experiencias que se encuentran actualmente en desarrollo.

*Los autores declaran no tener conflictos de intereses en relación con este estudio y afirman no haber recibido financiamiento externo para realizarlo.*

## Referencias

1. Downer MC, Azli NA, Bedi RE, Moles DR, Setchell DJ. How long do routine dental restorations last? A systematic review. *Br Dent J* 1999;187:432-9.
2. Spencer P, Ye Q, Park J, Topp EM, Misra A, Marenos O, et al. Adhesive/dentin interface: the weak link in the composite restoration. *Ann Biomed Engineer* 2010;38:1989-2003.
3. Perdigão J. Dentin-bonding variables related to the clinical situation and the substrate treatment. *Dent Mater* 2010;26:24-7.
4. Loguercio AD, Moura SK, Pellizzaro A, Dal-Bianco K, Patzlaff RT, Grande RH, et al. Durability of enamel bonding using two-step self etch systems on ground and unground enamel. *Oper Dent* 2008;33:79-88.
5. He Z, Shimada Y, Tagami J. The effects of cavity size and incremental technique on micro-tensile bond strength of resin composite in class I cavities. *Dent Mater* 2007;23:533-8.
6. Sulkala M, Larmas M, Sorsa T, Salo T, Tjäderhane L. The localization of Matrix Metalloproteinase-20 (MMP-20, Enamelysin) in mature human teeth. *J Dent Res* 2002;81:603-7.
7. Carrillo MRO, Geraldini S, Tay F, De Goes MF, Carvalho RM, Tjäderhane L, et al. In vivo preservation of the hybrid layer by chlorhexidine. *J Dent Res* 2007;86:529-33.
8. Breschi L, Mazzoni A, Ruggeri A, Cadenaro M, Di Lenarda M, Dorigo EDS. Dental adhesion review: Aging and stability of the bonded interface. *Dent Mater* 2008;24:90-101.
9. Bergenholtz G, Cox CF, Loesche WH, Syed SA. Bacterial leakage around dental restorations: its effect on the dental pulp. *J Oral Pathol* 1982;11:439-50.
10. Feitosa VP, Leme AA, Sauro S, Correr-Sobrinho L, Watson TF, Sinhoreti MA, et al. Hydrolytic degradation of the resin-dentine interface induced by the simulated pulpal pressure, direct and indirect water ageing. *J Dent* 2012;40:1134-43.
11. Breschi L, Mazzoni A, Nato F, Carrilho M, Visintini E, Thjäderhane L, et al. Chlorhexidine stabilizes the adhesive interface: A 2-year in vitro study. *Dent Mater* 2010;26:320-25.
12. Carrilho M, Carvalho RM, De Goes MF, Di Hipolito V, Geraldini S, Tay FR, et al. Chlorhexidine preserves dentin bond in vitro. *J Dent Res* 2007;86:90-4.
13. Brackett MG, Tay FR, Brackett WW, Dib A, Dipp FA, Mai S, et al. In vivo chlorhexidine stabilization of hybrid layers of an acetone-based dentin adhesive. *Oper Dent* 2009;34:379-83.
14. Ricci HA, Sanabe ME, de Souza Costa CA, Pashley DH, Hebling J. Chlorhexidine increases the longevity of in vivo resin-dentin bonds. *Eur J Oral Sci* 2010;118:411-16.
15. Breschi L, Martin P, Mazzoni A, Nato F, Carrilho M, Visintini E, et al. Use of a specific MMP-inhibitor (galardin) for preservation of hybrid layer. *Dent Mater* 2010;26:571-8.
16. Gendron R, Grenier D, Sorsa T, Mayrand D. Inhibition of the activities of matrix metalloproteinases 2, 8 and 9 by chlorhexidine. *Clin Diag Lab Immunol* 1999;6:437-9.
17. Imura N, Otani SM, Campos MJA, Jardim EG, Zuolo ML. Bacterial penetration through temporary restorative materials in root-canal-treated teeth in vitro. *Int Endod J* 1997;30:381-5.
18. Colombo AV, Barbosa GM, Higash D. Quantitative detection of *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* and *Pseudomonas aeruginosa* in human oral epithelial cells from subjects with periodontitis and periodontal health. *J Med Microbiol* 2013;62:1592-6000.
19. Sabatini C. Effect of a Chlorhexidine-containing adhesive on dentin bond strength stability. *Oper Dent* 2013;38:609-17.
20. Qvist V. The effect of mastication on marginal adaptation of composite restorations in vivo. *J Dent Res* 1983;62:904-6.
21. Davidson CL, Abdalla AI. Effect of thermal and mechanical load cycling on the marginal integrity of adhesive class II composite resin restorations. *Am J Dent* 1993;6:39-42.
22. Zmener O, Pameijer CH, Rincón SMH, Álvarez Serrano S, Chaves C. Sealing properties of three luting agents used for complete cast crowns: A bacterial leakage study. *Oper Dent* 2013;38:221-8.

