

PAULO AUGUSTO SPERANÇA
Cirurgião-Dentista

ESTUDO COMPARATIVO DA AÇÃO DE MATERIAIS ODONTOLÓGICOS
À BASE DE HIDRÓXIDO DE CÁLCIO SOBRE ESTREPTOCOCOS DE
CAVIDADES DE CÂRIE PROFUNDA. ESTUDO *in vivo*

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia
de Piracicaba da Universidade Estadual de
Campinas, para obtenção do Título de DOUTOR
em "Ciências" (FARMACOLOGIA)

PIRACICABA-SP
- 1989 -

Sp36e

10410/BC

Este exemplar foi
devolvido ao autor
conforme resolução
CC 179/036/83
Piracicaba 10/03/89

PAULO AUGUSTO SPERANÇA
Cirurgião-Dentista

ESTUDO COMPARATIVO DA AÇÃO DE MATERIAIS ODONTOLÓGICOS
À BASE DE HIDRÓXIDO DE CÁLCIO SOBRE ESTREPTOCOCOS DE
CAVIDADES DE CÁRIE PROFUNDA, ESTUDO *in vivo*

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia
de Piracicaba da Universidade Estadual de
Campinas, para obtenção do Título de DOUTOR
em "Ciências" (FARMACOLOGIA)

PIRACICABA-SP

- 1989 -

"Sejamos humildes!

A vaidade é o pior dos defeitos, porque engana a
nós mesmos.

Por mais sábios e cultos que possamos ser, haverá
sempre alguém mais sábio e mais culto que nós.

Por mais fortes que sejamos, haverá sempre alguém
mais forte que nós.

Portanto sejamos humildes.

Envaidecer-nos de quê?

A vaidade nos faz perder o sentido das proporções,
cegando-nos e levando-nos a cair no imenso va-
zio da nossa própria ignorância."

(Pastorino)

In Memoriam ...

A meu avô, MIGUEL ORLANDO FRANGELLI,
por sempre ter compreendido e defendido a grandiosidade
do saber e do ser, transmitindo aos filhos e netos, o
legado da honestidade, da firmeza de caráter, da digni-
dade e da luta pela vida em prol dos seus, através de
uma doação sempre constante.

a minha saudade.

A meus pais, MÁRIO e VILMA,
por tudo que me propiciaram alcançar
ao longo de todos esses anos de vida;

A meus irmãos, MÁRIO e FÁTIMA,
que sempre estiveram presentes, compartilhando
de nossas alegrias e tristezas;

A minha avó ODETTE,
pelo exemplo maravilhoso de vida
que sempre transmitiu;

A meus sogros, Sr. LIBÓRIO e D. THEREZINHA,
que com confiança e amor, receberam-me como
um filho;

minha eterna gratidão.

A minha esposa LÊDA,
que com amor, dedicação, renúncia, desprendimento,
fortaleceu-me o ânimo ajudando-me a continuar a
marcha de cabeça erguida e a vencer os obstáculos
desta caminhada, tão dura, mas igualmente
tão gratificante;

A meus filhos, PRISCILA, MAURÍCIO e VITOR,
a alegria de tê-los como companheiros e a
minha esperança maior, de que compreendam
e aceitem com amor, os momentos em que
precisei estar ausente;

dedico este trabalho.

Ao Prof. Dr. RENATO ROBERTO BIRAL,

que muito nos auxiliou nos primeiros passos da difícil arte da pesquisa científica, transmitindo-nos sempre lições marcantes de vida, representadas pela sua dedicação ao trabalho, sua honestidade e sua extrema competência como docente e pesquisador. Ao Prof. BIRAL, a nossa HOMENAGEM ESPECIAL, a nossa gratidão pelo muito que representou na nossa formação docente, como também pelas valiosas sugestões ao presente trabalho.

Ao Prof. Dr. JOSÉ RANALI,

nosso ORIENTADOR e amigo e que com extrema competência, dedicação, paciência, desprendimento, além de um alto espírito científico, conduziu-nos durante todas as etapas deste trabalho, incentivando-nos a prosseguir, a despeito dos obstáculos, contribuindo de forma marcante para o aprimoramento de nossa formação acadêmica e docente,

nossa eterna gratidão e amizade.

AGRADECIMENTOS

- Ao Prof. Dr. Paulo Renato Costa Souza, Magnífico Reitor da Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, pela manutenção do alto nível desta excelente organização de ensino e pesquisa.
- Ao Prof. Dr. Simonides Consani, D.D. Diretor da Faculdade de Odontologia de Piracicaba-UNICAMP, pela atenção dirigida ao ensino de Pós-Graduação.
- Ao Prof. Dr. Oslei Paes de Almeida, D.D. Coordenador dos Cursos de Pós-Graduação da FOP/UNICAMP, pela sua atenção e apoio.
- Ao Prof. Dr. Thales Rocha de Mattos Filho, D.D. Coordenador do Curso de Farmacologia, que muito nos honrou com a sua amizade, e cuja atuação sempre esteve voltada para a manutenção de um ensino de Pós-Graduação de alto nível.
- Ao Prof. Dr. Eduardo Dias de Andrade, pela amizade e consideração com que sempre nos distinguiu, como também pelo auxílio na triagem dos pacientes, sem o que não se teria levado a termo a parte experimental da pesquisa.
- Aos docentes do Curso de Farmacologia, Prof. Dr. Samir Tufic Arbex, Prof.^a Dr.^a Maria de Lourdes Garboggini da Gama, Prof. Dr. Amado Leonísio de Azevedo, Prof. Pedro Luiz Rosalen, nosso muito obrigado.

- . Ao Prof. Dr. Luiz Valdrighi, pelas valiosas sugestões, bem como por nos ceder as dependências do laboratório de Endodontia para a realização da parte experimental da tese.
- . Ao Prof. Dr. Joélis Pupo, pela amizade e pelo auxílio na documentação fotográfica deste trabalho.
- . Ao Prof. Luis Augusto Passeri, da disciplina de Cirurgia da FOP/UNICAMP, pela amizade com que sempre nos distinguiu.
- . Às disciplinas de Microbiologia e Bioquímica da FOP / UNICAMP, na pessoa de seus docentes e funcionários, pela atenção dispensada.
- . Ao Magnífico Reitor da Fundação de Ensino Superior de Pernambuco, Prof. Othon Bastos, pelo apoio e confiança.
- . À Prof.^a Aronita Rosemlat, D.D. Pró-Reitora de Pós-Graduação, Pesquisa e Extensão da FESP, pelo apoio e atenção que sempre nos dispensou.
- . À Dr.^a Célia Ximenes Casado, D.D. Coordenadora do PICD / FESP e à Dr.^a Ângela Vieira da Cunha, Secretária de Pós-Graduação da FOP/FESP, pela dedicação e sensibilidade aos problemas enfrentados pelos bolsistas, bem como pela amizade demonstrada.
- . Ao Diretor da Faculdade de Odontologia de Pernambuco da FESP, pela confiança em nós depositada para a realização deste curso.

- Ao Prof. Dr. Roberto Alves dos Santos, D.D. Coordenador dos Cursos de Pós-Graduação da FOP/FESP, pelo incentivo à capacitação dos docentes desta instituição.
- Aos docentes do Departamento de Medicina Oral da FOP/FESP, pela amizade e incentivo.
- À Coordenação de Aperfeiçoamento do Pessoal de Nível Superior (CAPES), através do PICD, pela bolsa de estudos concedida para a realização do curso.
- À D. Ivany do Carmo Guidolin Gerola, que gentilmente nos auxiliou na ordenação da revisão bibliográfica da tese.
- À técnica D. Dirce Campos Crystal, da disciplina de Endodontia da FOP/UNICAMP, que com extrema dedicação e competência nos auxiliou em todas as etapas de laboratório no presente trabalho.
- Aos técnicos José Carlos Gregório, Maria Aparecida Dalcheco Buscariol, Benedicta Therezinha Moreira, pelo auxílio igualmente importante na fase experimental da tese.
- Às secretárias Suzete Regina de Barros Tobias e Vilma Bizuti dos Santos, pela dedicação na realização de serviços datilográficos ao longo de todo o curso.
- Ao Srs. Adário Cangiani e Pedro Sérgio Justino, que nos auxiliaram na realização de serviços fotográficos.

- ' À PHOCUS STUDIUM, na pessoa do Sr. Fued Kraide, que com impecável senso profissional, preparou toda a documentação fotográfica da tese.
- ' À Sr.^a Sonia Maria A. Simionato Victória Fávero, pela presteza, extrema competência e capricho na datilografia do original da tese.
- ' Às indústrias L.D. CAULK CO. e Sybron Kerr LTDA, que gentilmente nos doaram os cimentos à base de Hidróxido de Cálcio para a realização desta pesquisa.
- ' Aos docentes e funcionários da Área de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - ESALQ/USP, que nos auxiliaram na obtenção de amostras de hemácias de carneiro.
- ' Aos funcionários do Centro de Documentação e Triagem, Serviço Social e Corpo da Clínica Integrada da FOP/UNICAMP, nosso muito obrigado por nos auxiliar na parte clínica da pesquisa.
- ' A todos os colegas do Curso de Pós-Graduação, pela amizade e incentivo.
- ' Finalmente a todos, que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, nossos sinceros agradecimentos.

Í N D I C E

	página
I. INTRODUÇÃO	1
II. REVISÃO DE LITERATURA	11
III. PROPOSIÇÃO	43
IV. MATERIAIS E MÉTODOS	45
1. Materiais à Base de Hidróxido de Cálcio	46
1.1. Cimento Odontológico à Base de Hidróxido de Cálcio	46
1.2. Pasta de Hidróxido de Cálcio	46
2. Seleção de Casos e Procedência das Amostras ...	47
3. Grupos Experimentais e Sistematização da Pes- quisa	48
3.1. Descrição dos Procedimentos Clínicos	51
3.1.1. Colheita do Material	51
3.2. Descrição dos Procedimentos Laboratoriais ..	54
3.2.1. Pesagem do Raspado Dentinário e Isolamento dos Estreptococos	54
3.2.2. Exame Quantitativo	57
3.2.3. Conservação das Amostras	58

	página
3.2.4. Exame Qualitativo	58
3.2.5. Provas de Identificação	60
4. Ensaio Prévio dos Meios de Cultura e das Provas de Identificação	70
V. RESULTADOS	72
1. Exame Quantitativo	74
1.1. Contagem Total	74
1.2. Contagem Diferencial	84
2. Exame Qualitativo	99
VI. DISCUSSÃO	114
VII. CONCLUSÕES	165
VIII. RESUMO	169
IX. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	172
APÊNDICE	229

I. INTRODUÇÃO

I. INTRODUÇÃO

A cavidade oral apresenta uma das mais variadas e concentradas populações microbianas. Esta flora concentra-se em três nichos principais: dorso da língua, sulco gengival e placa dental (KRASSE, 1954a; BAMMANN, 1974).

Independentemente das variações que ocorrem de hospedeiro para hospedeiro e de nicho para nicho, os estreptococos facultativos e os anaeróbios representam 80% da contagem de viáveis da cavidade oral, sendo os estreptococos facultativos o grupo microbiano mais numeroso, constituindo cerca da metade da contagem de viáveis da saliva e do dorso da língua e cerca de 1/4 da contagem de viáveis da placa dental e do sulco gengival. Os lactobacilos e os estafilococos constituem cerca de 1% ou menos do total de viáveis (BURNETT, SCHERP, SCHUSTER, 1978).

A flora microbiana da cavidade oral, por sua extrema complexidade e frequentes variações, tem estimulado os pesquisadores a realizarem estudos, relacionando-a com alterações patológicas bucais.

Dentre estas, a CÁRIE DENTAL merece destaque especial por ser uma patologia altamente prevalente (VIEGAS, 1961; CHAVES, 1977; PEREIRA, 1980; BIFFI et alii, 1983;

PRATA, GUEDES-PINTO, BRUNNER, 1987), e que pode acarretar sérias alterações estéticas e mastigatórias, dificuldades fonéticas, além de ser a causa indireta das periodontopatias e maloclusões (BIRAL, 1968; CHAVES, 1977).

Em 1947, o Grupo de Michigan enumerou uma série de fatores, que poderiam influenciar o aparecimento das cáries, como: a composição, as características morfológicas e a posição dos dentes; a composição, o pH, a quantidade, a viscosidade e os fatores antimicrobianos da saliva e, por último, a qualidade e o teor da dieta.

KEYES (1962), em uma revisão sobre a cárie dentária, destacou que a atividade cariosa era determinada pela interação de três fatores essenciais: hospedeiro, dieta (substrato) e a flora microbiana (Figura 1).

Todas as teorias existentes sobre a etiologia da cárie dental, envolvem a participação de microrganismos, o que denota a grande importância da flora microbiana no aparecimento e na evolução das lesões.

Uma das teorias mais aceitas identifica que o processo cariioso é iniciado pela fermentação de carboidratos por bactérias que proliferam e habitam a placa dental, transformando-os, após uma série de reações catalizadas por enzimas, em ácidos, que desmineralizam as estruturas dentárias inorgânicas.

O esmalte intacto é reconhecidamente permeável a íons ou moléculas e o caráter penetrante da lesão cariiosa indica que ocorre difusão de ácidos para o interior da estrutura dental, com a consequente liberação de cálcio e fósforo, de forma que, a nível estrutural, durante os es-

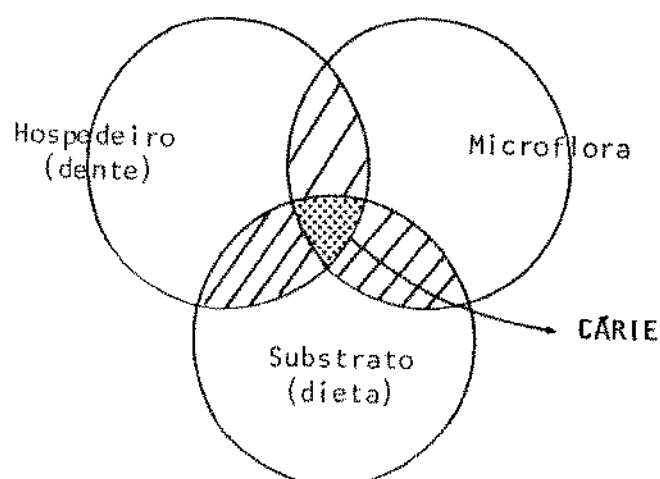


Figura 1 - Tríade de KEYES (1962), ilustrando a complexa etiologia da Cárie Dental e seus fatores determinantes essenciais.

tágios bem iniciais da desmineralização e antes do estabelecimento das manchas brancas típicas, a superfície do esmalte mostra inconfundíveis sinais de dissolução (THYLSTRUP, FEATHERSTONE, FREDEBO, 1983).

No local onde ocorre o ataque dos ácidos, o esmalte torna-se altamente desmineralizado por toda a sua extensão, de modo que o tecido quebra-se, separando-se e dando origem a uma cavidade cariosa, que do ponto de vista microbiológico está repleto de microrganismos da placa dental.

A massa microbiana invasora da dentina periférica desmineralizada, consiste de uma microbiota mista, que tem a capacidade de produzir uma grande variedade de enzimas que destróem a matriz orgânica deste tecido (LARMAS, 1972).

A bacteriologia da cárie dental teve nos tra

balhos de LEBER & ROTTENSTEIN (1867) as primeiras observações sobre a participação microbiana na lesão cariosa, e estes autores já mencionavam que este processo era devido a atividade de bactérias produtoras de ácidos.

Durante algum tempo, os estudos bacteriológicos da cárie foram realizados em função dos microrganismos presentes na saliva. Contudo, hoje é certo que a cárie é uma patologia que ocorre ao nível de placa dental e não da saliva. Esta reflete a microbiota da superfície dorsal da língua, com ênfase para os *Str. salivarius* (KRASSE, 1954b; GIBBONS et alii, 1964; GORDON & GIBBONS, 1966).

Ao longo dos anos, as informações acumuladas mostraram que dois gêneros microbianos se destacam na bacteriologia da cárie: os lactobacilos e os estreptococos.

Segundo MIRANDA (1965), o estudo dos estreptococos constitui sempre tema de permanente interesse e de grande complexidade.

Este grupo microbiano, a partir de 1900, passou a receber atenção especial devido a sua presença, em grandes percentagens, nas lesões cariosas, além de serem constantemente observados nas diversas etapas da cárie. Por conseguinte, estabeleceu-se sua importância na etiologia das lesões cariosas (BAMMANN, 1974; LIMA & LIMA, 1981).

A partir de 1955, a determinação do papel dos estreptococos nos processos cariosos, recebeu grande impulso com os estudos realizados em animais gnotobióticos (ORLAND et alii, 1955; ORLAND, 1959; FITZGERALD, JORDAN, STANLEY, 1960; FITZGERALD & KEYES, 1960).

Por outro lado, o trabalho realizado por KA-

KEHASHI, STANLEY, FITZGERALD (1965) foi de fundamental importância para a determinação do papel dos microrganismos na resposta pulpar a agressão, sendo que, dos envolvidos nos processos cariosos, os estreptococos têm sido descritos como o agente etiológico principal das pulpites, enquanto os lactobacilos, a despeito de serem encontrados comumente na dentina cariada, raramente têm sido isolados da polpa, devido ao seu baixo grau de invasidade (BAMMANN, 1974; GROSSMAN, 1976).

Diante do estímulo lesivo, a polpa se defende de maneira eficiente, apresentando um elevado potencial de reparo (GLASS & ZANDER, 1949; SHOROFF, 1949; MASSLER, 1960). Esta defesa se dá através da produção de uma dentina reacional, a qual também é denominada por LANGE LAND (1970) de dentina de irritação e, por outros, de dentina secundária, terciária, reparativa, etc. (GROSSMAN, 1976; KUTTLER, 1980).

A penetração dos microrganismos e de suas toxinas através das lesões cariosas, têm representado o fator mais comum na gênese das alterações pulpares e periapicais (HIZATUGU & VALDRIGHI, 1974; INGLE & BEVERIDGE, 1979; LEONARDO, LEAL, SIMÕES FILHO, 1982; SHAFER, HINE, LEVY, 1985).

Desta forma, diante da agressão, a polpa pode chegar a alterações mais graves, que culminarão com a sua necrose, caso não sejam aplicados os métodos terapêuticos adequados (LEONARDO, LEAL, SIMÕES FILHO, 1982; PAIVA & ANTONIAZZI, 1985) (Figura 2).

O tratamento conservador da polpa dental tem por objetivo a preservação da vitalidade pulpar, sendo que,

as pesquisas sobre os métodos de tratamento têm sido dificultadas pela existência de inúmeros fatores, dentre os quais se inclui a contaminação bacteriana (GARDNER, MITCHELL, McDONALD, 1971; PATERSON, 1971, 1976; PAIVA & ALVARES, 1978), que podem influir desfavoravelmente no prognóstico com relação ao dente.

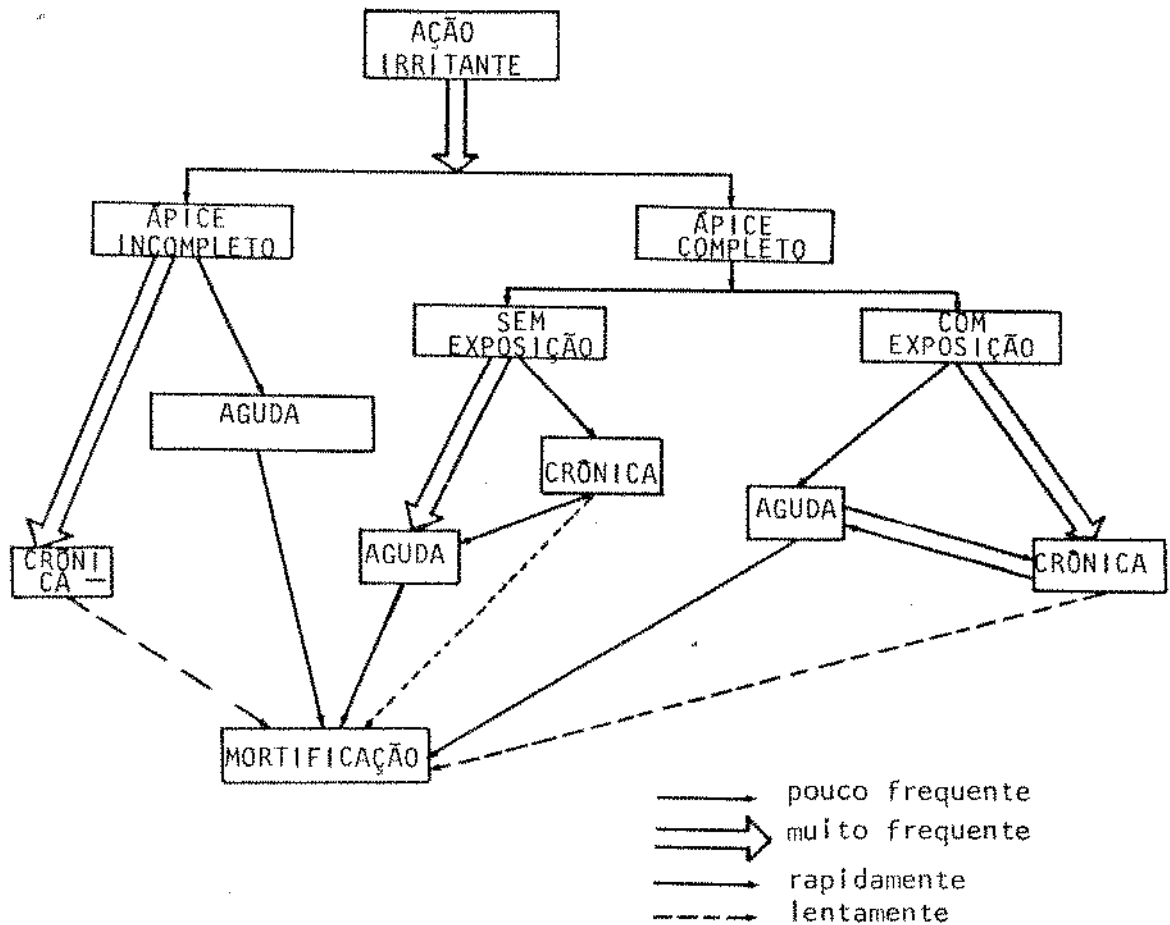


Figura 2 - Desenvolvimento provável do processo inflamatório pulpar em função das condições anatômicas do ápice e anatomoclínicas da lesão (PAIVA & ANTONIAZZI, 1985).

Assim sendo, ante a dúvida de uma possível exposição pulpar, autores como BERK & KRAKOW (1965); SCHORROEDER (1968); SHOVELTON (1968); OSTRY (1972), mencionam que o

tratamento deve objetivar:

- . o bloqueio das agressões que atingem a polpa através da cárie;
- . interrupção do circuito metabólico bacteriano;
- . remineralização da dentina cariada remanescente;
- . estimulação da deposição de dentina reparadora;
- . inativação das bactérias por ação do material capeador.

De acordo com NOSONOWITZ (1960); LÓSSIO (1972), o material de proteção dentino-pulpar "ideal" deve apresentar as seguintes propriedades:

- . compatibilidade biológica;
- . ação bactericida e/ou bacteriostática;
- . induzir as reações de reparação;
- . acelerar o processo cicatricial;
- . estimular a deposição de dentina;
- . ser bom isolante térmico, elétrico e químico;
- . evitar a infiltração marginal;
- . mostrar resistência mecânica satisfatória.

MONDELLI et alii' (1979); PHILIPS (1982); ARAÚJO et alii (1986), ressaltam que na seleção do material de proteção dentino-pulpar, além das características inerentes ao material propriamente dito, devem ser levados em consideração outros fatores, igualmente importantes, como:

- . condição pulpar;

- . idade do paciente;
- . profundidade e extensão da cavidade.

A conduta clínica frente às cavidades profundas, é um dos maiores problemas na prática da Odontologia, persistindo dúvidas quanto aos seguintes aspectos:

- 1º) Conveniência ou não de se remover totalmente a dentina cariada das porções profundas, com risco de se expor a polpa;
- 2º) Presença ou não de microrganismos nas camadas mais profundas da dentina cariada;
- 3º) Efetividade ou não dos materiais capeadores em descontaminar a dentina profunda.

Diante disso, com o presente trabalho, pretende-se estudar alguns dos pontos controversos relacionados ao tratamento clínico das cavidades de cáries profundas, utilizando-se materiais odontológicos à base de Hidróxido de Cálcio, com o intuito de contribuir para o aprimoramento da terapêutica pulpar.

II. REVISÃO DA LITERATURA

II. REVISÃO DA LITERATURA

No final da Idade Média, AMBROIASÉ-PARÉ (1517-1592) afirmava que a cárie dental "é o efeito de um humor aquoso e acre e que, para combatê-la, era preciso recorrer à cauterização, com o objetivo de queimar o nervo do dente, tornando-o incapaz de produzir dor" (GUERINI, 1909).

Stralbergen (1630), citado por WEIBERGER (1948), recomendava o uso de essência e vitríolo ou uma coacção de rã em vinagre, para "matar os germes".

A conservação da polpa viva sob uma tênue camada de dentina, surgiu na metade do século XVIII (PERDIZA, 1972).

FUCHARD (1745), considerado o fundador da O-dontologia moderna, menciona em seu livro "LE CHIRURGIEN DENTIST" que: "alguns afirmam curar a dor de dente com algum elixir de essência especial, para matar os vermes que supos-tamente roem os dentes". O referido autor recomendava para o tratamento de cavidades de cáries profundas com dor, curativos com mechas de algodão embebidas em óleo de cravo e eugenol.

TOMES (1859) preconizava para os capeamentos pulpares indiretos, a própria dentina amolecida, que servi-

ria de proteção para a base das cavidades.

Em 1890, MILLER relacionou a presença de bactérias com a cárie, tendo ressaltado sua importância na etiologia das doenças pulpares e periapicais.

No decorrer de seus estudos, MILLER (1890b), isolou cerca de 30 espécies de microrganismos, que pelas características observadas pelo autor, estariam envolvidas direta ou indiretamente nos processos cariosos.

A partir de então, passou-se à busca de medicamentos que destruíssem efetivamente os microrganismos envolvidos nos processos patológicos dentais, caracterizando a fase da Odontologia que ficou conhecida como "ERA GERMICIDA" (KUTTLER, 1961).

WALKHOFF (1891) inaugurou esta fase com a introdução do paramonoclorofenol e, a partir daí, passaram a ser utilizados os medicamentos mais poderosos e também os mais irritantes, os quais foram denominados de "medicamentos enérgicos". Esses medicamentos, a despeito de sua ação germicida, com maior ou menor poder de destruição dos germes, também mostraram grande poder de destruição dos tecidos e células normais (PUCCI, 1951).

A tentativa de esterilização das cavidades de cárie foi o objetivo de muitas pesquisas realizadas, e com esta finalidade muitas substâncias foram utilizadas, destacando-se o Nitrato de Prata e o Fenol, bem como os seus derivados (WIRZENRIED, 1922; FISH, 1928; BRADY, 1934; BARKER, 1935; ROSENSTEIN, 1937; IRELAND, 1939; MAYER, 1940; ZANDER, 1940; THOMAS, 1941; SELTZER, 1941; ZANDER & SMITH, 1941; MUNTZ, DORFMAN, STEPHAN, 1943; STEPHAN,

MUNTZ, DORFMAN, 1943; CHARBENEAU, 1949; HESS, 1950; IRELAND, 1950; STEPHAN, 1951; PERREAULT, MASSLER, SCHOUR, 1956).

Os resultados dos estudos mostraram claramente que a quase totalidade das substâncias testadas era incompatível com o complexo dentina-polpa e, devido as suas ações deletérias, passaram a ser contra-indicadas no capeamento pulpar indireto (McGEHEE, TRUE, INSKIPP, 1956; ENGLANDER, JAMES, MASSLER, 1958; GABEL, 1959; STURDEVANT et alii, 1968).

O procedimento clínico de proteção indireta da polpa nos casos de cavidades profundas, passou a ser mais reconhecido e aceito somente nas últimas três décadas, graças às investigações clínicas, radiográficas, histológicas e bacteriológicas (SCHOROEDER, 1968).

Do ponto de vista bacteriológico, a esterilização da dentina residual, localizada nas camadas mais profundas das cavidades, continuava a ser o objetivo principal das pesquisas; e a questão principal residia na descoberta ou na utilização de um ou mais agentes que fossem efetivos sobre a microbiota da lesão cariosa, sem apresentar efeitos nocivos sobre a polpa (CONRADO, 1963; SCHMIDT et alii, 1960).

A partir das observações de POETSCHKE (1916), que demonstrou o aumento das propriedades bactericidas do óxido de zinco quando associado ao óxido de cobre, fosfato cúprico e iodeto de cobre, os autores passaram a preconizar a adição de substâncias como os antibióticos, as sulfas, além da utilização, isolada ou associada, dos corticosteróides aos materiais odontológicos.

Os autores que recomendavam o uso da terapêutica antibiótica tópica, baseavam-se no fato da mesma ser específica e "ideal" para combater os germes (CASTANGNOLA & ORLAY, 1952; COLTON & EHRLICH, 1953; URZŪA & GILMOUR, 1957; KUTSCHER, 1958; RUBBO, REICH, DISXON, 1958; SCHIMIDT et alii, 1960; BATIEVSKY et alii, 1968).

Contudo, a despeito da especificidade dos antibióticos, seu emprego tópico passou a ser severamente contestado por autores como KNIGHTON (1960); WEISBERGER (1960); SCOPP (1969); FRANCIS & DeVRIES (1973).

KNIGHTON (1960) chamava a atenção para os riscos de se expor os pacientes a um aumento de sensibilidade às aplicações sistêmicas dos antibióticos, bem como à possibilidade da ocorrência de reações inflamatórias locais intensas.

Assim sendo, os riscos de sensibilização, bem como, a possibilidade do aparecimento de cepas antibiótico-resistentes, seria maior do que as vantagens que poderiam advir do uso tópico dos antibióticos (VERRI, 1973).

Com relação aos corticosteróides, estes também foram amplamente utilizados, por apresentarem potente ação anti-inflamatória tendo, contudo, suas indicações limitadas a partir de alguns estudos como o realizado por TAKAYAMA et alii (1973), onde demonstraram que a ação benéfica destes medicamentos, quando aplicados topicamente, ocorria por períodos curtos de tempo (48 horas) e quando mantidos nas cavidades por períodos iguais ou superiores a 30 dias, mostravam tendência a inibir os processos de reparo.

