

PAULO AUGUSTO SPERANÇA 36
Cirurgião-Dentista

ANÁLISE DA AÇÃO ANTIMICROBIANA DE CIMENTOS,
SOLUÇÃO E SUSPENSÃO SATURADA DE HIDRÓXIDO
DE CÁLCIO FRENTE A MICROORGANISMOS
FREQUENTES EM CAVIDADES DE CÁRIE.

Estudo "In Vitro"

PARECER

ESTE EXEMPLAR ESTÁ DEVIDAMENTE
CORRIGIDO, COM SEU TEXTO ORIGINAL
APROVADO PELA COMISSÃO JULGADORA,
DE ACORDO COM A RESOLUÇÃO
CCPE 036/83

Tese apresentada à Faculdade
de Odontologia de Piracicaba da
Universidade Estadual de Campi-
nas, para obtenção do Título de
MESTRE em Odontologia na
Área de Concentração Bases
Farmacológicas para a Terapêu-
tica Medicamentosa.

Prof. Dr. Renato Roberto Biral
PRESIDENTE DA BANCA EXAMINADORA

Piracicaba 04/06/84

PIRACICABA
1984

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

A meus pais,

a meus irmãos,

a minha esposa, pela sua dedicação,
paciência e cooperação nesse tempo
de permanência em Piracicaba,

a minha filha,

aos meus familiares,

que compartilharam dos meus ideais
e me incentivaram a prosseguir na jornada, fossem quais fossem
os obstáculos, dedico este trabalho, esperando que se constitua
numa pequena mostra do quanto lhes sou grato, por tudo que me
propiciaram alcançar.

Externamos aqui a nossa admiração e a nossa sincera gratidão ao Prof. Dr. RENATO ROBERTO BIRAL, cuja dedicação, esmero e orientação segura nos foram de fundamental importância para o desenvolvimento da presente pesquisa.

A G R A D E C I M E N T O S

- 1 - Ao Magnífico Reitor da Universidade Estadual de Campinas, Prof. Dr. José Aristodemo Pinotti, pela manutenção do alto nível desta excelente organização de ensino e pesquisa.
- 2 - Ao Prof. Dr. Antonio Carlos Neder, ex-Diretor desta Faculdade e atual Coordenador Geral das Faculdades da UNICAMP, pelo apoio e atenção com que nos distinguiu por ocasião de nossa chegada a Piracicaba e por tudo que tem representado para o desenvolvimento da Farmacologia.
- 3 - Ao Prof. Dr. Luiz Valdrighi, D.D. Diretor da Faculdade de Odontologia - UNICAMP, pela atenção dirigida ao ensino de Pós-Graduação e pelas valiosas sugestões durante a realização deste trabalho.
- 4 - Ao Prof. Dr. Samir Tufic Arbex, Coordenador dos Cursos de Pós-Graduação e Coordenador do Curso de Farmacologia, pela sua atenção, inestimável auxílio e apoio durante todas as etapas do Curso.
- 5 - Aos professores do Curso de Farmacologia, Prof. Dr. Amado Leonísio de Azevedo, sub-coordenador do curso, Profa. Dra. Maria de Lourdes G. da Gama, Prof. Dr. João Leonel José, Prof. José Ranali, Prof. Thales Rocha de Matos e Prof. Eduardo Dias de Andrade, nosso muito obrigado pelo que representaram na nossa formação.

- 6 - Ao Prof. Dr. Pedro Bertolini, pelo incentivo, pelas sugestões e pelos materiais e culturas-padrão gentilmente cedidas para a realização desta pesquisa.
- 7 - Ao Prof. Dr. Joelis Pupo, pelas idéias e sugestões.
- 8 - Aos professores do Curso de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pelos ensinamentos e pelo apoio demonstrado.
- 9 - Ao Instituto Zimotécnico da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - USP, pela cultura de *Candida albicans*, gentilmente cedida.
- 10 - A Fundação de Ensino Superior de Pernambuco - FESP, pelo apoio.
- 11 - Ao Prof. Edrízio Barbosa Pinto, D.D. Diretor da Faculdade de Odontologia de Pernambuco - FESP, pela confiança em nós depositada para a realização deste Curso.
- 12 - Ao Coordenador do PICD /FESP, Geraldo de Oliveira Costa, e à Profa. Angela Vieira da Cunha, Coordenadora dos Cursos de Pós-Graduação da FOP /FESP, pela atenção que sempre nos dispensaram.

- 13 - À Coordenação de Aperfeiçoamento do Pessoal de Nível Superior (CAPES), através do PICD, pela bolsa de estudos concedida para a realização do Curso.
- 14 - A D. Ivany do Carmo Guidolim Gerola - Bibliotecária da FOP /UNICAMP, que gentilmente nos auxiliou na ordenação e correção da revisão bibliográfica.
- 15 - A D. Sueli Duarte de Oliveira Soliani, Secretária dos Cursos de Pós-Graduação, pela amizade e pela atenção com que sempre nos atendeu.
- 16 - Aos técnicos D. Dirce Campos Crystal, D. Aparecida Dalche co Buscariol, D. Benedicta Therezinha Moreira e Sr. Moisés José Maria da Silva, pelo auxílio nas diversas fases da pesquisa.
- 17 - Ao Sr. Adário Cangiani, pela elaboração e montagem da documentação fotográfica.
- 18 - Ao Prof. Adélio Mendes Filho, Secretário Geral da Universidade Metodista de Piracicaba, pela correção gramatical do texto original.
- 19 - A Profa. Letícia Siqueira Cavalcante, pelo auxílio na tradução da Sinopse desta pesquisa para o idioma inglês.

- 20 - Aos colegas do Curso de Pós-Graduação, pela amizade e incentivo.
- 21 - Às indústrias L.D. Caulk Co., Sybron Kerr Ltda. e S.S. White, que gentilmente nos doaram os cimentos à base de hidróxido de cálcio para realização desta pesquisa.
- 22 - Finalmente, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, nossos agradecimentos.

S U M Á R I O

	Pág.
I - INTRODUÇÃO	1
II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	9
III - PROPOSIÇÃO	28
IV - MATERIAIS E MÉTODOS	30
V - RESULTADOS	45
VI - DISCUSSÃO	71
VII - CONCLUSÕES	85
VIII - SINOPSE	88
IX - SINOPSIS	91
X - BIBLIOGRAFIA	94
XI - APÊNDICE	108

I. INTRODUÇÃO

I. INTRODUÇÃO

A cavidade bucal, por suas condições adequadas de temperatura, umidade, presença de células descamadas, restos alimentares, exudatos, pH em diferentes níveis de acidez e alcalinidade, além de zonas com diferentes taxas de oxidação, possibilita o desenvolvimento de uma flora microbiana ampla e variada (NOLTE, 1971).

Trabalhos sobre a ecologia bucal, como o de KRASSE (1954), revelam que nela existem três nichos de desenvolvimento microbiano: placa dental, sulco gengival e dorso da língua.

As bactérias ditas cariogênicas proliferam e habitam a placa dental, sendo que o processo carioso parece estar ligado ao metabolismo de carboidratos, que são transformados, após uma série de reações catalizadas por enzimas, em ácidos, que desmineralizam as estruturas dentárias inorgânicas. O processo vem acompanhado da desorganização das substâncias orgânicas, chegando, em um número muito grande de ca -

sos, a atingir o tecido pulpar*.

Para identificar a importância dos microorganismos na resposta pulpar, é interessante lembrar os experimentos de KAKEHASHI, STANLEY & FITZGERALD (1965). Eles observaram que polpas expostas em ratos "germ-free" não desenvolviam alterações inflamatórias severas ou desvitalização, bem como não havia desenvolvimento de reações periapicais; ao contrário, ocorriam cicatrizações, ainda que em presença de impacção alimentar. Os animais tratados de forma similar, mas em condições convencionais, desenvolviam enfermidades pulpares e periapicais.

A cárie dental é responsável por mais de 80% das lesões da polpa. Sendo de natureza infecciosa, representa a forma mais comum de acesso de microorganismos a esse tecido (HIZATUGU & VALDRIGHI, 1974).

BAMMANN & ARAÚJO (1976), estudando o espectro microbiano das cáries profundas de dentina, relatam a predominância de estreptococos e lactobacilos, chamando a atenção para a grande incidência de microorganismos do gênero *Veillonella*, que desempenhariam um papel de equilíbrio da microbiota. BURNETT, SCHERP & SCHUSTER (1978) relatam que das lesões cariosas profundas tem sido isolados estreptococos, estafilococos, lactobacilos e microorganismos filamentosos.

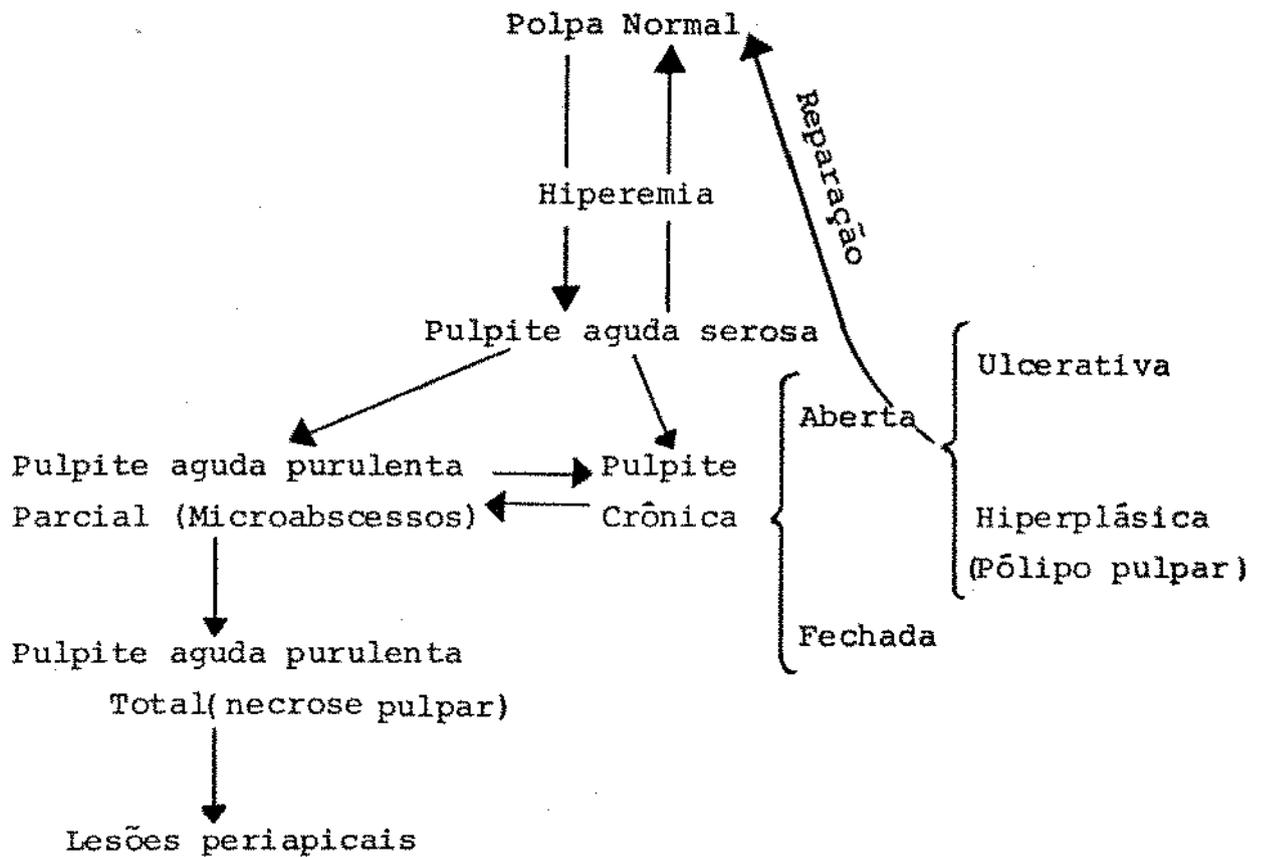
* Conceito segundo o Grupo de Michigan (1947), Apud OLIVEIRA LIMA & GARCEZ LIMA, 1981.

Destes germes, os estreptococos têm sido descritos como o agente principal nos processos de pulpíte. Também os estafilococos e germes filamentosos têm sido citados como participantes desses processos inflamatórios. Por outro lado, persistem dúvidas quanto à participação dos lactobacilos como agentes ativos, sendo considerados como meros invasores secundários (BAMMANN & ARAÚJO, 1976 ; BURNETT, SCHERP & SCHUSTER, 1978).

Diante do estímulo lesivo microbiano, coadjuvado ou não por estímulos físicos e/ou químicos, a lesão tecidual é prontamente respondida com o desencadeamento de uma reação inflamatória (HIZATUGU & VALDRIGHI, 1974). O Quadro I dá uma visão geral da dinâmica do processo inflamatório na polpa dental e identifica através de setas a reversibilidade do processo nas diversas fases.

A identificação da fase inflamatória pulpar, obviamente, é dada pela predominância de alguns fenômenos. Ressaltam HIZATUGU & VALDRIGHI (1974) que o importante é saber que "nem sempre a polpa está irremediavelmente perdida, quando envolvida por um processo inflamatório", podendo, portanto, quando bem avaliadas as condições biológicas do tecido pulpar, instituir-se um tratamento conservador.

Entende-se por tratamento conservador os procedimentos clínicos que têm por finalidade a preservação da vitalidade pulpar, quer exista, quer não exista exposição desse te-



QUADRO I - Dinâmica do processo inflamatório na polpa dental, segundo HIZATUGU & VALDRIGHI (1974).

cido à cavidade oral (HIZATUGU & VALDRIGHI, 1974). Estes autores classificam o tratamento conservador em:

a) Proteção indireta (forramento)

- b) Proteção direta
- 1. Capeamento pulpar
 - a) direto
 - b) indireto
 - 2. Curetagem pulpar
 - 3. Pulpotomia

Para as proteções pulpares indiretas, na fase final, onde se executa a limpeza das cavidades, autores como McGEHEE, TRUE & INSKIPP (1956); ENGLANDER *et alii* (1958); GABEL (1959); STURDEVANT *et alii* (1968), entre outros, contra-indicam o emprego de agentes "esterilizantes" da dentina (fenol e seus derivados, nitrato de prata, água oxigenada e outros produtos), que, muito em voga no passado, estão proscritos nos dias atuais, uma vez que revelam indiscutíveis ações deletérias sobre a polpa. Nestes casos a descontaminação é alcançada a custa dos forradores de cavidade e da própria restauração dental.

Quando ocorre exposição direta do tecido pulpar, sobretudo nas exposições acidentais, com descuido dos princípios de assepsia ou nos casos em que se pressupõe uma contaminação pulpar, como, por exemplo, em curetagens (remoção de pólipos) ou em pulpotomias, a presença dos microorganismos pode influir desfavoravelmente nos resultados (GARDNER, MITCHELL & McDONALD, 1971; PATERSON, 1971, 1976; PAIVA & ALVARES, 1978).

Para LOSSIO (1972) um material de proteção dentino-pulpar ideal deve apresentar os seguintes requisitos:

1. Ser bactericida e bacteriostático;
2. Ser bom isolante térmico, elétrico e químico;
3. Evitar penetração marginal e dentinária;
4. Evitar a descoloração do dente;

5. Apresentar resistência mecânica satisfatória;
6. Apresentar compatibilidade biológica, induzindo reações reparativas da polpa dental;
7. Ser compatível com o material restaurador, não interferindo com suas reações de presa e sua coloração.

Após criteriosas investigações, comprovou-se que o hidróxido de cálcio - Ca(OH)_2 - preconizado por HERMANN (1920) era o material que reunia o maior número de requisitos para ser usado como primeira camada protetora em cavidades profundas com suspeita de apresentarem microexposições ou polpas expostas (SELA, HIRSCHFELD & ULMANSKY, 1972; MONDELLI *et alii*, 1976).

Para uso clínico, o hidróxido de cálcio é apresentado sob diversas formas (MONDELLI *et alii*, 1976) :

- a) em pó, ou seja, o hidróxido de cálcio p.a., para ser usado na forma de suspensão aquosa (lama de cal) ou dissolvido em água (água de cal);
- b) em suspensão fluida ou em forma de pastas associadas a metilcelulose;
- c) associado a vernizes cavitários (Cavity liners);
- d) associados a determinadas bases, formando os chamados cimentos cavitários.

Dentre os principais requisitos dos materiais

de proteção dentino - pulpar, as propriedades antimicrobianas do hidróxido de cálcio merecerão atenção especial neste trabalho.