23. Zmener O, Pameijer CH, Hernández S. Resistance against bacterial leakage of four luting agents used for cementation of complete cast crowns. *Am J Dent* 2014;27:51-5.
24. Pameijer CH, Zmener O, Álvarez Serrano S, García-Godoy F. Sealing properties of a calcium aluminate luting agent. *Am J Dent* 2010;23:121-4.
25. Zmener O, Álvarez Serrano S, Vidueira M. Evaluación in vitro del sellado coronario provisto por obturaciones realizadas con conos de gutapercha recubiertos con resina y conos de Resilón combinados con dos selladores a base de metacrilatos. *Rev Asoc Odontol Argent* 2007;95:147-53.
26. Scovron L, Kogeo D, Gordillo LA, Meier MM, Gomes OM, Reis A, et al. Effects of immersion time and frequency of water exchange on durability on etch-and-rinse adhesive. *J Biomed Mat Res* 2010;95:339-46.
27. Van Landuyt KL, De Munck J, Mine A, Cardoso MV, Peumans M, Van Meerbeek B. Filler debonding and sub-hybrid-layer failures in self-etch adhesives. *J Dent Res* 2010;89:1045-50.
28. Sano H, Yoshikawa T, Pereyra PN, Kanemura N, Morigami M, Tagami J, et al. Long-term durability of dentin bonds made with a self-etching primer, *in vivo*. *J Dent Res* 1999;78:906-11.
29. Peumans M, De Munck J, Van Landuyt KL, Poitevin A, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Eight-year clinical evaluation of a 2-step self-etch adhesive with and without selective enamel etching. *Dent Mat* 2010;26:1176-84.
30. Opdam NJ, Bronkhorst EM, Loomans EA, Huysmans MC. 12-year survival of composite vs. amalgam restorations. *J Dent Res* 2010;89:1063-7.
31. Toledano M, Osorio R, Osorio E, Aguilera FS, Yamauti M, Pashley DH, et al. Durability of resin-dentin bonds: Effect of direct/indirect exposure and storage media. *Dent Mat* 2007;23:885-92.
32. Belli R, Sartori N, Peruchi LD, Guimarães JC, Araújo E, Monteiro Jr S., et al. Slow progression of dentin bond degradation during one-year water storage under simulated pulpal pressure. *J Dent* 2010;38:802-10.
33. Cadenaro M, Antonioli F, Sauro S, Tay FR, Di Lenarda R, Prati C, et al. Degree of conversion and permeability of dental adhesives. *Eur J Oral Sci* 2005;113:525-30.
34. Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Endo K, Sano H, Oguchi H. In vivo degradation of resin-dentin bonds in human over 1 to 3 years. *J Dent Res* 2000;79:1385-91.
35. Braga RR, Meira JB, Boaro LC, Xavier TA. Adhesion to tooth structure. A critical review of 'macro' test methods. *Dent Mat* 2010;26:38-49.
36. Tezvergil-Mutluay A, Agee KA, Hoshika T, Carrilho M, Breschi L, Tjäderhane L, et al. The requirement of zinc and calcium ions for functional MMP activity in demineralized dentin matrices. *Dent Mater* 2010;26:1059-67.
37. Nishitani Y, Yoshiyama M, Wadgaonkar B, Breschi L, Manello F, Mazzoni A, et al. Activation of gelatinolytic/collagenolytic activity in dentin by self etching adhesives. *Eur J Oral Sci* 2006;114:160-6.
38. Chaussain-Miller C, Fioretti F, Goldberg M, Menaxhi M. The role of matrix metalloproteinases (MMPs) in human caries. *J Dent Res* 2006;85:22-32.

**Contacto:****OSVALDO ZMENER**

osvaldo@zmener.com.ar

Julián Álvarez 2335 (C1425DHI)

Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Argentina