A grande deficiência dos métodos de diagnós

tico das alterações pulpares e o tratamento com medicamentos e/ou substâncias não biológicas que apresentavam efeitos co laterais indesejáveis, levou a um grande número de insucessos nos tratamentos conservadores (CASTANGNOLA, 1956; KAWA HARA, YAMAGAMI, NAKAMURA, 1968; PERDIZA, 1972).

Com a evolução da Odontologia, foram desenvolvidos limites entre as diversas propriedades dos materiais e as propriedades biológicas passaram a ser consideradas fun damentais para a seleção e o emprego dos mesmos (KAWAHARA, YAMAGAMI, NAKAMURA, 1968; PHILIPS, 1982).

O Hidróxido de Cálcio para uso odontológico foi introduzido por NYGREEN (1838), Suécia, e por HERMANN em 1920, na Alemanha.

Desde então, o Hidróxido de Cálcio vem sendo estudado e, atualmente, é considerado o material de escolha para ser empregado como primeira camada protetora em cavidades profundas, por apresentar propriedades biológicas desejáveis como sua **compatibilidade biológica** (ZANDER, 1939; GLASS & ZANDER, 1949; CASTANGNOLA, 1956; YOSHIDA, 1959; EDA, 1961; HOLLAND et alii, 1971a; MELLO et alii, 1972; LEONARDO, 1973; GUIMARÃES & ALLE, 1974; BERK et alii, 1975; HOLLAND, 1975; LEONARDO, LEAL, SIMÕES FILHO, 1982; COLABONE & TOLEDO, 1983; PAIVA & ANTONIAZZI, 1985; CIPRIANO & NETTO, 1987).

Além de ser extremamente bem tolerado, quando colocado em contacto com o tecido dentinário e/ou pulpar, o Hidróxido de Cálcio tem a propriedade de **estimular o processo cicatricial e a formação de barreira dentinária** (TEUSCHER & ZANDER, 1938; ZANDER, 1939; ZANDER & LAW, 1942;

SLACK, 1948; GLASS & ZANDER, 1949; BERK, 1950; CASTANGNOLA & ORLAY, 1950; MASSLER, 1955; MITCHELL & SHANKWALKER, 1958; DAMELE, 1961; MJOR, FINN, QUIGLEY, 1961; MITCHELL, 1961; YOSHIKI & MORI, 1961; HELD-WYLER, 1964; EILDELMAN et alii, 1965; TRAUBMAN, 1967; HEITHERSAY, 1970a, b; KURODA, 1970; TRONSTAD & MJOR, 1972; COTTON, 1974; HOLLAND, SOUZA, MELLO, 1974; SOUZA & HOLLAND, 1974; HOLLAND, 1975; PATERSON, 1976; HEYS et alii, 1977; HEYS et alii, 1977, 1979; FONSECA & OLIVEIRA, 1982).

Os materiais à base de Hidróxido de Cálcio servem ainda como barreira fisiológica, protegendo a polpa de outros materiais forradores e/ou restauradores (STANLEY & LUNDI, 1972; GRANJOWER, HIRSHFELD, ZALKIND, 1976; FICHMAN, CURTI, PAGANI, 1977; CURTI, FICHMAN, PAGANI, 1979; BERGENHOLTZ & REIT, 1980; McCOMB, 1983; SHORER, HIRSHFELD, GRANJOWER, 1984; PARDINI et alii, 1986; CIPRIANO & NETTO, 1987).

Além das propriedades anteriormente citadas, uma outra propriedade igualmente importante é a atividade antisséptica do Hidróxido de Cálcio e que tem sido estudada por diversos autores (HERMANN, 1930, 1935; FENNER, 1944; JANSEN, 1949; PROELL, 1949; HERMANN, 1950; CASTANGNOLA & ORLAY, 1950; GARDNER, 1950; CASTANGNOLA & ORLAY, 1952; HUNTER, 1955; CASTANGNOLA & ORLAY, 1956; MAST, 1957; BUONOCORE, 1960; FINN, 1960; HAVERLA & CERMAN, 1962; LAWS, 1962; CABRINI, MAISTO, MANFREDI, 1965; SAMPAIO, 1967; SCHEMEISSNER & WEBER, 1971; BROUKAL & ZEMANOVA, 1972; SANTOS et alii, 1974; GUEDES-PINTO, QUERIDO, BASILE-NETO, 1976; FORSTEN & KARJALAINEN, 1977; FERREIRA, ALMEIDA, FONSECA, 1978; FISHER & McCABE, 1978; I-

SERMANN & KAMINSKI, 1979; BERGENHOLTZ & REIT, 1980; COX et alii, 1982; SAVAFI, DOWDEN, LANGELAND, 1985; BIRAL, PUPO, VALDRIGHI, 1987).

Especificamente, dos estudos sobre a Atividade Antimicrobiana dos materiais à base de Hidróxido de Cálcio, sobre estreptococos da dentina cariada profunda, pode-se citar os seguintes:

ROSEN (1952) relatou a ineficácia do Hidróxido de Cálcio sobre amostras de *Str. viridans* quando este era testado *in vivo*, enquanto MAEGLIN (1955), utilizando o Serocalcium, procurou observar sua ação antisséptica sobre a flora mista de bactérias isoladas da dentina cariada, tendo concluído que, *in vivo*, a atividade antimicrobiana do referido material não era tão efetiva.

CASTANGNOLA (1956) testou *in vitro*, o efeito antimicrobiano de três materiais à base de Hidróxido de Cálcio (Calxyl, Dentigene e o Serocalcium), sobre amostras de estreptococos hemolíticos, não hemolíticos e enterococos. As provas foram realizadas através de testes de difusão em gel de Ágar, ao qual o autor agregou fenolftaleína, a fim de verificar até onde se estendia a alcalinidade dos materiais testados nas placas de cultura. Após a semeadura dos inóculos, cada placa sofreu na sua porção central uma escavação, a qual era preenchida com os materiais em estudo e incubada pelo período de 48 horas. O exame das placas revelou a presença de zonas de difusão de tamanhos variáveis em torno dos medicamentos, sendo que o autor observou, em diversas ocasiões, a presença de diminutas colônias no interior destas zonas. Ele ainda constatou um pH de 9,7, apenas próximo

aos materiais testados. A análise dos resultados revelou que os materiais apresentavam efeito antimicrobiano sobre as amostras e que esse efeito estaria limitado apenas à zona de contato superficial.

Ainda no ano de 1956, SOWDEN estudou, *in vivo*, a ação do Hidróxido de Cálcio sobre culturas puras de bactérias anaeróbias isoladas da dentina cariada, tendo concluído que após o período de 3 semanas a população microbiana neste tecido era praticamente inexistente. Enquanto que KOZLOWSKA (1961), estudando, *in vitro*, a ação antimicrobiana do Hidróxido de Cálcio associado a uma solução de epinefrina, na concentração de 1:40, sobre culturas puras de *Str. viridans* e de estreptococos beta-hemolíticos, concluíram que o referido material era capaz de destruir completamente estes microrganismos.

CONRADO (1963) teve como primeira proposição de seu trabalho, determinar, *in vitro*, se o Hidróxido de Cálcio apresentava ação antisséptica sobre culturas de microrganismos isolados da dentina cariada.

Os materiais testados foram: Pulpdent pasta, Pulpdent líquido, Hypocal, Hydroeugenol, Chembar, Óxido de zinco-eugenol (ZOE) e o Hidróxido de Magnésio. O material Chembar apresentava em sua composição, 5% de óxido de zinco, 5% de Hidróxido de Cálcio, 2% de poliestireno; 0,1% de pigmentos e 87,9% de clorofórmio.

Foram utilizados '9 dentes, dos quais se removeu assepticamente a dentina, tanto das camadas superficiais como também das camadas profundas. As amostras eram transferidas para tubos contendo 1 ml de solução salina e, após ho

mogenização, realizou-se a semeadura em placas de Ágar-sangue, sendo que 4 placas receberam inóculo proveniente das camadas superficiais e outras 4 das camadas profundas. Para cada região das cavidades, 2 placas eram incubadas em condições de aerobiose, enquanto as outras duas eram colocadas em condições de anaerobiose. Os microrganismos foram identificados pelo Método de Gram, pelo estudo de sua morfologia colonial e através de provas bioquímicas. Como resultado, constatou-se que para as cavidades profundas, 41% dos germes isolados eram cocos Gram-positivos, sendo que 27% desse total eram estreptococos (18% de *Str. viridans*, 7% de estreptococos não hemolíticos e 2% de estreptococos hemolíticos).

Em outra etapa da pesquisa, o autor testou, *in vitro*, a alcalinidade dos diversos materiais e até onde a mesma se estendia, através da medição do pH do meio adjacente a cada material.

Numa terceira etapa, o autor procurou determinar se a inibição do crescimento bacteriano era resultante de uma ação bactericida ou bacteriostática dos materiais. Para a realização desta etapa, foram utilizados "plugs" de 1,5 mm das placas de Ágar-sangue retirados das zonas de difusão, e transferidos para tubos contendo Caldo de Tioglicolato, com incubação a 37°C, sendo os tubos examinados periodicamente durante aproximadamente 1 mês.

Concluídas as diversas etapas do trabalho o autor tirou como principais conclusões:

1º) Todos os materiais à base de hidróxido de cálcio mostraram propriedades bactericidas ou bacteriostáticas em vá

rios graus;

- 29) a maioria das culturas bacterianas isoladas da dentina cariada foi destruída pelos materiais testados;
- 39) os halos de inibição foram considerados significantes, especialmente em condições de anaerobiose;
- 49) o efeito bactericida dos materiais, se comprovado *in vivo*, pode ser considerado importante para o tratamento odontológico conservador; e
- 59) o elevado pH do Hidróxido de Cálcio pode ser de grande valor na produção do efeito bactericida.

Em 1964, HAWES, DIMAGGIO, SAYEGH estudaram, *in vivo*, o efeito da suspensão saturada de Hidróxido de Cálcio, utilizando como veículo a metilcelulose, por períodos que variaram desde 2 semanas até 4 anos. De um total de 1048 dentes, 475 foram submetidos ao capeamento pulpar indireto, sendo realizadas observações clínicas, radiográficas, histológicas e bacteriológicas.

Do ponto de vista bacteriológico, o reexame das cavidades pela realização de culturas das raspas de dentina remanescentes, revelaram a presença de microrganismos viáveis por períodos prolongados, o que fez com que os autores admitissem a incapacidade do referido material em descontaminar a dentina.

KING, CRAWFORD, LINDAHL (1965) realizaram um estudo, *in vivo*, com 26 pacientes, na faixa etária de 4 a 10 anos. Cinquenta e um dentes portadores de le-

sões de cárie profundas, vitais, sem exposição pulpar e sem evidências radiográficas de lesões periapicais, foram submetidos ao capeamento pulpar indireto. Os materiais testados foram: Óxido de Zinco-Eugenol acrescido de acetato de zinco, em 22 dentes; Hidróxido de Cálcio/Metilcelulose, em 21 dentes, e o amálgama de prata, utilizado como controle, em 8 dentes.

Numa primeira etapa, os autores analisaram se as camadas da dentina cariada dos dentes selecionados estavam contaminadas.

A seguir, numa segunda etapa, após períodos que variaram de 25 a 206 dias, os dentes foram reabertos e reexaminadas as condições bacteriológicas da dentina remanescente, verificando, assim, a capacidade dos materiais testados em esterilizar a região tratada.

Todos os dentes foram restaurados com amálgama de prata.

A dentina cariada, colhida nas duas etapas do estudo, foi submetida a procedimentos microbiológicos, que consistiram basicamente em: culturas em caldo de tioglicolato, com incubação por 6 dias, a fim de verificar a presença ou ausência de crescimento bacteriano; preparação de placas com Ágar-sangue, inoculadas com 0,1 ml de cultura bacteriana homogenizada e diluída, com incubação em aerobiose e anaerobiose por 4 dias; contagem de cada tipo de colônia, realizada com microscópio de dissecação e com um padrão de crescimento de 600 colônias por placa; identificação das colônias, de acordo com a sua morfologia, natureza acidúrica, catalase e outras provas citadas no Manual de Bergey.

Os resultados da primeira fase mostraram que todos os dentes selecionados apresentavam-se contaminados com uma flora predominante de lactobacilos e de estreptococos alfa e gama hemolíticos.

Na segunda fase do estudo, foi observado que em 13 dos 21 dentes tratados com Hidróxido de Cálcio, a dentina estava estéril e clinicamente apresentava uma maior consistência.

O número de bactérias cultiváveis, antes e depois do tratamento com o Hidróxido de Cálcio, é apresentado na Tabela I.

Tabela 1 - Número máximo de bactérias cultiváveis de amostras da dentina cariada em cada dente tratado com Hidróxido de Cálcio.

ANTES DO TRATAMENTO	R E A B E R T U R A						
	NEG.	$10^2/10^3$	$10^3/10^4$	$10^4/TNC$	TNC	LFF	Total
NEG.							
$10^2/10^3$	4						4
$10^3/10^4$	1	1	-	-	1	1	4
$10^4/TNC$	3	-	-	-	1	-	4
TNC*	5	2	-	-	-	1	8
LFF**	-						
TOTAL	13	3	-	-	2	2	20

* TNC: acima de 600 colônias

** LFF: perdido durante o tratamento

APONTE, HARTSOOK, CROWLEY (1966) avaliaram o estado bacteriológico da dentina cariada de 30 molares decíduos, submetidos ao capeamento pulpar indireto com Hidróxi-

do de Cálcio. Para o exame dos dentes, os diversos intervalos de tempo utilizados entre o capeamento e a reabertura, foram os seguintes: 4 dentes (6 a 12 meses); 7 dentes (12 a 24 meses); 9 dentes (24 a 36 meses) e 10 dentes (36 a 46 meses).

Após o capeamento, os dentes receberam uma base de cimento fosfato de zinco e foram restaurados com amálgama de prata.

As amostras de tecido cariado foram colocadas em meio de glicose-ascite (DIFCO), com incubação a 37°C, até a constatação de crescimento bacteriano. As culturas negativas foram submetidas a contra-provas, com reincubação por períodos de 2 semanas, a uma temperatura de 37°C.

A dentina cariada residual mostrou esterilidade, em 93% dos casos tratados, sendo que as culturas positivas mostraram presença de lactobacilos e estreptococos.

AZRILIAN & KURINA (1969) estudaram a atividade antimicrobiana do Hidróxido de Cálcio, sobre microrganismos de cavidades de cárie, de 60 pacientes com quadros clínicos de pulpites. A análise microbiológica, realizada antes do tratamento, revelou a presença de estreptococos puros ou associados aos lactobacilos e bacteróides, enquanto as culturas que foram realizadas após o tratamento, mostraram que o Hidróxido de Cálcio inibiu, principalmente, o crescimento dos microrganismos gram-positivos (cocos), tendo sido ainda relatado pelos autores, uma diminuição da atividade hemolítica das amostras isoladas. Observaram, também, que a esterilidade das cavidades só ocorreu em 11 pacientes, correspondendo a 18,3% do total dos dentes tratados.

ONOSE, YAMASAKI, KURODA (1969) estudaram o efeito antimicrobiano de agentes capeadores pulpares, como o Dycal, Calvital e o Pulpdent, sobre culturas puras de *Str. mitis*, *Str. faecalis* e *Str. sp*, cultivadas em "BRAIN HEART INFUSION" (DIFCO) adicionado de sangue desfibrinado de cavalo. Os testes foram realizados logo após a manipulação dos materiais, como também tardiamente.

Para a observação do efeito a longo prazo dos materiais, estes foram colocados em cavidades preparadas em dentes recém-extraídos, e que foram esterilizados em autoclave. Após a colocação dos materiais, os dentes foram selados com guta-percha, restaurados com amálgama e submersos em saliva artificial a 37°C. As observações foram feitas após períodos de 15 dias, 3 e 6 meses.

Passados os respectivos períodos, os capeadores foram colocados em placas de cultura, inoculadas com as bactérias, sendo então incubadas a 37°C, por 48 horas, em condições de aerobiose, quando então foram mensurados os halos de inibição.

Os resultados revelaram que:

- . o Dycal não mostrou efeito antimicrobiano perante o *Str. mitis* e o *Str. faecalis*, enquanto perante o *Str. sp*, sua ação prolongou-se por 15 dias;
- . o Calvital só foi efetivo logo após a manipulação e perante o *Str. faecalis* e sua atividade antisséptica prolongou-se por 15 dias frente ao *Str. sp*.
- . o Pulpdent se mostrou ativo sobre o *Str. sp* por um período de 6 meses, não mostrando atividade antisséptica perante

te o *Str. faecalis* e o *Str. mitis*.

Os autores ressaltaram a ineficácia dos agentes capeadores sobre o *Str. faecalis* e que a ação antimicrobiana dos mesmos não se mantinha por períodos prolongados.

KALOYANNIDIS (1970) avaliou a atividade antimicrobiana de 8 materiais, sendo 4 à base de Hidróxido de Cálcio (Hydrex, Reogan, um Verniz tipo "cavity liner" e o Dropsin), sobre microrganismos aeróbios e anaeróbios, os quais foram isolados a partir de raspas de dentina cariada.

Os materiais testados, segundo o autor, não apresentaram efeito satisfatório frente às amostras microbianas.

FISHER (1972) estudou, *in vivo*, o efeito antimicrobiano da pasta de Hidróxido de Cálcio sobre microrganismos presentes na dentina cariada, deixada intencionalmente durante o preparo das cavidades. As culturas obtidas antes do tratamento revelaram a presença de estreptococos e após 6 meses, quando os dentes foram reexaminados, o autor não encontrou a presença de microrganismos viáveis, tendo sugerido que o contacto prolongado com o Hidróxido de Cálcio pode esterilizar a dentina.

LACAZEDIEU et alii (1975) estudaram, *in vitro*, a atividade antimicrobiana de diversos materiais de proteção dentino-pulpar, dentre os quais o Dycal, o Óxido de Zinco e Eugenol, como também um verniz cavitário.

A dentina cariada foi clinicamente removida com o auxílio de curetas estéreis, de um total de 25 pacientes, sendo então transferidas para o Meio de Tioglicolato com

Rezasurina, com incubação a 37°C por 24 horas. Constatado o crescimento, o inóculo foi transferido para o Caldo nutritivo acrescido de 1% de sangue desfibrinado de coelho. Após homogenização, uma quantidade padrão da amostra foi transferida para placas de Petri contendo meio de cultura, para a realização dos testes de difusão. Os materiais testados foram levados para a superfície da placa, através de pastilhas plásticas estéreis de 9 mm de diâmetro, enquanto os vernizes foram levados em discos de papel absorvente, com diâmetro semelhante ao das pastilhas. Foram realizadas 2 séries de placas, com incubação a 37°C por 72 horas, sendo uma das séries incubada em condições de aerobiose e a outra em condições de anaerobiose, utilizando sistema Gaspak. As leituras foram efetuadas após 24, 48 e 72 horas e a mensuração dos halos de inibição realizada com o auxílio de lupa.

Os autores observaram, dentre os materiais testados, que o Dycal mostrou atividade antimicrobiana satisfatória sobre a microbiota da dentina cariada, ao mesmo tempo em que se mostrou apropriado em restabelecer a fisiologia normal do tecido alterado.

FISHER (1977) analisou, *in vivo*, a atividade antimicrobiana do Dycal e do Hydrex, bem como do Óxido de Zinco e Eugenol (KALZINOL), sobre microrganismos da dentina cariada. Vinte e sete dentes permanentes foram preparados e o tecido dentinário remanescente tratado com os referidos materiais. As cavidades foram reabertas após 6 meses, quando o autor constatou que o Dycal foi o material que melhor desempenho apresentou, levando à esterilização do tecido dentinário contaminado.

Numa segunda fase, o autor analisou, *in vitro*, a atividade antisséptica de 5 materiais: Gesso de Paris, Hidróxido de Cálcio a 10%, Dycal, Hydrex e Kalzinol, sobre culturas puras de estafilococos, lactobacilos e *Str. mutans*. A mensuração dos halos de inibição mostrou que sobre as culturas de *Str. mutans*, o Hidróxido de Cálcio a 10% foi o que melhor desempenho apresentou (halos de 6 mm), seguido do Dycal (halos de 4,5 mm). O Hydrex, que também tem como base o Hidróxido de Cálcio, não apresentou atividade inibitória sobre este microrganismo.

FERREIRA, ALMEIDA, FONSECA (1978), em uma das fases de seu estudo, avaliaram, *in vitro*, a ação bactericida e bacteriostática de soluções de Hidróxido de Cálcio de diferentes concentrações. As referidas soluções foram preparadas em salina fisiológica estéril, com concentrações a 5%, 10% e 20%, as quais foram distribuídas em tubos estéreis. Posteriormente, a estes tubos foi acrescentado 0,1 ml de uma cultura de 24 horas de *Str. sp* em "Brain Heart Infusion", a qual foi incorporada por agitação mecânica. Passados 5, 10, 15, 20, 25 e 30 minutos de contacto, foi feito o repique de 0,1 ml para tubos contendo Caldo de Tioglicolato (BBL), incubados a 37°C por 24 horas.

Os resultados revelaram que a solução a 5% apresentou culturas positivas nos tubos-teste, em todos os intervalos de tempo estudados. A solução a 10%, de maneira semelhante à anterior, mostrou resultados positivos em todos os tubos, exceto em um (o tubo nº 2), que após 30 minutos mostrou-se negativo. Quanto à solução a 20%, todos os testes após 30 minutos deram resultados negativos.

Os autores concluíram que na avaliação da atividade bactericida e bacteriostática do Hidróxido de Cálcio, a sua concentração é inversamente proporcional ao tempo de contacto com os microrganismos.

LEUNG, LOESCH, CHARBENEAU (1980) estudaram o efeito do Dycal sobre bactérias de lesões cariosas profundas. Foram utilizados no trabalho 40 dentes permanentes, vitais, assintomáticos, com lesões cariosas oclusais ou proximais, cuja profundidade era constatada radiograficamente.

Os procedimentos clínicos consistiram basicamente do preparo das cavidades, seguido da remoção de metade da dentina cariada, sob isolamento absoluto, e que foi submetida a exame microbiológico de imediato. A outra metade da dentina, no Grupo Controle foi recoberta com uma camada de cêra, e no Grupo Experimental essa dentina remanescente foi tratada com o Dycal. As cavidades foram seladas com IRM e no grupo do Dycal utilizou-se uma camada de cêra entre o material capeador e o IRM, a fim de evitar resultados duvidosos. As condições bacteriológicas das cavidades foram reexaminadas após um período de 4 semanas.

Para o exame microbiológico, a dentina foi coletada em papel de alumínio esterilizado, devidamente pesado. Em seguida, procedeu-se a uma segunda pesagem, para determinação no peso do material, tendo sido utilizada uma balança de sensibilidade 0,05 mg. A dentina era então colocada imediatamente em tubos contendo "Fluido Transportador Reduzido - RTF", preconizado por SYED & LOESCH (1972), evitando-se ao máximo a exposição das amostras ao oxigênio. Em seguida, os autores homogenizaram as amostras coletadas e

dispersas, por 20 segundos em homogenizador (TEKMAN) seguida de 10 segundos de sonificação em sonificador (KONTES). Foram realizadas diluições seriadas em RTF, com alíquotas de 10^{-2} a 10^{-7} , que foram semeadas em meios de cultura seletivos e não seletivos. Os meios de cultura utilizados foram, portanto: o MM 10 (LOESCH & SYED, 1973), meio não seletivo, utilizado para todas as bactérias, bem como para as amostras de *Str. mutans* e *Str. sanguis*; o MM 10 SB (MM 10 acrescido de 20% de sacarose e 5 $\mu\text{g/ml}$ de bacitracina) seletivo para o *Str. mutans*; LBS (ROGOSA, 1951) seletivo para os lactobacilos e o GMC (KORMAN & LOESCH, 1978) seletivo para o *Actinomyces viscosus*. As placas foram incubadas em anaerobiose e decorridos 5 dias os microrganismos isolados foram identificados quanto a sua morfologia colonial e quantificados, utilizando-se microscópio de dissecação, e o número de bactérias expresso em Unidades Formadoras de Colônias (CFU)/mg de material.

O número médio de CFU/mg de dentina cariada, isoladas no meio MM 10, é apresentado na Tabela II, onde se observa que não houve diferenças quantitativas significativas entre as contagens iniciais do Grupo Experimental e do Grupo Controle, cuja dentina foi recoberta apenas com cêra. Na reabertura, após 4 semanas, o Grupo Controle mostrou um aumento no número de CFU/mg de dentina, que os autores, baseando-se em testes estatísticos, consideraram como não significativos em relação ao exame inicial. Com relação ao Grupo do Dycal, o número médio de CFU/mg de material decresceu significativamente.

Tabela II - Efeito do Dycal sobre o número* de bactérias encontradas em lesões de cárie após o capeamento pulpar indireto.

PERÍODO	GRUPO CONTROLE	GRUPO DO DYCAL
Antes do tratamento	105.182	139.828
Após 4 semanas	232.086	10.342

* Média de CFU/mg de dentina cariada

Os autores consideraram ainda que a diferença entre o número de bactérias encontradas após 4 semanas no Grupo Controle e no Grupo Experimental foi altamente significativa, sendo que o tratamento com o Dycal resultou num decréscimo de mais de 90% no número médio de CFU.

Com relação às amostras de estreptococos isoladas da dentina cariada profunda, a quantificação do *Str. mutans* e do *Str. sanguis*, não foi avaliada estatisticamente, pois a incidência dos mesmos, nos casos estudados, foi igual ou inferior a 0,5% da flora total cultivável.

Os autores concluíram, diante dos resultados obtidos, que é possível descontaminar a dentina utilizando materiais à base de Hidróxido de Cálcio.

FAIRBOURN, CHARBENEAU, LOESCH (1980) avaliaram o efeito antimicrobiano do Dycal melhorado e do IRM sobre bactérias localizadas nas camadas profundas da dentina cariada, utilizando uma metodologia semelhante à do trabalho realizado por LEUNG, LOESCH, CHARBENEAU (1980), com 11 alterações modificações. Assim sendo, um dos pontos que foi modificado, diz respeito aos grupos de estudo. Os autores dividiram o trabalho em dois grupos: o grupo do Dycal melhora

do, no qual isolou-se o material capeador com uma camada de cêra, para evitar a ação do IRM, utilizado como selador; e o grupo do IRM, que serviu como material capeador e selador ao mesmo tempo. Um detalhe importante: não foi utilizado um GRUPO CONTROLE, em que a dentina fosse recoberta apenas com uma camada de cêra. Com relação a isso, chegaram à conclusão de que seria um procedimento clínico arriscado, pois os dentes utilizados seriam portadores de lesões profundas de cárie e, portanto, próximas à polpa, e que ficariam sem qualquer tratamento por um período de 5 meses, a mercê, inclusive, da proliferação bacteriana. Com isto a probabilidade de aparecimento de alterações pulpares seria extremamente alta, o que levou os mesmos a não considerar tal grupo. A outra diferença, já mencionada, foi exatamente o período de observação pós-operatória de 5 meses. Todos os outros procedimentos: clínicos, bacteriológicos e a análise estatística dos dados, foram semelhantes ao trabalho anteriormente citado.

Concluídas as diversas etapas do estudo, foi observado que a dentina cariada antes do tratamento, mostrava a presença de 191.232 CFU/mg de material no Grupo do Dycal melhorado e de 171.160 CFU/mg no Grupo do IRM. Após 5 meses, a contagem média do CFU/mg de dentina caiu para 11.344 no Grupo do Dycal melhorado e para 9.880 no Grupo do IRM.

Os autores observaram um decréscimo da ordem de 94% na contagem média de CFU/mg de dentina, tanto para o Grupo do Dycal melhorado, como para o Grupo tratado com IRM, não tendo sido detectadas diferenças significativas entre a ação antimicrobiana dos dois materiais.

Na Tabela III os autores fazem um resumo dos dois trabalhos realizados, dando uma visão global da ação dos diversos materiais testados durante 1 a 5 meses após o capeamento pulpar indireto.

Com relação à incidência de *Str. mutans* e *Str. sanguis*, estas também não foram estudadas estatisticamente, pois corresponderam a apenas 0,5% e 1,5%, respectivamente, das amostras iniciais isoladas.

Tabela III - Resultados dos estudos de capeamento pulpar indireto após 1 e 5 meses de tratamento (CFU/mg de dentina cariada).

PERÍODO	CONTROLE*	DYCAL*	DYCAL MELHORADO	IRM
Antes do tratamento	105.182	139.828	191.232	171.160
Após 1 mês*	232.086	10.342	—	—
Após 5 meses	—	—	11.344	9.880

* LEUNG, LOESCH, CHARBENEAU (1980)

DiFIORE et alii (1983) estudaram, *in vitro*, a ação antimicrobiana do Hidróxido de Cálcio sobre amostras de *Str. sanguis*. As culturas foram obtidas a partir da reconstituição de material liofilizado e crescimento aeróbico em Caldo de Triptona-soja. Cinco placas contendo Ágar-sangue foram inoculadas com esta cultura e a semeadura realizada pela combinação da técnica de cultivo em profundidade (pour-plate) e o método em estrias. Na superfície das placas, foram distribuídos 5 cilindros ocos de aço inoxidável, contendo um determinado material em estudo. Foram preparadas qua-

tro pastas de Hidróxido de Cálcio pela incorporação de 2 g de pó de Hidróxido de Cálcio U.S.P. a 1 cc de veículo apropriado (Metacresalilacetato; Paramonoclorofenol canforado; Metilcelulose e água destilada), produzindo uma mistura de consistência espessa, como a utilizada em clínica. Após preenchimento dos cilindros, suas extremidades foram seladas com Cavity, sendo que um dos cilindros permaneceu vazio, servindo como Controle. As placas foram incubadas em anaerobiose, em sistema Gaspak, e os halos de inibição mensurados após 2, 4, 6 e 8 dias.