II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O hidróxido de cálcio, quando empregado diretamente sobre tecido pulpar, além de preservar-lhe a vitalidade, graças à sua biocompatibilidade (CONRADO, FINN & WINKLER, 1965; APONTE, HARTSOOK & CROWLEY, 1966; BERNARD, 1968; MELLO *et alii*, 1972; LEONARDO, 1973; LEONARDO *et alii*, 1974; HIZATUGU & VALDRIGHI, 1974; HOLLAND, 1975; FERREIRA, ALMEIDA & FONSECA, 1978) , cria condições para a reparação e formação de uma barreira dentinária, por sua capacidade indutora de calcificações (MASSLER, 1955; DAMELE, 1961; YOSHIKI & MORI, 1961; EDA, 1961; LAW & LEWIS, 1961; HELD-WYLER, 1964; EIDELMAN, FINN & KOULOURIDES, 1965; MJOR, 1967; KERKHOVE *et alii*, 1967; TRAUBMAN , 1967; HOLLAND *et alii*, 1972; TRONSTAD & MJOR, 1972; HUTCHINS & PARKER, 1972; TRONSTAD, 1974; COTTON, 1974; PATERSON, 1976; HEYS *et alii*, 1977; HEYS *et alii*, 1979; HEYS *et alii*, 1979; ISERMANN & KAMINSKI, 1979) .

A ação antimicrobiana dos capeadores pulpaes à base de hidróxido de cálcio tem recebido atenção especial dos

pesquisadores (HERMANN, 1935; PROELL, 1949). Essa atividade é considerada como sendo resultado de seu pH altamente alcalino (12,3 - 12,4) , que é adverso à sobrevivência da maioria dos microorganismos (LAW, 1962; HAVERLA & CERMAN, 1962; MAURICE , KROEGER & KIEGER, 1965; FISHER, 1972; BINNIE & ROWE , 1973 ; HEITHERSAY, 1975; FISHER & McCABE, 1978) .

Entre os principais estudos sobre a propriedade antimicrobiana de materiais à base de hidróxido de cálcio podem ser citados os seguintes:

CASTANGNOLA (1956) comprova o efeito antimicrobiano do hidróxido de cálcio. Nesse trabalho, testa o medicamento contra os seguintes germes: *Staph. aureus*, *Staph albus*, estreptococos hemolíticos e não hemolíticos, enterococos, coquetel de bactérias aeróbias e coquetel de bactérias anaeróbias. O meio de cultura, após semeadura, sofreu na sua porção central uma escavação, que foi preenchida com uma das medições: Calxyl, Dentigene ou Serocalcium (materiais odontológicos à base de hidróxido de cálcio). Depois de 48 horas de incubação, examinou as placas e observou a existência de uma área branca leitosa, de tamanho variável, ao redor dos medicamentos. O exame minucioso revelou nessas zonas a presença de colônias bacterianas de tamanho diminuto.

Procurando analisar até onde se estendia a forte alcalinidade da medicação, tida como responsável pela ação antimicrobiana, agregou fenolftaleína ao ágar, antes de vertê-

lo na placa de Petri. O experimento revelou pH próximo de 9,7 apenas em torno da medicação.

Partindo dessa observação, e pelo fato de as preparações à base de hidróxido de cálcio serem autoesterilizáveis, deduziu que o efeito antimicrobiano do medicamento se limitaria à zona de contato superficial.

HAWES, DIMAGGIO & SAYEG (1964) relataram observações feitas "in vivo" por períodos que oscilaram de 2 semanas a 4 anos, em dentes tratados com suspensão de hidróxido de cálcio metilcelulose, nos quais foram realizados capeamentos pulpares diretos, indiretos e pulpotomias.

Relataram que culturas bacterianas de raspas de dentina oriundas dos dentes reabertos após diversos intervalos de tempo, revelaram persistência de microorganismos cultiváveis por prolongados períodos.

KING, CRAWFORD & LINDAHL (1965) realizaram estudos "in vivo" com dentes humanos. Numa primeira etapa foi analisado se as camadas de dentina cariada residual de dentes selecionados para receberem capeamento pulpar indireto estavam contaminadas. A seguir foi analisado se essas camadas podiam tornar-se estéreis pelo seu recobrimento com hidróxido de cálcio ou óxido de zinco - eugenol. Também com o mesmo propósito foi testado o amálgama de prata. Todos os dentes receberam restauração final da coroa com amálgama de prata.

Após períodos que variaram de 25 a 206 dias, os dentes foram reabertos, e reexaminadas as condições bacteriológicas.

Os achados da primeira etapa revelaram que todos os dentes selecionados se apresentavam contaminados com flora predominante de lactobacilos e estreptococos alfa e gama.

Na reanálise das condições bacteriológicas, ou seja, na segunda etapa, foi observado que, em 13 dos 21 casos tratados com hidróxido de cálcio, a dentina estava estéril. O óxido de zinco -eugenol levou à esterilidade 18 dos 22 casos tratados. Foi observado, ainda, que nos casos em que não ocorreu esterilização, o número de bactérias estava grandemente diminuído em relação à amostra inicial.

Clinicamente observaram maior consistência da dentina remanescente nos dentes tratados com hidróxido de cálcio. Por outro lado, nenhum dos dentes capeados indiretamente com hidróxido de cálcio ou óxido de zinco -eugenol apresentou exposição pulpar.

Os resultados apresentados pelo amálgama de prata colocado diretamente sobre a dentina revelou: 1º) houve falha em produzir esterilidade em todos os 8 casos testados; 2º) em três dos 8 casos, durante o reexame, ocorreram trepanações pulpares; 3º) o número de bactérias sofreu decréscimo com o tratamento, mas não tão intenso como os obtidos com os dois outros agentes.

APONTE, HARTSOOK & CROWLEY (1966) se propuseram avaliar o estado bacteriológico da dentina cariada de 30 molares inferiores decíduos após capeamento pulpar indireto com hidróxido de cálcio. Para o exame dos dentes foram considerados diversos intervalos de tempo entre o capeamento e a reabertura, sendo o período mínimo de 6 meses e o máximo menos de 4 anos. As amostras de tecido cariado foram colhidas através da utilização de curetas dentinárias estéreis, e colocadas em meio glicose - ascite (DIFCO), incubadas a 37°C, até que o crescimento bacteriano fosse evidente. Como contra-prova, todas as culturas negativas foram reincubadas por períodos de 2 semanas, a 37°C.

A dentina cariada residual se mostrou estéril em 93% dos dentes capeados, sendo que as 2 únicas culturas positivas continham lactobacilos e estreptococos.

SAMPAIO (1967) se propôs estudar as alterações histopatológicas ocorridas em 60 polpas dos primeiros molares superiores de ratos. Os animais foram reunidos em 3 grupos e sacrificados após 24, 48, 72 horas, 7 e 15 dias. No grupo I, as polpas que foram expostas cirurgicamente e protegidas com material inerte (disco de aço inoxidável), quase nunca mostraram cura 15 dias após a exposição. No grupo II, polpas que foram expostas cirurgicamente, infectadas com amostras de estreptococos e protegidas com o mesmo material inerte, mostraram degeneração total e necrose 15 dias após a exposição em todos os casos. No grupo III, as polpas expostas e contami-

nadas de forma idêntica às do grupo II , mas que foram protegidas com Ca(OH)_2 , mostraram vitalidade e processo de cura, com formação de ponte de dentina.

ALLEVA (1968) analisou "in vitro", através de testes de difusão, entre outros materiais, a atividade antimicrobiana de uma preparação comercial de hidróxido de cálcio (Calxyl), a qual também foi utilizada em solução aquosa saturada. O material séptico proveio de canais radiculares de dentes com processo de gangrena. Os microorganismos foram isolados, classificados e repicados em placas de ágar - sangue.

Os resultados revelaram que o Calxyl (puro e em solução) não mostrou atividade satisfatória, apresentando um discreto efeito antimicrobiano sobre os microorganismos testados.

AZRILIAN & KURINA (1969) estudaram o efeito do hidróxido de cálcio sobre a microflora de cavidades de cárie de 60 pacientes com quadros clínicos de pulpíte. Análises microbianas realizadas antes do tratamento revelaram que as culturas consistiam principalmente de estafilococos e estreptococos puros ou associados aos lactobacilos e bacterioides. Culturas posteriores revelaram que o Ca(OH)_2 inibiu principalmente o crescimento de cocos gram-positivos, tendo também diminuído a capacidade hemolítica das amostras isoladas. Esterilidade total só foi observada em 11 pacientes, o que corresponde a 18,3% do total de dentes tratados.

ONOSE, YAMASAKI & KURODA (1969) estudaram o efeito antimicrobiano de vários agentes capeadores e de cimentos obturadores de canais radiculares. Dentre os materiais capeadores testados, num total de 6, 3 possuíam como componente básico o Ca(OH)_2 , ou seja, o Dycal, Calvital e o Pulpdent.

Foram utilizados nesse trabalho, como meios de cultura, o ágar infusão cérebro - coração (DIFCO) adicionado de sangue desfibrinado de cavalo para o cultivo de *Str. mitis*, *Str. faecalis*, *Str. sp* e *Corynebacterium xerosis*; ágar infusão cérebro - coração (DIFCO) para o cultivo de *Staph. aureus* e *E. coli* e o meio de SHI para o cultivo de *L. acidophilus*.

Os testes foram realizados logo após a manipulação do material e também tardiamente. Para esta segunda fase, os capeadores pulparem foram colocados em cavidades preparadas em dentes recém-extraídos, esterilizados em autoclave e selados com guta-percha e amálgama. A seguir os dentes foram submersos em saliva artificial de GREENWOOD a 37°C , para evitar perda de umidade. Os testes foram realizados após 15 dias, 3 meses e 6 meses.

Passados os respectivos períodos, os capeadores foram removidos das cavidades e colocados em placa de cultura, contendo como inóculo as bactérias citadas. Estas foram incubadas a 37°C , por 48 horas, em condições aeróbicas, sendo então feita a leitura dos halos de inibição, tendo os resultados revelado que:

- O Dycal não mostrou efeito antibacteriano perante *Str. mitis*, *Str. faecalis*, *Staph. aureus* e *E. coli*; mas se mostrou ativo perante *C. xerosis* e *L. acidophilus* apenas imediatamente após a espatulação. Perante o *Str. sp*, sua ação prolongou-se por 15 dias.

- O Calvital só não foi ativo logo após a espatulação perante *Str. faecalis* e *E. coli*. Sua atividade antimicrobiana prolongou-se por 15 dias frente ao *Str. sp* e *Staph. aureus*.

- O Pulpdent apresentou efeito antimicrobiano perante *C. xerosis* e *L. acidophilus* somente após a mistura. Perante o *Str. sp* foi ativo por 6 meses, não mostrando, no entanto, atividade perante *Str. faecalis*, *Str. mitis*, *Staph. aureus* e *E. coli*.

Como pode ser observado, os autores ressaltaram que os agentes capeadores não mostraram efeitos perante *Str. faecalis* e *E. coli* e que seu potencial antimicrobiano não se mantinha por tempo prolongado.

KALOYANNIDIS (1970) avaliou a atividade antisséptica de 8 materiais usados como protetores pulpares, sendo 3 à base de óxido de zinco-eugenol e 4 à base de Ca(OH)_2 (Hydrex, Reorgan, um verniz tipo Cavity liner e Drop-sin). O oitavo material foi o Propulpan, cuja composição não foi revelada. A atividade antisséptica foi testada sobre microorganismos aeróbios e anaeróbios, os quais se desenvolveram em meios de cultura a partir de raspas de dentina cariada. Concluiu que, dos materiais estudados, aqueles à base de

hidróxido de cálcio não mostraram atividades antissépticas significativas, enquanto todos os outros o fizeram.

BROUKAL & ZEMANOVA (1972) pesquisaram as propriedades antimicrobianas de um cimento à base de óxido de zinco - eugenol (Caryosan), uma resina resorcina - formalina (Foredent) usada como obturador de canal, um cimento fosfato (Adhesor) e o hidróxido de cálcio (Calxyl).

O Foredent foi o material que melhor desempenho apresentou, tendo sido a atividade do Calxyl inferior à dele. Após 6 meses, os materiais ainda apresentavam certa atividade antimicrobiana, sendo a do Calxyl superior à do Foredent e à do Caryosan. O Adhesor não mostrou atividade antimicrobiana.

FISHER (1972) verificou "in vivo" o efeito antimicrobiano de uma suspensão aquosa saturada de Ca(OH)_2 sobre microorganismos presentes na dentina cariada, intencionalmente deixada durante os preparos cavitários de dentes permanentes. Culturas obtidas da dentina cariada antes de serem submetidas à ação da medicação revelaram a presença de lactobacilos, estreptococos, actinomicetos e *Veillonella*. Findo o período de 6 meses, os dentes foram reexaminados, não tendo sido observada a presença de microorganismos viáveis. Deduziu o autor que o prolongado contato do Ca(OH)_2 com a dentina infectada a torna estéril.

SANTOS *et alii* (1974) se propuseram: 1º) verificar a ação antisséptica da solução aquosa saturada de hidró-

xido de cálcio, quando usada para irrigação simples durante a biomecânica dos canais radiculares; 2º) expor uma nova técnica de colheita microbiológica dos canais radiculares e compará-la com a técnica clássica, que utiliza cones de papel absorvente; 3º) comparar a eficiência do meio de HITCHENS modificado com o de Tioglicolato de BREWER, em condições de anaerobiose.

Relativamente ao primeiro estudo, concluíram que a eficiência antisséptica da solução aquosa saturada de Ca(OH)_2 , quando usada em irrigações alternadas com a instrumentação, era estatisticamente significativa. Observaram ainda que o *Str. sanguis* e o *B. subtilis* foram detectados apenas nas culturas pré-operatórias, enquanto o *Str. faecalis* e o *Str. mutans* persistiram nas fases posteriores.

FISHER (1977) analisou "in vivo" o efeito antimicrobiano de 2 materiais à base de hidróxido de cálcio (Dycal e o Hydrex) e de um composto de óxido de zinco e eugenol modificado (Kalzinol), sobre microorganismos encontrados em dentina cariada. Vinte e sete dentes permanentes foram preparados segundo metodologia preconizada pelo próprio autor, tendo sido os materiais colocados sobre o tecido dentinário remanescente por um período de 6 meses, após os quais se constatou que o Dycal foi o que melhor desempenho apresentou, com a esterilização total dos tecidos contaminados.

Numa segunda fase o autor analisou "in vitro" a atividade antimicrobiana de 5 materiais: gesso de Paris,

hidróxido de cálcio, Dycal, Hydrex e Kalzinol. A Tabela I mostra o efeito dos materiais. Como pode ser observado o Ca(OH)_2 a 10% apresentou um halo de inibição maior que o do Dycal perante *L. casei* e *Str. mutans*. Perante *Staph. oxford*, o Dycal foi mais efetivo que o Ca(OH)_2 a 10% .

TABELA I - Efeito dos medicamentos sobre o crescimento microbiano.

Microorganismos	<i>Staphylococcus</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Streptococcus</i>
	<i>oxford</i>	<i>casei</i>	<i>mutans</i>
Material	Z O N A D E I N I B I Ç Ã O		
Gesso de Paris / Água	-	-	-
Ca(OH)_2 a 10%	2,0	8,0	6,0
Dycal	2,5	3,5	4,5
Hydrex	-	-	-
Kalzinol	2,5	3,0	3,5

FISHER & McCABE (1978) estudaram, através de espectroscopia infravermelha, a relação entre a estrutura química e as atividades antimicrobianas dos compostos à base de

hidróxido de cálcio (Dycal e Hydrex). O estudo foi direcionado de forma a correlacionar a ação antimicrobiana a possíveis diferenças existentes na composição dos materiais. Os testes microbiológicos frente ao *Str. mutans*, *Lactobacillus casei* e *Staph. oxford*, revelaram que o Dycal apresentou capacidade inibitória, enquanto o Hydrex, perante os mesmos germes, se mostrou ineficaz. Procurando explicar o fenômeno, atribuíram as diferenças à natureza hidrofílica da matriz orgânica do veículo. O Hydrex possui uma matriz oleosa tipo parafina, a qual é hidrófoba. O Dycal possui como matriz o etiltolueno sulfonamida, sendo hidrófila. No primeiro caso, a matriz impede a difusão de água no interior do material, enquanto a matriz do Dycal, que possui grupos polares, permite a difusão.

Foram testados, ainda, neste estudo, o Procal (3 M) e o Reocap (Vivadent), que também mostraram propriedades antimicrobianas.

FERREIRA, ALMEIDA & FONSECA (1978) avaliaram "in vitro" e "in vivo" o potencial bactericida e bacteriostático de soluções de hidróxido de cálcio utilizadas como curativo de demora em canais radiculares. Os testes "in vitro" foram realizados após o preparo das soluções de hidróxido de cálcio em saliva fisiológica estéril, em concentrações de 5, 10 e 20%, as quais foram distribuídas em tubos estéreis. Posteriormente foram acrescentados 0,2 ml de uma cultura de 24 horas de *Streptococcus sp* em BHI (BRAIN - HEART INFUSION) os quais foram incorporados por agitação mecânica. Após 5, 10, 15,

20 , 25 e 30 minutos de contato, foi feito o repique de 0,1 ml para tubos, contendo "Fluid Thioglycollate Medium" (BBL), incubados a 37°C por 24 horas. Os resultados revelaram que com a solução a 5% , nos diversos intervalos de tempo, todos os testes foram positivos. Na concentração de 10% todos os testes foram positivos, exceto o do tubo nº 2 , que após 30 minutos se mostrou negativo. Quando foi utilizada a solução a 20% todos os testes após 30 minutos deram resultados negativos. Os autores concluíram que na avaliação do poder bactericida e bacteriostático do hidróxido de cálcio, a sua concentração é inversamente proporcional ao tempo de contato com os microorganismos.