Os autores observaram que:

- . as pastas de Hidróxido de Cálcio preparadas com água destilada e metilcelulose (Pulpdent), como também o Grupo Controle, não mostraram a presença de halos de inibição sobre *Str. sanguis*;
- . as pastas de Hidróxido de Cálcio, tendo como veículo o Metacresalilacetato e o Paramonoclorofenol canforado, inibiram o crescimento do *Str. sanguis*, porém a ação destes materiais diminuía com o tempo; e,
- . as pastas mostraram capacidade de difusão e, deste modo, estenderam a outras áreas sua ação antimicrobiana.

STEVENS & GROSSMAN (1983), em uma das fases de seu estudo, propuseram avaliar, *in vitro*, o potencial antimicrobiano do Hidróxido de Cálcio, tomando como referencial de comparação o paramonoclorofenol canforado, sendo o experimento direcionado para a ação destes materiais sobre culturas puras de *Str. faecalis*.

Os testes foram realizados em placas contendo "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 inoculação, foram realizadas perfurações nas placas, as quais foram preenchidas com os materiais à base de Hidróxido de Cálcio (Pasta, Pulpdent) e com o PMCFC, sendo então incubadas a 37°C. As leituras foram realizadas a fim de se detectar a presença de zonas de inibição e também de zonas onde ocorreu mudança de pH, em função da alteração de cor em torno das perfurações. Os autores observaram a presença de pequenas zonas leitosas em torno da Pasta de Hidróxido de Cálcio e do Pulpdent, devido à difusão dos materiais no gel, não tendo, porém, constatado a inibição do crescimento microbiano nessas zonas. Concluíram, então, que o Hidróxido de Cálcio em suspensão saturada ou mesmo associado à metilcelulose, não se mostrou efetivo perante o *Str. faecalis*. Concluíram, ainda, que os materiais à base de Hidróxido de Cálcio influenciam o pH do meio, pois houve mudança de coloração.

FISHER & SHORTALL (1984) estudaram a atividade antimicrobiana de 10 materiais à base de Hidróxido de Cálcio, sobre amostras de microrganismos encontrados na dentina cariada. Os materiais testados foram: Dycal, Dycal melhorado, Procal, Life, Renew, MPC, Hydrex, Reolit, Reocap e um material, considerado experimental, denominado CAL - MER VII. Todos os materiais utilizaram o sistema de pasta base/pasta catalizadora, exceção feita ao Reocap e ao Cal-Mer VII. O Reocap é preparado por um sistema de pó/líquido em cápsulas e o Cal-Mer VII é obtido pela mistura de um líquido cons

tituído de ácido oleico hidrogenado com um pó, cujo componente principal é o Hidróxido de Cálcio, além da sílica -gel e do acetato de alumínio hidratado, que também entram na composição.

Os testes de difusão foram realizados sobre culturas puras de *Str. mutans* (NCTC nº 10449) e o meio selecionado para as provas com este microrganismo, foi o Ágar-sangue. A incubação foi realizada por 48 horas e a 37°C, em aerobiose, e os halos de inibição expressos pela média dos valores obtidos.

Os autores concluíram que o Reocap, o Dycal e o Procal apresentam uma elevada atividade antimicrobiana sobre o *Str. mutans*, enquanto o Renew, o Dycal melhorado, o Life e o Reolit apresentaram uma atividade moderada. O MPC, o Hydrex e o Cal-Mer VII não foram efetivos em inibir o crescimento do *Str. mutans*.

FORSTEN & SÖDERLINING (1984) estudaram, *in vitro*, a alcalinidade de diferentes materiais à base de Hidróxido de Cálcio, bem como seu efeito sobre o crescimento bacteriano, com a finalidade de determinar se os mesmos apresentavam uma ação bactericida ou bacteriostática. Foram testados 7 materiais: Dycal, Life, Renew, MPC, Procal, Reocap e Reolit, os quais foram preparados segundo as especificações dos fabricantes, sob a forma de corpos de prova de 3 mm de diâmetro, obtidos pelo preenchimento de moldes de plástico. Para a realização dos testes foi utilizada uma cultura pura de *Str. mutans* (ATCC 25175) e o meio selecionado foi o de JORDAN modificado (5 g Triptona; 5 g extrato de levedura; 4 g glicose; 4 mg MgSO₄ · 7 H₂O; 0,2 mg FeSO₄ · 7

H₂O; 0,09 mg MnCl₂ · 4 H₂O; 1000 ml de água destilada).

Concluída a parte experimental, os autores observaram que o Dycal apresentava atividade bactericida, enquanto o Life, o Renew, o Procal e o Reocap podiam ser considerados bacteriostáticos. O MPC e o Reolit mostraram baixa atividade antimicrobiana sobre o *Str. mutans*. Com relação à alcalinidade dos materiais, observaram que esta é baixa no MPC e no Reolit, moderada para o Life, o Renew, o Procal e o Reocap, sendo alta para o Dycal.

SPERANÇA et alii (1985) estudaram a ação antimicrobiana da solução saturada e da pasta de Hidróxido de Cálcio sobre culturas puras de diversos microrganismos, destacando-se as amostras de *Str. mutans*, *Str. salivarius*, *Str. faecalis* var. *liquefaciens*, além de culturas mistas obtidas de raspas de dentina colhidas de cavidades de cáries profundas, através de provas de difusão em meio de Ágar Tripton-soja.

Numa segunda fase, cones de guta-percha, contaminados com o microrganismo mais resistente, revelado na fase anterior, *Str. faecalis* var. *liquefaciens*, foram colocados em contacto com a solução saturada e com a Pasta de Hidróxido de Cálcio por períodos de 1, 5, 10 e 15 minutos, sendo, então, transferidos para tubos contendo Caldo de Tioglicolato, com a finalidade de testar seus efeitos germicidas.

Os resultados da primeira fase revelaram que a Pasta de Hidróxido de Cálcio foi ativa sobre todas as amostras de estreptococos testadas, inclusive o *Str. faecalis* var. *liquefaciens*, além de apresentar zonas de inibição quando testada frente aos coquetéis de germes aeróbios e a-

naeróbios da dentina. Considerando-se ainda os testes de di fusão, a solução saturada mostrou-se ineficaz tanto sobre as amostras de estreptococos, quanto sobre os coquetéis de germes.

Os resultados da segunda fase mostraram que a solução saturada apresentou alguma atividade sobre o *Str. faecalis* var. *liquefaciens*, somente após 15 minutos de contacto; enquanto a Pasta de Hidróxido de Cálcio mostrou al gum efeito bactericida aos 5 e aos 10 minutos de contacto, embora uma ação mais efetiva tenha sido constatada após 15 minutos, com o índice de tubos contaminados chegando a 40%; enquanto, após 1 minuto, este índice era de 100% e após 5 e 10 minutos, era de 80%.

LADO et alii (1986) estudaram a atividade an timicrobiana de 6 materiais capeadores pulpare, sobre bactérias isoladas de lesões cariosas profundas de dentes humanos, com predominância de espécies de estreptococos, lactobacilos, além de Actinomyces. Os materiais testados foram: Dycal, Dycal melhorado, Renew, Life, Pulpdent e um agente capeador denominado HEALTHCO. A pasta de Hidróxido de Cálcio foi incluída como controle, por ser o componente princi pal de todos os materiais, além do IRM e do cimento fosfato de zinco, que também foram testados, por serem utilizados na dentina infectada.

Após a realização dos testes de difusão, uti lizando Meio de Ágar Triptona-soja (BBL), acrescido de 5% de sangue desfibrinado estéril de carneiro, inoculado com 0,1 ml de suspensão bacteriana, previamente homogenizada, os autores concluíram que todos os agentes testados demons

traram significativa atividade antisséptica, atividade esta que se mostrou superior à do Hidróxido de Cálcio puro, exceção feita ao Pulpdent. Cinco materiais (Dycal, Dycal melhorado, Healthco, Life, Renew), além do IRM, mostraram ação similar e eficácia em inibir o crescimento da microbiota da lesão cariosa profunda.

Baseando-se nestas observações, os autores inferiram que a atividade antimicrobiana dos materiais capeadores não seria inteiramente devida à elevada alcalinidade do Hidróxido de Cálcio.

SPERANÇA, BIRAL, VALDRIGHI (1986) realizaram, *in vitro*, através de provas de difusão em gel de Ágar, um estudo comparativo da ação antimicrobiana de 3 cimentos odontológicos à base de Hidróxido de Cálcio (Dycal, Life e o Renew), perante culturas puras de 7 microrganismos de cavidades de cárie, sendo 3 espécies de estreptococos (*Str. mutans*, *Str. salivarius* e o *Str. faecalis* var. *liquefaciens*). Verificaram ainda esta atividade perante um coquetel de germes isolados de raspas de dentina, colhida das regiões profundas da cavidade.

Numa segunda fase, verificaram se os cimentos mostravam ação bactericida sobre o *Str. faecalis* var. *liquefaciens*, que se mostrou resistente a ação dos mesmos no teste anterior. Corpos de prova destes materiais, recém-preparados, foram colocados em contacto com uma concentração padrão deste germe (turbidez correspondente ao Tubo 0,4 Mac Farland), por períodos de 10 e 15 minutos, quando eram transferidos para tubos contendo Tioglicolato de Sódio e deixados por 1 minuto. O meio era então repassado para ou-

tro tubo de ensaio estéril, pois ficou constatado que a solubilidade dos corpos de prova levava a uma leitura imperfeita.

A segunda fase do estudo demonstrou que os cimentos, nos intervalos de tempo estudados (10 e 15 minutos), foram incapazes de se autoesterilizar, inferindo que na presença de germes que resistem a meios de elevada alcalinidade, talvez fossem necessários tempos de contacto mais prolongados, para que se manifestasse alguma ação.

Os resultados levaram os autores a concluir que dos materiais testados, o que melhor desempenho apresentou foi o Dycal, seguido do Renew. Estes materiais se mostraram eficazes sobre as amostras de *Str. mutans* e *Str. salivarius*, tendo, no entanto, sido ineficazes sobre o *Str. faecalis* var. *liquefaciens*. Sobre os coquetéis, ambos mostraram a presença de halos de inibição. Quanto ao Life, este mostrou uma atividade antisséptica baixa e inconstante sobre os estreptococos, tendo sido ineficaz sobre o *Str. faecalis* var. *liquefaciens* e sobre o coquetel de germes anaeróbios da dentina.

MELO & RIBAS (1987) verificaram a ação antimicrobiana de soluções de Hidróxido de Cálcio a 5%, a 10% e a 20% sobre amostras de *Str. faecalis* e *Str. mutans*, verificando ainda a possível influência da agitação no pH do Hidróxido de Cálcio. As soluções de Ca(OH)_2 foram preparadas em duplicatas, sendo que uma delas era submetida a agitação por um período de 24 horas. Após esse período, tanto a solução submetida a agitação como a sua duplicata, que não passou por esse processo, eram deixadas em repouso para que se

processasse a sedimentação.

Para a realização dos testes, os autores utilizaram a porção sobrenadante do material, conhecida como água de cal. Foi testado também, o que os autores denominaram "leite de cal", retirado com pipetas, dos frascos contendo água de cal, e que eram submetidos a agitação por apenas 10 segundos.

Os autores concluíram que as soluções de Hidróxido de Cálcio têm uma efetiva ação antimicrobiana sobre as amostras de *Str. faecalis* e *Str. mutans*, mas somente em concentrações iguais ou superiores a 20%; observaram que quando o Hidróxido de Cálcio é submetido a agitação, ocorre uma diminuição de seu pH; finalmente, concluíram que a água de cal é destituída de atividade antisséptica.

SPERANÇA et alii (1988a) avaliaram a propriedade antisséptica dos cimentos odontológicos à base de Hidróxido de Cálcio (Dycal, Life e Renew) sobre culturas puras de *Str. faecalis*, levando em consideração o tempo de contacto com o inóculo.

Corpos de prova dos três cimentos em estudo foram colocados em contacto com o *Str. faecalis* por 3 minutos, quando, então, foram repassados assepticamente para uma Placa de Petri estéril e deixados por períodos de 2, 4, 6, 8, 24 e 48 horas. Após, foram colocados em tubos contendo Tioglicolato de Sódio, o qual era repassado para outro tubo de ensaio estéril, sem o corpo de prova, e incubados por 48 horas a 37°C. Provas-piloto demonstraram que o inóculo mantinha a viabilidade nos diversos intervalos de tempo utilizados no estudo.

Os autores observaram que o Dycal mostrou ação bactericida em 40% dos tubos-teste após 2 horas de contacto. Decorrido 4 horas, esta ação bactericida já era evidente em 100% dos tubos, índice que se manteve constante em todos os intervalos subseqüentes até 48 horas. Para o Life, esta ação bactericida só foi evidenciada em 40% dos tubos e após 24 horas de contacto, chegando a 60% de tubos estéreis, após 48 horas. O Renew mostrou ação bactericida em 40% dos tubos, somente após 8 horas de contacto com o inóculo e com 24 e 48 horas de contacto, esterilidade foi observada em 60% e 80% de tubos, respectivamente. Para o Life, a ação bactericida só foi observada em 40% dos tubos e após 24 horas de contacto com o germe, chegando a 60% de tubos estéreis após 48 horas.

Os autores concluíram que: todos os materiais testados apresentaram, nos intervalos de tempo estudados, ação bactericida sobre o *Str. faecalis*; para os três cimentos, o tempo de contacto foi diretamente proporcional à ação dos mesmos; o Dycal apresentou uma efetividade maior que o Renew e o Life, tendo este último requerido um tempo de contacto mais prolongado para o aparecimento de alguma ação bactericida.

SPERANÇA et alii (1988b) verificaram a capacidade germicida da Pasta de Hidróxido de Cálcio e de uma Solução saturada de Hidróxido de Cálcio (água de cal), sobre uma cultura pura de *Str. faecalis*, através de estudo *in vitro* e em diferentes tempos de contacto entre os materiais e o inóculo.

Cones de guta-percha nº 30 (ANTAEOS), cuja

esterilidade foi comprovada previamente em meio de Tioglicolato de Sódio BREWER mod. (BBL), foram colocados em contacto com a amostra microbiana por 3 minutos, quando então, foram transferidos para outra placa estéril, onde foram deixados por 15 minutos para a secagem. Findo este período, os cones foram colocados em contacto com a Pasta de Hidróxido de Cálcio e com a Solução saturada por períodos de 2, 4, 6, 8, 24 e 48 horas. Para a água de cal também foram realizados testes nos períodos de 1, 5, 10 e 15 minutos. Os cones eram então inoculados em tubos contendo meio de Tioglicolato BREWER mod. (BBL) e incubados por 48 horas a 37°C.

Os resultados mostraram que a Pasta de Hidróxido de Cálcio, em todos os intervalos de tempo estudados, levou a um índice de 100% de tubos contaminados.

Os testes com a água de cal revelaram que nos tempos de 1, 5, 10 e 15 minutos, o índice de tubos contaminados também foi de 100%. Após 2 horas este índice caiu para 80% e já com 4 horas observou-se um decréscimo pouco mais acentuado, chegando a 60%, índice este que permaneceu constante nos períodos de 6 e 8 horas. Após 24 horas de contacto, o índice de tubos contaminados decresceu para 40%, chegando a 20% após 48 horas de contacto.

Os autores concluíram que a Solução saturada de Hidróxido de Cálcio apresentou uma atividade antimicrobiana mais efetiva que a Pasta de Hidróxido de Cálcio, e que esta maior efetividade foi diretamente proporcional ao tempo de contacto com o inóculo. Observaram, também, que em intervalos mais longos, a ação da pasta se mostrou indiferente ao fator tempo, mostrando-se sempre ineficaz nos diversos intervalos estudados.

III. PROPOSIÇÃO

III. PROPOSIÇÃO

O presente trabalho, através de estudo *in vivo*, propõe-se a:

- 19) Verificar **QUANTITATIVAMENTE**, o número total de Estreptococos em cavidades de cárie profundas, **ANTES** e **APÓS** 7 e 30 dias de tratamento com materiais protetores à base de Hidróxido de Cálcio;
- 29) Verificar **QUALITATIVAMENTE**, através de provas bioquímicas e de resistência a agentes inibidores, a ocorrência das principais espécies de Estreptococos, contidos na dentina cariada de cavidades profundas, **ANTES** e **APÓS** 7 e 30 dias do capeamento do Hidróxido de Cálcio;
- 39) Verificar a capacidade dos materiais à base de Hidróxido de Cálcio, em descontaminar a dentina localizada nas regiões mais profundas das cavidades de cárie.

IV. MATERIAIS E MÉTODOS

IV. MATERIAIS E MÉTODOS

1. MATERIAIS À BASE DE HIDRÓXIDO DE CÁLCIO

1.1. CIMENTOS ODONTOLÓGICOS À BASE DE HIDRÓXIDO DE CÁLCIO

- 1.1.1. DYCAL (L.D. CAULK Co.)
- 1.1.2. LIFE (SYBRON-KERR LTDA)
- 1.1.3. RENEW (S.S. WHITE)

Os cimentos foram manipulados em placas de vidro estéreis, seguindo-se as instruções e especificações dos fabricantes, utilizando-se, portanto, a mesma proporção de pasta base e de pasta catalizadora.

1.2. PASTA DE HIDRÓXIDO DE CÁLCIO

Para a preparação deste material, incorporou-se gradativamente pó de Hidróxido de Cálcio U.S.P. (CARLO ERBA) a algumas gotas de uma solução saturada de Hidróxido de Cálcio (Água de cal).

A proporção pó/líquido não teve uma quantidade definida, tendo sido utilizada, como parâmetro, a consis

tência do material para uso clínico, a qual era considerada ideal, quando se obtinha uma mistura de aspecto semelhante ao de uma "lama".

De forma idêntica a dos cimentos, este material foi manipulado em placa de vidro estéril.

2. SELEÇÃO DE CASOS E PROCEDÊNCIA DAS AMOSTRAS

No presente trabalho foram utilizados 50 molares permanentes, de pacientes selecionados no Serviço de Triagem da Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

Na seleção dos pacientes levou-se em consideração os seguintes critérios:

- 1º) pacientes jovens, na faixa etária dos 16 aos 20 anos;
- 2º) pacientes em boas condições de saúde;
- 3º) não apresentarem problemas periodontais graves;
- 4º) não estarem sob antibioticoterapia; e
- 5º) não terem o hábito de usar colutórios.

Os dentes selecionados foram os 1º, 2º e/ou 3º molares inferiores, que deveriam apresentar as seguintes características:

- . serem portadores de lesões de cárie CLASSE I de BLACK;
- . apresentarem comprometimento de mais de 2/3 da dentina e uma camada de tecido dentinário remanescente mínimo;
- . apresentarem vitalidade;

- . serem assintomáticos;
- . não mostrarem evidências clínicas de exposição pulpar;
- . não mostrarem lesões periapicais; e
- . apresentarem estrutura suficiente, para permitir o isolamento absoluto.

Os dados clínicos colhidos na anamnese, foram anotados em fichas clínicas, que tiveram como modelo a ficha clínica do Curso de Especialização em Endodontia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

3. GRUPOS EXPERIMENTAIS E SISTEMATIZAÇÃO DA PESQUISA

Os dentes foram agrupados em 5 GRUPOS:

- . GRUPO I - GRUPO CONTROLE 10 dentes
- . GRUPO II - GRUPO DO DICAL 10 dentes
- . GRUPO III - GRUPO DO LIFE 10 dentes
- . GRUPO IV - GRUPO DO RENEW 10 dentes
- . GRUPO V - GRUPO DA PASTA DE Ca(OH)_2 10 dentes

Cada GRUPO foi subdividido em 2 SUB-GRUPOS:

- . SUB-GRUPO A: cujos dentes foram identificados de 1 a 5
- . SUB-GRUPO B: cujos dentes foram identificados de 6 a 10

Para cada SUB-GRUPO foram considerados 2 ESTUDOS:

- . SUB-GRUPO A: ESTUDO-E₁/ESTUDO-E₃
- . SUB-GRUPO B: ESTUDO-E₂/ESTUDO-E₄

O Quadro I (p. 50) dá uma visão geral dos diversos grupos e sub-grupos utilizados no presente trabalho.

Considerando cada ESTUDO, estes basicamente foram constituídos de 2 tipos de PROCEDIMENTOS:

- . ESTUDO: PROCEDIMENTOS CLÍNICOS
PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS

Os PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS, em todos os estudos, consistiram de:

- 1º) Exame Quantitativo: determinação do número mais provável de estreptococos da dentina cariada das cavidades, ANTES e APÓS 7 e 30 dias de tratamento com Ca(OH)₂.
- 2º) Exame Qualitativo: realização das Provas Bioquímicas e de Provas de Resistência frente a agentes inibidores, com a finalidade de IDENTIFICAR as principais espécies de estreptococos isolados.

Quadro I - Grupos e sub-grupos utilizados na parte experimental da pesquisa.

GRUPO I (CONTROLE) 10 Dentes	SUB-GRUPO I _A (Dentes 1 a 5)	Estudo E ₁ (região mesial): examinada de imediato
		Estudo E ₃ (região distal): examinada após 30 dias
	SUB-GRUPO I _B (Dentes 6 a 10)	Estudo E ₂ (região mesial): examinada de imediato
		Estudo E ₄ (região distal): examinada após 7 dias
GRUPO II (DYCAL) 10 Dentes	SUB-GRUPO II _A (Dentes 1 a 5)	Estudo E ₁ (região mesial): examinada de imediato
		Estudo E ₃ (região distal): examinada após 30 dias
	SUB-GRUPO II _B (Dentes 6 a 10)	Estudo E ₂ (região mesial): examinada de imediato
		Estudo E ₄ (região distal): examinada após 7 dias
GRUPO III (LYFE) 10 Dentes	SUB-GRUPO III _A (Dentes 1 a 5)	Estudo E ₁ (região mesial): examinada de imediato
		Estudo E ₃ (região distal): examinada após 30 dias
	SUB-GRUPO III _B (Dentes 6 a 10)	Estudo E ₂ (região mesial): examinada de imediato
		Estudo E ₄ (região distal): examinada após 7 dias
GRUPO IV (RENEW) 10 Dentes	SUB-GRUPO IV _A (Dentes 1 a 5)	Estudo E ₁ (região mesial): examinada de imediato
		Estudo E ₃ (região distal): examinada após 30 dias
	SUB-GRUPO IV _B (Dentes 6 a 10)	Estudo E ₂ (região mesial): examinada de imediato
		Estudo E ₄ (região distal): examinada após 7 dias
GRUPO V PASTA Ca(OH) ₂ 10 Dentes	SUB-GRUPO V _A (Dentes 1 a 5)	Estudo E ₁ (região mesial): examinada de imediato
		Estudo E ₃ (região distal): examinada após 30 dias
	SUB-GRUPO V _B (Dentes 6 a 10)	Estudo E ₂ (região mesial): examinada de imediato
		Estudo E ₄ (região distal): examinada após 7 dias

3.1. DESCRIÇÃO DOS PROCEDIMENTOS CLÍNICOS

3.1.1. Colheita do Material

Uma vez selecionados os dentes, estes tiveram sua superfície coronária polida com pedra-pomes e taça de borracha, e isolados do meio bucal com dique de borracha. A antissepsia do campo foi então realizada com Steryl[®]derm.

Procedeu-se o preparo da cavidade e, após a remoção de todo o tecido cariado das paredes circundantes e o estabelecimento da forma de contorno e de resistência do dente com brocas esféricas* N^o 1015/1016 em alta-rotação, utilizou-se brocas esféricas n^o 06 em micro-motor, e curetas estéreis para a remoção do tecido cariado desorganizado e amolecido das camadas mais superficiais das cavidades, que foi desprezado.

O campo operatório foi novamente embrocado com antisséptico e o soalho da cavidade lavado com uma solução fisiológica estéril, sendo a secagem realizada com bolas de algodão estéreis. A seguir, procedeu-se a remoção da dentina cariada **MESIAL** e que foi examinada microbiologicamente de **IMEDIATO** (Figura 3).

Com todos os cuidados de assepsia, a dentina a ser examinada no laboratório, foi depositada em papel de alumínio estéril, de 3 x 3 cm, previamente pesado em balança elétrica METTLER H-15, de sensibilidade 0,0001 g, colocado no interior de placas de Petri estéreis, contendo algodão embebido em água destilada estéril, para evitar o resse

* Brocas de alta rotação - 1^ª série (DIAMMANGED).

camento do material e a sua conseqüente alteração de peso (BIRAL, 1968).

A partir da obtenção do material dentinário procedeu-se imediatamente à segunda pesagem, a fim de se determinar o peso do material, bem como sua imediata diluição e homogenização. Tal procedimento teve como objetivo evitar a exposição excessiva das amostras ao oxigênio, o que poderia levar à perda de viabilidade dos microrganismos.

A cavidade foi novamente lavada e seca, quando, então, foi realizado o capeamento pulpar indireto, com os respectivos materiais em cada grupo de estudo. Sobre o material capeador, foi colocada uma camada de parafina, como recomendam LEUNG, LOESCH, CHARBENEAU (1980); FAIRBOURN, CHARBENEAU, LOESCH (1980). Esta foi plastificada com o auxílio de um calcador para amálgama estéril, o qual era colocado no interior de um esterilizador rápido, tipo HOT-WAVE, por 5 segundos, após o que procedia-se a inserção do material selador. Tal procedimento foi realizado a fim de evitar possíveis influências do material selador sobre o tecido a ser examinado.

O selamento da cavidade com IRM foi realizado pelo período de 7 dias para o SUB-GRUPO B e 30 dias para o SUB-GRUPO A, quando a cavidade foi reaberta para a colheita da dentina DISTAL tratada e que também seria examinada quanto à sua condição microbiológica.

Com relação ao GRUPO CONTROLE, o soalho da cavidade recebeu, após a colheita da dentina MESIAL, apenas uma camada de parafina e o selamento com IRM. Por ocasião do retorno dos pacientes nos períodos correspondentes a ca-

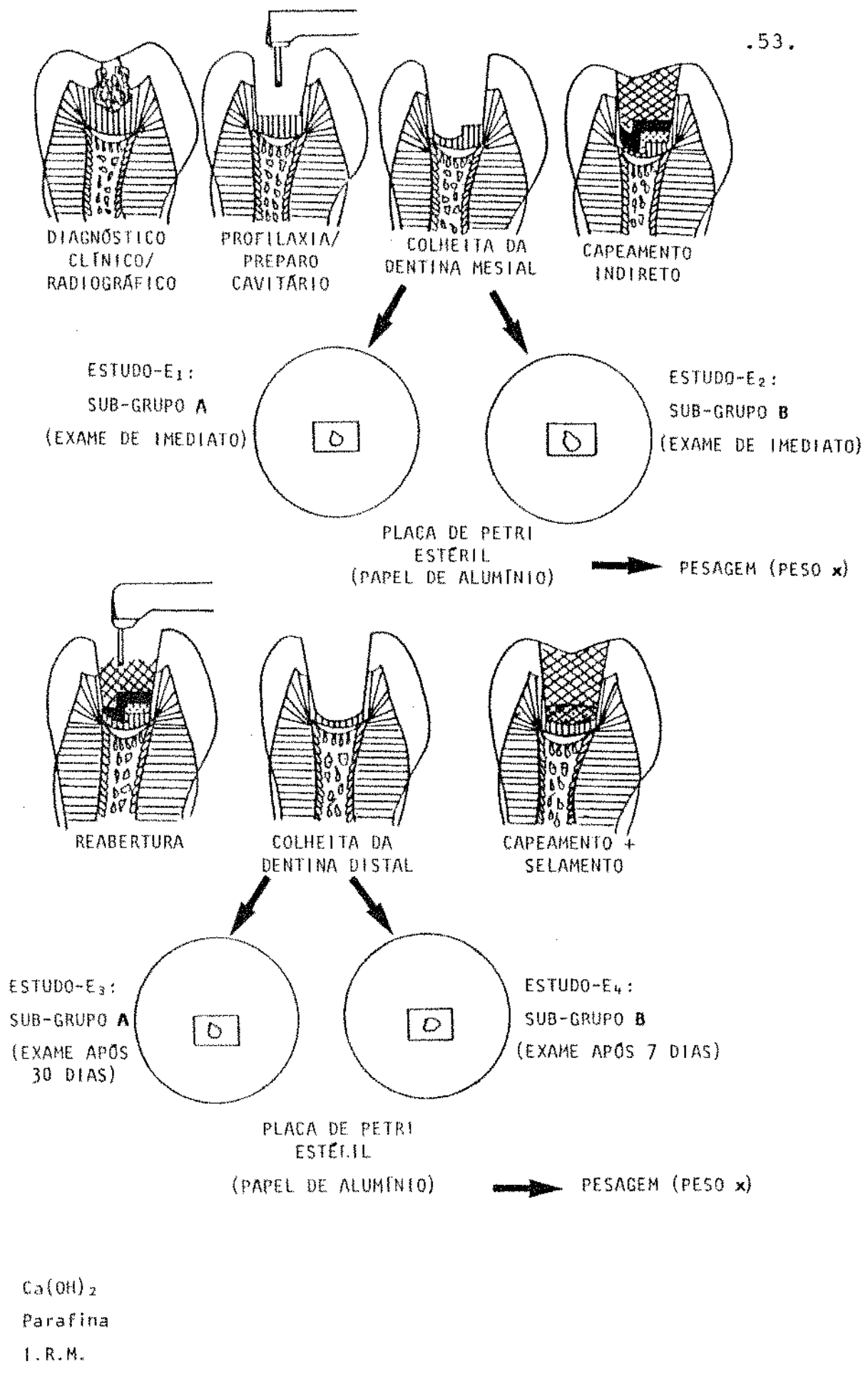


Figura 3 - Sequência dos Procedimentos Clínicos realizados para a colheita da dentina cariada de cavidades profundas e seu tratamento com os materiais à base de Hidróxido de Cálcio.

da SUB-GRUPO, os dentes, após a colheita da dentina DISTAL, foram devidamente capeados e novamente selados.

3.2. DESCRIÇÃO DOS PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS

3.2.1. Pesagem do Raspado Dentinário e Isolamento dos Estreptococos

De modo semelhante à primeira pesagem, em que se obteve o peso de papel (PESO Y), o conjunto "PAPEL DE ALUMÍNIO/DENTINA" foi agora igualmente pesado em balança elétrica METTLER H-15, e da diferença entre a segunda pesagem (PESO X) e a primeira (PESO Y), foi possível estabelecer a quantidade de material coletado (Figura 4).

Seguindo as técnicas de Exames Quantitativos e Qualitativos, de acordo com GIBBONS et alii (1963); SOCRANSKY et alii (1963); BAMMANN (1974), a diluição inicial 10^{-3} foi obtida, observando-se a proporção de 1,0 mg de material para 1,0 ml de uma solução de Tampão-fosfato 0,067M, de pH 7,2 e acrescida de 0,05% de extrato de levedura (HOWELL, STEPHAN, PAUL, 1962; LITTLETON, McCABE, CARTER, 1967).

Para tal, foram preparados frascos de vidro que receberam uma quantidade padronizada de solução tampão, ou seja, cada frasco continha 10 ml da solução, além de pérolas de vidro medindo 1 mm de diâmetro, para auxiliar a homogenização (STRALFORS, 1950).

Os referidos frascos foram então esterilizados em autoclave, 1 ATM por 20 min., recebendo, posteriormente, em condições assépticas, tamponamento com rolhas de borracha, em substituição aos tampões de algodão.

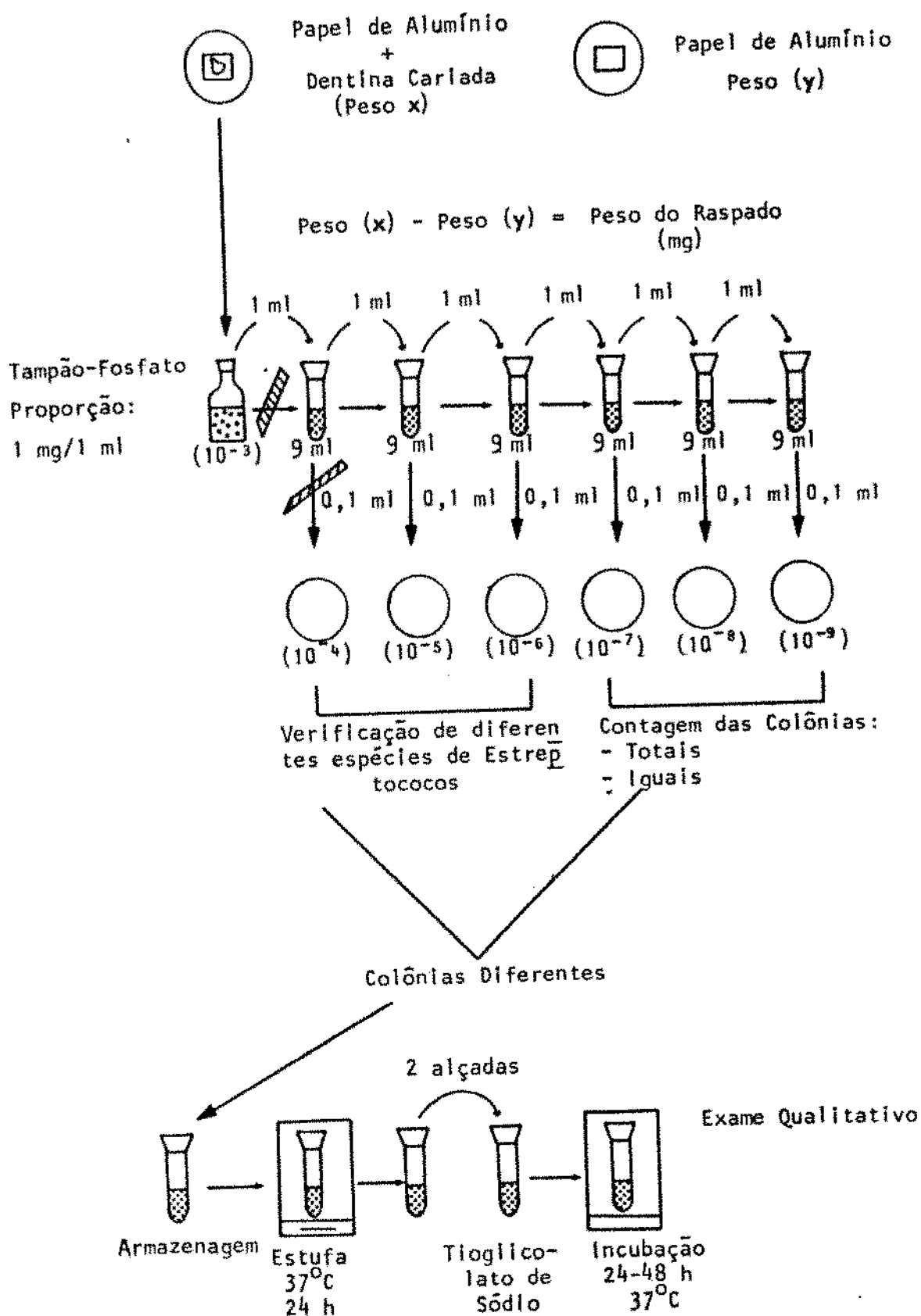


Figura 4 - Sequência dos Procedimentos Laboratoriais realizados para o isolamento e a identificação dos estreptococos da dentina cariada de cavidades profundas.

A cada frasco, levando-se sempre em consideração o peso de material coletado, era acrescentada ou retirada uma quantidade proporcional de solução tampão, procedimento este que era feito com o auxílio de pipetas estéreis.

Estabelecida a proporcionalidade peso da dentina/volume da solução tampão, o raspado dentinário era repassado assepticamente para o interior do frasco, a fim de se proceder a homogeneização do inóculo. Para tal, os frascos foram submetidos a agitação por 15 minutos em agitador rotatório e, a seguir, colocados em vibrador para vazamento de gesso por 5 minutos.

Realizada a homogeneização, foram preparadas diluições decimais até a alíquota de 10^{-9} .

Para o isolamento dos estreptococos, transferiu-se 0,1 ml de cada diluição para placas contendo Ágar Mitis Salivarius (DIFCO), acrescido de uma solução a 1% de Telurito de Potássio (MERCK), esterilizada durante 30 minutos em vapor fluente. Para cada 1000 ml de meio foi utilizado 1 ml da solução de Telurito de Potássio. O inóculo foi espalhado com alça de Drigalski e as placas incubadas em condições de microaerofilia por 72 h, a 37°C . Para a obtenção das condições de incubação desejadas, utilizou-se jarra de fecho hermético, cujo conteúdo de O_2 era parcialmente consumido pela combustão de um papel de filtro (WHATMAN) de aproximadamente 11 cm de diâmetro, embebido em álcool (BURREWS, 1979).

Foi considerado como padrão de crescimento bacteriano, a diluição que fornecia nas placas um número de 30 a 300 colônias (STANDARD METHODS, 1960; PELCZAR, REID,

CHAN, 1980; SEELEY & VAN DEMARK, 1981; SOARES, CASIMIRO, AGUIAR, 1987).

3.2.2. Exame Quantitativo

Constatado o crescimento microbiano nas placas de Ágar Mitis-Salivarius (DIFCO), as alíquotas das diluições mais baixas (10^{-4} ; 10^{-5} ; 10^{-6}) foram utilizadas para a determinação da ocorrência das diversas espécies de estrepococos, enquanto as placas que foram semeadas com as alíquotas das diluições mais altas (10^{-7} ; 10^{-8} ; 10^{-9}), prestaram-se para a contagem total de microrganismos viáveis.

Procedeu-se, então, a contagem das colônias totais e a contagem das colônias iguais, utilizando-se para isso, microscópio estereoscópico com aumento de 1 x 12,5 diâmetro.

Para se evitar a contagem repetida de uma mesma colônia, foram traçados, nas placas, com lápis dermatográfico, círculos concêntricos na parte externa das mesmas, com 2 a 3 cm de distância entre eles.

Uma vez realizada a contagem, cada colônia diferente encontrada, era repicada, com o auxílio de alça de platina de ponta afilada, para o meio de Tioglicolato U. S.P. (DIFCO) e incubada a 37°C, por 48 horas.

A identificação da origem de cada colônia transplantada foi realizada da seguinte forma:

Exemplo: PAC. I_A 1 37 a

I - indica o GRUPO

A - indica o SUB-GRUPO (reexame após 30 dias)

1 - indica o número sequencial do paciente

37- indica o dente tratado

a - indica o tipo de colônia isolada

A denominação PACIENTE, no presente trabalho, deve ser considerada como DENTE TRATADO.

3.2.3. Conservação das Amostras

A conservação das amostras foi feita após homogenização dos tubos de cultura. Transferiu-se 5 a 6 alças para tubos contendo 1 ml de sangue desfibrinado de coelho jovem e normal (ZINSSER & BAYNE-JONES, 1947; SOLÉ-VERNIN, 1960), conservados em geladeira a uma temperatura de 10°C.

3.2.4. Exame Qualitativo

A identificação bacteriológica dos diversos grupos de estreptococos foi realizada pela transferência de 1 alçada do tubo de conservação, colocado na noite anterior na estufa, para a superfície de Ágar Mitis-Salivarius (DIFCO), obedecendo as mesmas condições de incubação descritas para o isolamento dos germes.

O reconhecimento dos tipos de cada colônia foi feito com auxílio de microscópio estereoscópico, com um aumento de 1 x 12,5 de diâmetro.

Constatada a pureza das culturas, cada colônia foi repicada para o Caldo de Tioglicolato de Sódio U.S.P. (DIFCO), incubado a 37°C, por 24 horas.

A partir desses tubos, foram feitas lâminas coradas pelo Gram, o que fornecia informações sobre a morfologia, agrupamentos bacterianos, bem como, a possível presença de contaminantes.

Foram também realizadas provas bioquímicas e provas de resistência a agentes inibidores, que, juntamente com o estudo da morfologia colonial dos germes isolados, foram de grande valia para a identificação dos estreptococos.

As Provas Bioquímicas de Resistência a agentes inibidores foram recomendadas em trabalhos sobre identificação de estreptococos alfa e gama hemolíticos por diversos autores (SHERMAN, 1937; NIVEN, SMILEY, SHERMAN, 1942; SHERMAN, NIVEN, SMILEY, 1943; MIRICK et alii, 1944; WINTER & SANDHOLZER, 1946; GRINI, 1948; WILLIAMS & HIRCH, 1950; SWIFT, 1952; WILSON & MILES, 1955; SHATTOCK, 1955; SLANETZ, BENT, BARTLEY, 1955; WAHL & MEYER, 1956a, b; SLANETZ & BARTLEY, 1957; SOLÉ-VERNIN & ARAÚJO, 1957; BREED, MURRAY, SMITH, 1957; WILLIAMS, 1958; CLARK, 1959; KENNER, CLARK, KLABER, 1959, 1961; DUNICAN & SEELEY, 1962; PAPAVALIIOU, 1962; DEIBEL, 1964; WILSON & MILES, 1964; CARLSSON, 1965, 1967, 1968; MIRANDA, 1965; EDWARDSSON, 1968; GUGGENHEIM, 1968; BIRAL, 1968; BIRAL & BERTOLINI, 1970; BIRAL, ABE, BERTOLINI, 1971; OLIVEIRA & ARAÚJO, 1971; BIRAL, CONSANI, BERTOLINI, 1971, 1972; PIZZOLITO, 1973; SHAKLAIR & KEENE, 1974; BAMMANN, 1974; MIRANDA & PIZZOLITO, 1977; PEREIRA, 1980).

3.2.5. Provas de Identificação

As principais provas realizadas foram:

- . colônias mucóides no Ágar Hipersacarosado;
- . catalase;
- . hemólise por plantio em profundidade ("pour-plate");
- . crescimento no ágar confirmatório para enterococos;
- . liquefação da gelatina;
- . fermentação de Manitol;
- . fermentação de Sorbitol;
- . redução do Cloreto de 2-3-5 Trifeniltetrazólio;
- . viscosidade em Caldo com Sacarose a 5%;
- . precipitação densa pela adição de 1 e de 3 partes de etanol (99,5%) ao Caldo com Sacarose;
- . hidrólise da Arginina;
- . fermentação de carboidratos: CTA + Manitol
 - Sorbitol
 - Rafinose
 - Inulina
- . hidrólise do Amido (realizada somente para os dextrana positivos).

3.2.5.1. Meios de cultura utilizados

Meio de Tioglicolato de Sódio U.S.P. (DIFCO)	
Bacto-casitone	15,0 g
Bacto-extrato de levedura	5,0 g
Bacto-dextrose	5,5 g
Cloreto de Sódio	2,5 g
L-Cistina	0,5 g
Tioglicolato de Sódio	0,5 g
Bacto-Ágar	0,75g
Rezarzurina	0,001g
Água destilada	1000ml

pH 7,1 ± 2

Bacto Mitis-Salivarius Ágar (DIFCO)

Bacto-Triptose	10,0 g
Proteose-Peptone nº 3 (DIFCO)	5,0 g
Proteose-Peptone	5,0 g
Bacto-dextrose	1,0 g
Sacarose	50,0 g
Fosfato Dipotássico	4,0 g
Azul de Trypan	0,075g
Violeta Cristal	0,0008g
Bacto-Ágar	15,0 g
Água destilada	1000ml

pH final 7,0

Ágar Triptona-Soja (DIFCO)

Bacto-Triptona	15,0 g
Bacto-Soytone	5,0 g

Cloreto de Sódio 5,0 g
Bacto-Ágar 15,0 g
Água destilada 1000ml
pH final 7,3

Ágar Confirmatório para Enterococos (MICROMED)

Triptona 5,0 g
Extrato de Levedura 5,0 g
Dextrose 5,0 g
Azida de Sódio 0,4 g
Cloreto de Sódio 65,0 g
Azul-de-metileno 0,01 g
Ágar-Ágar (OXOID) 15,0 g
Água destilada 1000ml
pH final 8,0

**Meio básico para verificação da redução do
Cloreto de 2-3-5 Trifeniltetrazólio**

Neopeptona 10,0 g
Extrato de Carne 10,0 g
Glicose 10,0 g
Ágar-Ágar 15,0 g
Água destilada 1000ml
pH final 7,0 ± 2

Caldo Sacaroso a 5% (CARLSSON, 1965b)

Triptona (OXOID) 10,0 g
Extrato de Levedura (DIFCO) 5,0 g
Fosfato Dipotássico (MERCK) 5,0 g

Sacarose (REAGEN) 50,0 g
 Água destilada 1000ml
 pH final 7,3

Caldo para verificar Hidrólise da Arginina
 (NIVEN, SMILEY, SHERMAN, 1942)

Triptona (OXOID) 5,0 g
 Extrato de Levedura (DIFCO) 5,0 g
 Fosfato Dipotássico (MERCK) 2,0 g
 Glicose (ECIBRÁS) 0,5 g
 L (+) Arginina (RIEDEL) 3,0 g
 Água destilada 1000ml
 pH final 7,0

Cystine Tryptic-Ágar (DIFCO)

Bacto-dextrose 20,0 g
 L-Cistina 0,5 g
 Cloreto de Sódio 5,0 g
 Sulfito de Sódio 0,5 g
 Bacto-Ágar 3,5 g
 Vermelho-Fenol 0,017g
 Água destilada 1000ml
 pH final 7,3

Meio para verificar hidrólise do amido (DUNICAN & SEELEY, 1962)

Triptona (OXOID) 10,0 g
 Extrato de Levedura (DIFCO) 5,0 g
 Fosfato Dipotássico (MERCK) 2,0 g

Amido (REAGEN)	3,0 g
Glicose (ECIBRÁS)	0,5 g
Ágar-Ágar (OXOID)	15,0 g
Água destilada	1000ml

pH final 7,0

3.2.5.2. Descrição das provas

. Colônias Mucóides no Ágar Hipersacarado

Para a realização desta prova, utilizou-se o próprio Ágar Mitis Salivarius (DIFCO), acrescido de uma solução a 1% de telurito de potássio, sendo que os principais tipos de colônias isoladas no presente trabalho, estão descritos no Capítulo RESULTADOS. O exame que forneceu dados sobre a morfologia colonial dos microrganismos isolados da dentina cariada profunda (estreptococos), foi realizado com microscópio estereoscópico, como também foi utilizada alça de platina de ponta afilada, através da qual se pode avaliar a aderência das colônias ao meio, bem como seu grau de desintegração.

. Catalase

Esta prova foi realizada através da colocação de 2 gotas de Peróxido de Hidrogênio a 20 volumes, diretamente sobre as colônias no Ágar Mitis Salivarius (DIFCO). O resultado era considerado positivo (+) quando se observava o despreendimento de Oxigênio, indicativo da presença de Catalase.

. Hemólise

As reações de hemólise foram realizadas frente a hemácias de carneiro, jovem, macho, normal, utilizando-se a técnica do plantio em profundidade ("pour plate"). O meio básico para a preparação do Ágar-sangue foi Ágar Trip-tona-soja (DIFCO), ao qual se acrescentou 5% de sangue des-fibrinado estéril de coelho. Placas de Petri, com diâmetro aproximado de 5,5 cm, receberam uma pequena quantidade de inóculo das culturas puras em Caldo, sendo que logo em segui-da era vertido cerca de 8 ml de Ágar-sangue, ainda fluido. Com movimentos rotatórios horizontais da placa, foi realiza-da a incorporação do inóculo ao meio. A incubação foi reali-zada por períodos de 48 horas, a 37°C, quando então as pla-cas eram transferidas para a geladeira por 24 horas, e dei-xadas resfriar à temperatura ambiente antes de se proceder a leitura, que era realizada com auxílio de microscópio es-tereoscópico.

. Crescimento no Ágar Confirmatório para Ente-rococos (WINTER & SANDHOLZER, 1946)

Para a preparação do Ágar confirmatório para enterococos, foram resuspensas 30,4 g do Caldo Confirmatório para Enterococos (MICROMED) e, para cada 1000 ml de meio, e-ram acrescentadas 15 g de Ágar-Ágar (DIFCO). O meio foi dis-tribuído em tubos e esterilizados em autoclave a 1 ATM por 20 minutos, quando, então, os tubos foram inclinados, permi-tindo, assim, uma superfície para o semeio dos inóculos.

As provas anteriormente citadas foram reali-

zadas para TODAS as colônias armazenadas.

As colônias que mostraram crescimento no Ágar Confirmatório para Enterococos, ou seja, cresciam na presença de 0,04% de Ázida de Sódio, 0,001% de Azul-de-Metileno e 6,5% de Cloreto de Sódio, confirmando a presença de Enterococos, foram submetidas às seguintes provas:

. Liquefação da Gelatina

O meio básico empregado para a realização desta prova foi o Meio Líquido de Tioglicolato U.S.P. (DIFCO), ao qual era acrescentado 5% de Gelatina comestível. O meio inoculado era incubado a 37°C, por 24 horas, e, constatado o crescimento, os tubos eram transferidos para a geladeira por um período de 24 horas, quando, então, eram realizadas as leituras. A presença do meio liquefeito indicava a presença de atividade proteolítica dos microrganismos, enquanto nos tubos em que o meio permanecia inalterado, os resultados eram considerados como negativos.

. Fermentação de Manitol e Sorbitol

O meio básico utilizado foi o CTA (Cystine Tryptic Agar-DIFCO). Para cada 100 ml de meio, foram acrescentados 5 ml de uma Solução a 20% de Manitol ou Sorbitol, o que dava uma concentração final do açúcar no meio de 1%. Procedia-se, então, a distribuição do meio acrescido dos açúcares e a esterilização realizada pelo Método de Vapor Fluente, durante 30 minutos e por 3 dias consecutivos (BIER, 1982).

Nos tubos onde ocorria viragem do indicador

de pH, do vermelho para o amarelo, estes eram considerados positivos.

. Redução do Cloreto de 2-3-5 Trifeniltetrazólio

O meio básico para esta prova era constituído de neopeptona, extrato de carne e ágar-ágar, diluídos em água destilada. Após esterilização em autoclave (1 ATM por 20 minutos), antes de ser distribuído em placas, a uma temperatura próxima de 60°C, acrescentava-se 1 ml de uma solução estéril a 10% de Cloreto de 2-3-5 Trifeniltetrazólio, para cada 100 ml de meio. O inóculo era, então, semeado na superfície das placas em estrias, e a incubação realizada por 24 horas, a 37°C. A presença de colônias de coloração rósea indicava a redução do 2-3-5 Trifeniltetrazólio.

As colônias que não mostraram crescimento no Ágar Confirmatório para Enterococos, foram submetidas às seguintes provas:

. Viscosidade em Caldo com Sacarose a 5%

O meio empregado é o preconizado por NIVEN, SMILEY, SHERMAN (1946), modificado por CARLSSON (1965b), sendo as leituras do meio inoculado realizadas após o período de 1 semana e a viscosidade comparada sempre com um controle estéril, após agitação de ambos.

- . Precipitação densa pela adição de 1 e de 3 partes de Etanol ao Caldo Sacarosado a 5%

Para a realização desta prova, transferiu-se 1 ml da cultura em caldo hipersacarosado, para tubos de ensaio, aos quais era adicionado 1 ml de álcool etílico (99,5%). Após agitação, os tubos eram colocados num suporte, e se observava a ocorrência, ou não, de formação de um precipitado alguns minutos após.

Para a verificação da precipitação flocular com 3 partes de etanol, utilizou-se o mesmo procedimento, sendo que a proporção utilizada foi de 3 cc de etanol para 1 cc de cultura em caldo.

. Hidrólise da Arginina

O meio utilizado é o preconizado por NIVEN, SMILEY, SHERMAN (1942). Decorridas 72 horas de incubação, transferiu-se 0,5 ml das culturas para pequenos tubos de ensaio de 100 x 8 mm, aos quais se adicionava duas ou três gotas de reativo de NESSLER. O aparecimento de uma coloração marrom indicava a presença de amônia na cultura, confirmando ter ocorrido hidrólise da arginina.

Para a preparação do reativo de NESSLER, disolveu-se 5 g de Iodeto de Potássio (KI) em 5 ml de água destilada. Em seguida, adicionou-se pouco a pouco Cloreto de Mercúrio (2,5 g de HgCl₂ em 10 ml de H₂O destilada), para que persistisse um leve precipitado. Deixou-se a mistura esfriar e, em seguida, adicionou-se uma solução de KOH (15

g em 30 ml de água destilada), completando-se o volume para 100 ml. Finalmente, adicionou-se o restante da solução de $HgCl_2$ (0,5 ml) e esperou-se a decantação. Utilizou-se a porção sobrenadante (ASSUMPÇÃO & MORITA, 1968).

. Fermentação de Carboidratos

O meio utilizado foi o CYSTINE TRYPTIC- ÁGAR (CTA - DIFCO). Para cada 100 ml de meio, foram acrescentados 5 ml de uma solução a 20% de Manitol, Sorbitol, Rafinose ou Inulina. Após distribuição em tubos, os meios contendo Manitol, Sorbitol e Rafinose foram esterilizados por 30 minutos em vapor fluente, durante 3 dias consecutivos (BIER, 1982).

Os tubos contendo CTA acrescido de Inulina, segundo recomendações de BIER (1982), foram esterilizados por autoclavação (1 ATM por 20 minutos), devido a possibilidade da Inulina possuir esporos resistentes.

. Hidrólise do Amido

O meio para a verificação da Hidrólise de Amido foi preconizado por DUNICAN & SEELEY (1962) e, após esterilização em autoclave, foi distribuído em placas de Petri, nas quais foram semeadas as bactérias, e aí incubadas por três dias. Passado o referido período, foram colocadas sobre as colônias, pequenas quantidades de Lugol. A presença de um halo acinzentado em torno das mesmas indicava a presença da hidrólise de amido. Esta prova foi realizada apenas para os microrganismos produtores de dextrana.

4. ENSAIO PRÉVIO DOS MEIOS DE CULTURA E DAS PROVAS DE IDENTIFICAÇÃO

Seguindo-se as recomendações de BIRAL (1968), todas as provas realizadas para a identificação dos estrep-tococos foram previamente ensaiadas e padronizadas, bem co-mo realizados testes com os meios de cultura empregados, a fim de se verificar a adequabilidade do crescimento das amostras isoladas nas diversas etapas do trabalho. As principais normas para a realização das Provas de Identificação foram as seguintes:

- 1º) O inóculo foi levado aos meios de prova, sempre a partir de culturas recentes (24 horas), previamente submetidas à homogenização por agitação;
- 2º) O diâmetro da alça de platina foi invariavelmente de 4 mm;
- 3º) Para as provas bioquímicas e de resistência aos agentes inibidores:
 - . foram utilizados sempre meios de cultura de preparo recente;
 - . as leituras finais nunca foram realizadas antes de 2 dias ou após 5 dias para os resultados negativos;
 - . quando o crescimento fazia supor contaminação, foram realizados esfregaços corados pelo método de GRAM e replantio no M.S.A.;
- 4º) Para as Provas de Fermentação:
 - . o tempo de incubação nos casos negativos foi de até 3 semanas, tomando-se a precaução de se colocar no inte

rior da estufa uma bandeja de 30 x 50 cm, contendo água, a fim de se aumentar a superfície de evaporação e saturar de umidade a mesma, evitando-se, assim, o ressecamento dos meios de cultura;

- . quando a amostra apresentava características conhecidas e a prova de fermentação tinha valor diferencial, mas esta não ocorria, realizava-se repiques dos tubos negativos para outros contendo substrato idêntico, admitindo-se a possibilidade de que enzimas adaptativas pudessem vir a atuar quando em contacto com o substrato prova;
- . a pureza final das culturas foi sistematicamente verificada em todos os casos de fermentação, quer pelo se meio no M.S.A., quer pela coloração de Gram.

V. RESULTADOS

V. RESULTADOS

Foi referido anteriormente (p. 48) que cada Grupo de Estudo foi identificado por um algarismo romano maiúsculo (ex.: Grupo I) e subdividido em dois sub-grupos, representados pelas letras A e B. Para o sub-grupo B, 25 dentes com cavidades de cárie profundas foram examinados ANTES e APÓS 7 dias de tratamento (Estudos E₂/E₄). Enquanto que para o sub-grupo A o exame microbiológico da dentina colhida de outros 25 casos de cavidades profundas, foi realizado ANTES e APÓS 30 dias de tratamento (Estudos E₁/E₃). Todos contendo PROCEDIMENTOS CLÍNICOS e PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS.

Os resultados serão apresentados em função dos tipos de exames realizados em cada período, como se segue:

1. Exame Quantitativo
2. Exame Qualitativo

Para as TABELAS foi utilizada a legenda constante no Quadro II (p. 76).

1. EXAME QUANTITATIVO

1.1. CONTAGEM TOTAL

O número mais provável de estreptococos está apresentado sob a forma de médias, encontradas em cada Grupo de Estudo, ANTES e DEPOIS do tratamento, e que está expresso em Unidades Formadoras de Colônias - C.F.U. $\times 10^8$ /miligrama de material colhido (PELCZAR, REID, CHAN, 1980; SOARES, CASEMIRO, AGUIAR, 1987).

1.1.1. Estudos E₂/E₄

Os resultados do número mais provável de estreptococos isolados de 25 casos de cavidades de cárie profundas, ANTES (Estudo-E₂) e APÓS 7 dias (Estudo-E₄), são apresentados na Tabela IV e no Gráfico I (pp. 77/78).

Pode-se observar que para o Grupo I_B (Controle), foram encontrados ANTES do tratamento 106,4 CFU. e APÓS 7 dias, esse número foi de 127,4 CFU., verificando-se, portanto, um aumento de 21 CFU. (19,7%) (Fotografia I, p. 79).

No Grupo II_B (DYCAL), o número de CFU. foi de 98,6 ANTES do tratamento, e APÓS 7 dias o número de CFU. foi de 63,4; portanto, uma redução de 35,2 CFU. (35,6%) (Fotografia II, p. 80).

Para o Grupo III_B (LIFE), ANTES do tratamento a contagem total de colônias foi de 115,6 CFU., e APÓS 7 dias, foi de 110,2 CFU.; a diferença observada foi de 5,4 CFU., ou seja, uma redução de 4,6% do total observado an-

tes (Fotografia III, P. 81).

Nos Grupos IV_B (RENEW) e V_B (PASTA), o número mais provável de estreptococos ANTES foi de 112,2 CFU. e 161,2 CFU., respectivamente. Nestes dois grupos, APÓS 7 dias, observou-se uma redução na contagem de CFU. para 86 CFU. (22,6%) no Grupo IV_B e para 101 CFU. (37,3%) no Grupo V_B (Fotografias IV e V, pp. 82/83).

1.1.2. Estudos E_1/E_3

Os resultados do número mais provável de estreptococos isolados de outros 25 casos de cavidades de cárie profundas, ANTES (Estudo- E_1) e APÓS 30 dias de tratamento (Estudo- E_3), estão resumidos na Tabela V e no Gráfico I (pp. 85/78).

Observou-se que no Grupo I_A (Controle), o número de CFU., ANTES do tratamento, foi de 93,0 e, no reexame APÓS 30 dias, o número de CFU. aumentou para 138,6 CFU. (49,0%) (Fotografia VI, p. 86).

No Grupo II_A (DYCAL), a contagem mostrou a presença de 87 CFU., ANTES do tratamento, e de 19,6 CFU. APÓS 30 dias, tendo ocorrido, portanto, uma redução de 67,4 CFU. (77,4%) (Fotografia VII, p. 87).

No Grupo do LIFE (Grupo III_A), o número de CFU. ANTES do tratamento foi de 103,0 e, APÓS 30 dias, o resultado foi de 76,4 CFU., demonstrando uma redução da ordem de 25,8% (Fotografia VIII, p. 88).

Para o Grupo IV_A (RENEW), o número médio de CFU. foi de 115,0 ANTES do tratamento e de 49,2 CFU. APÓS

Quadro II - Legenda geral para as Tabelas.

ABREVIATURA	SIGNIFICADO
Col.	Colônias
CFU.	Unidades Formadoras de Colônias
M.S.A.	Ágar Mitis-Salivarius
R.	Colônias Rugosas
L.	Colônias Lisas
Pp.	Precipitado
Cres.	Crescimento
Az. Met.	Azul de Metileno
.	Provas não feitas
+	Provas positivas
±	Provas na maioria (+)
-	Provas negativas
-	Provas na maioria (-)
(*)/(**)	Nota explicativa
0	Ausente
X	Não constatado

Tabela IV - Número total* de estreptococos isolados da dentina cariada de 25 casos de cavidades profundas, ANTES e APÓS 7 DIAS de tratamento com os materiais à base de Hidróxido de Cálcio.