A avaliação "in vivo" foi feita com a solução de Ca(OH)_2 a 10% em dentes com polpas necróticas. Os canais foram instrumentados por técnicas convencionais e irrigados com soro fisiológico. De um total de 20 dentes selecionados, 4 não foram considerados; dos 16 dentes restantes, 11 mostraram testes positivos antes da instrumentação inicial e negativos após a biomecânica e a aplicação da solução durante 20 minutos. Os 5 dentes que mostraram positividade , após 7 dias de curativo intracanal com a mesma solução revelaram testes bacteriológicos negativos.

Os autores observaram que nunca houve resposta inflamatória em termos de sintomatologia clínica e que a solução de hidróxido de cálcio a 10% levou a testes bacteriológicos negativos em todas as ocasiões.

ISERMANN & KAMINSKI (1979) , trabalhando em dentes de cão, analisaram a resposta pulpar quando esta era submetida a exposições mínimas e contaminada com *Str. faecalis*. Foi avaliada, também, a influência do Dycal nessas condições. Os resultados analisados através de exames radiográficos e histológicos 90 dias após o experimento, revelaram que 8 dos 9 dentes cujas polpas haviam sido expostas, infectadas e capeadas com Dycal apresentaram sinais de normalidade. Por outro lado, todas as polpas expostas, contaminadas mas não capeadas com Dycal apresentaram alterações e desenvolvimento de lesões apicais. Os resultados sugeriram que o Dycal contribui favoravelmente para a preservação da vitalidade pulpar, mesmo na presença de bactérias.

LEUNG , LOESCH & CHARBENEAU (1980) se propuseram a estudar o efeito do Dycal sobre bactérias presentes na dentina cariada. Inicialmente, metade da dentina cariada foi escavada e cultivada. No grupo experimental a outra metade foi recoberta com Dycal, enquanto no grupo controle a dentina foi recoberta com cera. A obturação nos 2 casos foi feita com óxido de zinco -eugenol. Os dentes foram reexaminados bacteriologicamente após 4 semanas. Os resultados revelaram que não houve diferenças qualitativas e quantitativas entre o grupo controle e as contagens iniciais. Já para o grupo experimental, o número de colônias cultivadas decresceu significativamente. Os autores concluíram que é possível descontaminar a dentina, recobrindo-a com Dycal e selando a cavidada

de com óxido de zinco -eugenol por um período de 4 semanas.

FAIRBOURN , CHARBENEAU & LOESCH (1980) avaliaram o efeito do Dycal melhorado (radiopaco) e do IRM sobre bactérias presentes nas camadas profundas de lesões cariosas. O efeito foi analisado "in vivo" por um período de 5 meses, através de culturas microbiológicas das camadas cariadas profundas antes e depois da ação dos dois cimentos. A análise dos resultados revelou que os dois cimentos testados determinaram um significativo decréscimo na contagem de microorganismos. Não foi possível detectar diferenças estatisticamente significantes entre os dois métodos de tratamento. Diante dos resultados obtidos, os autores colocaram em dúvida a necessidade da remoção da dentina cariada residual.

A capacidade de cura de polpas dentais expostas mecanicamente e contaminadas bacteriologicamente foi analisada por COX *et alii* (1982) após capeamento com dois materiais à base de hidróxido de cálcio (Dycal e Life). Cento e oitenta dentes de 7 macacos da Índia (Macaca mulata) foram utilizados, sendo 45 como controle e 135 no grupo experimental, dos quais 126 foram examinados. Cavidades classe V foram preparadas, resultando em exposições pulpares, as quais permaneceram abertas na cavidade oral por períodos de 0 , 1 , 24 h ou por sete dias. Os dentes do grupo controle não receberam qualquer tipo de tratamento, enquanto os dentes do grupo experimental, após limpeza, foram capeados com os materiais à base de hidró-

xido de cálcio e restaurados com amálgama, tendo sido deixados em repouso por 5 semanas.

Nos tempos de 0 e 1 hora, no grupo controle, foram observados danos por trauma mecânico, enquanto para 24 horas e 7 dias se constatou pronunciada infiltração de polímeros nucleares (neutrófilos). Após 7 dias alguns dentes mostraram necrose parcial e total. Bacteriologicamente, para esse grupo, bactérias não foram detectadas no tecido pulpar nos tempos de 0 e 1 hora. Com 24 horas de exposição os dentes mostraram invasão de bactérias a nível da cavidade, sendo que em um deles as bactérias invadiram o tecido pulpar. Com 7 dias, as bactérias estavam no interior da câmara pulpar na maioria dos dentes examinados.

O grupo experimental após 5 semanas, mostrou que, nos tempos de 0, 1 e 24 horas, a ferida pulpar estava em cicatrização, com um grau de inflamação pulpar mínima, com reorganização do tecido e formação de ponte de dentina em 86 de 99 casos. Bactérias foram encontradas nas paredes da cavidade em apenas 4 de 84 dentes. Após 7 dias, o processo de cura das exposições foi menos freqüente, apresentando sinais de ponte dentinária em 15 de 27 dentes.

Os autores concluíram que a exposição mecânica de polpas dentais de macacos com contaminação oral tem uma alta capacidade de resolver o processo inflamatório e iniciar a cura com nova formação de tecido dentinário, quando as exposi-

ções foram tratadas como descrito. Os autores não observaram diferenças significativas no estabelecimento do processo de cura, nem no número de bactérias presentes com o uso do Dycal e do Life.

STEVENS & GROSSMAN (1983) se propuseram avaliar o potencial antimicrobiano do $\text{Ca}(\text{OH})_2$ para ser usado como curativo intracanal. Essa atividade foi estudada "in vitro" e "in vivo", sendo o paramonoclorofenol canforado (PMCF-C) tomado como referencial de comparação. Os experimentos foram direcionados para a ação dos materiais perante o *Str. faecalis*.

Os testes "in vitro" foram realizados em placas contendo caldo BHI (BRAIN - HEART INFUSION) acrescido de 1,5% de ágar e de 0,02% de um indicador de pH (azul de timol, fenolftaleína ou amarelo alizarina). Após a inoculação, foram feitas perfurações nas placas, com anéis de metal estéreis, sendo os materiais à base de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (pasta, Pulpdent), assim como o PMCF-C colocados em cada um dos orifícios. Procedeu-se à incubação a 37°C . As observações foram feitas no sentido de se detectarem zonas de inibição e zonas onde ocorreu mudança de pH, indicada por alterações de cor em volta dos orifícios. Para o paramonoclorofenol canforado foram observadas grandes zonas de inibição (19,5 mm). Pequenas áreas leitosas foram vistas em torno da pasta de hidróxido de cálcio e do Pulpdent (10 mm), tendo os autores atribuído a natureza dessas zonas à difusão dos materiais à base de hidróxido de cálcio, não sendo observada, porém, inibição do crescimento bacte

riano. A solução saturada de hidróxido de cálcio não mostrou nenhuma zona de inibição ou difusão. Observaram ainda, próximo à pasta de Ca(OH)_2 e o Pulpdent, mudanças de coloração indicativas de alterações no pH (12.1) .

Os testes realizados "in vivo" , utilizando-se dentes de gato, confirmaram os achados obtidos "in vitro", tendo concluído os autores que o Ca(OH)_2 em solução , suspensão saturada (pasta) ou o Pulpdent não são efetivos em destruir *Str. faecalis*. O paramonoclorofenol canforado revelou habilidade em destruir esses germes, tanto "in vitro" como "in vivo".

Como pode ser observado pela análise dos trabalhos existentes na literatura, as propriedades antimicrobianas dos materiais à base de hidróxido de cálcio ensejam algum questionamento. Há possibilidade de que a utilização de outra metodologia possa contribuir para a elucidação do assunto. Pode ser observado, também, que, dos cimentos de hidróxido de cálcio em uso, somente o Dycal tem recebido especial atenção.

III. PROPOSIÇÃO

III. PROPOSIÇÃO

O propósito desta pesquisa é a de realizar "in vitro" um estudo comparativo da ação antimicrobiana de materiais à base de hidróxido de cálcio, perante microorganismos mais freqüentes em cavidades de cáries profundas, bem como verificar a esterilidade dos blocos de manipulação dos cimentos à base de hidróxido de cálcio.

IV. MATERIAIS E MÉTODOS

IV. MATERIAIS E MÉTODOS

1 - Materiais à base de Hidróxido de Cálcio (Cimentos, Suspensão e Solução)

1.1. Material A Dycal (L.D. CAULK CO.)

1.2. Material B Life (SYBRON-KERR LTDA.)

1.3. Material C Renew (S.S. WHITE)

Todos os cimentos foram manipulados em placa de vidro estéril, tendo sido utilizada a mesma proporção em volume da pasta base e da pasta catalizadora.

1.4. Material D Suspensão aquosa saturada de hidróxido de cálcio (lama de cal)

Este material foi preparado imediatamente antes do uso, pela incorporação gradativa de hidróxido de cálcio U.S.P. (CARLO ERBA) a algumas gotas da porção sobrenadante de uma solução saturada de hidróxido de cálcio. As quantidades de pó e líquido não tiveram uma proporção definida. Foi usada como parâmetro a consistência do material preparado para uso clínico. Esta era considerada ideal quando se obtinha uma mistura do aspecto idêntico ao de uma lama. O seu preparo também foi realizado em placa de vidro estéril.

1,5. Material E Solução aquosa de hi
dróxido de cálcio (água
de cal)

Num frasco âmbar de aproximadamente 150 ml, foram colocados 2,0 g de hidróxido de cálcio U.S.P. (CARLO ERBA) e acrescentados 100 ml de água destilada. Após agitação, deixou-se em repouso por algumas horas para sedimentação, tendo sido utilizada a parte sobrenadante do material.

2 - Especificação e Procedência das Amostras

Para realização dos testes de sensibilidade que este trabalho se propôs, utilizaram-se culturas puras e culturas mistas.

Culturas Puras

B. subtilis
P. aeruginosa
Staph. epidermidis
Str. faecalis var. *liquefaciens*
Str. salivarius
Str. mutans
Candida albicans

Todas provenientes da disciplina de Microbiologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, exceção feita à *Candida albicans*, que teve como procedência o Instituto Zimotécnico da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - USP. Foi comprovada a pureza das culturas e, a seguir, as mesmas foram armazenadas em meio de CTA (Cistina Trypticase Agar) - (BBL)

Culturas Mistas

Obtidas de crescimento bacteriano em caldo de Tioglicolato, BREWER modificado (BBL) de raspas de dentina removidas de cavidades de cárie em suas porções profundas.

Com os cuidados de assepsia necessários, a colheita do material séptico foi realizada com colheres de dentina, após os dentes terem sido isolados com dique de borracha e o campo recebido antissepsia com STERYLDERME (DARROW Laboratórios S/A). Foram colhidas amostras de 5 casos diferentes.

As raspas de dentina foram, então, transferidas para tubos de ensaio, contendo 8 - 9 ml de caldo de Tioglicolato, BREWER modificado (BBL), os quais foram incubados por 48 horas a 37°C. Constatado o crescimento, procedeu-se à homogenização do mesmo por meio de discretos movimentos de agitação e rotação. Foi transferido 0,1 ml de cada cultura para 20 ml de sangue desfibrinado e estéril de coelho jovem e normal (ZINSSER & BAYNE - JONES, 1947). Por meio de movimentos de agitação, realizou-se a incorporação dos inóculos ao sangue. Após 24 horas de incubação a 37°C, as amostras foram armazenadas em geladeira, à temperatura de 9 - 10°C, durante os 3 meses que durou a parte experimental da pesquisa.

3 - Meios de Cultura

3.1. Caldo semi-sólido CTA (BBL)

Cistina	0,5	g
Trypticase	20,0	g
Ágar	3,5	g
Cloreto de Sódio	5,0	g
Sulfito de Sódio	0,5	g
Vermelho fenol	0,017	g
Água destilada	1.000	ml

pH 7,3

3.2. Caldo de Tioglicolato, BREWER modificado (BBL)

Trypticase	17,5	g
Phytone	2,5	g
Dextrose	10,0	g
Cloreto de Sódio	5,0	g
Fosfato Dipotássio	2,0	g
Tioglicolato de Sódio	1,0	g
Azul de Metileno	0,002	g
Ágar	0,5	g
Água destilada	1.000	ml

pH 7,2

3.3. Caldo de Triptona - Soja (BBL)

Trypticase	17,0	g
Phytone	3,0	g
Cloreto de Sódio	5,0	g
Fosfato Dipotássio	2,5	g
Dextrose	2,5	g
Água destilada	1.000	ml

pH 7,3

3.4. Meio de Ágar Triptona - Soja (BBL)

Trypticase	15,0 g
Phytone	5,0 g
Cloreto de Sódio	5,0 g
Ágar	15,0 g
Água destilada	1.000 ml

pH 7,3

3.5. Meio de Ágar Glicosado de Sabouraud (BBL)

Polypeptona	10,0 g
Glicose	40,0 g
Ágar	15,0 g
Água destilada	1.000 ml

pH 5,6

3.6. Gel de Ágar

Ágar	15,0 g
Água destilada	1.000 ml

4 - Padronização e Semeadura das Amostras

Oriundos dos tubos de armazenagem, os inóculos das culturas pura ou mista foram transferidos para o caldo de Tioglicolato, BREWER modificado (BBL) e incubados por 48 horas à temperatura de 37°C. Destes tubos, foi transferida 1 alçada para o Caldo de Triptona - soja (BBL), com incubação a 37°C por 18 horas.

Foi verificado se a densidade das suspensões correspondia ao tubo 0,4 da Escala de MacFarland (1.200 células bacterianas em milhões /cm³) (BIER, 1982), para fornecer um crescimento adequado nas placas de teste.

5 - Metodologia usada para a Realização do Teste de Difusão (Estudo - E₁)

Com os cuidados de assepsia, mantida, aliás, durante todas as fases da pesquisa, dos tubos com Caldo de Triptona - soja (BBL), foi transferido 0,1 ml de cada cultura, tanto as puras como as mistas, para placas de Petri com 9 cm de diâmetro, contendo 25 - 30 ml de ágar Triptona - soja (BBL). O inóculo foi, então, espalhado na superfície do meio com o auxílio de uma alça de Drigalski. Após 30 minutos de secagem, os testes foram realizados, sendo que em cada placa se procedeu a 4 perfurações no ágar com um anel de cobre estéril de 6 mm de diâmetro. Três delas foram preenchidas

com os cimentos à base de hidróxido de cálcio selecionados para os testes; a última foi preenchidas com uma porção da suspensão saturada de hidróxido de cálcio (lama de cal). A solução saturada de hidróxido de cálcio, também estudada, foi testada por meio da impregnação de discos de papel absorvente de 5 mm de diâmetro. Todos os materiais foram colocados nas placas de forma equidistante, de maneira a permitir halos individuais de até 15 milímetros.

Concluída essa operação, as placas foram identificadas quanto ao germe usado e os materiais testados, e, a seguir, incubadas em condições de aerobiose por 48 horas a 37°C. Para o coquetel de microorganismos, além da incubação aeróbica, foram realizados testes em condições de anaerobiose pelo mesmo tempo e temperatura. Para tal, as placas de Petri foram colocadas em jarra de fecho hermético (dessecadores de vidro) com capacidade para 10 litros, da qual se removia quase totalmente o oxigênio de seu interior, pela combustão de um papel de filtro (WHATMAN) de aproximadamente 11 cm de diâmetro umidecido em álcool (BURROWS, 1965).

As amostras de *Str. mutans* foram incubadas em anaerobiose por 72 horas a 37°C, de forma similar a usada para o coquetel, enquanto para a *Candida albicans* o período de incubação foi de 120 horas à temperatura ambiente, em meio de Ágar Glicosado de Sabouraud.

- 6 - Prova do Poder Germicida para a Suspensão Aquosa Saturada de Hidróxido de Cálcio (lama de cal) e para a Solução saturada de hidróxido de Cálcio (água de cal)-(Estudo-E₂)

Amostras de *Str. faecalis* var. *liquefaciens*, oriundas de tubos de armazenagem, foram transferidas para o Caldo de Tioglicolato, BREWER modificado (BBL) e incubadas a 37°C por 48 horas, quando então foi transferida 1 alçada para o Caldo de Triptona-soja (BBL), incubado a 37°C por 18 horas. Igualmente, para este teste, foi observada a turbidez do meio de cultura (0,4 da Escala de MacFarland) para o controle e a padronização do número provável de microorganismos por ml.

A cultura foi, então, vertida numa Placa de Petri estéril, onde cones de guta-percha nº 30 Antãeos provenientes de embalagens lacradas e, portanto, estéreis, foram colocados em contato com a amostra microbiana por 3 minutos. Em seguida, procedeu-se à secagem dos cones em papel de filtro estéril por 15 minutos. Cada cone foi, agora, imergido na suspensão aquosa saturada de hidróxido de cálcio (lama de cal) ou na solução saturada de Ca(OH)₂ (água de cal) por 1, 5, 10 e 15 minutos (veja Figura 1). Removido o excesso de material em papéis de filtro estéreis, cada cone foi colocado em tubos de ensaio, contendo 9-10 ml de caldo de Tioglicolato, BREWER modificado (BBL). As leituras foram feitas após 24 e 48 horas de incubação a 37°C (MILLER, DOMINIC & CRIMMEL, 1973).

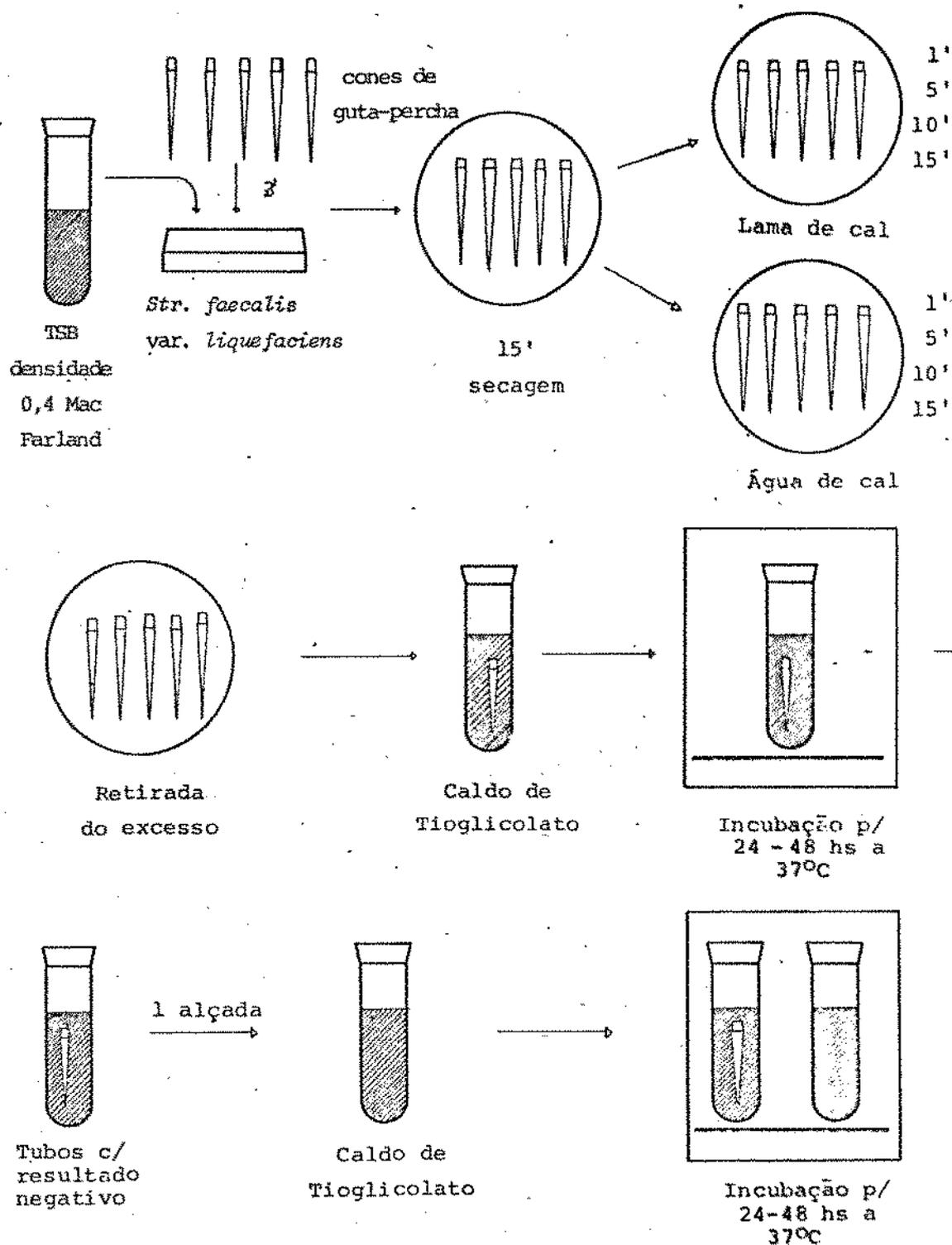


FIGURA 1 - Prova do poder germicida para a solução saturada de hidróxido de cálcio e para a suspensão aquosa saturada de hidróxido de cálcio (Estudo - E₁).

Dos tubos com resultado negativo após 48 horas foi semeada 1 alçada para outro tubo de cultura estéril, sendo as leituras realizadas após 24 e 48 horas de incubação a 37°C. A finalidade desta contraprova foi a de descartar o possível poder bacteriostático residual do antisséptico (Figura 1).

É oportuno ressaltar que testes revelaram que o pH do hidróxido de cálcio, não alterava o pH do meio de cultura, sendo, portanto, desnecessário inativar resíduos do material testado.

7 - Prova do Poder Germicida para os Cimentos à Base de Hidróxido de Cálcio (Estudo - E₃)

Corpos de prova dos cimentos em estudo foram obtidos por meio do preenchimento de perfurações feitas em gel de ágar, colocado em camadas de 6 mm de altura em placas de Petri. Para as perfurações, utilizou-se um anel de cobre de 6 mm de diâmetro. Dessa maneira, os corpos de prova sob a forma de pastilhas ficaram com um tamanho aproximado de um cilindro de 6 mm de diâmetro por 6 mm de altura. Esses corpos de prova foram preparados momentos antes da realização dos testes.

A metodologia utilizada foi a seguinte: Após a obtenção do tubo com caldo de Triptona - soja (BBL) inoculado com *Str. faecalis* var. *liquefaciens* na densidade corresponden

te ao tubo 0,4 da Escala de MacFarland, como nos experimentos anteriores, seu conteúdo foi vertido numa placa de Petri estéril. Os corpos de prova foram deixados em contato com a amostra microbiana por 3 minutos (veja Figura 2). O excesso foi removido em papel de filtro estéril, sendo os corpos de prova transferidos para outra placa de Petri, também estéril, e deixados por períodos de 10 e 15 minutos, quando, então, foram colocados em tubos de Tioglicolato, BREWER modificado (BBL) por 1 minuto. O referido meio foi, a seguir, repassado para outro tubo estéril e incubado por 48 horas a 37°C. Esta manobra adicional se fez necessária pela solubilidade dos corpos de prova no meio líquido, que tornava impossível uma leitura sem falhas (adapt. MILLER, DOMINIC & CRIMMEL, 1973).

Dos tubos com resultado negativo, de forma idêntica e pelos mesmos motivos identificados no teste anterior, seria ressemeada 1 alçada para outro tubo de Tioglicolato, BREWER modificado (BBL), incubado por 24 - 48 horas a 37°C (Figura 2).

8 - Prova da Esterilidade dos Blocos de Manipulação dos Cimentos à Base de Hidróxido de Cálcio (Estudo - E₄)

Utilizaram-se para este teste os blocos de manipulação que acompanham os cimentos à base de hidróxido de cálcio.

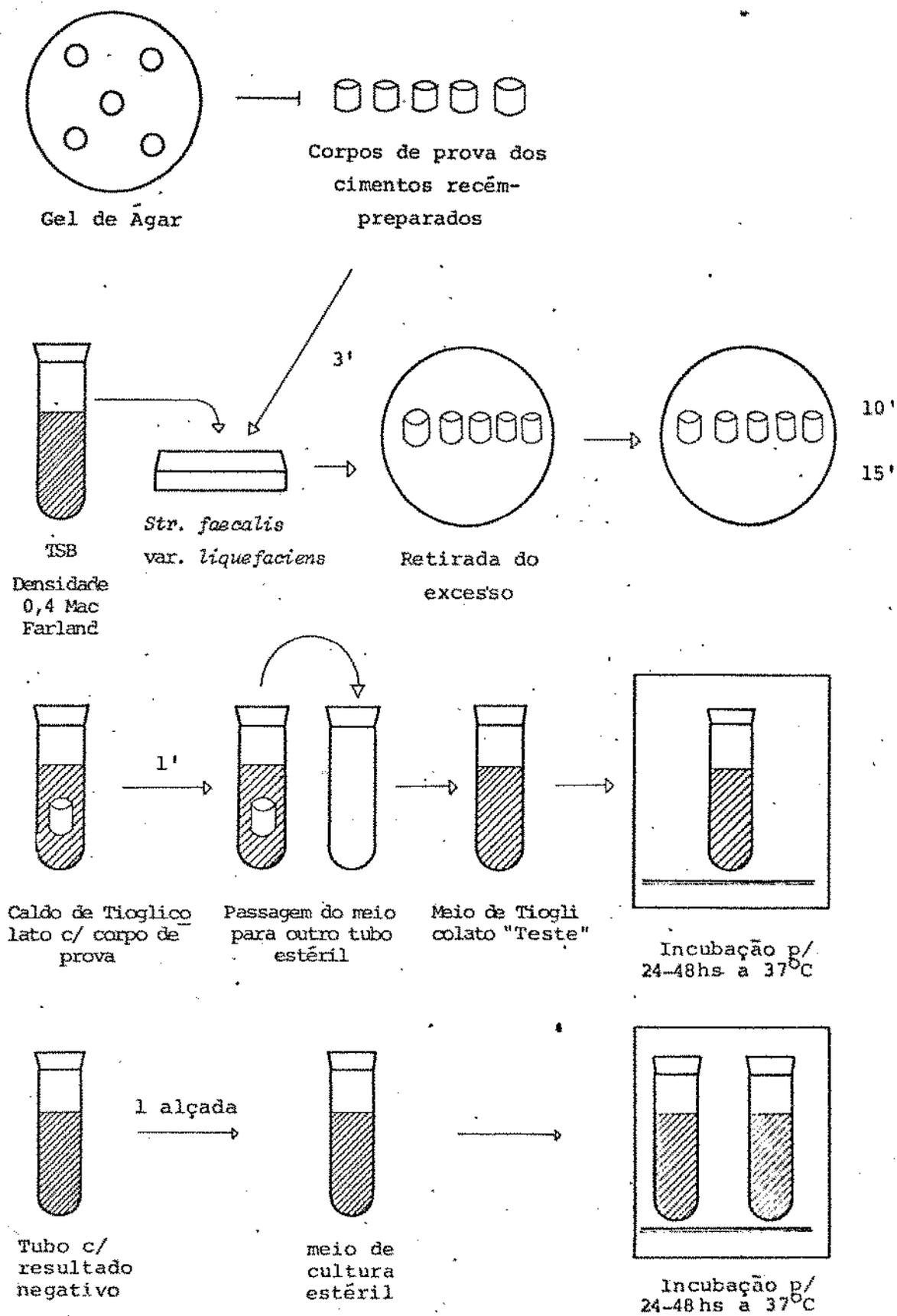


FIGURA 2 - Prova do poder germicida para os cimentos à base de hidróxido de cálcio (Estudo - E₃)

cio, e de cada bloco foram usadas a primeira folha, uma das folhas do meio e uma das últimas folhas.

Com o auxílio de uma pinça clínica, bolinhas de algodão pré-esterilizadas foram umedecidas em água destilada estéril e esfregadas sobre a superfície das folhas. Imediatamente após, eram depositadas em tubos contendo Caldo de Tioglicolato, BREWER modificado (BBL) e incubados por 48 horas a 37°C .

9 - Número de Experimentos

Visando diminuir erros inerentes à pesquisa, cada experimento do Estudo - E_1 foi repetido por 10 vezes , enquanto os testes dos Estudos E_2 - E_3 e E_4 foram repetidos por 5 vezes.

V. RESULTADOS

V . RESULTADOS

A metodologia utilizada no Estudo - E₁ foi de grande valia na indicação não só da atividade antimicrobiana dos materiais testados, mas como de sua difusibilidade no gel de ágar.

Na segunda fase da pesquisa, foi realizada a prova do poder germicida para a suspensão aquosa saturada e para a solução saturada de hidróxido de cálcio- (Estudo - E₂), bem como para os cimentos (Estudo - E₃) .

Numa terceira fase, foi realizada a Prova de Esterilidade dos blocos de manipulação que acompanham os cimentos (Estudo - E₄) . Esta prova permitiu dar um cunho clínico à pesquisa, correlacionando a possibilidade de contaminação exógena nos recobrimentos pulpare.

Os resultados serão analisados em função dos estudos realizados, como se segue:

1) Teste de Difusão (Estudo - E₁)

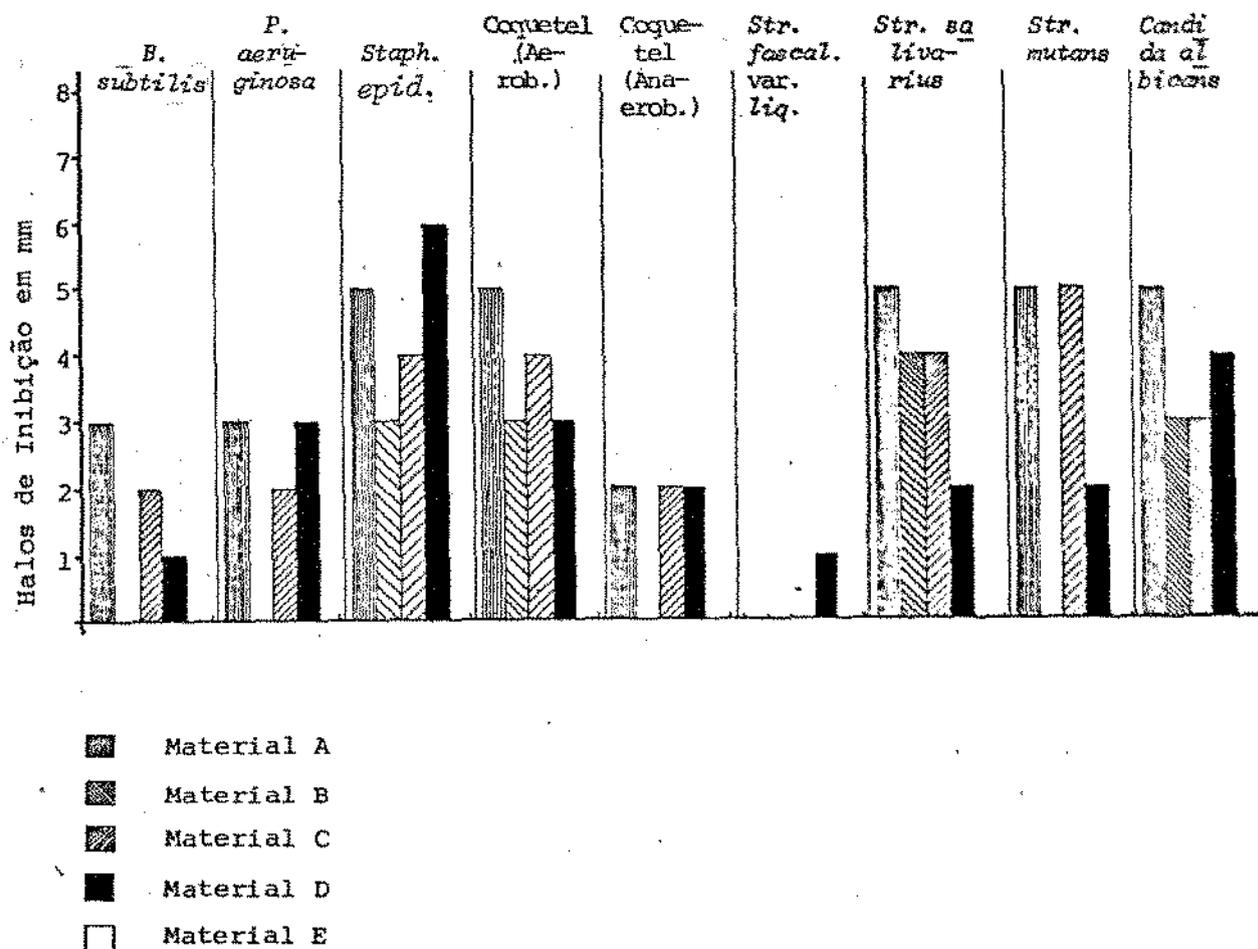
Foi salientado, anteriormente, que cada experimento do Estudo - E₁ foi repetido por 10 vezes. Dessa forma, os resultados analisados a seguir referem-se às médias dos halos de inibição expressas em milímetros. A leitura e a mensuração dos halos foram realizadas a partir da zona mais externa do material testado à colônia bacteriana mais próxima. Não foram considerados os halos ou médias inferiores a 1 mm. Para a leitura referente ao Material D foi utilizada uma lupa, para descartar a possibilidade de contaminação no interior do halo branco que se formava ao redor do material e que nem sempre representava zona de inibição, e sim, a difusibilidade do material no meio de cultura.