GRUPO	ESTUDO	E ₂ (ANTES)	E ₄ (APÓS 7 DIAS)	AUMENTO DO Nº DE CFU.	%	REDUÇÃO DO Nº DE CFU.	%
I _B	(Controle)	106,4	127,4	21,0	19,7	X	X
II _B	(DYCAL)	98,6	63,4	X	X	35,2	35,6
III _B	(LIFE)	115,6	110,2	X	X	5,4	4,6
IV _B	(RENEW)	111,2	86,0	X	X	25,2	22,6
V _B	(PASTA)	161,2	101,0	X	X	60,2	37,3

* CFU x 10⁶/mg de dentina.

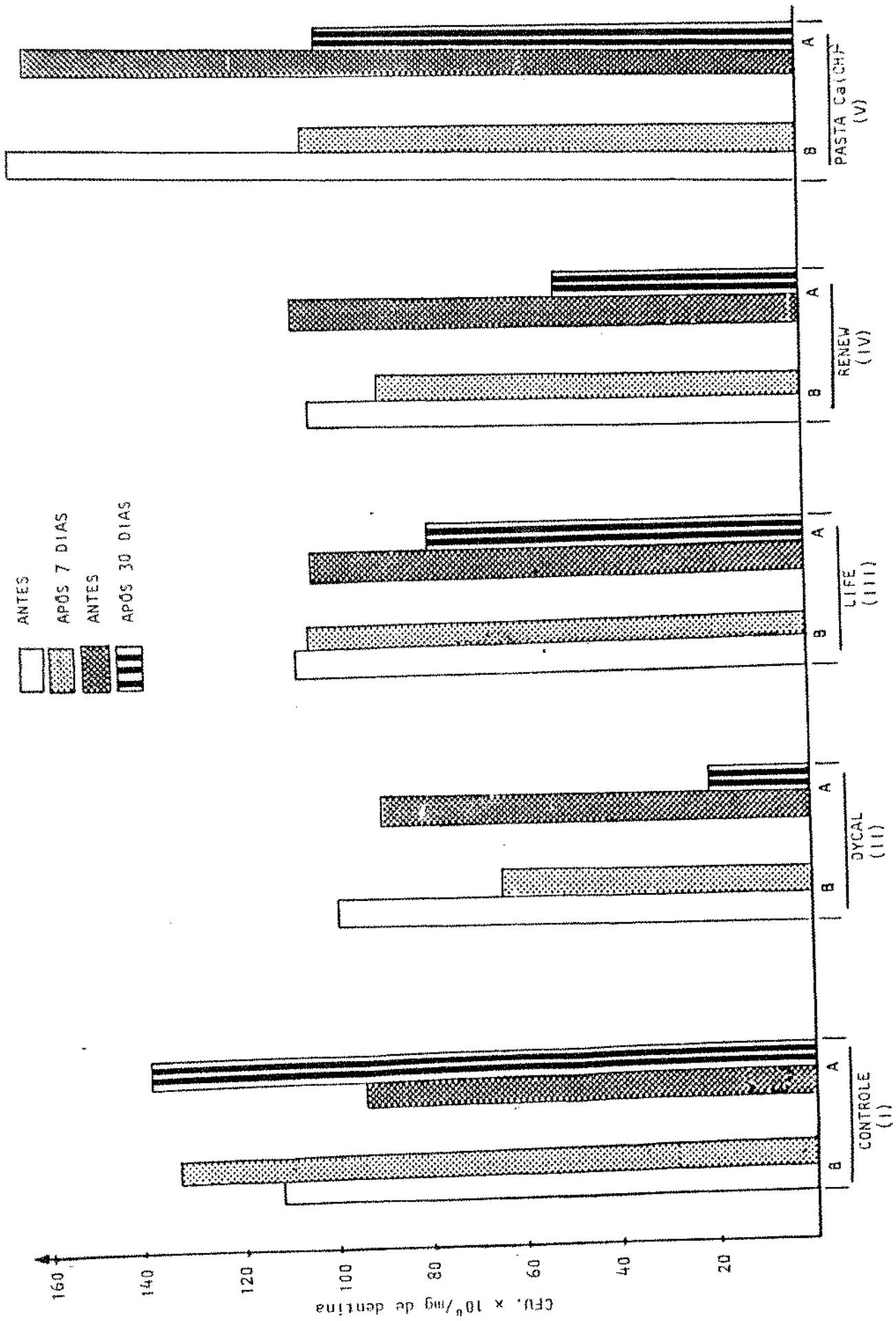
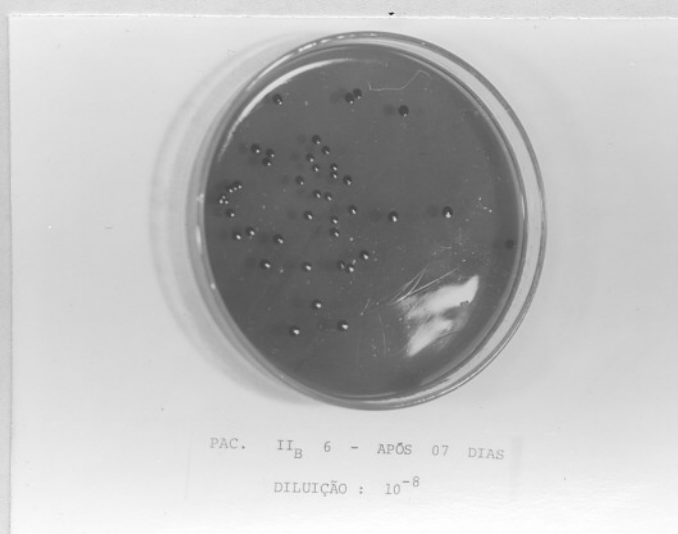


Gráfico I - Histograma - Números de CFU. x 10⁶/mg de material encontrados nos diversos grupos de estudo, ANTES e DEPOIS do tratamento com Hidróxido de Cálcio.



Fotografia I - Determinação do número total de estreptococos no GRUPO CONTROLE, ANTES e APÓS 7 dias de tratamento da dentina cariada profunda, realizada em M.S.A. (DIFCO), após 72 horas de incubação em microaerofilia.



Fotografia II - Determinação do número total de estreptococos no GRUPO DO DYCAL, ANTES e APÓS 7 dias de tratamento da dentina cariada profunda, realizada em M.S.A. (DIFCO), após 72 horas de incubação em microaerofilia.



Fotografia III - Determinação do número total de estreptococos no GRUPO DO LIFE, ANTES e APÓS 7 dias de tratamento da dentina cariada profunda, realizada em M.S.A. (DIFCO), após 72 horas de incubação em microaerofilia.



Fotografia IV - Determinação do número total de estreptococos no GRUPO DO RENEW, ANTES e APÓS 7 dias de tratamento da dentina cariada profunda, realizada em M.S.A. (DIFCO), após 72 horas de incubação em microaerofilia.



FOTOGRAFIA V - Determinação do número total de estreptococos no GRUPO DA PASTA, ANTES e APÓS 7 dias de tratamento da dentina cariada profunda, realizada em M.S.A. (DIFCO), após 72 horas de incubação em microaerofilia.

30 dias, observou-se, portanto, uma redução de 65,8 CFU., correspondendo a 57,2% do total encontrado antes (Fotografia IX, p. 89). Finalmente, no Grupo V_A (PASTA), o número de CFU. ANTES do tratamento, foi de 159,6, caindo APÓS 30 dias para 98 CFU., com uma redução de 61,6 CFU. (38,5%) (Fotografia X, p. 90).

1.2. CONTAGEM DIFERENCIAL

Com base na morfologia das colônias no Ágar Mitis-Salivarius (DIFCO), decorridas 72 horas de incubação a 37°C, foi realizada a contagem nas placas que apresentavam de 30 a 300 colônias, dos diferentes tipos encontrados. Na diluição 10⁻⁸, num total de 50 casos estudados ANTES e DEPOIS do tratamento, foram encontrados 4 tipos diferentes de Unidades Formadoras de Colônias, que foram inicialmente identificadas por letras minúsculas, a saber: CFU. a, b, c e d.

As CFU., com morfologia sugestiva de Enterococos, foram denominadas Colônias a, enquanto as CFU. que mostravam características morfológicas de *Streptococcus viridans*, de Colônias b, c e d.

O número total de cada tipo de colônia de estreptococos isolados da dentina cariada, no Grupo Controle, ANTES e DEPOIS do tratamento, está expresso na Tabela VI, p. 91.

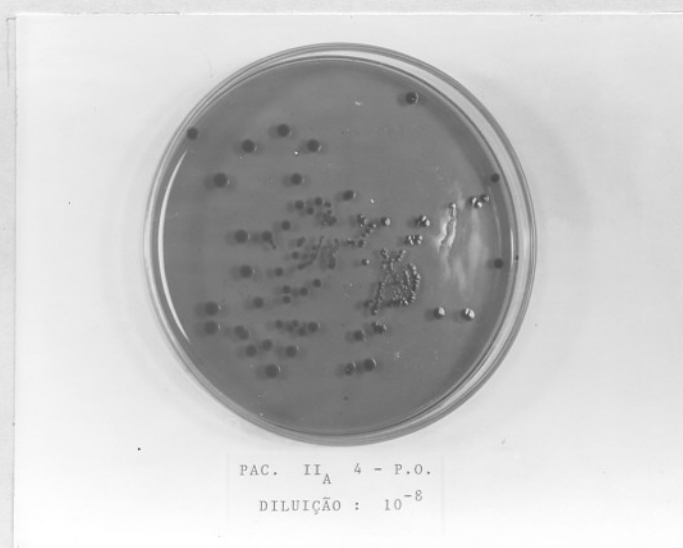
Tabela V - Número total* de estreptococos isolados da dentina cariada de 25 casos de cavidades profundas, ANTES e APÓS 30 DIAS de tratamento com os materiais à base de Hidróxido de Cálcio.

GRUPO	ESTUDO	E ₁ (ANTES)	E ₄ (APÓS 30 DIAS)	AUMENTO DO Nº DE CFU.	%	REDUÇÃO DO Nº DE CFU.	%
I _A	(Controle)	93,0	138,6	45,6	49,0	X	X
II _A	(DYCAL)	87,0	19,6	X	X	67,4	77,4
III _A	(LIFE)	103,0	76,4	X	X	26,6	25,8
IV _A	(RENEW)	115,0	49,2	X	X	65,8	57,2
V _A	(PASTA)	159,6	98,0	X	X	61,6	38,5

* CFU x 10⁶/mg de dentina.



Fotografia VI - Determinação do número total de estreptococos no GRUPO CONTROLE, ANTES e APÓS 30 dias de tratamento da dentina cariada profunda, realizada em M.S.A.(DIFCO), após 72 horas de incubação em microaerofilia.



Fotografia VII - Determinação do número total de estreptococos no GRUPO DO DYCAL, ANTES e APÓS 30 dias de tratamento da dentina cariada profunda, realizada em M.S.A. (DIFCO), após 72 horas de incubação em microaerofilia.



Fotografia VIII - Determinação do número total de estreptococos no GRUPO DO LIFE, ANTES e APÓS 30 dias de tratamento da dentina cariada profunda, realizada em M.S.A. (DIFCO), após 72 horas de incubação em microaerofilia.



Fotografia IX - Determinação do número total de estreptococos no GRUPO DO RENEW, ANTES e APÓS 30 dias de tratamento da dentina cariada profunda, realizada em M.S.A. (DIFCO), após 72 horas de incubação em microaerofilia.



Fotografia X - Determinação do número total de estreptococos no GRUPO DA PASTA, ANTES e APÓS 30 dias de tratamento da dentina cariada profunda, realizada em M.S.A. (DIFCO), após 72 horas de incubação em microaerofilia.

Tabela VI - Número total* de cada tipo de CFU. de estreptococos isolados da dentina cariada de cavidades profundas no GRUPO CONTROLE, antes e depois do tratamento, com base na morfologia colonial no Mitis Salivarius-Ágar (DIFCO), após 72 horas de incubação em microserofilia.

GRUPOS	PERÍODO		ANTES DO TRATAMENTO	%	APÓS O TRATAMENTO	%
	COLONIAS	MORFOLOGIA				
I B	ENT.	a	73,6	69,1	86,8	68,1
		b	24,4		27,6	
	Stt.	c	3,6	30,8	3,0	31,8
		d	4,8		10,0	
TOTAL			106,4		127,4	
I A	ENT.	a	57,4	61,7	99,2	71,5
		b	28,4		21,8	
	Stt.	c	2,2	38,2	4,2	28,4
		d	5,0		13,4	
TOTAL			93,0		138,6	

* CFU x 10⁶/mg de dentina.

No Grupo I_B, ANTES do tratamento, foi observada a presença de 73,6 CFU. do Tipo a; 24,4 CFU. do Tipo b; 3,6 CFU. do Tipo c e 4,8 CFU. do Tipo d. Deste modo, 69,1% das CFU. mostravam características morfológicas de Enterococos, enquanto 30,8% das CFU. tinham características do *Str. viridans*. Após 7 dias, o número total de CFU. do Tipo a foi de 86,8; do Tipo b, 27,6; do Tipo c, 3,0 e do Tipo d, 10,0, perfazendo 68,1% de CFU. com morfologia de Enterococos e 31,8% com morfologia de *Str. viridans*.

Para o Grupo I_A, ANTES do tratamento, o número de CFU. do Tipo a foi de 57,4; sendo 28,4 CFU. do Tipo b; 2,2 CFU. do Tipo c e 5,0 CFU. do Tipo d; ou seja, 61,7% das CFU. apresentavam morfologia de Enterococos e 38,2% de *Str. viridans*. Decorridos 30 dias, foram encontradas 99,2 CFU. do Tipo a; 21,8 CFU. do Tipo b; 4,2 CFU. do Tipo c e 13,4 CFU. do Tipo d. Assim, as CFU. com morfologia típica de Enterococos corresponderam a 71,5% e os *Str. viridans* a 28,4%.

Para o Grupo II_B, ANTES do tratamento, encontrou-se 71,4 CFU. do Tipo a; 15,8 do Tipo b; 1,6 CFU. do Tipo c e 9,8 CFU. do Tipo d. Com isto, 72,4% das CFU. apresentavam morfologia de Enterococos, enquanto 27,5% apresentavam características de *Str. viridans*. Após 7 dias foram encontradas: 58,0 CFU. do Tipo a e 5,4 CFU. do Tipo b, não se constatando a presença de CFU. dos Tipos c e d. Assim, após 7 dias, 91,4% das CFU. tinham características morfológicas dos Enterococos e 8,5% dos *Str. viridans* (Tabela VII, p. 94).

No Grupo II_A, ANTES do tratamento, encontrou-se 55 CFU. do Tipo a, o que correspondeu a um percentual de 63,2% com características morfológicas de Enterococos. As CFU. com características morfológicas de *Str. viridans* foram detectadas em 36,7% dos casos, com a ocorrência de 9,0 CFU. do Tipo b; 10,2 CFU. do Tipo c e 12,8 do Tipo d. Após 30 dias, as CFU. do Tipo a caíram para 15,2, enquanto que das CFU. com características de *Str. viridans* só foram encontradas 4,4 CFU. do Tipo c (Tabela VII, p. 94).

A contagem diferencial para o Grupo III_B, ANTES do tratamento, mostrou a presença de 85,2 CFU. do Tipo a; 15,8 CFU. do Tipo b; 2,6 CFU. do Tipo c e 12,0 CFU. do Tipo d. O total de CFU. do Tipo a correspondeu, neste grupo, a 73,7% de prováveis Enterococos, enquanto as CFU. com características morfológicas de *Str. viridans* corresponderam a 26,2% do total. Após 7 dias, o número de CFU. do Tipo a foi de 86,4; do Tipo b, 12,0; do Tipo c, 2,0 e do Tipo d, 9,8; perfazendo 78,4% de CFU. com morfologia de Enterococos e 21,5% de *Str. viridans* (Tabela VIII, p. 95).

Para o Grupo III_A, ANTES do tratamento observou-se a presença de 49,4 CFU. do Tipo a; 37,8 CFU. do Tipo b; 7,2 CFU. do Tipo c e 8,6 CFU. do Tipo d. Assim sendo, 47,9% do total apresentavam características morfológicas de Enterococos, enquanto 52,0% mostravam características de *Str. viridans*. Após 30 dias, foram encontradas 40,6 CFU. do Tipo a (53,1%) e 35,8 CFU. do Tipo b (46,8%), não tendo sido encontradas CFU. dos Tipos c e d (Tabela VIII, p. 95).

No Grupo IV_B, o número de CFU. do Tipo a ANTES do tratamento, foi de 97,6; do Tipo b, 11,2 e do Tipo d

Tabela VII - Número total* de cada tipo de CFU. de estreptococos isolados da dentina cariada de cavidades profundas no GRUPO II (DYCAL), antes e depois do tratamento, com base na morfologia colonial no Mitis Sali varius-Ágar (DIFCO), após 72 horas de incubação em microaerofilia.

GRUPOS	PERÍODO		ANTES DO TRATAMENTO	%	APÓS O TRATAMENTO	%
	COLÔNIAS	MORFOLOGIA				
II B	ENT.	a	71,4	72,4	58,0	91,4
	Stt. vít.	b	15,8		5,4	
		c	1,6		0	8,5
		d	9,8		0	
TOTAL			98,6		63,4	
II A	ENT.	a	55,0	63,2	15,2	77,5
	Stt. vít.	b	9,0		0	
		c	10,2		4,4	22,4
		d	12,8		0	
TOTAL			87,0		19,6	

* CFU x 10⁸/mg de dentina.

Tabela VIII - Número total* de cada tipo de CFU. de estreptococos isolados da dentina cariada de cavidades profundas no GRUPO III (LIFE), antes e depois do tratamento, com base na morfologia colonial no Mitis Salivarius-Ágar (DIFCO), após 72 horas de incubação em microaerofilia.

GRUPOS	PERÍODO		ANTES DO TRATAMENTO	%	APÓS O TRATAMENTO	%
	COLÔNIAS					
	MORFOLOGIA					
III B	ENT.	a	85,2	73,7	86,4	78,4
	Str.	b	15,8		12,0	
		c	2,6		2,0	
		d	12,0		9,8	
	TOTAL		115,6		110,2	
III A	ENT.	a	49,4	47,9	40,6	53,1
	Str.	b	37,8		35,8	
		c	7,2		0	
		d	8,6		0	
	TOTAL		103,0		76,4	

* CFU x 10⁸/mg de dentina.

2,4. Não foram encontradas colônias do Tipo c. O total de CFU. do Tipo a, neste grupo, foi de 87,7% (Enterococos) e os *Str. viridans*, 12,2%. Decorridos 7 dias do tratamento com o Renew, foram encontradas 78,6 CFU. do Tipo a (91,3%) e 7,4 CFU. do Tipo b (8,6%); enquanto as CFU. dos Tipos c e d estavam ausentes (Tabela IX, p. 97).

No Grupo IV_A, ANTES do tratamento, foram encontradas 69,6 CFU. do Tipo a: 35,8 CFU. do Tipo b; 3,0 CFU. do Tipo c e 6,6 CFU. do Tipo d. No total, 60,5% foram CFU. sugestivas de Enterococos e 39,4% sugeriram a presença de *Str. viridans*. Após 30 dias, contou-se 47,7 CFU. do Tipo a (96,3%) e 1,8 CFU. do Tipo b (4,6%), não se constatando a presença de CFU. dos Tipos c e d (Tabela IX, p. 97).

Para o Grupo V_B, encontrou-se ANTES do tratamento 134,6 CFU. do Tipo a (Enterococos); 14,8 CFU. do Tipo b; 5,6 CFU. do Tipo c e 6,2 CFU. do Tipo d, num total de 83,4% de CFU. do Tipo a e 16,5% sugestivas de *Str. viridans*. Após 7 dias de tratamento com a pasta de Hidróxido de Cálcio, o número de CFU. foi de 96,0 (95,0%) para o Tipo a e as do Tipo b (*Str. viridans*) corresponderam a 4,9% do total. Não foram encontradas CFU. dos Tipos c e d (Tabela X, p. 98).

No Grupo V_A, ANTES do tratamento, encontrou-se 100 CFU. do Tipo a; 32,8 CFU. do Tipo b; 5,6 CFU. do Tipo c e 21,2 CFU. do Tipo d. A percentagem total de CFU. com características morfológicas de Enterococos foi de 62,6%, enquanto para as CFU. de *Str. viridans*, o número encontrado correspondeu a 37,3% do total. Após 30 dias, a análise microbiológica da dentina revelou a presença de 75,2 CFU. do

Tabela IX - Número total* de cada tipo de CFU, de estreptococos isolados da dentina cariada de cavidades profundas no GRUPO IV (RENEW), antes e depois do tratamento, com base na morfologia colonial no Mitis Salivarius-Ágar (DIFCO), após 72 horas de incubação em microaerofilia.

GRUPOS	PERÍODO				ANTES DO TRATAMENTO	%	APÓS O TRATAMENTO	%
	COLONIAS		MORFOLOGIA					
IV B	ENT.	a	97,6	87,7	78,6	91,3		
	Str.	b	11,2		7,4			
		c	0		0		8,6	
	vár.	d	2,4		0			
TOTAL					111,2	86,0		
IV A	ENT.	a	69,6	60,5	47,4	96,3		
	Str.	b	35,8		1,8			
		c	3,0		0		3,6	
	vár.	d	6,6		0			
TOTAL					115,0	49,2		

* CFU x 10⁶/mg de dentina.

Tabela X - Número total* de cada tipo de CFU. de estreptococos isolados da dentina cariada de cavidades profundas no GRUPO V (PASTA de Ca(OH)₂), antes e depois do tratamento, com base na morfologia colonial no Mitis Salivarius-Agar (DIFCO), após 72 horas de incubação em microaerofilia.

GRUPOS	PERÍODO				ANTES DO TRATAMENTO	%	APÓS O TRATAMENTO	%
	COLÔNIAS							
V _B	MORFOLOGIA				134,6	83,4	96,0	95,0
	ENT.	a	b	c				
	Stt.							
	vít.							
	d							
T O T A L					161,2	101,0	76,7	
V _A	MORFOLOGIA				100,0	62,6	75,2	23,2
	ENT.	a	b	c				
	Stt.							
	vít.							
	d							
T O T A L					159,6	98,0	23,2	

* CFU x 10⁵/mg de dentina.

Tipo a (76,7%) e 22,8 CFU. do Tipo b (23,2%), não tendo sido encontradas colônias dos Tipos c e d (Tabela X, p. 98).

2. EXAME QUALITATIVO

O exame bacteriológico dos inóculos em Ágar Mitis Salivarius (DIFCO), dos 50 casos estudados ANTES e DEPOIS do tratamento com os materiais à base de Hidróxido de Cálcio, revelou a presença de 4 tipos de colônias. Realizada a contagem diferencial dessas colônias, constatou-se, como mencionado, dois grupos microbianos: os Enterococos (CFU. do Tipo a) e os *Str. viridans* (CFU. dos Tipos b, c e d).

De um total de 176 amostras oriundas dos tubos de armazenagem, 33 (18,7%) não mostraram viabilidade e, portanto, não puderam ser identificadas. O exame qualitativo foi realizado para as 143 amostras (81,2%) restantes, as quais foram inicialmente submetidas a um conjunto de provas, que teve como objetivo principal a determinação do critério taxonômico a ser utilizado. A Tabela XI (p. 100) mostra as provas que foram comuns a todas as amostras viáveis, e os resultados possíveis de serem encontrados.

Os resultados das provas revelaram que, de um total de 143 amostras, 86 CFU. apresentavam características de Enterococos, enquanto 57 CFU. mostravam características de *Str. viridans*.

Para as 86 CFU. do Tipo a foram utilizados, para o enquadramento das mesmas nas diversas espécies de Enterococos, os critérios taxonômicos preconizados por SHATTOCK

Tabela XI - Provas realizadas para a determinação do critério taxonômico a ser utilizado na identificação de 143 amostras de estreptococos, isolados da dentina cariada de 50 cavidades de cárie profundas, ANTES e DEPOIS do tratamento com os materiais à base de Hidróxido de Cálcio.

TIPOS DE CFU.	<u>a</u>	<u>b</u>	<u>c</u>	<u>d</u>
Morfologia no M.S.A.	L	L/R	R	L
Catalase	-	-	-	-
Cresc. no Ágar Conf. p/ Enterococos	+	-	-	-
Hemólise	gama		geralmente alfa ou gama	

(1955); DEIBEL et alii (1964); BIRAL et alii (1974), contidos na Tabela XXVII, que se encontra no APÊNDICE deste trabalho (p. 241).

Para as 57 amostras restantes (Tipos b, c e d), com características de *Str. viridans*, foi utilizado o critério taxonômico preconizado por CARLSSON (1967, 1968), mostrado na Tabela XXVIII, igualmente colocada no APÊNDICE (p. 242).

As Unidades Formadoras de Colônias estudadas, apresentaram as seguintes características:

1. ENTEROCOCOS

1.1. Unidades Formadoras de Colônias do Tipo a

Estas CFU. no M.S.A. (DIFCO) apresentaram-se como colônias lisas, medindo aproximadamente de 3,5 a 4,0

mm de diâmetro, ligeiramente convexas, com alto grau de desintegração, sendo removidas com facilidade do meio de cultura; polissacarídeo-negativas, apresentando uma coloração escura (pretas) (Fotografia XI, p. 102); catalase-negativas, apresentando crescimento (+) no Ágar Confirmatório para Enterococos, sendo que as 86 amostras estudadas não mostraram atividade hemolítica, ou seja, foram gama-hemolíticas ou a-nemolíticas.

Dessas 86 CFU., 41 foram isoladas ANTES do tratamento e nos diversos grupos de estudo, enquanto 45 tiveram seu isolamento realizado APÓS o tratamento da dentina.

Das 41 CFU. isoladas ANTES do tratamento, 36 (87,8%) não foram capazes de liquefazer a gelatina, tendo, contudo, mostrado capacidade de fermentar o manitol e o sorbitol e de reduzir o Cloreto de 2-3-5 Trifeniltetrazólio (T.T.C.), sendo identificadas como *Str. faecalis*. As 5 CFU. restantes (12,1%) apresentaram características semelhantes, com exceção das que foram capazes de liquefazer a gelatina, sendo, portanto, identificadas como *Str. faecalis* var. *liquefaciens* (Tabela XII, p. 103).

Das 45 CFU. isoladas na fase pós-operatória, 39 (86,6%) foram identificadas como *Str. faecalis* e as 6 restantes (13,3%), por mostrarem atividade proteolítica, identificadas como *Str. faecalis* var. *liquefaciens* (Tabela XII, p. 103).

A Tabela XIII (p. 104) dá uma visão geral do enquadramento das 86 amostras estudadas no grupo dos Enterococos.



Tabela XII - Distribuição da frequência no Grupo dos Enterococos de 86 amostras isoladas da dentina cariada de 50 casos de cavidades de cárie profundas, ANTES e DEPOIS do tratamento com os materiais à base de Hidróxido de Cálcio e do Controle.

ESPECIES	PERÍODO Nº AMOSTRAS	ANTES DO TRATAMENTO		APÓS O TRATAMENTO	
		Nº	%	Nº	%
<i>Str. faecalis</i>		36	87,8	39	86,6
<i>Str. faecalis</i> var. <i>liquefaciens</i>		05	12,1	06	13,3

Tabela XIII - Enquadramento no Grupo dos Enterococos de 86 amostras isoladas da dentina cariada de 50 cavidades de cárie profundas, ANTES e DEPOIS do tratamento com materiais à base de Hidróxido de Cálcio, e do Controle.

ESPECIES N.º AMOSTRAS	Str. faecalis	Str. faecalis var. liq.	Str. faecalis var. zym.	Str. durans	Str. faecium
	75	11	0	0	0
PROVAS	75	11	0	0	0
Col. Lisa M.S.A.	75/75 (*)	11/11	0	0	0
Col. Rug. M.S.A.	0/75	0/11	0	0	0
Catalase	0/75	0/11	0	0	0
Cres. Ágar Conf. p/ Enterococos	75/75	11/11	0	0	0
Hemólise	75 gama	11 gama	0	0	0
Liquefação da ge- latina	0/75	11/11	0	0	0
Fermentação:					
. Manitol	75/75	11/11	0	0	0
. Sorbitol	75/75	11/11	0	0	0
Redução T.T.C.	75/75	11/11	0	0	0

(*) Frações: n.º de amostras positivas/n.º de amostras submetidas às provas.

2. *Streptococcus viridans*

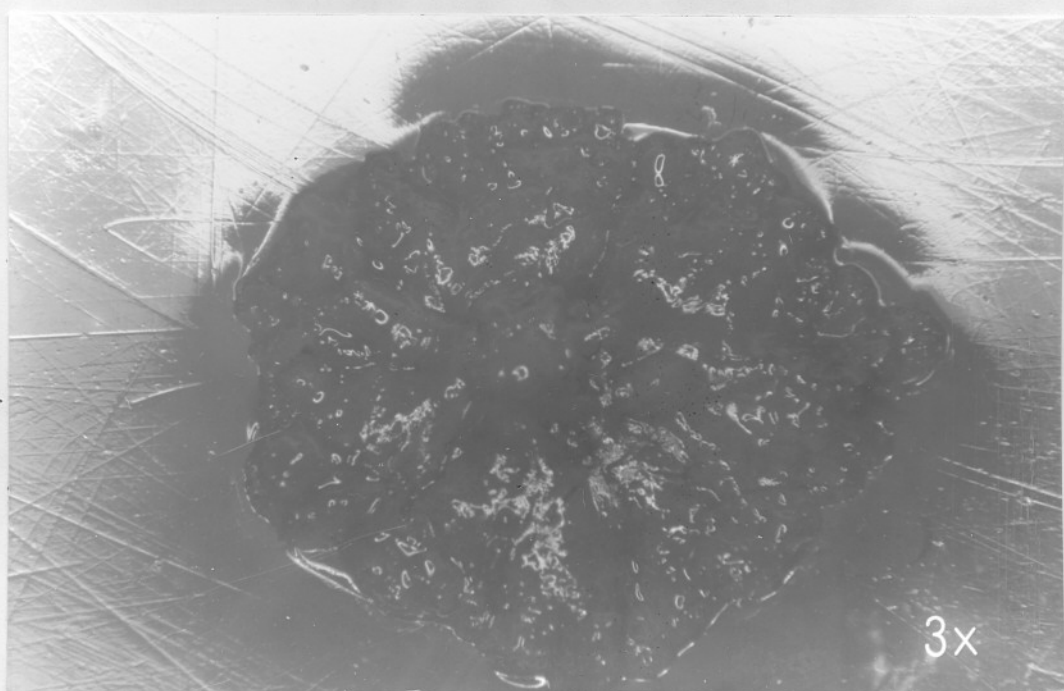
Das 57 amostras com características de *Str. viridans*, foi observado que, levando-se em consideração apenas o aspecto morfológico, 29 CFU. do Tipo b poderiam ser enquadradas nos Grupos II (*Str. mutans*) e V (*Str. mitis*) de CARLSSON; 11 CFU. do tipo c, igualmente nos mesmos Grupos anteriormente citados; enquanto 17 CFU. do Tipo d poderiam ser enquadradas nos Grupos II (*Str. mutans*), IV (*Str. sp*) ou V (*Str. mitis*) de CARLSSON.

2.1. Enquadramento das CFU. nos Grupos de CARLSSON

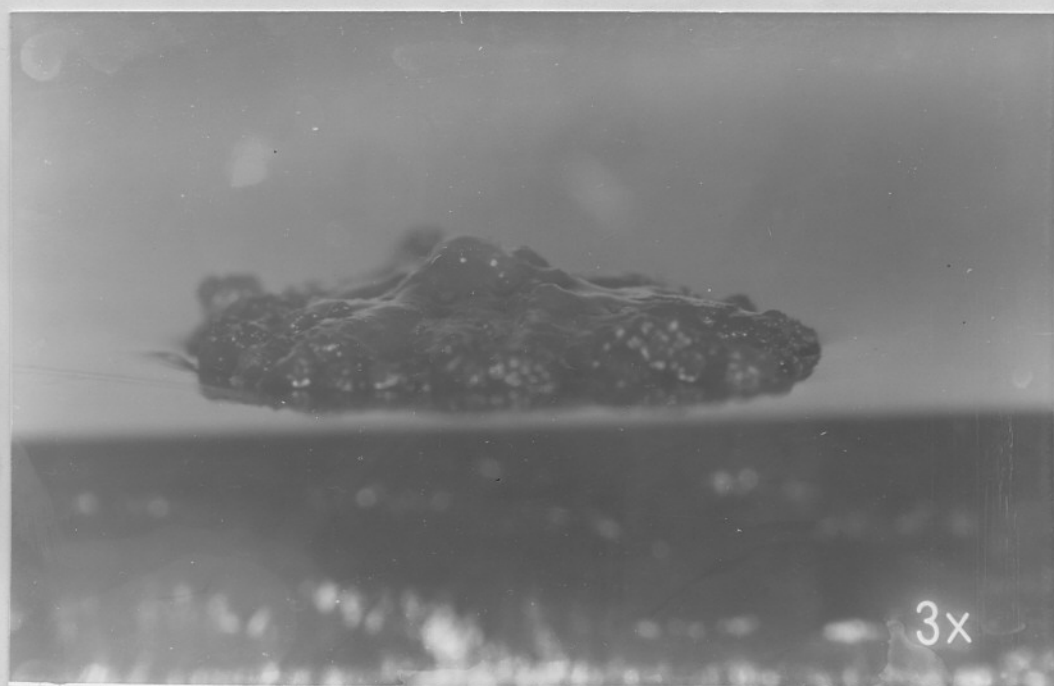
2.1.1. Grupo II (*Str. mutans*)

Das 29 CFU. do Tipo b, 23 foram enquadradas no Grupo II de CARLSSON, sendo 16 isoladas ANTES do tratamento e 7 no período pós-operatório nos diversos grupos. Também 11 CFU. do Tipo c foram identificadas como *Str. mutans*, sendo que deste total, 8 foram isoladas ANTES e 3 APÓS o tratamento (Tabela XIV, p. 108).

As CFU. enquadradas neste Grupo, apresentaram-se no M.S.A. como colônias rugosas, com bordos irregulares, apresentando aspecto de mórulas (Tipo b) ou aspecto de "vidro moído" (Tipo c), com diâmetro entre 0,5 a 1,5 mm, convexas, de coloração cinza-azulado a cinza-claro, opacas, polissacarídeo-negativas (Tipo b) ou polissacarídeo-positivas (Tipo c) (Fotografias XII e XIII, pp. 106/107) e com grau de desintegração variável. Todas as colônias foram catalase-negativas, não mostraram crescimento em presença de 6,5% de



Fotografia XII - Unidade Formadora de Colônia do Tipo c (*Str. mutans*) ,
isolada em Ágar Mitis-Salivarius (DIFCO), após 72 ho-
ras de incubação a 37°C. Aumento de 3X.



Fotografia XIII - Unidade Formadora de Colônia do Tipo c (*Str. mutans*), isolada em Ágar Mitis-Salivarius (DIFCO), após 72 horas de incubação a 37°C. Demonstração da gota de polissacarídeo no topo da colônia (Projeção lateral).

Tabela XIV - Distribuição da frequência nos Grupos de CARLSSON, de 57 amostras de estreptococos isolados da dentina cariada de 50 cavidades de cárie profundas, em função dos diferentes tipos de colônias, ANTES e DEPOIS do tratamento com os materiais à base de Hidróxido de Cálcio e do Controle.

GRUPOS DE CARLSSON	PERÍODO COLÔNIAS Nº AMOST.	ANTES DO TRATAMENTO				APÓS O TRATAMENTO			
		<u>b</u>	<u>c</u>	<u>d</u>		<u>b</u>	<u>c</u>	<u>d</u>	
I (<i>Str. sanguis</i>)		0	0	0	0	0	0	0	0
II (<i>Str. mutans</i>)		16	8	0	7	0	0	0	0
III (<i>Str. saliv.</i>)		0	0	0	0	0	0	0	0
IV (<i>Str. sp</i>)		0	0	6	0	0	0	1	1
V (<i>Str. mitis</i>)		3	0	5	3	0	0	5	5

Cloreto de Sódio; 0,01% de Azul de Metileno e 0,04% de Ázida de Sódio, contidos no Ágar Confirmatório para Enterococos (MICROMED). Oito CFU. mostraram hemólise alfa, enquanto 26 foram anemolíticas. As 34 amostras produziram no Caldo com 5% de sacarose, uma viscosidade apenas moderada, que originou uma precipitação densa pela adição de 1 parte de e tanol e de um precipitado discreto pela adição de 3 partes. Nenhuma amostra foi capaz de hidrolisar a Arginina, o que também ocorreu para a hidrólise do Amido. Além do que a totalidade das amostras mostrou capacidade de fermentar o Ma nitol, o Sorbitol, a Rafinose e a Inulina (Tabela XV, p.110).

2.1.2. Grupo IV (*Str. sp*)

Das 17 CFU. do Tipo d estudadas, 7 foram enquadradas no Grupo IV de CARLSSON, sendo que destas, 6 CFU. ocorreram ANTES do tratamento, enquanto apenas 1 na fase pós-operatória (Tabela XIV, p. 108).

Do ponto de vista morfológico, as colônias formadoras no M.S.A. apresentaram-se lisas, circulares, com diâmetro que variou de 1,0 a 3,0 mm, com coloração marrom, convexas e com bordos regulares. Todas as amostras mostraram-se catalase-negativas, não sendo capazes de crescer no Ágar Confirmatório para Enterococos e apresentando atividade hemolítica do tipo alfa. No caldo sacarosado, não se observou a presença de viscosidade e nem de precipitação densa pela adição de 1 e/ou de 3 partes de etanol. As CFU. não hidrolisaram a Arginina e não fermentaram o Manitol, o Sorbitol, a Rafinose e a Inulina (Tabela XV, p. 110).

Tabela XV - Enquadramento nos Grupos de CARLSSON de 57 amostras de estreptococos, isoladas de 50 cavidades de cárie profundas, ANTES e DEPOIS do tratamento com materiais à base de Hidróxido de Cálcio e do Controle.

PROVAS	GRUPOS (*)	II	IV	V
	ESPECIES Nº AMOST.	<i>Str. mutans</i>	<i>Str. sp</i>	<i>Str. mitis</i>
		34	07	16
Col. Lisa M.S.A.		0/34	07/07	10/16
Col. Rugosa M.S.A.		34/34	0/07	6/16
Catalase		0/34	0/07	0/16
Cresc. no Ágar Conf. p/ Enterococos		0/34	0/07	0/16
Hemólise		8 alfa/26 gama	7 alfa	16 alfa
Viscosidade em Caldo c/ 5% de Sacarose		34/34	07/07	0/16
Pp densa/adição:				
. 1 parte etanol		34/34	0/07	0/16
. 3 partes etanol		34/34	0/07	0/16
Hidrólise da Arginina		0/34	0/07	0/16
Fermentação:				
. Manitol		34/34	0/07	0/16
. Sorbitol		34/34	0/07	0/16
. Rafinose		34/34	0/07	6/16
. Inulina		34/34	0/07	10/16
Hidrólise do Amido (**)		0/34	0	0

(*) Foram omitidos os grupos I e III por não terem ocorrido.

(**) Realizado somente para os produtores de dextrana.

2.1.3. Grupo V (*Str. mitis*)

Das 29 CFU. do Tipo b, 6 foram enquadradas no Grupo V de CARLSSON, sendo que 3 foram isoladas ANTES e 3 APÓS o tratamento. Além disso, de um total de 17 CFU. do Tipo d, 10 foram enquadradas neste grupo, com a ocorrência de 5 CFU. ANTES e as outras 5, APÓS o tratamento da dentina, perfazendo um total de 16 CFU., identificadas como *Str. mitis* (Tabela XIV, p. 108).

No M.S.A. (DIFCO), as CFU. do Tipo d formaram colônias lisas e as 6 CFU. do Tipo b, colônias rugosas, tendo o diâmetro das mesmas variado de 0,5 a 1,0 mm, com pequeno porte e apresentando uma coloração escura, próxima ao marrom, às vezes pretas, convexas, com bordos regulares ou ligeiramente irregulares, apresentando alto grau de desintegração e sendo removidas com facilidade do meio. Todas as amostras foram catalase-negativas, não mostraram crescimento no Ágar Confirmatório para Enterococos e mostraram atividade hemolítica do tipo alfa nas placas de Ágar-sangue. Não se observou a presença de viscosidade no Caldo com 5% de sacarose, nem a formação de precipitado denso, pela adição de 1 e/ou 3 partes de etanol, como também, não foram capazes de hidrolisar a Arginina e nem capazes de fermentar o Manitol e o Sorbitol. Das 16 CFU., apenas 6 foram capazes de fermentar a Rafinose e 10 de fermentar a Inulina, sendo, por isso, enquadrada nos sub-grupos V_c e V_d , respectivamente (Tabela XV, p. 110; Tabela XXVIII, p. 242).

Os Grupos I (*Str. sanguis*) e o III (*Str. salivarius*) foram omitidos por não terem ocorrido em nenhuma das fases do presente estudo.

Concluída a caracterização das CFU. e o seu enquadramento nos diversos grupos de CARLSSON, observou-se que a frequência dos *Str. viridans* ficou assim distribuída: das 38 CFU. isoladas ANTES do tratamento, 24 (63,1%) foram identificadas como *Str. mutans*; 6 (15,8%) como *Str. sp*, enquanto que as 8 restantes (21,0%) como *Str. mitis* (Tabela XVI, p. 113).

Com relação às 19 CFU., isoladas APÓS o tratamento, 10 CFU. (52,6%) foram enquadradas no Grupo II (*Str. mutans*), 1 CFU. (5,2%) no Grupo IV (*Str. sp*) e 8 CFU. no Grupo V (*Str. mitis*) (Tabela XVI, p. 113).

Tabela XVI - Distribuição da frequência nos Grupos de CARLSSON, de 57 amostras de estreptococos isolados da dentina cariada de 50 cavidades de cárie profundas, ANTES e DEPOIS do tratamento com os materiais à base de Hidróxido de Cálcio e do Controle.

GRUPOS DE CARLSSON	PERÍODO N.º AMOST.		ANTES DO TRATAMENTO		APÓS O TRATAMENTO	
	N.º	%	N.º	%	N.º	%
I (<i>Str. sanguis</i>)	0		0		0	
II (<i>Str. mutans</i>)	24	63,1	10	52,6	10	52,6
III (<i>Str. saliv.</i>)	0		0		0	
IV (<i>Str. sp</i>)	6	15,8	1	5,2	1	5,2
V (<i>Str. mitis</i>)	8	21,0	8	42,1	8	42,1

VI. DISCUSSÃO

VI. DISCUSSÃO

O tratamento conservador da polpa dental é um dos assuntos que tem merecido a atenção especial dos pesquisadores e com o desenvolvimento da Odontologia, aliado aos conhecimentos das Ciências Biológicas, ganhou um interesse redobrado pela ênfase dada aos aspectos preventivos (HIZATUGU & VALDRIGHI, 1974).

Dentre as técnicas utilizadas no tratamento conservador da polpa, destaca-se o capeamento pulpar indireto (C.P.I.) que, basicamente, consiste na colocação de um material protetor sobre uma fina camada de dentina remanescente, mantendo-se o dente tratado em observação por determinado período de tempo (McDONALD, 1977; MONDELLI et alii, 1977; INGLE & BEVERIDGE, 1979; SELTZER & BENDER, 1979; PAIVA & ANTONIAZZI, 1985).

Para autores como DE DEUS (1976), o sucesso do C.P.I. depende de fatores como: idade e estado geral do paciente, indicação precisa do tratamento, diagnóstico pulpar correto, técnica asséptica e a utilização de um material adequado para o capeamento.

Observa-se que dos fatores mencionados anteriormente, os dois primeiros são inerentes ao paciente, en-

quanto que os demais relacionam-se com o elemento dental a ser tratado.

Considerando-se a possível influência destes fatores, uma das primeiras preocupações do presente trabalho foi com a seleção dos pacientes e com a seleção dos dentes, que seriam utilizados na parte experimental.

Na seleção dos pacientes, optou-se pela utilização de pacientes jovens, na faixa etária de 16 a 20 anos, considerando-se, em primeiro lugar, o fato de que as extrações por cárie alcançam sua maior prevalência em torno dos 20 anos. Isto ocorre em função de um desequilíbrio orgânico, que faz com que o processo cariioso evolua mais rapidamente, aumentando, inclusive, o índice de cavidades profundas e, conseqüentemente, há alterações pulpares mais frequentes. Por outro lado, esse fato é menos comum na faixa etária dos 21 aos 30 anos, onde o organismo já atingiu uma fase de equilíbrio orgânico, e que após os 35 anos, a tendência é a perda dos dentes mais pela doença periodontal do que pela cárie (ALLEN, 1944; ANDREWES & KROGH, 1961; PERDIZZA, 1972).

Além disso, a nível pulpar, está comprovado que com o aumento da idade ocorre uma diminuição do número de células e da substância intercelular; um aumento das fibras colágenas e um decréscimo na vascularização, com o aparecimento de alterações regressivas originando um tecido menos reacional. Nestas condições, a resposta inflamatória tende a tornar-se mais crônica e degenerativa, o que não ocorre em pacientes jovens (SICHER, 1962; SELTZER, BENDER, ZIONIZ, 1963; INGLE & BEVERIDGE, 1979; THYLSTRUP & FEJERSKOV, 1988).

Ainda na seleção dos pacientes, foram considerados outros fatores, recomendados por BIRAL (1968), em seu estudo sobre estreptococos de placas dentais, a saber: o paciente deveria apresentar boas condições de saúde; não apresentar problemas periodontais graves; não estarem fazendo uso de drogas, principalmente antibióticos, como também não terem o hábito de usar colutórios.

Dos pacientes que apresentaram as condições anteriormente citadas, foi selecionado um total de 50 dentes permanentes, mais especificamente os 1º, 2º e/ou 3º molares inferiores permanentes, selecionados segundo os critérios preconizados por NESPAULOUS (1929); MEAD (1931); CAMBY & BERNIER (1936); STEPHAN (1937); KING, CRAWFORD, LINDAHL (1965); KERKHOVE Jr., HERMANN, McDONALD (1964); SCHOROEDER (1968); CHARBENEAU et alii (1975); FISHER (1972, 1977); LEUNG, LOESCH, CHARBENEAU (1980); FAIRBOURN, CHARBENEAU, LOESCH (1980); PAIVA & ANTONIAZZI (1985).

Apesar de existirem diversas classificações para as cavidades de cárie, no presente estudo foi utilizada a classificação anatomo-clínica, em que as mesmas são agrupadas segundo as perdas teciduais e a sua relação com a evolução do processo (BIFFI et alii, 1983; PAIVA & ANTONIAZZI, 1985). Foram consideradas como cavidades profundas, aquelas que apresentavam comprometimento de metade da espessura da dentina, estendendo-se até o teto da cavidade pulpar, sem contudo, mostrar evidências clínicas de exposição (sangramento).

Como a profundidade da cárie observada pela radiografia não fornece a dimensão exata da lesão (STANLEY,

WHITE, MAC GRAY, 1967; KOMATSU, 1975) e devido a possibilidade da ocorrência de microexposições, as quais, muitas vezes, não são detectadas pela inspeção das cavidades (MOHAMMED, VAN HUYSEN, BOYD, 1961; THANIK, BOYD, VAN HUYSEN, 1962; HASSAN, VAN HUYSEN, GILMORE, 1966), a determinação da profundidade das cavidades foi complementada com o critério preconizado por CHARBENEAU et alii (1975). Dentro deste critério, foram consideradas as cavidades que, após a remoção completa da dentina mais superficial, ainda apresentavam uma fina camada de dentina remanescente, constatada radiograficamente (Profundidade Classe C). Como não foi encontrada menção quanto à espessura desta camada remanescente, foi tomado como referencial uma espessura radiográfica de aproximadamente 1,5 a 2,0 mm de dentina em relação ao teto da cavidade pulpar, já que estudos como os realizados por MAC GREGOR, MARSLAND, BATTY (1956); REEVES & STANLEY (1966); SHOVELTON (1972), relatam que somente quando o processo de desmineralização se aproxima dos últimos 0,5 a 1,0 mm da polpa é que se pode considerar como irreversíveis as reações neste tecido.

Objetivando minimizar possíveis erros de diagnóstico, foi utilizada como norma, que somente os dentes que preenchessem a todos os requisitos mencionados estariam aptos a serem tratados pela técnica do C.P.I..

No que diz respeito aos preparos cavitários, a principal preocupação residiu em minimizar os efeitos adversos dos procedimentos operatórios sobre a polpa, uma vez que estudos têm comprovado que estes podem agravar ainda mais a condição pulpar (LEFROWITZ, 1957; STANLEY & SWERDLOW, 1959;

SWERDLOW & STANLEY, 1959; LANGELAND, 1959; BRÄNNSTRÖM, 1961; SELTZER & BENDER, 1979).

Desta forma, procurou-se utilizar com cautela os instrumentos rotatórios, tanto em alta como em baixa rotação, dando-se sempre preferência aos instrumentos manuais, que foram igualmente utilizados com bastante cuidado e de maneira a mais atraumática possível.

Após a obtenção do tecido cariado, este era colocado no interior de placas de Petri contendo papel de alumínio estéril e tendo em vista, que a partir daí necessário se fazia a continuação dos procedimentos clínicos até o selamento das cavidades com material provisório, procedeu-se a imediata pesagem do material, bem como a sua diluição e homogenização na solução de tampão-fosfato, visando assim minimizar a exposição das amostras ao oxigênio, como recomendam LOESCH & SYED (1973), o que poderia levar à perda de viabilidade dos microrganismos.

Na fase de capeamento propriamente dito, constituiu-se preocupação especial os dentes dos Grupos Controle, cuja dentina foi recoberta apenas com um material inerte (parafina), cuja adaptação ao fundo das cavidades era feita através de calor e com auxílio de calcadores para amálgama estéreis. A não ocorrência de quadros de pulpites nas etapas subsequentes, revelou que a plastificação do material pelo calor não alterou o estado pulpar dos dentes nestes grupos.

Nos demais grupos de estudo, a parafina foi utilizada para isolar as bases de Hidróxido de Cálcio do material selador, que, por conter eugenol em sua composição,

poderia trazer distorções nos resultados.

Com referência ao material para o selamento das cavidades, optou-se pela utilização de um cimento de óxido de zinco e eugenol de presa rápida (IRM), principalmente por suas excelentes qualidades como selante periférico, como também por suas qualidades como isolante (TAKAYAMA, RUSSO, HOLLAND, 1968; SCHOROEDER et alii, 1974; SMITH, 1983; PAIVA & ANTONIAZZI, 1985).

Os períodos de reexame das cavidades em cada estudo (7 e 30 dias) foram determinados a partir de resultados de estudos histológicos em que foi utilizado o Hidróxido de Cálcio.

Segundo autores como MITCHELL (1959); BHASKAR, CUTRIGHT, VAN OSDEL (1969); HOLLAND et alii (1971b), a deposição de material calcificado com o Hidróxido de Cálcio puro já ocorre após 5 dias de sua aplicação, enquanto BINNIE & MITCHELL (1973) ressaltam que o limite máximo de deposição com este material ocorre em torno de 30 dias..

Para os cimentos como o Dycal, TRONSTAD (1974) observou que com 8 dias o tecido em contacto com este material mostrava-se vital e que com 30 dias, a presença de ponte de dentina já era evidente, embora incompleta.

Segundo BAMMANN (1974), apesar das inúmeras informações sobre a bacteriologia dos nichos orais, as investigações sobre a flora microbiana das cavidades de cárie têm se mostrado esparsas, como sugerem os trabalhos de LOESCH & SYED (1973). Isto também está de acordo com as observações de MENAKER (1984), que afirma que, em se tratando da microflora da cavidade de cárie profunda, pouco se sabe a

respeito, especialmente se comparado aos conhecimentos sobre a microbiologia da placa bacteriana, principalmente no que se refere aos microrganismos específicos que estariam envolvidos com o processo patológico do fronte bacteriano progressivo da cárie dentinária.

A literatura especializada sobre a bacteriologia das lesões profundas, mostra que existem trabalhos cuja proposição foi apenas de determinar a condição microbiológica da dentina profunda, a qual não foi submetida a nenhum tipo de tratamento clínico e/ou medicamentoso. Por outro lado, alguns trabalhos tiveram como objetivo, não só de determinar o estado bacteriológico da dentina, como também verificar a ação de diversos materiais e/ou medicamentos, dentre os quais se inclui o Hidróxido de Cálcio.

Desta forma, para tornar a discussão dos resultados a mais objetiva possível e tendo em vista que todos os dentes foram examinados ANTES do tratamento e sob o ponto de vista microbiológico, serão considerados, numa primeira etapa, apenas os trabalhos que estudaram a microbiota da dentina. Em seguida, numa segunda etapa, serão considerados os trabalhos em que o Hidróxido de Cálcio foi utilizado sobre estreptococos da dentina profunda.

HOWE & HATCH (1917), estudando a flora microbiana das cavidades cariosas, mencionam que, levando-se em consideração a profundidade das mesmas, podem ser encontradas quatro regiões dentinárias, sendo uma superficial, uma média, uma profunda e ainda uma camada profunda mais avançada, a qual não conteria microrganismos.

Em estudo posterior, DORFMANN, STEPHAN, MUNTZ

(1943) procuraram determinar a extensão da infecção nas lesões cariosas, através da realização de culturas de vários níveis da dentina em dentes recém-extraídos. Concluíram que a zona superficial sempre estava contaminada, a zona intermediária mostrava a presença de microrganismos em alguns casos e que, tanto a dentina descalcificada adjacente à porção íntegra, como a porção íntegra, não mostravam microrganismos; o que também foi confirmado por JOLLY & SULLIVAN (1960); PARIKH et alii (1963).

Além desses trabalhos, outros autores, como MASSLER & KUWABARA (1964); EILDELMAN et alii (1965); NOONAN (1965); WIRTHLIN (1970); BARKER & LOCKETT (1971); RIPA et alii (1972); COHEN & BURNS (1982); MENAKER (1984); PAIVA & ANTONIAZZI (1985), também têm relatado ser a dentina cariada profunda isenta de microrganismos, o que não foi confirmado pela presente pesquisa, onde a contagem total do número de CFU. mostrou claramente que, em 100% dos casos (50 dentes) estudados microbiologicamente de IMEDIATO, constatou-se a presença de contaminação.

Por outro lado, nossos resultados confirmam os trabalhos realizados por GOADBY (1903); GOADBY & BARRET (1913); KLIGER (1915); NIDERGEÄSS (1915); HARTZELL & HENRICI (1917); CLARK (1924); GINS (1927); JAY (1927); HAMMOND & TUNNICLIFF (1940); BESIC (1943); PINCUS (1944); BURNETT & SCHERP (1951); CAMBY & BURNETT (1960); FISHER (1966, 1969, 1972, 1977); Mac DONALD (1962); CONRADO (1963); KING, CRAWFORD, LINDAHL (1965); APONTE, HARTSOOK, CROWLEY (1966); SHOVLIN & GILLIS (1969); BIRAL, CONSANI, BERTOLINI (1971); VAN HOUTE et alii (1972); BAMMANN (1974); EDWARDSSON (1974);

FAIRBOURN, CHARBENEAU, LOESCH (1980); LEUNG, LOESCH, CHARBENEAU (1980), que também observaram estar a dentina cariada profunda contaminada.

Com relação ao trabalho realizado por CAMBY & BERNIER (1936), os resultados do presente trabalho confirmam, em parte, os achados desses autores que, estudando bacteriologicamente a dentina profunda, constataram que, de um total de 36 casos, 23 (63,9%) levaram a culturas positivas, caracterizando a contaminação desta região, enquanto que em 13 casos (36,1%) as culturas foram negativas. Contudo, analisando-se a metodologia utilizada pelos autores, observa-se que estes resultados negativos devem ser encarados com certa reserva, uma vez que a região profunda das cavidades, antes da obtenção do tecido cariado, era tratada com fenol e álcool, o que poderia ter levado a resultados falso-negativos.

De modo semelhante, os resultados do presente trabalho confirmam, em parte, os encontrados por AL-MARSOOMI & AL-NASHI (1980), que, estudando microbiologicamente a dentina cariada profunda amolecida e, também, a dentina endurecida após completa escavação das cavidades, observaram que a dentina amolecida estava contaminada em 100% dos casos. Já a dentina clinicamente dura mostrava-se isenta de microrganismos em 45% dos casos (9 cavidades).

Considerando-se os resultados do Exame Quantitativo, no que diz respeito à contagem total dos números médios de CFU., observa-se que ANTES do tratamento, nos 50 casos estudados, a concentração microbiana na dentina cariada profunda, especificamente para os estreptococos, foi da

ordem de 10^8 CFU./mg de material coletado, o que corresponde à mesma concentração encontrada por BAMMANN (1974). No entanto, é importante salientar que o total de viáveis encontrado pela referida autora, que foi de 42×10^8 bactérias, diz respeito não só aos estreptococos, mas ao total de viáveis.

Ainda em seu estudo, a mesma autora verificou que em um caso de exposição pulpar, caracterizado pelo aparecimento de sangramento, o número de estreptococos aumentava para $63,5 \times 10^8$, número este que se aproxima muito mais dos resultados encontrados no presente trabalho.

BURNETT & SCHERP (1951) encontraram na dentina de cavidades profundas de dentes sem exposição, 10^5 bactérias, sendo que nos casos de exposição, este número aumentava para 10^6 bact./mg.

Tal afirmação teria suporte nos estudos *in vitro* realizados por BERGMAN & SILJESTRAND (1963) e *in vivo* por BERGMAN et alii (1966), que constataram um fluxo de líquido da polpa através da dentina, fluxo este que tenderia a aumentar quando os prolongamentos dos odontoblastos são cortados, como ocorre nos preparos cavitários (BRÄNNSTRÖM, 1963). Além disso, autores como STÜBEN & KREUDENSTEIN (1957) e HALDI & WYNN (1963) determinaram por eletroforese, que o fluido da polpa conteria as mesmas frações protéicas do plasma sanguíneo, enquanto HALDI et alii (1965), COFFEY et alii (1970) determinaram que as concentrações de glicose, potássio, sódio, cloreto, magnésio, uréia e fosfatase alcalina eram semelhantes no fluxo dentinário e no plasma, o que reforça a possibilidade da polpa servir como fonte de substra

tos para os microrganismos.

Há de se considerar ainda, que se, realmente, o número de bactérias aumenta em função da proximidade com a polpa, isto é indicativo de que a dentina colhida no presente trabalho, corresponde à da região mais profunda da cavidade, sendo o critério adotado correto. Além do que, segundo BAMMANN (1974), a não utilização de um critério para a determinação da profundidade das cavidades pode acarretar a colheita de amostras das camadas mais superficiais. Esse aspecto foi o que, na opinião de BAMMANN (1974), ocorreu no estudo realizado por BURNETT & SCHERP (1951), no qual encontraram 10^5 bactérias.

Um outro aspecto a ser considerado e que pode reforçar o fato de que a proximidade da polpa influencia a concentração de microrganismos, é o diâmetro dos túbulos dentinários próximos à polpa. Assim, autores como GABEROGGIO & BRÄNNSTRÖM (1976) relatam que os túbulos dentinários humanos teriam $0,9 \mu\text{m}$ na dentina periférica; $1,2 \mu\text{m}$ na dentina intermediária e $2,5 \mu\text{m}$ na dentina mais profunda.

Associando-se a afirmação acima, de que os túbulos próximos à polpa são maiores que os da dentina periférica, com as observações de que a dentina de pacientes adultos jovens, como os selecionados no presente estudo, possuem poucos túbulos esclerosados (MERYON, JAKEMAN, BROWNE, 1986), a penetração microbiana poderia ser facilitada. Mesmo admitindo-se que nas cavidades cariosas, o dente responde à agressão, com formação de dentina reparadora, deve-se lembrar que particularmente nas cavidades profundas, as defesas pulpares podem estar conturbadas e que a dentina rea-

cional formada tende a ser menos mineralizada, o que confirma a possibilidade do avanço microbiano. Isto está de acordo com as conclusões de autores como HENRICI & HARTZELL (1921); CLARK (1924); CORBETT (1963); DOWDEN & LANGELAND (1969); SHOVELTON (1970), ao afirmarem que, não obstante, a dentina reacional reduzir a agressão à polpa, ela não impede a penetração dos microrganismos, pois embora a esclerose torne a dentina menos permeável, não chega a obliterar completamente os túbulos (MENAKER, 1984).