Uma análise global dos resultados desta fase mostra que, em todos os testes de difusão realizados, o Material E não apresentou atividade perante qualquer dos microorganismos testados. Já o Material D foi o único ativo sobre todos os germes, embora sua atividade perante alguns germes tenha sido inferior a de outros materiais (Veja Tabela II e Gráfico I).

Individualmente, as médias dos halos de inibição expressos na Tabela II e Figura 3 revelam que, perante o *B. subtilis*, o que melhor desempenho apresentou foi o Material A, em seguida o Material C e logo após o Material D. Os materiais B e E se mostraram totalmente inefetivos (veja Tabela II, Gráfico I e Figura 3).

Os testes com *P. aeruginosa* mostraram uma atividade moderada dos Materiais A e D e uma baixa atividade do Material C. Novamente os Materiais B e E se mostraram ineficazes (veja Tabela II e Gráfico I).

GRÁFICO I - Histograma comparativo das médias dos halos de inibição, em mm, do crescimento bacteriano, resultante do contato direto dos materiais, testados em Ágar Trip-tona-soja (BBL) após 48 horas de incubação a 37°C em aerobiose para todos os microorganismos, exceto para o coquetel, que foi estudado também em anaerobiose, e para o *Str. mutans*, que foi incubado em anaerobiose por 72 horas e 37°C, bem como para a *C. albicans*, que foi incubada por 120 horas à temperatura ambiente, em meio de Ágar Glicosado de Sabouraud.



Os Materiais A e D se mostraram bastante eficazes sobre *Staph. epidermidis*, enquanto os Materiais B e C, tiveram uma ação ligeiramente menor. O Material E, como já foi citado na análise global, foi ineficaz (veja Tabela II e Gráfico I).

O *Str. faecalis* var. *liquefaciens* se mostrou resistente a todos os materiais testados, excetuando-se o Material D, que apresentou uma atividade relativamente baixa (veja Tabela II, Gráfico I e Figura 4).

O *Str. salivarius* se mostrou sensível à ação de todos os materiais, exceção feita ao Material E (veja Tabela II, Gráfico I e Figura 5).

O *Str. mutans* foi sensível à ação dos Materiais A e C e menos sensível à ação do Material D. Os Materiais B e E não mostraram qualquer atividade (veja Tabela II, Gráfico I e Figura 6).

A *Candida albicans* se mostrou particularmente sensível à ação dos Materiais A e D, e em menor grau à ação dos Materiais B e C. O Material E foi inefetivo (veja Tabela II, Gráfico I e Figura 7).

Os testes perante o coquetel de microorganismos oriundos de dentina foram realizados tanto em condições de aerobiose como de anaerobiose. Em condições aeróbicas, os Materiais A e C foram aqueles que melhor desempenho representaram. Os Materiais B e D mostraram uma atividade menor. Já em condições anaeróbicas, os materiais A, C e D mostraram atividade relativamente menor àquela vista em aerobiose. Os Materiais B e E não mostraram atividade alguma, tendo este último se mostrado inefetivo também em aerobiose (veja Tabela II, Gráfico I e Figura 8).



FIGURA 3 - Halos de Inibição obtidos após 48 horas de incubação a 37°C com os Materiais à base de Hidróxido de Cálcio recém-preparados, frente ao *B. subtilis*, semeado em Ágar Triptona-soja (BBL). A documentação fotográfica do *B. subtilis* foi inserida pelos halos de inibição bem visíveis que proporcionou. Observar os grandes halos do Dycal e Renew. As atividades falhas do Life e da água de cal e a dificuldade de leitura na lama de cal pelo halo branco em torno do hidróxido de cálcio.

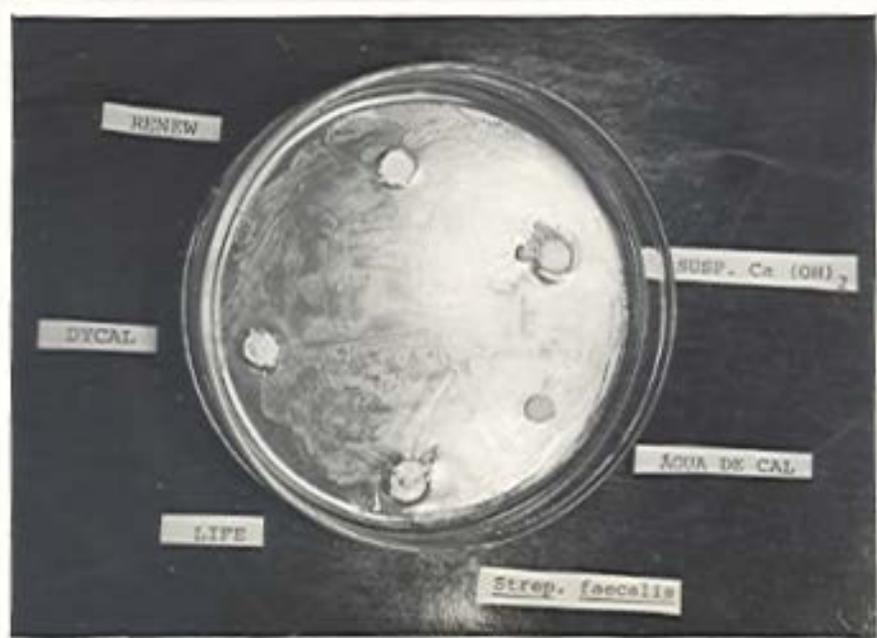


FIGURA 4 - Halos de inibição obtidos após 48 horas de incubação a 37°C , com os Materiais à base de hidróxido de cálcio recém-preparados, frente ao *Str. faecalis* var. *liquefaciens*, semeado em Ágar Triptona - soja (BBL). Observar que nenhum dos materiais testados apresentou halo de inibição perante este germe.

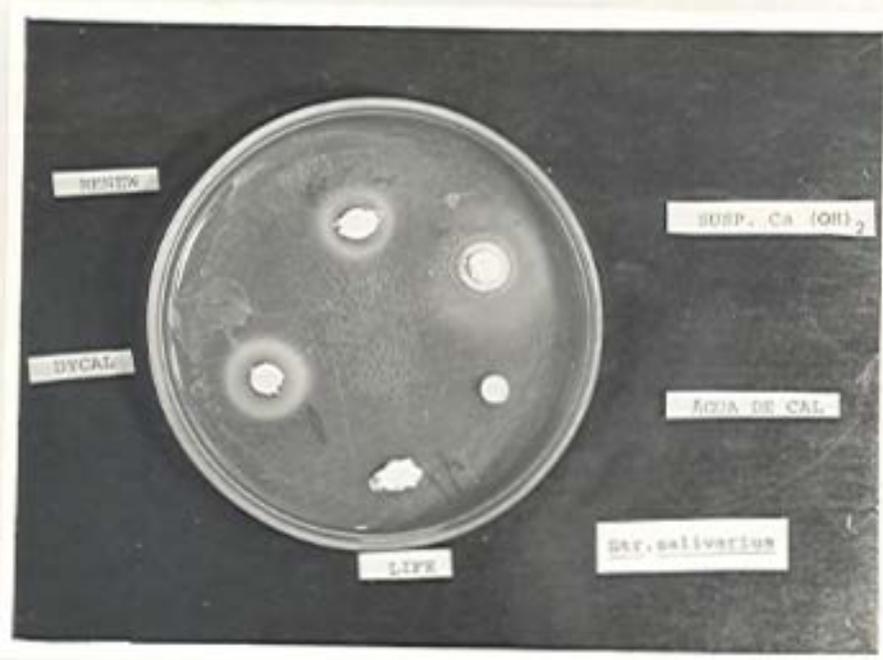


FIGURA 5 - Halos de Inibição obtidos após 48 horas de incubação a 37°C , com os Materiais à base de hidróxido de cálcio recém-preparados, frente ao *Str. salivarius*, semeado em Ágar Triptona - soja (BBL). Devido o tênue crescimento mostrado pelo *Str. salivarius*, foi possível fotografar nesta placa a difusão do hidróxido de cálcio em gel de ágar.

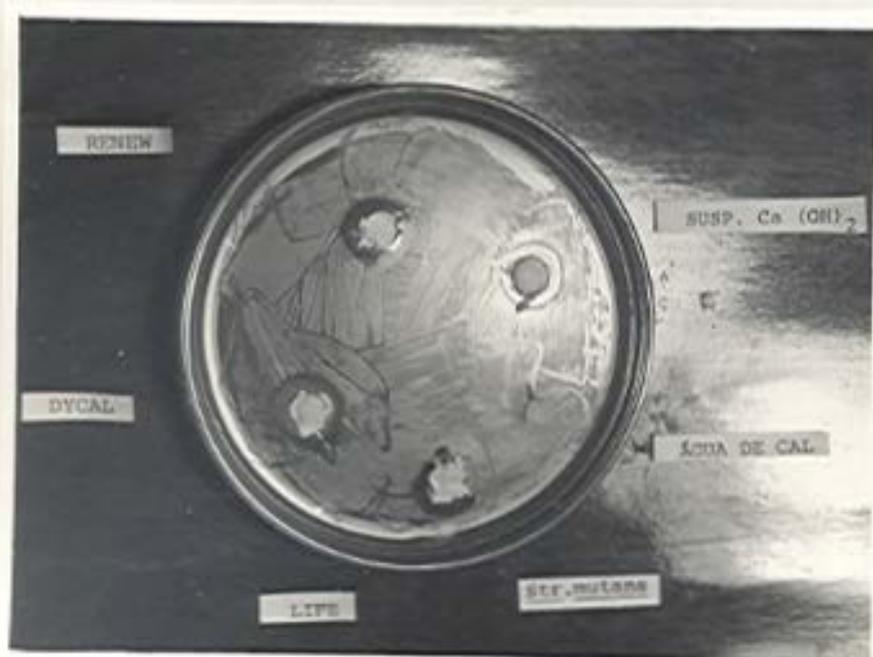


FIGURA 6 - Halos de Inibição obtidos após 72 horas de incubação a 37°C , com os Materiais à base de Hidróxido de Cálcio recém-preparados, frente ao *Str. mutans*, semeado em Ágar Triptona - soja (BBL). Observar que com exceção da água de cal todos tiveram bom desempenho.

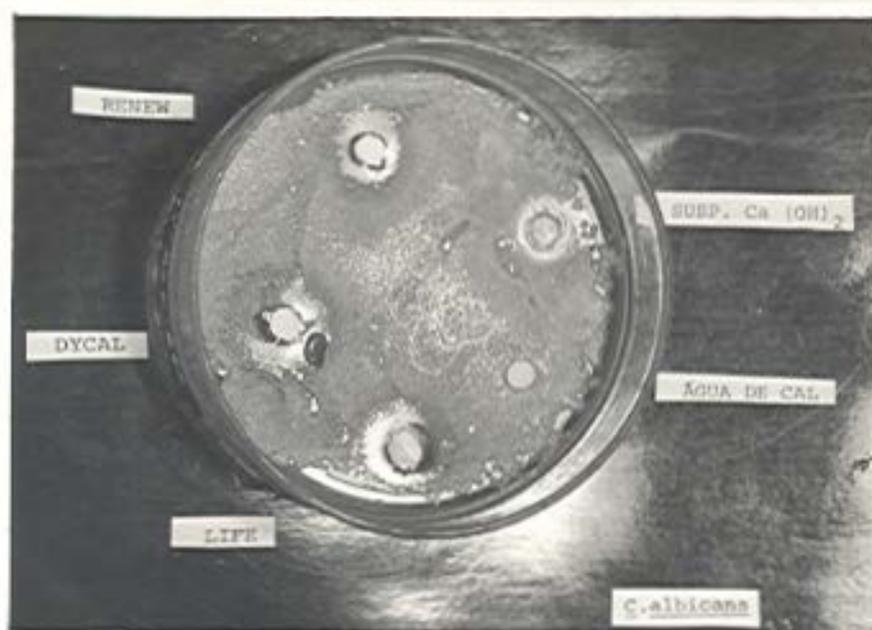


FIGURA 7 - Halos de Inibição obtidos após 120 horas de incubação à temperatura ambiente dos materiais à base de Hidróxido de Cálcio recém-preparados, frente a *Candida albicans*, semeada em meio de Ágar Glicosado de Sabouraud.



FIGURA 8 - Halos de Inibição obtidos após 48 horas de incubação a 37°C em condições de Aerobiose, dos Materiais à base de Hidróxido de Cálcio recém-preparados, frente a um coquetel de microorganismos de dentina.

2) Prova do Poder Germicida para a Suspensão (lama de cal) e Solução Saturada de Hidróxido de Cálcio (água de cal) - (Estudo - E₂)

Os materiais testados frente a *Str. faecalis* var. *liquefaciens*, nos intervalos de tempo de 1', 5', 10' e 15' apresentaram os seguintes resultados:

2.1) Suspensão Aquosa Saturada de Hidróxido de Cálcio (lama de cal)

No tempo de 1' (Tabela III), observou-se que 80% dos tubos estavam contaminados após um período de 24 horas de incubação. Após 48 horas o percentual de contaminação passou a 100%.

Os testes com o tempo de 5' de contato (Tabela IV) mostraram 40% de tubos contaminados após 24 horas. Dos tubos com resultado negativo (Ns. 1, 2 e 5), apenas o tubo nº 1 não mostrou contaminação após 48 horas. Este resultado se manteve nos tubos de contraprova, perfazendo, assim, um total de 80% de tubos contaminados.

No intervalo de 10' foram observados 80% de tubos contaminados, tendo o tubo nº 2, que se mostrou estéril na primeira fase, mantido essa característica na contraprova (veja Tabela V).

O índice de contaminação com 15' de contato ficou em 40% (Tabela VI), pois os tubos ns. 3, 4 e 5, que se mostraram negativos, mantiveram esse comportamento na contraprova.

TABELA III - Prova do Poder Germicida da Suspensão Aquosa saturada de hidróxido de cálcio (lama de cal) frente a *Str. faecalis* var. *liquefaciens*, após o período de 1', verificado em caldo de Tioglicolato, BREWER modificado (BBL), com 24 e 48 horas de incubação a 37°C. Neste tempo não foi necessário realizar contraprova.

Tubos	Microorganismo	<i>Str. faecalis</i> var. <i>liq.</i>			
		Tempo de Incubação			
		Tubo Original		Contraprova	
		24 hs	48 hs	24 hs	48 hs
1		-	+		
2		+	+		
3		+	+		
4		+	+		
5		+	+		

Legenda: + + contaminado

- + estéril

TABELA IV - Prova do Poder Germicida da Suspensão Aquosa saturada de hidróxido de cálcio (lama de cal) frente a *Str. faecalis* var. *liquefaciens*, após o período de 5' , verificado em caldo de Tioglicolato , BREWER modificado (BBL), com 24 e 48 horas de incubação a 37°C e após 24 e 48 horas nos tubos de contra prova.

Tubos	Microorga- nismo	<i>Str. faecalis</i> var. <i>liq.</i>			
		Tempo de Incubação			
		Tubo Original		Contraprova	
		24 hs	48 hs	24 hs	48 hs
1		-	-	-	-
2		-	+		
3		+	+		
4		+	+		
5		-	+		

Legenda: + → contaminado

- → estéril

TABELA V - Prova do Poder Germicida da Suspensão Aquosa saturada de hidróxido de cálcio (lama de cal) frente a *Str. faecalis* var. *liquefaciens*, após o período de 10' , verificado em caldo de Tioglicolato , BREWER modificado (BBL), com 24 e 48 horas de incubação a 37°C e após 24 e 48 horas nos tubos de contra prova.

Tubos	Microorga- nismo	<i>Str. faecalis</i> var. <i>liq.</i>			
		Tempo de Incubação			
		Tubo Original		Contraprova	
		24 hs	48 hs	24 hs	48 hs
1	-	+	+		
2	-	-	-	-	
3	-	+	+		
4	-	+	+		
5	-	+	+		

Legenda: + + contaminado

- + estéril

TABELA VI - Prova do Poder Germicida da Suspensão Aquosa saturada de hidróxido de cálcio (lama de cal) frente a *Str. faecalis* var. *liquefaciens*, após o período de 15' , verificado em caldo de Tioglicolato , BREWER modificado (BBL), com 24 e 48 horas de incubação a 37°C e após 24 e 48 horas nos tubos de contra prova.

Tubos	Microorga- nismo	<i>Str. faecalis</i> var. <i>liq.</i>			
		Tempo de Incubação			
		Tubo Original		Contraprova	
		24 hs	48 hs	24 hs	48 hs
1		+	+		
2		+	+		
3		-	-	-	-
4		-	-	-	-
5		-	-	-	-

Legenda: + + contaminado
- + estéril

2.2) Solução Saturada de Hidróxido de Cálcio (água de cal)

O contato da solução saturada de hidróxido de cálcio (água de cal) nos intervalos de 1' e de 10' revelaram 100% de tubos contaminados após 24 horas de incubação a 37°C (Tabelas VII e IX).

No intervalo de 5' , foram observados 80% de tubos contaminados após 24 horas, sendo que o tubo nº 4 , que se mostrou estéril, após 48 horas também se apresentou contaminado (Tabela VIII), elevando o índice de contaminação para 100%.

Após 15' de contato, 80% dos tubos se mostraram contaminados com 24 e 48 horas , tendo o tubo nº 2 , que se mostrou estéril, mantido esse estado também nos tubos de contraprova (Tabela X).

TABELA VII - Prova do Poder Germicida da Solução Aquosa saturada de hidróxido de cálcio (água de cal) frente a *Str. faecalis* var. *liquefaciens*, após o período de 1', verificado em caldo de Tioglicolato, BREWER modificado (BBL), com 24 e 48 horas de incubação a 37°C. Nesse tempo não foi necessária realização de contraprova.

Tubos	Microorganismo	<i>Str. faecalis</i> var. <i>liq.</i>			
		Tempo de Incubação			
		Tubo Original		Contraprova	
		24 hs	48 hs	24 hs	48 hs
1		+	+	-	-
2		+	+	-	-
3		+	+	-	-
4		+	+	-	-
5		+	+	-	-

Legenda: + + contaminado

- + estéril

TABELA VIII - Prova do Poder Germicida da Solução saturada de hidróxido de cálcio (água de cal) frente a *Str. faecalis* var. *liquefaciens*, após o período de 5' , verificado em caldo de Tioglicolato, BREWER modificado (BBL), com 24 e 48 horas de incubação a 37°C. Nesse tempo não foi necessária a realização de contraprova.

Tubos	Microorganismo	<i>Str. faecalis</i> var. <i>liq.</i>			
		Tempo de Incubação			
		Tubo Original		Contraprova	
		24 hs	48 hs	24 hs	48 hs
1		+	+		
2		+	+		
3		+	+		
4		-	+		
5		+	+		

Legenda: + + contaminado
- + estéril

TABELA IX - Prova do Poder Germicida da Solução saturada de hidróxido de cálcio (água de cal) frente a *Str. faecalis* var. *liquefaciens*, após o período de 10', verificado em caldo de Tioglicolato, BREWER modificado (BBL), com 24 e 48 horas de incubação a 37°C. Nesse tempo não foi necessária a realização de contraprova.

Tubos	Microorganismo	<i>Str. faecalis</i> var. <i>liq.</i>			
		Tempo de Incubação			
		Tubo Original		Contraprova	
		24 hs	48 hs	24 hs	48 hs
1		+	+		
2		+	+		
3		+	+		
4		+	+		
5		+	+		

Legenda: + + contaminado

- + estéril

TABELA X - Prova do Poder Germicida da Solução saturada de hidróxido de cálcio (água de cal) frente a *Str. faecalis* var. *liquefaciens*, após o período de 15', verificado em caldo de Tioglicolato, BREWER modificado (BBL), com 24 e 48 horas de incubação a 37°C e após 24 e 48 horas nos tubos de contra-prova.

Tubos	Microorga- nismo	<i>Str. faecalis</i> var. <i>liq.</i>			
		Tempo de Incubação			
		Tubo Original		Contraprova	
		24 hs	48 hs	24 hs	48 hs
1		+	+		
2		-	-	-	-
3		+	+		
4		+	+		
5		+	+		

Legenda: + → contaminado

- → estéril

3) Prova do Poder Germicida para os Cimentos à base de Hidróxido de Cálcio (Estudo - E₃)

Os testes para verificação do poder germicida dos cimentos nos períodos de 10' e 15' perante *Str. faecalis* var. *liquefaciens*, revelaram que todos os corpos de prova dos materiais (A, B e C) levaram a um índice de 100% de tubos contaminados após 24 horas de incubação a 37°C (Tabela XI).

TABELA XI - Prova do Poder Germicida dos Cimentos à base de hidróxido de cálcio frente a *Str. faecalis* var. *liquefaciens* após os intervalos de tempo de 10' e 15', verificada em caldo de Tioglicolato, BREWER modificado (BBL), após 24 horas de incubação a 37°C.

Tubos	Microorganismos	<i>Str. faecalis</i> var. <i>liq.</i>					
		Cimentos Testados					
		Material A		Material B		Material C	
		Intervalos de Tempo					
		10'	15'	10'	15'	10'	15'
1		+	+	+	+	+	+
2		+	+	+	+	+	+
3		+	+	+	+	+	+
4		+	+	+	+	+	+
5		+	+	+	+	+	+

Legenda: + → contaminado

- → estéril

4) Prova de Esterilidade dos Blocos de Manipulação dos Cimentos à base de Hidróxido de Cálcio (Estudo - E₄)

Os resultados dos testes (Tabela XII) mostraram que 80% dos tubos que receberam as bolinhas de algodão estéril esfregadas na primeira folha do bloco do Material A, estavam contaminadas. Os tubos com material oriundo da folha do meio mostraram 60% de contaminação, enquanto para a última folha do Material A o índice de tubos contaminados foi de 40%, após 48 horas de incubação a 37°C.

Para o Material B, as bolinhas de algodão que entraram em contato com a primeira folha do bloco levaram a um índice de 100% de tubos contaminados, enquanto que, para a folha do meio, este foi de 80%, tendo sido encontrado o mesmo índice para a última folha do referido material.

O Material C, passadas 48 horas de incubação à mesma temperatura, apresentou um índice de tubos contaminados de 100% para as três folhas do bloco.

TABELA XII - Prova de esterilidade dos blocos de manipulação dos cimentos à base de hidróxido de cálcio, verificada em caldo de Tioglicolato, BREWER modificado (BBL), após 48 horas de incubação a 37°C.

Material Tubos	A			B			C		
	Bloco de Manipulação								
	Primeira Folha	Folha do Meio	Última Folha	Primeira Folha	Folha do Meio	Última Folha	Primeira Folha	Folha do Meio	Última Folha
1	+	+	-	+	-	+	+	+	+
2	+	-	+	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	+	+	-	+	+	-	+	+	+
5	-	-	-	+	+	+	+	+	+

Legenda : + + contaminado

- + estéril

VI. DISCUSSÃO

VI. DISCUSSÃO

Uma das preocupações da presente pesquisa foi que a ação antimicrobiana dos materiais fosse testada de forma correspondente ao seu uso clínico. No tocante aos cimentos, foram observadas as especificações dos fabricantes em termos de proporção e manipulação. Contudo, tendo em vista o teste de esterilidade ou não dos blocos que os acompanham de fábrica, a manipulação dos mesmos foi processada em placas de vidro estéril. Com essa medida, procurou-se evitar distorções nos resultados, não se correndo o risco de possíveis contaminações. Para a utilização da suspensão aquosa saturada, procurou-se sempre prepará-la com uma consistência uniforme, sem ser demasiadamente fluida ou espessa. Quanto à solução de Ca(OH)_2 , esta foi preparada por saturação, tendo sido utilizada a parte sobrenadante do material. O mesmo foi preparado em vidro âmbar para evitar a ação da luminosidade, sendo feito o controle constante do seu pH. Por outro lado, nunca se reposit o volume da solução já preparada.

Procurou-se, ainda, controlar e padronizar a espessura dos meios de cultura, a quantidade dos materiais testados, a concentração das culturas bacterianas, como também o tempo de contato das amostras com cada material.

Visando objetividade, a discussão dos resultados será ordenada em função de cada estudo realizado.

19) Teste de Difusão (Estudo - E₁)

Os testes de sensibilidade revelaram que o Material A foi aquele que melhor desempenho apresentou contra a maioria dos germes utilizados. Sua atividade foi moderada sobre o *B. subtilis* e o *P. aeruginosa*; contra o coquetel em anaerobiose mostrou atividade baixa, tendo sido ineficaz sobre *Str. faecalis* var. *liquefaciens*. Esses dados vêm confirmar em parte os resultados de ONOSE, YAMASAKI & KURODA (1969), que identificaram o Material A como não ativo contra *Str. faecalis*, *Staph. aureus* e *E. coli*.

FISHER (1977), após analisar a ação do Material A pelo contato direto, concluiu que possui efeito antimicrobiano perante *Str. mutans*, *L. casei* e *Staph. Oxford*. Essa ação sobre o *Str. mutans* foi confirmada pelos achados da presente pesquisa.

Por outro lado, a literatura mostra vários estu

dos da ação antimicrobiana do Material A "in vivo" (ARMSTRONG, 1974; FISHER, 1977; ISERMANN & KAMINSKI, 1979; LEUNG, LOESCH & CHARBENEAU, 1980). Neles os autores analisam seu comportamento sobre microorganismos presentes na dentina cariada, especialmente deixada nas porções profundas das cavidades, por períodos de 30 a 180 dias. Esses estudos revelaram satisfatória atividade antimicrobiana do material em questão. Atribuíram à contínua ação do hidróxido de cálcio por longos períodos a destruição progressiva dos microorganismos presentes na dentina cariada.

Dos estudos "in vivo", parece que aquele realizado por ISERMANN & KAMINSKI (1979) merece destaque especial, pois revela ação do Material A sobre *Str. faecalis*, justamente o germe relatado por ONOSE, YAMASAKI & KURODA (1969) e pela presente pesquisa como resistente a esse material. Será que o contato prolongado acaba afetando o germe? Será que o pH pulpar, ficando mais alcalino, enseja melhores respostas imunitárias?

O Material B apresentou atividade antimicrobiana apreciável apenas sobre o *Str. salivarius*, sendo sua atividade moderada sobre *Staph. epidermidis* e o Coquetel em aerobiose, tendo sido ineficaz sobre todas as outras bactérias testadas.

Na literatura consultada, só foi encontrada referência à atividade antimicrobiana desse material em trabalho realizado por COX *et alii* (1982). Afirmaram os autores não

terem observado diferenças significativas no número de microorganismos após o tratamento com os Materiais A e B. Subentende-se igualdade de ação antimicrobiana, o que não está de acordo com os nossos resultados, onde o Material A sempre foi mais efetivo que o Material B.

Na análise da atividade antimicrobiana do Material C, foi verificado que o mesmo mostrou efetividade sobre o Coquetel em aerobiose, *Str. salivarius*, *Str. mutans*, enquanto agiu de maneira moderada sobre o *B. subtilis*, *Staph. epidermidis*. Sua atividade se mostrou baixa perante a *P. aeruginosa* e o Coquetel em anaerobiose, tendo sido ineficaz sobre o *Str. faecalis* var. *liquefaciens*.

Não foram encontrados trabalhos referentes à ação antimicrobiana do Material C, para compará-la com os resultados da presente pesquisa.

O Material D se mostrou eficaz contra o *Staph. epidermidis*, tendo agido de maneira moderada sobre o *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, Coquetel em aerobiose. Sua ação foi baixa perante o restante dos microorganismos, tendo, no entanto, sido o único material que apresentou alguma atividade sobre *Str. faecalis* var. *liquefaciens*, embora discreta.

STEVENS & GROSSMAN (1983) com uma metodologia similar à usada na presente pesquisa, testaram "in vitro", a efetividade do Material D sobre *Str. faecalis*, tendo observado diminutas porém mensuráveis zonas de inibição, resultado es

se idêntico àqueles encontrados neste trabalho.

Diversos trabalhos em que se utilizou o Material D "in vivo", enfatizam sua eficácia sobre microorganismos (HAVERLA & CERMAN, 1962; KING, CRAWFORD & LINDAHL, 1965; SAMPAIO, 1967; FISHER, 1972; CVEK, HOLLENDER & NORD, 1976; MARTINS *et alii*, 1979). Existem, ainda, na literatura, alguns trabalhos que mostram que, "in vivo", a ação desse Material não foi tão efetiva (HAWES, DIMAGGIO & SAYEG, 1964; AZRILIAN & KURINA, 1969; STEVENS & GROSSMAN, 1983).

O Material E se mostrou ineficaz sobre todos os microorganismos testados; estes dados estão de acordo com os de STEVENS & GROSSMAN (1983), que em testes "in vitro", pelo contato direto contra *Str. faecalis*, não observaram a presença de zonas de inibição.

Provavelmente, a baixa atividade do Material E no Estudo - E₁, está associado à sua rápida solubilização no gel de ágar, que faria seu pH igualar-se ao do meio da cultura. Aliado, ainda, a esse fator, poderia admitir-se que uma quantidade insuficiente foi levada às placas de cultura, o que também traria alterações na sua ação, já que é interessante notar que o Material E testado através de outra Metodologia (Estudo - E₂) mostra alguma ação.

Os testes de sensibilidade para a Levedura (*Candida albicans*) mostraram que os Materiais A e D tiveram uma excelente atividade sobre a mesma, tendo sido o Material A um

pouco mais ativo que os demais. Os Materiais B e C tiveram uma atividade moderada, enquanto o Material E foi ineficaz.

AZRILIANI & KURINA (1969) afirmam que amostras de estafilococos e estreptococos, puros, ou associados aos lactobacilos e bacterioides, são antagônicas às leveduras, tendo constatado em seu estudo, que o crescimento dessas se apresentam maior após o tratamento com hidróxido de cálcio.

Esta observação parece ilógica pois a levedura necessita para um bom desenvolvimento um pH próximo a 5,6 . O Ca(OH)_2 tem pH próximo a 12,4 e no mínimo deve inibir o crescimento delas, aliás, como foi observado neste estudo.

A análise global dos resultados do Estudo - E₁ mostra que o material A foi o que melhor desempenho apresentou. Os Materiais C e D apresentaram atividade moderada, e o Material B mostrou uma ação bastante baixa em relação aos demais produtos, enquanto o material E foi o que pior resultado apresentou, por ter-se mostrado sempre ineficaz.

As diferenças observadas na ação direta dos Materiais sobre os microorganismos do Estudo - E₁ podem estar relacionadas com diversos fatores, como por exemplo: possíveis diferenças na composição química dos materiais; o acréscimo de substâncias antissépticas às fórmulas dos cimentos; diferenças entre o pH dos diversos materiais; ou, ainda, diferenças no grau de difusibilidade.

No que diz respeito à composição química dos cimentos à base de hidróxido de cálcio, a análise precisa do porquê das diferentes magnitudes de ação observada ficou muito dificultada, por não se ter em mãos a fórmula dos Materiais B e C.

O trabalho desenvolvido por FISHER e McCABE (1978), relatado na revisão bibliográfica deste estudo, fornece alguns dados importantes, como, por exemplo, a influência que a matriz dos cimentos pode exercer sobre suas funções antimicrobianas. Dessa forma, as diferenças na capacidade antimicrobiana dos materiais podem ser explicadas em termos da natureza hidrofílica da matriz orgânica dos materiais, que permite uma maior ou menor liberação do Ca(OH)_2 .

Um segundo aspecto bastante importante, e que deve ser levado em consideração na análise das diferenças de ação dos cimentos, é a possibilidade do acréscimo de substâncias antimicrobianas à sua composição original, o que levaria a uma melhor ação em função da substância acrescida. Esse aspecto, inclusive, envolveria segredos de fabricação, que não seriam revelados por motivos óbvios de concorrência. Por exemplo, o Bioxyl é um material à base de hidróxido de cálcio, sendo a polimixina e a tetraciclina acrescentadas à sua composição (BATIEVSKY *et alii*, 1968). Nessa linha de raciocínio, pode-se notar que os cimentos A e C apresentaram um desempenho melhor que o Material D (lama de cal) e uma atividade muito mais acentuada que o Material E (água de cal), o que enseja a pergunta: o hidróxido de cálcio contido no cimento A,

por exemplo, teria mais ação que a própria substância pura contida no Material D ?

Outro aspecto que pode ser questionado é a diferença entre o pH dos diversos materiais, pois, se realmente a atividade antimicrobiana está ligada a uma maior ou menor alcalinização do meio em função dos íons hidroxila liberados, como afirmam PELCKZAR, REID & CHAN (1980) , era de se esperar que os Materiais D e E , por possuírem um pH um pouco mais elevado em relação aos demais, apresentassem halos de inibição maiores.

Um quarto aspecto que deve ainda ser analisado, e que de uma certa forma tem relação com o que foi visto anteriormente, é que a diferença de ação entre todos os materiais utilizados poderia estar ligada a uma difusibilidade dificultada ou diminuída no gel de ágar, como afirmou CASTANGNOLA (1956).

Na presente pesquisa o problema da difusibilidade e da aferição dos halos de inibição em gel de Ágar foi complementado pelos Estudos E₂ e E₃ .

29) Prova do Poder Germicida para a Suspensão e Solução de Hidróxido de Cálcio (Estudo - E₂)

Os resultados dos testes pelo contato direto nas placas deu evidências de que o microorganismo que se mostrou mais resistente aos materiais testados foi o *Str. faecalis* var. *liquefaciens*.