Outras referências foram encontradas na literatura sobre a concentração microbiana da dentina cariada profunda.

Assim, autores como KING, CRAWFORD, LINDAHL (1965), em uma primeira fase de seu estudo, encontraram, nos 51 casos estudados, uma concentração microbiana que variou desde 10^2 até 10^4 ou mais microrganismos neste tecido. MENAKER (1984) menciona que a dentina cariada possui três zonas, sendo que a mais superficial (zona infectada) conteria da ordem de 10^8 microrganismos, a zona intermediária, denominada pelo autor de "zona afetada", cuja concentração seria de 10^5 , e uma zona mais avançada, que seria hipermineralizada e que caracterizaria o fronte da lesão.

Pode-se constatar que, em se tratando de Exame Quantitativo, a comparação dos resultados do presente trabalho com o de outros autores, torna-se bastante difícil, pois diferenças nos resultados são encontradas até mesmo quando são utilizadas técnicas e proposições similares. Estas diferenças, segundo KING, CRAWFORD, LINDAHL (1965) e FISHER (1966, 1969), podem ser atribuídas aos métodos empre-

gados para a colheita do material, no isolamento de germes, tipos de meios de cultura, homogenização dos inóculos, tipos de incubação e outros fatores ligados às condições experimentais de cada estudo, sendo que estas diferenças tenderiam a ser mais patentes quando se trata de estudos envolvendo pacientes.

A contagem total mostrou ainda que os estreptococos foram isolados em todos os 50 casos estudados de I-MEDIATO e a ocorrência destes microrganismos na dentina cariada profunda confirma o relato de autores como GOADBY (1903); NIDERGEÄN (1915); HARTZELL & HENRICI (1917); CLARK (1924); CAMBY & BERNIER (1936); BESIC (1943); BURNETT & SCHERP (1951); SCHOUBOE & Mac DONALD (1962); CONRADO (1963); GIBBONS et alii (1964); JAGER & KLABER (1964); KING, CRAWFORD, LINDAHL (1965); APONTE, HARTSOOK, CROWLEY (1966); CRONE (1968); AZRILIAN & KURINA (1970); KALOYANNIDIS (1971); BIRAL, CONSANI, BERTOLINI (1971); FISHER (1966, 1969, 1972, 1977); BAMMANN (1974); LEUNG, LOESCH, CHARBENEAU (1980), FAIRBOURN, CHARBENEAU, LOESCH (1980); AL-MARSOOMI & AL-NASHI (1980), que também isolaram estreptococos desta região dentinária.

Simultaneamente à contagem total das CFU. i soladas e, tomando como base o estudo preliminar da morfologia colonial no M.S.A. (DIFCO), procedeu-se à CONTAGEM DIFERENCIAL, nas placas que apresentaram de 30 a 300 colônias, tendo sido detectados 4 tipos diferentes de CFU. As que apresentavam características morfológicas sugestivas de Enterococos foram denominadas de colônias Tipo a; enquanto as típicas de *Str. viridans*, de colônias Tipo b, c e d.

A contagem diferencial revelou que ANTES do tratamento nos diversos grupos, a percentagem de CFU. com características de Enterococos foi a seguinte: Grupo I_B (Controle) - 69,1%; Grupo II_B - 72,4%; Grupo III_B - 73,7%; Grupo IV_B - 87,7%; Grupo V_B - 83,4%.

Para o Sub-grupo A, cujo reexame das cavidades foi após 7 dias, encontrou-se, ANTES do tratamento, as seguintes percentagens de Enterococos: Grupo I_A (Controle) - 61,7%; Grupo II_A - 63,2%; Grupo III_A - 47,9%; Grupo IV_A - 60,5%; Grupo V_A - 62,6%.

Para as CFU. sugestivas da presença dos *Str. viridans* foram encontrados: Grupos I_B (Controle) - 30,8%; Grupo II_B - 27,5%; Grupo III_B - 26,2%; Grupo IV_B - 12,2%; Grupo V_B - 16,5%, enquanto nos demais grupos foram encontradas as seguintes percentagens: Grupo I_A (Controle) - 38,2%; Grupo II_A - 36,7%; Grupo III_A - 52,0%; Grupo IV_A - 39,4%; Grupo V_A - 37,3%.

Da contagem diferencial, foi armazenado em sangue desfibrinado de coelho, um total de 175 amostras, sendo que destas, 33 (18,7%) não mostraram viabilidade e, portanto, não puderam ser identificadas. Das 143 amostras viáveis (81,2%), 86 CFU. (60,1%) apresentavam características morfológicas de Enterococos e 57 (39,8%) indicavam a presença dos *Str. viridans*. Dessas 86 CFU. do Tipo a (Enterococos), 41 foram isoladas ANTES do tratamento, enquanto o mesmo ocorreu para 38 das 57 CFU. com morfologia de *Str. viridans*.

A partir dos tubos de armazenagem, passou-se à identificação dos diversos grupos de estreptococos, atra-

vês da realização das provas bioquímicas e de resistência frente aos agentes inibidores.

MIRANDA (1968) ressalta que apesar da importância dos métodos de identificação, com exceção daqueles utilizados para os estreptococos beta-hemolíticos, estes multas vezes são imprecisos e que, desta forma, o estudo da morfologia colonial deve merecer destaque especial, o que também é referido por BIRAL (1968), que menciona ainda, como igualmente importante, as reações no caldo hipersacarosado. Esta dificuldade na identificação de cocos em cadeia, Gram (+) catalase negativos, facultativos, em espécies bem definidas, também têm sido relatada por autores como CARLSSON (1967, 1968); BIRAL (1968); BAMMANN (1974); THEILADE et alii (1979).

Desta forma, no presente trabalho, foi dado ênfase especial ao estudo da morfologia colonial no M.S.A., o qual foi realizado, preliminarmente, quando do isolamento e da contagem diferencial das CFU., bem como por ocasião da identificação bioquímica.

Considerando, ainda, as observações de autores como SNEATH (1957a, b), as diversas características observadas foram consideradas como um todo e cada uma delas foi considerada igualmente importante.

Associando-se os resultados do estudo da morfologia colonial e das provas bioquímicas, constatou-se que das 41 CFU. do tipo a (Enterococos), 36 (87,8%) foram identificadas como *Str. faecalis*, enquanto as 5 CFU. restantes, por terem apresentado capacidade de liquefazer a gelatina, foram identificadas como *Str. faecalis* var. *liquefaciens*,

portanto, apresentam atividade proteolítica.

A análise dos resultados da contagem diferencial mostra que a ocorrência dos Enterococos foi alta em quase todos os grupos de estudo, chegando a índices de 87,7% no Grupo IV_B e 83,4% no Grupo V_B, entre outros. O único grupo em que esses microrganismos ocorreram numa frequência inferior aos *Str. viridans* foi o Grupo III_A, que mostrou um Índice de apenas 47,9% para os Enterococos e de 52,0% para os *Str. viridans*.

Esses resultados confirmam os achados de autores como BURNETT & SCHERP (1951), que estudando a distribuição dos microrganismos acidúricos e proteolíticos em cáries de esmalte, nas porções superficiais e profundas da dentina cariada, encontraram na zona avançada da dentina profunda, um índice relativamente baixo de bactérias proteolíticas (17%), sendo que microrganismos fortemente proteolíticos não foram encontrados. Os autores observaram, ainda, nesta zona, uma redução da flora cultivável em relação às camadas superficiais, relatando que na zona mais profunda a composição da microbiota se torna simples, sendo os Enterococos e os micrococos responsáveis por 90% do total de viáveis, índice este que se aproxima dos resultados encontrados no presente trabalho.

A menção de microrganismos com morfologia de Enterococos nas regiões profundas da dentina, também foi feita por autores como HOWE & HATCH (1917), que defendem que a flora destas cavidades tende a não ser variável, mas limitada, o que não está de acordo com EDWARDSSON (1974), que em seu estudo sobre a bacteriologia da dentina profunda,

afirma ser a flora desta região complexa e de grande variação.

Em contra-partida, os resultados do presente trabalho, com relação ao isolamento e identificação dos microrganismos do Grupo dos Enterococos, não estão de acordo com os resultados encontrados por BAMMANN (1974), que não encontrou, na dentina profunda, microrganismos com características de *Str. faecalis*, ressaltando a autora que esta ausência seria coerente com as conclusões de CARLSSON (1967), que ao examinar a distribuição dos estreptococos na superfície dentária, saliva, língua e mucosa vestibular de 4 pacientes, não isolou amostras com comportamento bioquímico de Enterococos. A autora relaciona, ainda, seu resultado com o de autores como ENGSTRÖM (1974); SUMMEY & JORDAN (1974), que sugerem que estes microrganismos na cavidade oral teriam como nicho preferencial, o sulco gengival.

A ocorrência dos Enterococos no presente estudo, poderia ser atribuída, inicialmente, a uma possível contaminação, já que a presença destes microrganismos tem sido relatada na saliva (WILLIAMS et alii, 1950; MORRIS, 1954; TOMASI & CORONELLI, 1973; GOLD, JORDAN, VAN HOUTE, 1975).

Contudo, há de se considerar que nossos resultados mostraram que ANTES do tratamento, os Enterococos foram isolados em 100% dos casos estudados, o que preencheria o primeiro postulado de KOCH, no qual afirma que o agente etiológico microbiano, sendo essencial, deve ser encontrado em todos os casos sem exceção. No entanto, tendo como certo que a recíproca desta afirmação não é verdadeira (BI

RAL, 1968), pode-se deduzir que, apesar da presença constante na dentina profunda, estes microrganismos podem não ser essenciais no desencadeamento das patologias pulpares.

Tal observação parece lógica, uma vez que autores como ENGSTRÖM et alii (1970), demonstraram que os Enterococos são frequentemente isolados de dentes com quadros clínicos de pulpites, sendo que este isolamento se dá numa frequência muito maior nas culturas mais tardias do que naquelas realizadas nas fases iniciais. Desta forma, os Enterococos estariam presentes, mas não seriam essenciais ao aparecimento destes quadros inflamatórios, tendo uma importância maior nos estágios finais dos mesmos e que culminariam com a necrose da polpa.

Uma segunda hipótese para explicar a ocorrência dos Enterococos nas cavidades profundas de cárie, envolveria aspectos de natureza metabólica e ecológica.

Para autores como PELCZAR, REID, CHAN (1980), dentre as interações que podem ocorrer entre os microrganismos está o denominado MUTUALISMO, no qual cada germe se beneficia da associação, sendo que um determinado tipo de mutualismo envolve a troca de nutrientes entre duas espécies, o que é denominado de SINTROFISMO, e que tem sido relatado por estes autores como o tipo de associação entre algumas espécies de Lactobacilos e o *Str. faecalis*. Assim, cada microrganismo produziria os metabólitos exigidos pelo outro, sendo dado como exemplo, os meios desprovidos de ácido fólico e de fenilalanina, nos quais ambos os microrganismos conseguem crescer, porque os Lactobacilos produziram o ácido fólico exigido pelo *Str. faecalis*, enquanto este produziria

os aminoácidos requeridos pelos *Lactobacilos*.

Diversos estudos têm relatado a presença marcante dos *Lactobacilos* nas cavidades profundas (KLIGLER, 1915; HOWE & HATCH, 1917; CAMBY & BERNIER, 1936; BESIC, 1943; SCHOUBOE & Mac DONALD, 1962; CONRADO, 1963; SHOVLIN, 1964; JAGER & KLABER, 1964; KING, CRAWFORD, LINDAHL, 1965; FISHER, 1966, 1969, 1972, 1977; APONTE, HARTSOOK, CROWLEY, 1966; SHOVLIN & GILLIS, 1969; BARBOSA & ARAÚJO, 1968; VAN HOUTE (1972); LOESCH & SYED, 1973; EDWARDSSON, 1974; LEUNG, LOESCH, CHARBENEAU, 1980; FAIRBOURN, CHARBENEAU, LOESCH, 1980; AL-MARSOOMI & AL-NASHI, 1980).

Considerando-se a possibilidade da existência de uma interação do tipo Sintrofismo entre os *Lactobacilos* e o *Str. faecalis*, como mencionam PELCZAR, REID, CHAN (1980), estaria explicada a ocorrência dos Enterococos na dentina profunda, aliás como foi observado no presente estudo.

Para os *Str. viridans*, a contagem diferencial revelou que ocorreram em todos os grupos de estudo, porém, com índices inferiores aos encontrados para os Enterococos, com exceção do Grupo III_A, cujo índice foi de 52,0%, mostrando-se ligeiramente superior ao dos Enterococos, cujo índice foi de 47,9%.

O estudo da morfologia colonial e o enquadramento das CFU. típicas de *Str. viridans* isoladas ANTES do tratamento (38), mostraram que os microrganismos mais prevalentes foram os do Grupo II de CARLSSON (*Str. mutans*) que corresponderam a 63,1% do total, seguidos do *Str. mitis* (Grupo V) com 21% e do *Str. sp* (Grupo IV) com 15,8%.

Os resultados encontrados confirmam em parte os achados de BAMMANN (1974), que também relata ser o *Str. mutans* (55,7%) a espécie mais prevalente, seguida do *Str. mitis* (26%). No entanto, a autora encontrou que 10,9% dos microrganismos isolados pertenciam ao Grupo I de CARLSSON (*Str. sanguis*), o que não foi confirmado no presente estudo. Já o *Str. sp.*, que correspondeu a 6,9% do total encontrado pela autora, foi a espécie microbiana que teve a menor incidência, o que também foi constatado no presente trabalho.

Quanto ao *Str. salivarius*, nossos resultados também estão de acordo com BAMMANN (1974), que não isolou estes microrganismos da dentina cariada profunda. Estes resultados teriam suporte nas observações de GIBBONS & VAN HOUTE (1971), ao afirmarem que o *Str. salivarius*, por possuir um tropismo positivo pelas células epiteliais, teria como nicho preferencial de colonização o dorso da língua. Esta ausência do *Str. salivarius*, segundo BAMMANN (1974) poderia ainda ser interpretada como consequência de mecanismos de competição bacteriana, uma vez que nem mesmo fatores como a retenção mecânica propiciada pelas cavidades, parecem ser suficientes para garantir a colonização desta espécie na dentina profunda.

A predominância do *Str. mutans* na dentina cariada profunda, se comparada ao *Str. mitis* e, principalmente, ao *Str. sanguis*, que pode estar ausente, como foi observado no presente trabalho, ou ocorrer em discretas proporções como afirma BAMMANN (1974), também foi relatada por LOESCH & SYED (1973), que utilizando como meios de cultura o MM 10 e o M.S.A. sem telurito de potássio, encontraram o

mesmo quadro bacteriológico referido por BAMMANN (1974).

Os achados do presente estudo, confirmam ainda os achados de BIRAL, CONSANI, BERTOLINI (1971), que verificando a ocorrência do *Str. mutans*, simultaneamente, em placa dental, cáries superficiais e profundas, em pacientes com atividade cáriosa moderada e ligeira, observaram que o *Str. mutans* ocorreu em 64,2% dos casos de cavidades profundas.

O isolamento do *Str. mutans* da dentina profunda também foi relatado por autores como LEUNG, LOESCH, CHARBENEAU (1980) e por FAIRBOURN, CHARBENEAU, LOESCH (1980), o que está de acordo com os resultados deste trabalho. Além do que, não referem o isolamento de *Str. sanguis*, que, como já mencionado, também não ocorreu em nenhum dos casos do presente estudo.

Os autores, embora relatem o isolamento do *Str. mutans*, consideraram sua frequência como relativamente baixa, se comparada ao total de viáveis, o que não está de acordo com os resultados do presente trabalho, em que os *Str. viridans* ocorreram numa frequência relativamente alta, e, principalmente, considerando-se o *Str. mutans*, que foi a espécie mais prevalente.

A prevalência do *Str. mutans* e a ausência do *Str. sanguis* observadas, parecem coerentes com as observações de autores como HOLMBERG & HALLANDER (1972), que, *in vitro*, demonstraram que a relação entre o *Str. mutans* e o *Str. sanguis* pode ser interpretada em termos de um antagonismo bacteriano, pois comprovaram que a ausência de um número significativo do *Str. sanguis* favorece a implantação do *Str. mu-*

tans; esta implantação também é influenciada pelas condições anatômicas das cavidades, que contribuem para a retenção mecânica destes germes.

A possibilidade de antagonismo entre o *Str. mutans* e o *Str. sanguis* é reforçada por CARLSSON (1970, 1972), onde sugere que estas duas espécies possuem similaridades quanto às suas exigências nutritivas, uma vez que, *in vitro*, ambos requerem glicose, cisteína, complexos vitamínicos e podem utilizar a amônia como principal fonte de nitrogênio.

A ausência do *Str. sanguis*, no presente trabalho, também é coerente com os estudos realizados por GIBBONS, KAPSIMALIS, SOCRANSKY (1964); PULLKINEN (1971); VAN HOUTE et alii (1971); CARLSSON (1972); LOESCH & SYED (1973); BAMMANN (1974); SOCRANSKY et alii (1977), quando constataram que esta espécie se coloniza principalmente na superfície dentária e, em especial, na placa dental.

A presença dos *Str. viridans* na dentina cariada foi ainda relatada por autores como: HARTZELL & HENRICI (1917); HAMMOND & TUNNICLIFF (1940); HARRISON (1948); CONRADO (1963), o que está de acordo com os resultados obtidos no presente estudo.

O trabalho realizado por CAMBY & BERNIER (1936) mostrou que dos 36 casos estudados, o *Str. viridans* só foi isolado em apenas 4 casos, enquanto BESIC (1943), de um total de 12 casos, verificou a presença dos *Str. viridans* em 2 ocasiões.

Tais resultados denotam uma incidência extremamente baixa dos *Str. viridans* nas cavidades profundas, o que não foi confirmado pela presente pesquisa.

Contudo, a despeito de não terem ocorrido numa frequência tão baixa quanto a mencionada nos estudos anteriores, ficou claro que os *Str. viridans* corresponderam quase sempre à parcela menor da microbiota da cárie profunda da dentina, o que está de acordo com autores como McNAMARA, FRIEDMAN, ROTH (1979); HOSHINO et alii (1984); THYLSTRUP & FEJERSKOV (1988).

A discussão dos resultados, da fase ANTES do tratamento dos dentes selecionados, forneceu dados relativos a dois problemas que envolvem o tratamento clínico das cavidades profundas, ou seja: a conveniência ou não de se remover totalmente a dentina cariada e a presença ou não de microorganismos nas camadas mais profundas da dentina cariada.

Um terceiro ponto, ainda controverso, gira em torno da efetividade ou não dos materiais capeadores em descontaminar a dentina. Assim sendo, os resultados obtidos no tratamento da dentina profunda com os materiais à base de Hidróxido de Cálcio, APÓS 7 dias (Estudo-E₄) e APÓS 30 dias (Estudo-E₃), servirão como ponto para se discutir e comparar a atividade antimicrobiana desses materiais sobre os estreptococos.

Dentre os materiais odontológicos utilizados como capeadores na proteção indireta da polpa, destacam-se o Óxido de Zinco e Eugenol (ZOE) e o Hidróxido de Cálcio.

Algumas pesquisas têm revelado o Hidróxido de Cálcio como o material protetor de escolha nas cavidades profundas. Isto pode ser atribuído ao fato de que o material colocado na cavidade dental deve ser considerado, em essên

cia, como o substituto da dentina, que protegia a polpa e tendo como função, encorajar a recuperação da polpa traumatizada.

Os resultados dos Estudos E₂ e E₄ mostraram que nos 5 dentes do Grupo Controle, cuja dentina não recebeu qualquer tipo de tratamento medicamentoso, sendo recoberta apenas com uma camada de parafina, a contagem total revelou que ANTES do tratamento, o número médio de CFU., que era de 106,4, APÓS 7 dias aumentou para 127,4 CFU., ocorrendo um aumento de 21 CFU.

Para os Estudos E₁ e E₃, nos 5 dentes estudados, que também foram utilizados como Controle, a contagem total mostrou que ANTES do tratamento o número médio de CFU. foi de 93 e APÓS 30 dias, este número subiu para 138,6 com um aumento de 45,6 CFU.

A análise destes resultados mostra que nos Grupos Controle, decorridos 7 dias (GRUPO I_B), o aumento no número de CFU. foi de 19,7% e nos dentes, cuja dentina foi reexaminada APÓS 30 dias (GRUPO I_A), o índice de aumento chegou a 49%.

A contagem diferencial mostrou que para o Grupo I_B, o número de CFU. do Tipo a (Enterococos), que era de 73,6, aumentou para 86,8 CFU., APÓS 7 dias (15,2%). O total de colônias dos Tipos b, c e d (*Str. viridans*), que ANTES do tratamento era de 32,8 CFU., aumentou para 40,6 CFU., ou seja, ocorreu um aumento de 19,2% em relação à contagem de ANTES do tratamento.

Para o Grupo I_A, o número de CFU. do Tipo a, ANTES do tratamento foi de 57,4 e, APÓS 30 DIAS, de 99,2

CFU., tendo ocorrido um aumento de 42,1%. Já o total de CFU. dos Tipos b, c e d, ANTES do tratamento, foi de 35,6, e APÓS 30 dias, este número foi de 39,4 CFU., o que corresponde a um aumento de 4,6%.

Para os Grupos Controle, nos períodos pós-operatórios, seria de se esperar que, apesar de dentina não ter sido tratada com Hidróxido de Cálcio, os procedimentos clínicos, como o preparo cavitário e a própria curetagem do soalho das cavidades, levassem pelo menos a uma pequena redução no número de CFU., como sugerem SELTZER (1940) MAC GREGOR, MARSLAND, BATTY (1956); WHITEHEAD, MAC GREGOR, MARSLAND (1960); CRONE (1968), quando mencionam que os procedimentos operatórios podem ajudar a reduzir o número de bactérias, o que não foi confirmado no presente trabalho.

Poder-se-ia esperar ainda, nestes Grupos (I_B e I_A), que em função do selamento das cavidades, uma diminuição no número de CFU., ou, pelo menos, que esse número se mantivesse inalterado, como mencionam LEUNG, LOESCH, CHARBENEAU (1980), pois utilizando metodologia semelhante e submetendo seus resultados a tratamento estatístico, não encontraram significância na diferença do número de CFU. antes e após.

Considerando-se a contagem diferencial, verifica-se que para as CFU. típicas de Enterococos, ocorreu um aumento de 15,2% no Grupo I_B (APÓS 7 dias) e de 42,1% no Grupo I_A (APÓS 30 dias), indicando que para este grupo microbiano não ocorreu paralisação no seu crescimento. Já para o grupo viridans, APÓS 7 dias foi observado um aumento de 19,2% no número de CFU. e APÓS 30 dias, de 4,6%. Contu-

do, levando-se em conta que em números absolutos o total de CFU., ANTES, foi de 35,6 e que APÓS 30 dias foi de 39,4, vemos que este número, em função do período do reexame das cavidades, pode ser considerado como inalterado, confirmando, portanto, as observações de LEUNG, LOESCH, CHARBENEAU(1980).

Uma possível explicação para o aumento por nós observado, seria a ocorrência de infiltração marginal, o que a princípio nos parece pouco provável, uma vez que a própria contagem diferencial nos mostra que a flora estreptocócica encontrada no exame microbiológico de IMEDIATO, foi também reencontrada na reabertura das cavidades, nos dois grupos controle.

Constata-se, portanto, que os mesmos tipos de CFU. encontrados ANTES do tratamento, também ocorreram APÓS 7 e 30 dias, acrescentando-se o fato de não terem sido isolados germes, que poderiam ser considerados como contaminantes, como por exemplo o *Str. salivarius*.

A observação dos resultados dos demais grupos em que o Hidróxido de Cálcio foi utilizado e nos quais sempre se evidenciou um decréscimo no número de CFU., reforça que a infiltração marginal não teve qualquer influência no aumento observado nos Grupos Controle.

Então, a que atribuir o aumento do número de CFU. nos Grupos Controle?

Um primeiro aspecto a ser considerado é o de que se o selamento das cavidades, mesmo por períodos curtos de tempo, como os utilizados no presente trabalho, for suficiente para restringir a nutrição dos microrganismos, e que estes, para se manterem viáveis e proliferarem, necessitam

de nutrientes suplementares (FISHER, 1966, 1969), então pode-se concluir que realmente a polpa funciona como fonte de substratos, como já foi anteriormente mencionado neste capítulo.

Um segundo ponto envolve aspectos de natureza bioquímica e/ou metabólica dos estreptococos, ainda em função de uma possível restrição de nutrientes ocasionada pelo selamento das cavidades.

Apesar da maioria das bactérias orais apresentar necessidades nutricionais muito complexas, estudos realizados com os estreptococos da boca têm demonstrado que esses microrganismos podem crescer sob condições nutritivas muito simples, o que tenderia a ocorrer nas cavidades profundas seladas. Como exemplo, pode-se considerar o metabolismo dos compostos nitrogenados pelos estreptococos, que são capazes de usar a amônia como única fonte de nitrogênio ou, em alguns casos, certos aminoácidos para crescer (St. MARTIN & WITTENBERGER, 1958; CARLSSON, 1972).

Ainda sob o ponto de vista metabólico, a literatura mostra que uma grande variedade de bactérias, dentre as quais os estreptococos, apresenta a capacidade de sintetizar polissacarídeos intra e extracelulares (GIBBONS, 1964; BAMMANN, 1974); e que a esses polissacarídeos intracelulares, tipo glicogênio-amilopectina, tem sido atribuída a função de reserva energética, a qual seria fundamental, não só para o crescimento microbiano na ausência de fontes exógenas, como também seriam essenciais para a regulação da pressão osmótica e a manutenção do pH intracelular, igualmente importantes para a manutenção da viabilidade das mes

mas (GIBBONS, 1966; BERMAN & GIBBONS, 1966; BUILDER & WALKER, 1970; DAWES & SENIOR, 1973; BIRKHEAD & TANZER, 1976).

Finalmente, de acordo com os trabalhos de BESIC (1943); SCHOUBOE & Mac DONALD (1962); FISHER (1966, 1969), onde verificaram que os microrganismos mantinham sua viabilidade, quando selados em cavidades com amálgama, por períodos de 1 até 26 meses, pode-se afirmar que os estreptococos encontrados nos dentes do Grupo Controle do presente trabalho, mantiveram-se viáveis.

Para os grupos onde a dentina foi tratada com os diversos materiais à base de Hidróxido de Cálcio, a análise dos resultados em termos percentuais mostra que no Estudo E₄, os índices de redução no número de CFU., APÓS 7 DIAS, foram os seguintes: Grupo II_B (DYCAL) - 35,6%; Grupo III_B (LIFE) - 4,6%; Grupo IV_B (RENEW) - 22,6%; Grupo V_B (PASTA) - 37,3%.

No Estudo-E₃, a contagem total mostrou que os índices de redução no número de CFU., APÓS 30 DIAS de tratamento, foram os seguintes: Grupo II_A (DYCAL) - 77,4%; Grupo III_A (LIFE) - 25,8%; Grupo IV_A (RENEW) - 57,2%; Grupo V_A (PASTA) - 38,5%.

Os resultados da contagem total mostraram alguns pontos importantes a serem considerados:

- 1º) Todos os materiais testados foram capazes, em maior ou menor grau, de reduzir o número de estreptococos, tanto aos 7 como aos 30 dias;
- 2º) Nenhum dos materiais testados, nos períodos considerados, mostrou-se capaz de descontaminar a dentina remanescente;

- 39) Os materiais testados apresentam diferentes potenciais antimicrobianos entre si;
- 49) O tempo de contacto dos materiais com o tecido contaminado tem influência na ação antimicrobiana dos mesmos.

A atividade antimicrobiana do Hidróxido de Cálcio tem sido objeto de muitos estudos, sendo que alguns pontos ainda não estão devidamente esclarecidos.

A eficácia dos materiais à base de Hidróxido de Cálcio, seja na sua forma pura, seja através de produtos comerciais, sobre os estreptococos, tem sido testada através de diversos trabalhos, tanto *in vitro*, como *in vivo*. O Dycal e a Pasta de Hidróxido de Cálcio têm merecido a atenção especial dos pesquisadores, embora nos últimos anos outros produtos comerciais, como o Hydrex, Procal, Reocap, Reolite, etc..., assim como o próprio Life e o Renew, venham sendo estudados quanto à sua atividade antimicrobiana.

Dos trabalhos *in vivo* utilizando o Dycal, merece destaque especial o que foi realizado por LEUNG, LOESCH, CHARBENEAU (1980), que estudaram o efeito deste material sobre bactérias de lesões cariosas profundas, dentre as quais os estreptococos, utilizando uma metodologia semelhante à do presente trabalho. Os autores observaram que o Dycal foi capaz de reduzir, significativamente, o número de CFU./mg de dentina cariada. Assim, após 4 semanas de tratamento com este material, o índice de redução relatado pelos autores foi de 90% em relação ao total de viáveis encontrados antes do tratamento.

Igual importância merece o trabalho de FAIR-

BOURN, CHARBENEAU, LOESCH (1980), no qual avaliaram o efeito antimicrobiano do Dycal melhorado e do IRM, sobre bactérias de cavidades de cáries profundas, com uma metodologia semelhante à utilizada por LEUNG, LOESCH, CHARBENEAU (1980). O reexame das cavidades foi realizado após 5 meses, tendo os autores concluído que o Dycal melhorado, após este período, levou a um decréscimo no número de CFU./mg de dentina da ordem de 94%.

Os autores concluíram, diante dos resultados obtidos, que é possível descontaminar a dentina utilizando materiais à base de Hidróxido de Cálcio.

Nos dois estudos, ficou caracterizada a excelente atividade do Dycal em reduzir o número de CFU. da dentina cariada profunda, o que está de acordo com os resultados do presente trabalho, onde o Dycal, APÓS 7 dias, reduziu a flora estreptocócica em 35,6% do total encontrado ANTES e em 77,4% nos dentes reexaminados APÓS 30 dias.

A descontaminação da dentina cariada profunda, utilizando a substância pura ou os cimentos de Hidróxido de Cálcio, tem sido relatada por diversos trabalhos realizados *in vivo*.