Os enterococos, dos quais o *Str. faecalis* var. *liquefaciens* é uma das espécies, são definidos como micrococos catalase -negativos, Gram-positivos, capazes de crescer em temperaturas de 10 a 45°C, em presença de 6,5% de cloreto de sódio, sendo que seu crescimento não é inibido por 0,04% de ázida de sódio, nem por 650 Unidades de Penicilina por litro de meio (MANUAL BBL, 1959).

Para a maioria das bactérias, o pH ótimo de crescimento se localiza em torno de 6,5 e 7,5, sendo poucos os microorganismos que conseguem-se desenvolver em limites extremos de pH. Reconhecidamente o *Str. faecalis* var. *liquefaciens* é capaz de iniciar seu crescimento em pH próximo a 9,0.

Pelos resultados do Estudo - E₂ da presente pesquisa, pode-se ver claramente que o Material D, após 5 e 10 minutos de contato com o microorganismo testado, apresentou alguma atividade, representada pelo decréscimo no índice de tubos contaminados, embora essa ação tenha sido bem mais evidente após 15 minutos, quando esse índice, que era de 100% após 1 minuto e de 80% após 5 e 10 minutos, caiu para 40%.

Para o Material E, sua atividade só foi evidente após 15 minutos, quando o índice de tubos contaminados, que era de 100% para os intervalos anteriores, caiu para 80%.

Pode-se concluir que tanto o Material D como o E mostraram atividade sobre o *Str. faecalis* var. *liquefaciens*,

sendo a do D melhor que a do E.

Como pode ser observado, os resultados obtidos no Estudo - E₁ contra *Str. faecalis* var. *liquefaciens* mostram a baixa eficácia dos materiais. O Estudo - E₂ revela que existe alguma ação, sendo lícito admitir que essa metodologia é mais adequada, o que está de pleno acordo com a afirmação de CASTANGNOLA (1956), que assinala que a alta alcalinidade bactericida do material é de efeito pouco evidenciável nas placas de cultura. Por outro lado, também pode ser comprovado por esse Estudo - E₂ que o hidróxido de cálcio, para apresentar sua ação, necessita de um tempo de contato relativamente grande, dado também relatado por FERREIRA, ALMEIDA & FONSECA (1978). A atividade apresentada pelos Materiais D e E assume características predominantemente bacteriostáticas, por ser evidente que mesmo após 15 minutos, ainda se constata o crescimento de cepas.

3º) Prova do Poder Germicida para os Cimentos à Base de Hidróxido de Cálcio (Estudo - E₃)

Com relação aos cimentos à base de hidróxido de cálcio, foi visto no Estudo - E₁ que nenhum deles mostrou atividade sobre o *Str. faecalis* var. *liquefaciens*. A segunda fase desta pesquisa veio a confirmar esses resultados, pois, após 10 e 15 minutos, os corpos de prova dos cimentos A, B e

C levaram a índices de 100% de tubos contaminados. Obviamente eles não tem capacidade de se autoesterilizar.

A resistência do *Str. faecalis* var. *liquefaciens* a meios de elevada alcalinidade assume uma importância clínica muito grande, pela incidência comprovada desse germe na cavidade oral (TOMASI & CORONELLI, 1973; GOLD, JORDAN & VAN HOUTE, 1975) e em cavidades de cárie (OLIVEIRA LIMA & GARCEZ LIMA, 1981). Esses dados ensejam a pergunta: como explicar os estudos "in vivo" realizados por vários autores (HAVERLA & CERMAN, 1962; KING, CRAWFORD & LINDAHL, 1965; APONTE, HARTSOOK & CROWLEY, 1966; FISHER, 1972; FISHER, 1977; LEUNG, LOESCH & CHARBENEAU, 1980), em que foi observada "esterilização" da dentina cariada? Será que é necessário período de 90-180 dias para a ação? Como fica a observação de ONOSE, YAMASAKI & KURODA (1969) que relataram que o Material A perdia sua ação após 15 dias? O que parece certo é que uma próxima pesquisa necessita ser realizada com períodos mais longos de contato.

49) Prova de Esterilidade dos Blocos de Manipulação dos Cimentos à Base de Hidróxido de Cálcio (Estudo - E₄)

Na última etapa deste estudo foi realizada a prova de esterilidade para os blocos de manipulação que acompanham os cimentos à base de hidróxido de cálcio.

Este teste se reveste de uma importância prática muito grande, já que são raros os profissionais que se preocupam com a possibilidade de contaminação do local onde estão sendo manipulados os cimentos.

Os resultados obtidos mostram que o bloco que acompanha o Material A mostrou os seguintes índices de contaminação: para a primeira folha, 80% de tubos contaminados, para a folha do meio 60% e, para a última folha, 40% de tubos contaminados.

Para o Material B, esse índice de tubos contaminados foi de 100% para a primeira folha e de 80% para a folha do meio e para a última folha.

O índice de contaminação apresentado pelas três folhas do bloco do Material C foi de 100% .

Nos três casos foi observado que sempre a primeira folha do bloco levou a índices de 100% de tubos de cultura contaminados, o que poderia ser explicado pela sua exposição ao meio ambiente. Era de se esperar que as folhas internas (do meio e do fim), por estarem de uma certa forma protegidas, mostrassem esterilidade.

Se fosse confirmado o fato de que as folhas não expostas estariam estéreis, não apresentando, portanto, nenhum sinal de contaminação, seria indicado que sempre, por ocasião da utilização dos blocos, a primeira folha que ficasse em contato com o meio externo fosse desprezada.

No entanto, a comprovação de contaminação das folhas representa um grave risco, pois resulta na quebra da cadeia asséptica.

Em última análise, o profissional, ao manipular os cimentos à base de hidróxido de cálcio em blocos de manipulação cujas folhas estão contaminadas, estaria levando material contaminado para o interior de uma cavidade, ou, mesmo nos casos de exposição pulpar, levando contaminação diretamente ao tecido pulpar.

Esse fato é ainda agravado se for considerada a possibilidade de essa contaminação ser por germes alcalis-resistentes. Isso traria sérias dificuldades em termos de terapêutica, pois, como já foi visto, esses microorganismos parecem resistir ao pH dos cimentos.

Por essa razão, é aconselhado, em casos de recobrimento direto da polpa, que o cimento de hidróxido de cálcio seja preparado em placa de vidro estéril, reservando-se os blocos para as proteções dentinárias.

VII. CONCLUSÕES

VII. CONCLUSÕES

1 - Os materiais A e C foram os que maiores halos de inibição apresentaram frente às bactérias testadas; ambos, porém, foram inativos perante *Str. faecalis* var. *liquefaciens*. O Material D, embora revelando halos menores, apresentou-se mais efetivo atuando perante todos os microorganismos testados. O Material B mostrou uma atividade antimicrobiana relativamente baixa e falha, enquanto o Material E foi sempre ineficaz, no Estudo - E₁.

2 - Todos os materiais testados no Estudo - E₁ atuaram contra *Candida albicans*, exceção feita ao Material E.

3 - O Estudo - E₂ mostrou que tanto o Material D como o E exerceram alguma atividade sobre *Str. faecalis* var. *liquefaciens*. Essa atividade assume características predominantemente bacteriostáticas.

4 - A metodologia do Estudo - E₂ parece ser mais fiel que a do Estudo - E₁ na análise da ação da lama e da água de cal.

5 - Pelo Estudo - E₃ concluiu-se que os cimentos à base de hidróxido de cálcio, nos intervalos de tempo estudados na pesquisa, são incapazes de se autoesterilizar.

6 - A resistência apresentada pelo *Str. faecalis* var. *liquefaciens* aos diversos materiais estudados levou a concluir que o mesmo deve ser usado como indicador nos testes de resistência à ação de materiais à base de hidróxido de cálcio.

7 - Pelo Estudo - E₄ concluiu-se que as folhas dos blocos de manipulação que acompanham os cimentos sempre mostraram estar contaminadas, embora em diferentes graus, e por isso a preparação dos materiais deve ser feita em placas de vidro esterilizadas, nos recobrimentos pulpares diretos.

VIII. SINOPSE

Com o objetivo de avaliar o potencial antimicrobiano de preparações odontológicas à base de hidróxido de cálcio, foram utilizados no presente estudo três cimentos (A - B - C) , uma suspensão (lama de cal) (D) e uma solução saturada (água de cal) (E). Elas foram testadas numa primeira fase (Estudo - E₁) através de provas de difusão em gel de Ágar frente aos microorganismos: *B. subtilis* , *P. aeruginosa* , *Staph. epidermides* , *Str. faecalis* var. *liquefaciens* , *Str. salivarius* , *Str. mutans* , *C. albicans* e contra um Coquetel de microorganismos provenientes de raspas de dentina colhidas de cavidades de cárie profunda. Numa segunda fase (Estudos E₂ e E₃) procurou-se caracterizar a ação dos diversos materiais, ou seja, se os mesmos mostravam características bactericidas sobre o microorganismo mais resistente, revelado pelo estudo anterior, (*Str. faecalis* var. *liquefaciens*). Numa terceira fase (Estudo - E₄) verificou-se a condição microbiológica das folhas dos blocos de manipulação dos cimentos (A - B - C) .

A análise dos resultados permitiu concluir que:

- 1º) os materiais testados possuem diferentes potenciais antimicrobianos;
- 2º) a suspensão (lama de cal) e a solução (água de cal) possuem um efeito de característica bacteriostática;
- 3º) o Estudo - E₂ revela com maior fidelidade a ação da solução e da suspensão;
- 4º) os cimentos não são capazes de se autoesterilizar após quinze minutos de contato com *Str. faecalis* var. *liquefaciens*;
- 5º) os blocos de manipulação que acompanham os produtos mostraram-se contaminados, permitindo inferir uma possível quebra da cadeia asséptica, quando se faz capeamento pulpar direto.

IX. SINOPSIS

The purpose of this investigation was to appraise the antimicrobial potencial of Calcium Hydroxide base materials. Three cements (A - B - C) , a suspension or a Calcium Hydroxide as a slurry (D) and a saturated solution (Calcium Hydroxide in the form of a supernatant liquid) (E) were applied. They were inquired at a first phase (Study-E₁) through tests of diffusion in agar plates on the microorganisms: *B. subtilis* , *P. aeruginosa* , *Staph. epidermides* , *Str. faecalis* var. *liquefaciens* , *Str. salivarius* , *Str. mutans* , *C. albicans* and on a cocktail of microorganisms proceeding from samples of dentin gathered from a deep carious lesions. At a second phase (Studies E₂ and E₃) one tried to characterize the action of various materials, that is to say, whether they presented bacteridal characteristics on the most resistant microorganisms brought out by the previous study (*Str. faecalis* var. *liquefaciens*). At a third phase (Study - E₄) a microbiological condition of the handling blocks sheets of the

cements (A - B - C) was verified.

The analysis of the results permitted conclude that: 1st) the Calcium Hydroxide base materials have different antimicrobial potentials; 2nd) the suspension (Calcium Hydroxide slurry) and the solution (Calcium Hydroxide in the form of a supernatant liquid) have an effect of bacteriostatic characteristic; 3rd) the Study - E₂ reveals with more reliability the action of the suspension (D) and the solution (E); 4th) the cements (A - B - C) are not able to self-sterilizing after fifteen minutes in touch with *Str. faecalis* var. *liquefaciens*; 5th) the handling blocks sheets that come with the cements (A - B - C) present to be contaminated. Those conclusion permit to deduce a probable break in the asseptic chain, when there in direct pulp capping.

X. BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

1. ALLEVA, F. Inquiries on the antibacterial activity of Calxyl and Rockle's 4 used in endodontic therapy. Riv Ital Stomat 23(1):85-90, Jan. 1968. Apud Oral Res. Abstr., 4:126, 1969.
2. APONTE, A.J.; HARTSOOK, J.T.; CROWLEY, M.C. Indirect pulp capping success verified. J. Dent. Child., 33:164-6, May 1966.
3. ARMSTRONG, W.J. Effect of Dycal on Streptococcus mutans and Lactobacillus casei in deep carious lesions. Michigan, 1974. [Thesis (Mestrado) - Univ. Michigan].
4. AZRILIAN, I.I. & KURINA, S.A. The effect of calcium hydroxide on the microflora of carious cavities. Stomatologia, Moskva, 48(2):76-7, Mar /Apr. 1969. Apud Oral Res. Abstr., 5:34, 1970.

5. BAMMANN, L.L. & ARAÚJO, W.C. Espectro Microbiano da cárie profunda de dentina. Arq. Center Est. Cur. Odont., 13(1 e 2): 7-32, 1976.
6. BATIEVSKY, P.A. *et alii*. Pulpitis treatment with Bioxyl paste and diadynamic current. Stomatologia, Moskva, 47(1):31-3, Jan-Feb 1968. Apud Oral Res. Abstr, 4:216, 1969.
7. BERNARD, P.D. Calcium hydroxide therapy. III. Action of calcium hydroxide in endodontics. Trib. Odont. B. Aires, 52:202-4, 1968.
8. BIER, O. Bacteriologia e Imunologia. 22. ed. São Paulo, Melhoramentos, 1982. p. 783.
9. BINNIE, W.H. & ROWE, H.R. A histological study of the periapical tissues of incompletely formed pulpless teeth filled with calcium hydroxide. J. dent. Res., 52:1110, 1973.
10. BROUKAL, Z. & ZEMANOVA, E. Antimicrobial properties of a zinc oxide eugenol cement, Caryosan, manufactured in Czechoslovakia. Prakt Zub Lek, 20(2):36-42, Mar. 1972. Apud Oral Res. Abstr., 8(4):327, 1973.

11. BURNETT, G.W.; SCHERP, W.H.; SCHUSTER, S.G. Microbiologia oral & doenças infecciosas. Trad. da 4 . ed. sob super visão de W.C. Araújo, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1978. p. 298-381.
12. BURROWS, W. Textbook of Microbiology. 8 ed., Philadelphia and London, Saunders, 1965. p. 26.
13. CASTANGNOLA, L. Conservacion de la vitalidad de la pulpa en la operatoria dental. Trad. por D. Schwarcz, Buenos Aires, Mundi, 1956. p. 13-9.
14. CONRADO, C.A.; FINN, S.D.; WINKLER, C.H. Considerações so bre o pH do hidróxido de cálcio. Revta bras. Odont., 24(134):56-61, mar/abr., 1965.
15. COTTON, W.R. Bacterial contamination as a factor in healing of pulp exposures. Oral Surg., 38(3):441-50, Sept. 1974.
16. COX, C.F. *et alii*. Capping of the pulp mechanically exposed to the oral microflora - a five week observation wound healing in the monkey. J. oral Path., 11(4):327-39, 1982.

17. CVEK, M.; HOLLENDER, L.; NORD, C.E. Treatment of non-vital permanent incisor with calcium hydroxide. VI. A clinical, microbiological and radiological evaluations of treatment in one sitting of teeth with mature or imature root. Odont. Revy, 27:93-108, 1976.
18. DAMELE, J.J. Clinical evaluation of indirect pulp capping: progress report. J. dent. Res., 40:756, 1961.
19. EDA, S. Histochemical analysis on the mechanism of dentin formation in dog's pulp. Bull Tokyo Dent. Coll., 2(2): 59-88 , Sept. 1961.
20. EIDELMAN, E.; FINN, S.D.; KOULOURIDES, T. Remineralization of carious dentin treated with calcium hydroxide. J. Dent. Child., 32(4):218-25, 1965.
21. ENGLANDER, H.R. *et alii*. Histologic effects of silver nitrate on human dentin and pulp. J. Am. dent. Ass., 57(5):621-30, Nov. 1958.
22. FAIRBOURN, D.R.; CHARBENEAU, G.T.; LOESCH, W.J. Effect of improved Dycal and IRM on bacteria in deep carious lesions. J. Am. dent. Ass., 100(4):547-52, Apr. 1980.

23. FERREIRA, A.C.S.; ALMEIDA, D.; FONSECA, G.A. Avaliação do poder bacteriostático e bactericida do Hidróxido de cálcio utilizado como curativo de demora nos canais radiculares. Estudos realizados "In vitro" e "In vivo". Revta. bras. Odont., 35(2):15-21, 1978.
24. FISHER, F.J. The effect of calcium hydroxide water paste on microorganisms in carious dentin. Br. dent. J., 133: 19-21, July 1972.
25. ————. The effect of three proprietary lining materials on microorganisms in carious dentin. Br. dent. J., 143: 231-5, Oct. 1977.
26. FISHER, F.J. & McCABE, J.F. Calcium hydroxide base materials. An investigation into the relationship between chemical structure and antimicrobial properties. Br. dent. J., 144(12):341-4, June 1978.
27. GABEL, A.B. Compendio de operatória dental. 9. ed. Rio de Janeiro, Atheneu, 1959. p. 286.
28. GARDNER, P.E.; MITCHELL, D.F.; McDONALD, R.E. Treatment of pulps of monkeys with vancomycin and calcium hydroxide. J. dent. Res., 50:1273-7, 1971.

29. GOLD, O.G.; JORDAN, H.V.; VAN HOUTE, J. The prevalency of enterococci in the human mouth and their pathogenicity in animal models. Arch. Oral Biol., 20(7):473-7, Jul. 1975. Apud Oral Res. Abstr., 10(10):996, 1975.
30. HAVERLA, T. & CERMAN, J. Antibacterial effects of calcium hydroxide and other root canal filling materials. Czeskoslov. stomat., 62:7-17, Jan. 1962. Apud Dent. Abstr., 7:662, Nov. 1962.
31. HAWES, R.R.; DIMAGGIO, J.J.; SAYEG, F. Evaluation of direct and indirect pulp capping. J. dent. Res., 43 Suppl. 3) : 808 , 1964.
32. HEITHERSAY, G.S. Calcium hydroxide in the treatment of pulpless teeth with associated pathology. J. Br. Endodont. Soc., 8(2):74-93, 1975.
33. HELD-WYLER, E. "Natural" (Indirect) pulp capping. J. Dent. Child., 31(2):107-13, 1964.
34. HERMANN, B.W. Calcium hydroxide als mittel zum behandeen und Füllen von wurzelkanälen. Diss., Würzbrug, 1920. Apud CASTANGNOLA, L. op. cit. ref. 13.
35. ————. Der desinfek torische vert des Calxyl. Zahnäztl. Rdsch. 44, 1935. Apud CASTANGNOLA, L. op. cit. ref. 13.

55941BC

36. HEYS, D.R. *et alii*. Five week histological evaluation of direct pulp capping agents on normal monkeys. Final histologic report. Michigan, Ann Arbor Dental Research, Inst. Univ. of Michigan, 1979.
37. HEYS, R.J. *et alii*. Histological evaluation of two calcium hydroxide compounds on inflamed pulps. J. dent. Res., 56:163, 1977.
38. ————. Histological evaluation of three calcium hydroxide on the dental pulp. J. dent. Res., 58:161, 1979.
39. HIZATUGU, R. & VALDRIGHI, L. Endodontia. Considerações biológicas e aplicação clínica. Piracicaba, Aloisi, 1974. p. 36, 43, 47, 96, 124, 125.
40. HOLLAND, R. Processo de reparo do coto pulpar e dos tecidos periapicais após biopulpectomia e obturação do canal radicular com hidróxido de cálcio ou óxido de zinco e eugenol. Estudo histológico em cães. Araçatuba, 1975. [Tese (Livre-Docência) - FOA].
41. ———— *et alii*. Capeamento pulpar com hidróxido de cálcio ou pasta de óxido de zinco e eugenol. Revta Fac. Odont. Araçatuba, 1(1):33-4, 1972.

42. HUTCHINS, B.W. & PARKER, W.A. Indirect pulp capping : clinical evaluation of using polymethylmethacrylate reinforced zinc oxide - eugenol cement. J. Dent. Child., 39(1):55-6, 1972.
43. ISERMANN, G.T. & KAMINSKI, E.J. Pulpal response to minimal exposure in presence of bacteria and Dycal. J. Endodont., 5(11):322-7, Nov. 1979.
44. KAKEHASHI, S.; STANLEY, H.R.; FITZGERALD, R. The effects of surgical exposures of dental pulps in "germ-free" and conventional laboratory rats. Oral Surg., 20(3):340-9, Sept. 1965.
45. KALOYANNIDIS, T. The antiseptic ability of some materials used for covering the pulp. Stoma Thessalonie, 2(3):89-93, May/June. 1970. Apud Oral Res. Abstr., 6:1089, 1971.
46. KERKHOVE, B.C. *et alii*. A clinical and television densiometric evaluation of the indirect pulp capping technique. J. Dent. Child., 34(3):192-201, 1967.
47. KING, J.B.; CRAWFORD, J.J.; LINDAHL, R.L. A bacteriologic study of deep carious lesions. Oral Surg., 20:663-9, 1965.

48. KRASSE, B. Studies on acidogenic microorganismos in the mouth with reference to dental caries activity. Acta Odontol. Scand., 12 : Suppl. 14 , 1954.
49. LAW, A.J. Calcium Hydroxid as a possible root canal filling material. N.Z. dent. J., 58:199, 1962.
50. LAW, D.B. & LEWIS, T.M. The effect of calcium hydroxide on deep carious lesions. Oral Surg., 14 :1130-7, 1961.
51. LEONARDO, M.R. Contribuição para o estudo da reparação apical e periapical pós tratamento de canais radiculares. Araraquara, 1973. [Tese (Livre-Docência) - FOA.].
52. ——— *et alii*. Healing process after vital pulp extirpation and imediate root canal filling with calcium hydroxid. Revta Fac. Odont. Araçatuba, 3(2):159-69 , 1974.
53. LEUNG, R.L.; LOESCH, W.J.; CHARBENEAU, J.T. Effect of Dycal on bacteria in deep carious lesions. J. Am. dent. Ass., 100(2) :193-7, Feb. 1980.
54. LOSSIO, J.J.A. Considerações sobre irritantes pulpares e materiais de forramento. Revta Ass. paul. Cirurg. dent., 26(2):67-75, mar/abr., 1972.

55. MANUAL BBL. Productos para laborat6rios de microbiologia.
M6xico, Baltimore Biological Laboratory Inc., 1959.
p. 39.
56. MARTINS, J.B. *et alii*. Efeitos da biomec6nica e de curati-
vos de demora com hidr6xido de C6lcio, paramonoclorofe-
nol a 1% ou associa76o de ambos na redu76o da flora mi-
crobiana de canais radiculares infectados. Ars Curandi
Odont., 6(7):44-57, 1979.
57. MASSLER, M. Indirect pulp capping and vital pulpotomy for
potencial and actual pulp exposures. J. Tenn. St. dent.
Assoc., 35(4):393-402, 1955.
58. MAURICE, C.G.; KROEGER, A.V. ; KIEGER, M. Antimicrobial
activity of root canal sealing agents. J. dent. Med.,
20:7-12, 1965.
59. McGEHEE, W.H.O.; TRUE, H.A.; INSKIPP, E.F. Operative
dentistry. 4 . ed., New York, McGraw-Hill, 1956, p. 197-8.
60. MELLO, W. *et alii*. Capeamento pulpar com hidr6xido de c6l-
cio ou pasta de 6xido de zinco e eugenol. Revta Fac.
Odont. Ara7atuba, 1(1):33-44, 1972.
61. MILLER, C.H.; DOMINIC, L.P. & CRIMMEL, J.T. Bacterial
Efficiency of Some Antimicrobial Chemicals. J. dent.
Res., 52(1):184, 1973.

62. MJOR, I.A. Histologic studies of human coronal dentine following insertion of various materials in experimentally prepared cavities. Archs oral Biol., 12:441-52, 1967.
63. MONDELLI, J. *et alii*. Dentística operatōria. 2 . ed. São Paulo, Sarvier, 1976. p. 76.
64. NOLTE, W.A. Microbiologia odontolōgica. México, Interamericana, 1971. p. 178.
65. OLIVEIRA LIMA, J. & GARCEZ LIMA, M.G. Nos domínios da microbiologia oral. Salvador, Gráfica da UFBA, 1981. p. 117-125.
66. ONOSE, H.; YAMASAKI, M.; KURODA, T. Studies on the antibacterial effects on various medicaments used in root canal therapy. J. Nihon Univ. Sch. Dent., 11:120-8, Dec. 1969.
67. PAIVA, J.G. & ALVARES, S. Endodontia. São Paulo, Atheneu USP, 1978. p. 88-10.
68. PATERSON, R.C. Bacterial contamination and the response of the exposed rat molar pulp. J. dent. Res., 50:1165-70, 1971.
69. ————. Bacterial contamination and the exposed pulp. Br. dent. J., 140(4):231-6, 1976.

70. PELCZAR, M.; REID, R.; CHAN, E.C.S. Microbiologia I.
Trad. M.A.M. PEREIRA. São Paulo, McGraw-Hill do Brasil,
1980. p. 507.
71. PROELL, F. Uber genese and vitalität des Zahns chemeltzes
Die heutige Karies prophylaxe. Zahnarztl. Welt, vol. 14,
1949. Apud CASTANGNOLA, L. op. cit. ref. 13.
72. SAMPAIO, P. Alterações histológicas da polpa dental do
rato, após contaminação com estreptococos e proteção
com hidróxido de cálcio. Arq. Cent. Est. Fac. Odont. Univ.
Fed. Minas Gerais, 4(1):121-39, 1967.
73. SANTOS, M.A.A. *et alii*. Estudo da eficiência da solução
de Ca(OH)_2 na antisepsia dos canais radiculares e com-
paração de dois meios de cultura, a partir de colhei-
tas efetuadas com cones de papel absorvente e com irri-
gação - aspiração. Estomat. Cult., 8(2) : 273-80, jul./
/dez., 1974.
74. SELA, J.; HIRSCHFELD, Z.; ULMANSKY, M. Dental pulp
reaction to various capping linning and filling
materials: Review of a series of investigations.
Israel J. Dent. Med., 21:109-13, 1972.
75. STEVENS, R.H. & GROSSMAN, L.I. Evaluation of the anti-
microbial potencial of calcium hydroxide as an intra
canal medicament. J. Endodont., 9(9):372-4, Sept. 1983.

76. STURDEVANT, C.M. *et alii*. The art and science of operative dentistry. New York, McGraw-Hill, 1968. p. 99-100.
77. TOMASI, A.D. & CORONELLI, E. Quantitative study of salivary flora. Rass. Trim. Odont., 54(4):153-9, Oct./Dec., 1973. Apud Oral Res. Abstr., 10(4):312, 1975.
78. TRAUBMAN, L.A. A critical clinical and television radiographic evaluation of indirect pulp capping. Indiana, 1967. [Thesis (Mestrado) - Univ. Indiana].
79. TRONSTAD, L. & MJOR, I.A. Pulp reactions to calcium hydroxide containing materials. Oral Surg., 33:961-5, 1972.
80. TRONSTAD, L. Reactions of the exposed pulp do Dycal treatment. Oral Surg., 38(6):945-53, Dec. 1974.
81. YOSHIKI, S. & MORI, M. Enzyme Histochemistry on the Tissue Reaction to Calcium Hydroxide. Bull. Tokyo Dent. Coll., 2(1):32-43, May 1961.
82. ZINSSER, H. & BAYNE - JONES, S. Tratado de bacteriologia, Rio de Janeiro, Imprensa Nacional, 1947. P. 304,5,10.

XI- APÊNDICE

Aqui são apresentados em forma de tabelas os dados originais dos experimentos realizados e as respectivas médias aritméticas aproximadas.

Materiais Testados	Inibição do crescimento de <i>B. subtilis</i> pelo contato direto em Agar Triptona - Soja										Média dos halos de inibição em mm.
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
A	2,0	3,0	3,0	4,0	1,0	2,0	3,0	2,0	3,0	3,0	3,0
B	-	1,0	-	-	2,0	1,0	-	1,0	-	1,0	-
C	1,0	1,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	3,0	3,0	2,0
D	2,0	-	2,0	3,0	2,0	1,0	-	1,0	-	3,0	1,0
E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

LEGENDA: N^{os} → halos de inibição iguais ou superiores a 1 mm.

- → halos de inibição inferiores a 1 mm ou inexistentes.

Materiais Testados	Inibição do crescimento de <i>P. aeruginosa</i> pelo contato direto em Agar Triptona - Soja										Média dos halos de inibição em mm.
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
A	2,0	3,0	4,0	3,0	2,0	1,0	3,0	2,0	3,0	3,0	3,0
B	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	1,0	-
C	1,0	2,0	1,0	2,0	1,0	2,0	2,0	1,0	2,0	2,0	2,0
D	3,0	3,0	2,0	4,0	2,0	3,0	2,0	2,0	3,0	4,0	3,0
E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

LEGENDA: N^{os} → halos de inibição iguais ou superiores a 1 mm.

- → halos de inibição inferiores a 1 mm ou inexistentes

Materiais Testados	Inibição do crescimento de <i>Staph. epid.</i> pelo contato direto em Ágar Triptona - Soja										Média dos halos de inibição em mm.
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
A	6,0	5,0	4,0	5,0	7,0	6,0	5,0	8,0	4,0	4,0	5,0
B	3,0	-	4,0	2,0	4,0	3,0	4,0	4,0	1,0	4,0	3,0
C	4,0	4,0	3,0	4,0	5,0	5,0	5,0	4,0	4,0	5,0	4,0
D	6,0	6,0	7,0	8,0	6,0	7,0	5,0	7,0	7,0	5,0	6,0
E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

LEGENDA : N^{os} → halos de inibição iguais ou superiores a 1 mm.

- → halos de inibição inferiores a 1 mm ou inexistentes.

Materiais Testados	Inibição do crescimento do Coquetel em Aerobiose pelo contato direto em Ágar Triptona - Soja										Média dos halos de inibição em mm
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
A	3,0	-	5,0	6,0	4,0	6,0	7,0	6,0	5,0	7,0	5,0
B	2,0	-	6,0	1,0	-	6,0	1,0	4,0	4,0	2,0	3,0
C	4,0	3,0	8,0	3,0	5,0	2,0	4,0	4,0	5,0	4,0	4,0
D	7,0	4,0	-	3,0	7,0	1,0	-	8,0	2,0	-	3,0
E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

LEGENDA: N^{os} → halos de inibição iguais ou superiores a 1 mm.

- → halos de inibição inferiores a 1 mm ou inexistentes.

Materiais Testados	Inibição do crescimento do Coquetel em Anaerobiose pelo contato direto em Ágar Triptona - Soja										Média dos halos de inibição em mm.
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
A	2,0	3,0	-	2,0	2,0	1,0	4,0	1,0	6,0	2,0	2,0
B	2,0	2,0	-	1,0	1,0	-	1,0	1,0	-	-	-
C	1,0	3,0	2,0	1,0	1,0	1,0	1,0	2,0	3,0	3,0	2,0
D	2,0	2,0	1,0	3,0	1,0	2,0	2,0	1,0	2,0	2,0	2,0
E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

LEGENDA: N^{os} + halos de inibição iguais ou superiores a 1 mm.

- + halos de inibição inferiores a 1 mm ou inexistentes.

Materiais Testados	Inibição do crescimento de <i>Str. faecalis</i> var. <i>liq.</i> pelo contato direto em Ágar Triptona - Soja										Média dos halos de inibição em mm.
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
A	-	-	1,0	-	-	-	1,0	-	-	-	-
B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-
D	-	2,0	3,0	-	1,0	2,0	2,0	-	2,0	2,0	1,0
E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

LEGENDA: N^{os} + halos de inibição iguais ou superiores a 1 mm.

- + halos de inibição inferiores a 1 mm ou inexistentes.

Materiais Testados	Inibição do crescimento de <i>Str. salivarius</i> pelo contato direto em Ágar Triptona - Soja										Média dos halos de inibição em mm.
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
A	7,0	6,0	5,0	4,0	1,0	8,0	7,0	6,0	3,0	4,0	5,0
B	4,0	8,0	3,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	2,0	4,0	4,0
C	5,0	6,0	4,0	3,0	2,0	5,0	6,0	6,0	2,0	3,0	4,0
D	3,0	2,0	3,0	1,0	1,0	-	1,0	1,0	2,0	1,0	2,0
E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

LEGENDA: N°s + halos de inibição iguais ou superiores a 1 mm.

- + halos de inibição inferiores a 1 mm ou inexistentes.

Materiais Testados	Inibição do crescimento de <i>Str. mutans</i> pelo contato direto em Ágar Triptona - Soja										Média dos halos de inibição em mm.
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
A	7,0	5,0	4,0	4,0	4,0	5,0	3,0	6,0	4,0	6,0	5,0
B	-	-	2,0	1,0	-	1,0	2,0	3,0	-	-	-
C	6,0	5,0	4,0	5,0	5,0	3,0	4,0	4,0	5,0	5,0	5,0
D	2,0	2,0	1,0	3,0	3,0	2,0	-	2,0	2,0	3,0	2,0
E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

LEGENDA: N°s + halos de inibição iguais ou superiores a 1 mm.

- + halos de inibição inferiores a 1 mm ou inexistentes.

Materiais Testados	Inibição do crescimento de <i>C. albicans</i> pelo contato direto em Ágar Glicosado de Sabouraud										Média dos halos de inibição em mm.
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
A	5,0	4,0	4,0	5,0	4,0	8,0	7,0	4,0	2,0	5,0	5,0
B	2,0	2,0	5,0	3,0	4,0	4,0	5,0	2,0	3,0	2,0	3,0
C	5,0	4,0	3,0	2,0	2,0	5,0	3,0	2,0	5,0	3,0	3,0
D	4,0	3,0	4,0	4,0	5,0	4,0	4,0	3,0	4,0	4,0	4,0
E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

LEGENDA: N^{os} + halos de inibição iguais ou superiores a 1 mm.

- → halos de inibição inferiores a 1 mm ou inexistentes.