Assim, KING, CRAWFORD, LINDAHL (1965), após períodos que variaram de 25 a 206 dias, reexaminaram as cavidades cariosas profundas tratadas com uma Pasta de Hidróxido de Cálcio/metilcelulose e observaram que a dentina estava "estéril" em 13 dos 21 casos tratados, ou seja, em 61,9% dos casos.

APONTE, HARTSOOK, CROWLEY (1966) observaram que 30 molares decíduos, submetidos ao C.P.I. com Hidróxido

de Cálcio, por períodos que variaram de 6 a 46 meses, mostraram esterilidade em 93% dos casos.

AZRILIANI & KURINA (1969), utilizando o Hidróxido de Cálcio frente a microrganismos de cavidades de cárie de 60 pacientes, cuja análise microbiológica da dentina revelou a presença de estreptococos puros ou associados a Lactobacilos e a bacteróides, observaram "esterilidade" das cavidades em apenas 11 pacientes (18,3%).

FISHER (1972) estudou, *in vivo*, o efeito antimicrobiano da Pasta de Hidróxido de Cálcio sobre microrganismos da dentina cariada profunda, cujas culturas iniciais revelaram a presença de estreptococos. Decorridos 6 meses de tratamento, o autor observou que em 100% dos casos as cavidades estavam "estéreis".

Em 1977, FISHER, estudando, *in vivo*, o efeito do Dycal sobre microrganismos da dentina profunda de 27 pacientes, durante 6 meses de tratamento, observou que os dentes tratados com este material mostravam-se "estéreis" também em 100% dos casos.

Nos trabalhos anteriormente citados, observou-se que a descontaminação da dentina cariada profunda, tratada com os materiais à base de Hidróxido de Cálcio, ocorreu com uma variação de 18,3% até 100% dos casos. Esses resultados não foram confirmados no presente trabalho, pois em nenhum dos casos, tanto aos 7 como aos 30 dias, a descontaminação da dentina foi obtida.

A literatura mostra, ainda, alguns trabalhos *in vivo*, utilizando o Hidróxido de Cálcio puro (ROSEN, 1952; MAEGLIN, 1955; HAWES, DIMAGGIO, SAYEGH, 1964), em que os au

tores relatam a ineficácia deste material sobre microrganismos da dentina, dentre os quais os estreptococos. Esta observação está em desacordo com os resultados obtidos no presente trabalho.

Resultados de estudos *in vitro*, como os realizados por LACAZEDIEU et alii (1975) e FISHER (1977), em que foi testado o Dycal, bem como os trabalhos de FISHER & SHORTALL (1984); FORSTIN & SÖDERLINING (1984) e LADO et alii (1986), onde foram testados o Dycal, o Life e o Renew, estão de acordo com os do presente trabalho, pois relatam a eficácia destes materiais sobre os estreptococos.

Com relação à Pasta de Hidróxido de Cálcio, testada através de estudos *in vitro*, os resultados do presente trabalho confirmam as observações de KOZLOWSKA (1961); CONRADO (1963); STEVENS & GROSSMAN (1983) e SPERANÇA et alii (1985), pois relatam a eficácia deste material sobre os estreptococos.

Levando-se em conta os resultados da contagem diferencial em termos percentuais, verifica-se que APÓS 7 DIAS, os índices de redução no número de CFU. nos diversos grupos estudados foram os seguintes:

- 1º) Para os Enterococos: Grupo II_B (DYCAL) - 18,7%; Grupo III_B (LIFE) - 0,0%; Grupo IV_B (RENEW) - 19,4%; Grupo V_B (PASTA) - 28,6%;
- 2º) Para os *Str. viridans*: Grupo II_B (DYCAL) - 80,1%; Grupo III_B (LIFE) - 21,7%; Grupo IV_B (RENEW) - 45,5%; Grupo V_B (PASTA) - 81,2%.

No período de reexame, APÓS 30 DIAS, os índi

ces de redução no número de CFU. foram os seguintes:

- 1º) Para os Enterococos: Grupo II_A (DYCAL) - 72,3%; Grupo III_A (LIFE) - 17,8%, Grupo IV_A (RENEW) - 31,8%; Grupo V_A (PASTA) - 24,8%;
- 2º) Para os *Str. viridans*: Grupo II_A (DYCAL) - 86,2%; Grupo III_A (LIFE) - 33,2%; Grupo IV_A (RENEW) - 96%; Grupo V_A (PASTA) - 61,7%.

Pode-se observar que decorridos 7 dias do tratamento, todos os materiais testados, com exceção do Life, que no Grupo III_B não se mostrou eficaz sobre os Enterococos, foram capazes de reduzir número de CFU. dos dois grupos microbianos encontrados antes do tratamento.

Nos dentes reexaminados APÓS 30 DIAS, igualmente, todos os materiais testados foram eficazes em reduzir o número de CFU. tanto dos Enterococos como dos *Str. viridans*, inclusive o cimento Life, que após este período reduziu as C.F.U. típicas de Enterococos em 17,8% (Grupo III_A).

Nossos resultados confirmam, em parte, os resultados de autores como ONOSE, YAMASAKI, KURODA (1969), que estudaram, *in vitro*, a ação do Dycal sobre culturas puras de *Str. viridans* (*Str. mitis* e *Str. sp*) e sobre o *Str. faecalis*, após períodos de 15 dias, 3 e 6 meses, tendo concluído que o Dycal não se mostrou efetivo sobre o *Str. mitis* e sobre o *Str. faecalis*, mas frente ao *Str. sp*, o material foi efetivo e sua ação prolongou-se por 15 dias. Os autores ressaltam a ineficácia do agente capeador sobre o *Str. faecalis*, o que, *in vivo*, não foi confirmado no presente trabalho, pois o Dycal mostrou-se eficaz não só sobre os Enteroc

cocos como também sobre os *Str. viridans*, incluindo o *Str. mitis* e o *Str. sp*, tanto aos 7 como aos 30 dias.

Outros estudos *in vitro*, como os realizados por STEVENS & GROSSMAN (1983) e SPERANÇA, BIRAL, VALDRIGHI (1986), também relatam a ineficácia do Hidróxido de Cálcio sobre os Enterococos, o que não está de acordo com os resultados obtidos no presente trabalho.

Por outro lado, estudos como o realizado por SPERANÇA et alii (1985), em que a Pasta de Hidróxido de Cálcio foi testada através de provas de difusão sobre culturas puras de *Str. faecalis* var. *liquefaciens*, relatam que este material mostrou-se efetivo em inibir o crescimento deste germe, sendo esta efetividade confirmada pela presente pesquisa.

Com relação à eficácia do Hidróxido de Cálcio sobre os *Str. viridans*, FISHER (1977), na segunda fase de seu estudo, analisou, *in vitro*, a atividade antimicrobiana do Dycal e de uma Suspensão de Hidróxido de Cálcio a 10% sobre culturas puras de *Str. mutans*, tendo constatado que os dois materiais se mostraram efetivos sobre este germe.

FISHER & SHORTALL (1984) estudaram, *in vitro*, o efeito antimicrobiano do Dycal, Dycal melhorado, Procal, Life, Renew, MPC, Hydrex, Reolit, Reocap, Cal-Mer VII, através de provas de difusão e frente a culturas puras de *Str. mutans* (NCTC nº 10499). Concluíram que o Dycal, o Life e o Renew apresentaram atividade inibitória sobre o crescimento deste microrganismo.

FORSTEN & SÖDERLINING (1984) avaliaram, *in vitro*, o efeito do Dycal, do Life e do Renew, sobre cultu-

ras puras de *Str. mutans* (ATCC 25175), tendo observado que os três materiais foram eficazes sobre esse germe, ressaltando que o Dycal teria uma ação preponderantemente bactericida, enquanto a atividade do Life e do Renew seria bacteriostática.

SPERANÇA et alii (1985) estudaram *in vitro* a ação antimicrobiana da Pasta de Hidróxido de Cálcio sobre culturas puras de *Str. viridans* (*Str. mutans* e *Str. salivarius*) e os resultados dos testes de difusão mostraram que o referido material mostrou-se efetivo em inibir o crescimento dos mesmos.

Posteriormente, SPERANÇA, BIRAL, VALDRIGHI (1986) testaram o Dycal, o Life e o Renew sobre as mesmas culturas do estudo anterior, tendo, igualmente, observado a efetividade dos cimentos sobre estes germes.

De um modo geral, da análise dos estudos anteriormente citados, pode-se constatar que os materiais à base de Hidróxido de Cálcio são eficazes sobre microrganismos pertencentes ao grupo dos *Str. viridans*, o que está de acordo com os resultados do presente trabalho.

Um outro aspecto importante, revelado pela contagem total, é que os materiais testados apresentam diferentes potenciais antimicrobianos.

Assim, pode-se observar que, na redução das CFU. viáveis aos 7 dias, os materiais que melhor desempenho apresentaram foram a Pasta de Hidróxido de Cálcio e o Dycal, seguido do Renew. O Life mostrou uma baixa ação sobre os estreptococos da dentina, traduzida por uma redução de apenas 4,6% do total encontrado ANTES do tratamento. Decorridos 30

dias do tratamento, os materiais que melhor desempenho apresentaram foram o Dycal e o Renew, tendo a Pasta de Hidróxido de Cálcio mostrado uma atividade inferior à dos dois cimentos. O Life, mais uma vez, mostrou-se o menos efetivo, tendo, contudo, levado a uma redução de 25,8% do total de CFU., índice este superior aos 4,6% encontrados no Grupo III_B, APÓS 7 dias.

A diferença na ação antimicrobiana dos materiais estudados também foi observada, considerando-se a ação dos mesmos sobre cada grupo microbiano encontrado.

Assim, para os Enterococos, APÓS 7 dias, o material que melhor desempenho apresentou foi a Pasta de Hidróxido de Cálcio, seguido dos cimentos Renew e Dycal, sendo a atividade do Renew ligeiramente superior à do Dycal, pois o índice de redução do primeiro foi de 19,4% e o do segundo, de 18,7%. O Life, neste período, mostrou-se ineficaz perante este grupo microbiano.

Após 30 dias, os materiais que melhor desempenho apresentaram perante os Enterococos, foram o Dycal, o Renew e a Pasta de Hidróxido de Cálcio, cujo índice de redução foi inferior ao dos dois cimentos. O Life, neste período de tratamento, também mostrou-se o menos efetivo.

Com relação aos *Str. viridans*, APÓS 7 dias, os materiais que melhor desempenho apresentaram foram a Pasta de Hidróxido de Cálcio e o Dycal, tendo o Renew apresentado uma atividade inferior à dos dois materiais; entretanto, superior à do Life, que, também, mostrou-se o menos efetivo sobre este grupo microbiano.

Ainda considerando a ação dos materiais so-

bre os *Str. viridans*, no período APÓS 30 dias, verifica-se que o material que melhor desempenho apresentou foi o Renew, que chegou a reduzir o número de CFU. deste grupo em 96%, e o Dycal, cujo Índice de redução foi de 86,2%. A Pasta de Hidróxido de Cálcio, neste período, mostrou uma atividade inferior, com um índice de redução de 61,7%, como também o Life, que apresentou o menor índice de redução, ou seja, 31,7%.

Diante disso, pode-se afirmar que os resultados do presente estudo confirmam as observações de autores como CONRADO (1963); ONOSE, YAMASAKI, KURODA (1969); FISHER (1977); FISHER & SÖDERLINING (1984); SPERANÇA et alii (1985); SPERANÇA, BIRAL, VALDRIGHI (1986); MELO & RIBAS (1987); SPERANÇA et alii (1988a, b), que também constataram existir diferenças entre o potencial antimicrobiano dos materiais à base de Hidróxido de Cálcio.

Por outro lado, LADO et alii (1986) afirmam que quando o Dycal, o Life e o Renew são testados sobre estreptococos isolados de lesões cariosas profundas, apresentam uma significativa atividade antimicrobiana e que tal atividade é similar entre os três materiais. Tal afirmativa não se confirmou com os resultados obtidos no presente trabalho.

Para autores como SPERANÇA, BIRAL, VALDRIGHI (1986), as diferenças observadas na ação antimicrobiana dos materiais à base de Hidróxido de Cálcio, podem estar ligadas a fatores como: composição química dos materiais, diferenças no grau de difusibilidade, acréscimo de substâncias antissépticas às fórmulas originais dos cimentos, bem como diferenças entre o pH dos diversos materiais.

O Hidróxido de Cálcio apresenta-se como um pó branco, inodoro, com uma solubilidade de 1,2 g/l de água à temperatura de 25°C, solubilidade esta que decresce com o aumento de temperatura. É insolúvel no álcool e incompatível com ácidos (LOPES, COSTA FILHO, JONES Jr., 1986).

Um dos primeiros medicamentos à base de Hidróxido de Cálcio, foi o Calxyl etiqueta roxa, lançado por HERMANN (1935) e que continha na sua composição o Hidróxido de Cálcio, Bicarbonato de Sódio, Cloreto de Potássio, Cloreto de Sódio, Cloreto de Cálcio. Posteriormente, foi lançado o Calxyl etiqueta azul, que apresentava a mesma composição do anterior, acrescida de estrôncio para lhe conferir radiopacidade (CASTANGNOLA, 1956).

Ao lançar este produto, o autor teve como objetivo a obtenção de um material que fosse biologicamente compatível e que apresentasse as propriedades de um antisséptico forte, sem, no entanto, apresentar os efeitos adversos dos mesmos.

Desde então, o emprego do Hidróxido de Cálcio puro ou associado a outras substâncias, vem sendo exaustivamente estudado, podendo ser apresentado sob duas formas principais: as pastas e os cimentos (ARAÚJO et alii, 1986).

As pastas são constituídas basicamente de Hidróxido de Cálcio puro, associado, geralmente, à água destilada (PRADER, 1958; HEITHERSAY, 1970; KUTTLER, 1980; FONSECA, 1982).

Os cimentos de Hidróxido de Cálcio foram introduzidos no início dos anos 60 e são apresentados sob a forma de pastas base e catalizadora, que misturadas entre

si, tomam presa através da reação entre o Hidróxido de Cálcio e um éster fenólico, proveniente da reação entre o ácido salicílico e um álcool polihídrico (DOUGHERTY, 1962; STANLEY & LUNDI, 1972; ARAÚJO et alii, 1986).

CIPRIANO & NETTO (1987) mencionam que as pastas de Hidróxido de Cálcio estão particularmente indicadas para as proteções diretas da polpa, enquanto que os cimentos são mais indicados nas cavidades profundas, embora o seu emprego nas proteções diretas não seja descartado pelos autores.

A despeito das proteções diretas serem a principal indicação da Pasta de Hidróxido de Cálcio, ela foi utilizada no presente trabalho como material capeador indireto, não só com o objetivo de se estudar sua ação antimicrobiana *in vivo*, como também compará-la com os cimentos, cuja composição é bem mais complexa.

No que diz respeito à composição química dos cimentos, autores como ARAÚJO et alii (1986), referem que a pasta base do Dycal é constituída aproximadamente de 59% de uma carga inorgânica e pigmentos, dos quais predominam o dióxido de titânio, dispersa em 40% de um composto fenólico (1-3 salicilato de 1-3 butileno-glicol). A pasta catalizadora é composta de Hidróxido de Cálcio contendo pequenas quantidades de óxido de zinco, distribuídas em 37% de etil-toluenosulfonamida, utilizado como veículo.

Ainda segundo esses autores, o Renew contém na pasta base o Hidróxido de Cálcio e na pasta catalizadora encontram-se os ésteres fenólicos. A reação destas duas pastas também produz fenolato de cálcio, com as mesmas caracte

rísticas do Dycal.

O Life é apresentado igualmente sob a forma de pasta base e catalizadora, com composição e propriedades semelhantes à dos outros dois cimentos.

Portanto, já que os três cimentos estudados apresentam composição e propriedades semelhantes, seria de se esperar que a atividade antimicrobiana dos mesmos fosse equivalente, como relatam LADO et alii (1986), o que não foi confirmado na presente pesquisa, pois o Dycal e o Renew sempre mostraram-se superiores ao Life. Este fato está de acordo com os resultados dos estudos *in vitro*, realizados por FISHER & SHORTALL (1984); FORSTEN & SÖDERLINING (1984); SPERANÇA, BIRAL, VALDRIGHI (1986); SPERANÇA et alii (1988a).

Para explicar as diferenças observadas na ação antimicrobiana dos materiais em função da composição química dos mesmos, o trabalho realizado por FISHER & McCABE (1978) fornece subsídios importantes como, por exemplo, a influência que o tipo de matriz dos cimentos pode exercer sobre esta atividade. Desta forma, os autores mencionam que as diferenças observadas podem estar ligadas à natureza hidrofílica da matriz orgânica dos veículos, a qual permitirá uma maior ou menor liberação do Ca(OH)_2 . Em seu estudo, os autores observaram que o Hydrex possuía uma matriz oleosa, tipo parafina, que seria hidrófoba; enquanto o Dycal possui uma matriz hidrófila (etil-toluenosulfonamida). 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 de água, com a consequente liberação de Cálcio e ions (OH^-), que elevariam o pH do meio.

Portanto, para haver ação do Hidróxido de Cálcio, é necessária uma solubilidade mínima do material, para possibilitar uma liberação efetiva de íons Ca^{++} , e conferir-lhe ação terapêutica, proteolítica e estimuladora da barreira dentinária (RIBAS, MACCHI, BEIGELIS, 1979; McCOMB, 1983; FREITAS, 1984), e também liberar radicais hidroxila, que seriam responsáveis pela alcalinização do meio.

A importância exercida pelo tipo de matriz na ação dos materiais à base de Hidróxido de Cálcio é reforçada por autores como LOPES, COSTA FILHO, JONES Jr. (1986); LOPES & COSTA FILHO (1987), que preconizam a preparação do Hidróxido de Cálcio associado a veículos oleosos (azeite de oliva), argumentando que este tipo de veículo levaria a uma liberação iônica, mais lenta e contínua, tanto dos íons Ca^{++} , o que poderia facilitar a reparação da área, como também dos íons OH^- , que proporcionariam um ambiente inóspito (pH alcalino) ao crescimento bacteriano.

Outro ponto a ser considerado na diferença de potencial antimicrobiano dos materiais, é o seu grau de difusibilidade.

Esta difusibilidade estaria na dependência não só no tipo de matriz de cada material, como também estaria em função da condutividade dos materiais, condutividade esta que levaria a uma maior ou menor solubilidade dos mesmos. Assim, autores como FREITAS (1982), alertam que a condutividade é uma propriedade importante, porque representa a quantidade de substâncias inorgânicas extraídas dos cimentos.

Esse autor verificou que o Dycal apresenta u

ma alta condutividade e que a mesma é superior a do Life e, portanto, maior quantidade de Cálcio é liberada, o que significa dizer que o Dycal é mais solúvel que o Life.

Considerando-se que a reação entre a pasta base e a pasta catalizadora dos cimentos leva à formação de fenolato de cálcio, e que este apresenta uma solubilidade em água que varia de 1 a 4,5%, o Dycal, em função dessa solubilidade maior, libera mais íons hidroxila, o que implica num meio mais alcalino, e indicando uma ação antimicrobiana do Dycal superior a do Life.

Esta maior solubilidade do Dycal em relação ao Renew e ao Life, mencionada por FREITAS (1982), é confirmada por McCOMB (1983); contudo, não está de acordo com as observações de HWAS & SANDRIK (1984), que constataram que o Dycal é o cimento menos solúvel, seguido do Life e do Renew, o que também foi observado por PARDINI et alii (1986), que atribuem estas diferenças às variações de metodologia, no que diz respeito aos testes de solubilidade.

Com relação ao acréscimo de substâncias antimicrobianas às fórmulas originais dos cimentos, é sabido que a despeito de suas excelentes qualidades biológicas, a pasta de Hidróxido de Cálcio, associada à água destilada, não apresenta propriedades físicas satisfatórias; surgindo, então, a necessidade de melhorá-las. Dessa maneira, surgiram os produtos comerciais. Nestes produtos foram adicionadas substâncias que lhe conferem resistência à compressão e ao cisalhamento, coesão, adesão, radiopacidade e, até mesmo, substâncias que melhorassem sua atividade antisséptica.

SEKINE et alii (1960) consideravam que as

proteções pulpares com Hidróxido de Cálcio, muitas vezes, induziam a polpa a processos de supuração, alegando que este material não apresentava ação preventiva contra as infecções. Isto fez com que os autores formulassem diversas pastas de Hidróxido de Cálcio associando substâncias antibacterianas. Dentre essas surgiu a associação denominada CALVITAL, cujo pó é constituído de $\text{Ca}(\text{OH})_2$, iodofórmio, sulfatiazol e guanofuracin, e o líquido de propilenoglicol, tetracaína e água destilada.

Outros autores, com o objetivo de aumentar o poder bactericida do Hidróxido de Cálcio, preparavam-no com paramonoclorofenol canforado (KAISER, 1964) ou como BATIEVSKY et alii (1968), que produziram o BIOXYL, que era uma associação de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ como polimixina e tetraciclina.

Com relação aos cimentos, a possibilidade do acréscimo de substâncias antibacterianas à sua composição original, não pode ser descartada, pois a literatura não fornece informações precisas sobre a composição dos mesmos, o que envolveria inclusive, por parte dos fabricantes, segredos de fabricação.

Além disso, observa-se que os cimentos Dycal e Renew apresentaram uma ação mais efetiva que a Pasta de Hidróxido de Cálcio, principalmente APÓS 30 DIAS, o que enseja a seguinte pergunta: o Hidróxido de Cálcio contido no Dycal e no Renew teria uma ação superior a da própria substância pura contida na pasta?

Tal questão viria a reforçar a possibilidade de que outras substâncias podem fazer parte da composição original dos cimentos.

Um outro fator para explicar as diferenças na ação antimicrobiana dos materiais, estaria ligado ao pH dos mesmos.

Levando-se em conta que a atividade antimicrobiana do Hidróxido de Cálcio tem sido atribuída ao seu pH altamente alcalino, que cria um ambiente adverso para o crescimento da maioria dos microrganismos, como afirmam TEUSCHER & ZANDER (1938); GLASS & ZANDER (1949); CASTANGNOLA & ORLAY (1952, 1956); MAEGLIN (1955); NYBORG & SLACK (1960); LAWS (1962); HAYERLA & CERMEN (1962); MAISTO & CAPURRO (1964); CONRADO, FINN, WINKLER (1965); MAURICE, KROEGER, KIEGER (1965); FISHER (1972); PERDIZA (1972); BINNIE & ROWE (1973); HEITHERSAY (1975); CVEK, HOLLANDER, NORD (1976); FISHER & McCABE (1978); McCOMB (1983); LOPES, COSTA FILHO, JONES Jr. (1986); PARDINI et alii (1986); CIPRIANO & NETTO (1987); e que alguns estudos, como os realizados por CONRADO, FINN, WINKLER (1965), têm demonstrado que o pH da Pasta de Hidróxido de Cálcio é ligeiramente superior ao do Dycal, por exemplo, era de se esperar que a pasta apresentasse uma atividade antimicrobiana maior que a dos cimentos.

Essa superioridade da pasta de Hidróxido de Cálcio em relação aos cimentos, foi confirmada no presente trabalho, principalmente APÓS 7 DIAS de tratamento, tanto na redução do número de CFU. (Contagem Total) como sobre os grupos microbianos isolados (*Enterococos* e *Str. viridans*).

Contudo, nos grupos de 30 dias, os resultados da contagem total revelaram que o índice de redução para a pasta de Hidróxido de Cálcio permaneceu praticamente inalterado, diferentemente do que ocorreu com os cimentos,

cuja ação antimicrobiana mostrou-se mais efetiva após este período.

Tal observação veio a indicar, que além dos fatores anteriormente discutidos e que influenciam na atividade antisséptica dos mesmos, um outro fator deve ser considerado na análise desta atividade: TEMPO DE CONTACTO.

SPERANÇA, BIRAL, VALDRIGHI (1986) relatam a ineficácia dos cimentos Dycal, Life e Renew sobre culturas puras de *Str. faecalis* var. *liquefaciens*, quando utilizados por períodos curtos de tempo (10 e 15 minutos), ineficácia esta que não foi comprovada no estudo realizado por SPERANÇA et alii (1988a), em que foram utilizados períodos mais longos de contacto dos materiais com uma cultura de *Str. faecalis* (2, 4, 6, 8, 24 e 48 horas). As principais conclusões deste trabalho foram que: todos os cimentos testados apresentaram ação bactericida sobre o *Str. faecalis*; para os três cimentos o tempo de contacto foi diretamente proporcional à ação antimicrobiana dos mesmos; o Dycal apresentou uma efetividade maior que o Renew e o Life, sendo que este último requereu um tempo de contacto maior que o Renew para o aparecimento de alguma ação antimicrobiana.

Estes resultados estão de acordo com o presente trabalho, se for considerado que a contagem total mostrou que o Dycal foi mais efetivo que o Renew e este mais que o Life, tanto aos 7 como aos 30 dias.

Além disso, na observação *in vitro*, para os três cimentos testados, o tempo de contacto foi diretamente proporcional à ação antimicrobiana destes, como também foi constatado *in vivo*, no presente estudo. Além disso, obser-

vou-se que o Life requereu um tempo de contacto maior que o Dycal e o Renew, para o aparecimento da atividade antimicrobiana.

Por outro lado, nossos resultados não confirmam as observações de autores como ONOSE, YAMASAKI, KURODA (1969), pois observaram que o Dycal perdia sua ação com 15 dias e, pelo presente estudo, *in vivo*, a ação do Dycal foi maior APÓS 30 dias do tratamento.

SPERANÇA et alii (1985) constataram que após intervalos relativamente curtos (1, 5, 10 e 15 minutos) havia uma diminuição progressiva no índice de tubos contaminados, por ação da Pasta de Hidróxido de Cálcio. Assim sendo, após 1 minuto, o referido índice, que era de 100%, caiu para 80% após 5 e 10 minutos, chegando a 40% após 15 minutos de contacto com o *Str. faecalis* var. *liquefaciens*. Tal observação indicava que no emprego clínico da "lama de cal", destacando-se os capeamentos pulpares, o tempo de contacto cada vez mais prolongado, exerceria um efeito positivo na ação deste material sobre germes resistentes, o que não foi confirmado, posteriormente, por SPERANÇA et alii (1988b), onde a lama de cal manteve índices de 100% de tubos contaminados em todos os intervalos estudados.

Estes dados permitem inferir que a Pasta de Hidróxido de Cálcio teria um pico de ação que, *in vitro*, se daria em torno de 15 minutos e que decorridas 2 horas, esta ação não mais estaria presente, denotando que o material vai perdendo sua atividade antimicrobiana.

Semelhantemente às observações acima, no presente trabalho, quando a Pasta de Hidróxido de Cálcio foi

utilizada *in vivo*, apresentou melhor desempenho aos 7 dias de tratamento, com um índice de redução do número de CFU. de 37,3%, e nos dentes cujo reexame foi realizado APÓS 30 dias, este índice foi de 38,5%. O índice de redução, portanto, manteve-se praticamente inalterado, permitindo afirmar que a substância pura tem um pico de ação, *in vivo*, em torno de 7 dias e que com 30 dias, ela não é mais capaz de reduzir o número de microrganismos.

Para autores como PROSSER, GROFFMAN, WILSON (1982); FITZGERALD et alii (1983); BRÄNNSTRÖM (1984); PARDI NI et alii (1986); STEAGALL & SCHARFSTEIN (1987), a perda de ação do Hidróxido de Cálcio pode ocorrer tanto pela solubilidade da base pelo contacto com o fluido dentinário nas cavidades recém-preparadas, como também pelo efeito da infiltração marginal.

Como no presente estudo a infiltração marginal foi considerada como pouco provável, a perda de ação observada com a pasta de Hidróxido de Cálcio, poderia estar ligada a alterações na sua solubilidade. Em outras palavras, como a água é essencial para que ocorra a difusão dos íons, a desidratação dos materiais pode levar à perda de ação dos mesmos. Tal hipótese encontraria suporte nas observações de autores como FORSTEN & SÖDERLINING (1984), que mencionam, que em contraste com as condições *in vitro*, onde os materiais estão livres, o confinamento entre a restauração e o soalho pulpar favorece a ação do Hidróxido de Cálcio, ação esta que seria mais importante nos primeiros 30 dias, decrescendo com o tempo.

Com relação aos cimentos, alguns pesquisado-

res têm mencionado que estes, por serem solúveis, tendem a desaparecer sob as restaurações (AKESTER, 1979; BARNES, 1979; FITZGERALD et alii, 1983).

Como existem alguns relatos clínicos demonstrando que, em muitos casos, as bases de Hidróxido de Cálcio estão intactas, autores como PARDINI et alii (1986) su
põem que a dissolução das bases podem ou não ocorrer, est
ando, inclusive, na dependência de fatores como a condição marginal das cavidades.

No presente trabalho, durante a reabertura das cavidades, constatou-se que os cimentos, utilizados co
mo material capeador, estavam íntegros em 100% dos casos, po
rém, mostravam-se secos e quebradiços.

Como PARDINI et alii (1986) mencionam que, para os cimentos, o período de 30 dias é insuficiente para provocar a dissolução e a desintegração completa das bases, isto poderia explicar o fato destes materiais ainda mostr
ar atividade antimicrobiana neste período. Já a pasta de Hidróxido de Cálcio, pelo fato de não tomar presa e ter propriedades físicas inferiores à dos cimentos, ten
deria a se desintegrar mais rapidamente (TRONSTAD & MJOR, 1972).

Um último ponto a ser analisado, diz respeito às implicações clínicas do isolamento dos Enterococos e dos *Str. viridans* da dentina cariada profunda.

Os resultados encontrados no presente trabalho revelaram que a espécie mais prevalente dos Enterococos foi o *Str. faecalis*, enquanto a espécie mais prevalente dos *Str. viridans* foi o *Str. mutans*.

GIBBONS & SOCRANSKY (1973) comentam que os dentes infectados podem ser a maior fonte de endocardite bacteriana sub-aguda e que essa patologia é frequentemente atribuída aos *Str. viridans*, principalmente aos *Str. mutans* ou *Str. sanguis*.

Vários autores têm descrito casos de endocardite bacteriana produzida pelos *Str. mutans* (DE STOPPELAAR, 1971; DE MOOR, DE STOPPELAAR, VAN HOUTE, 1972; FACKLAN, 1974; HARDER et alii, 1974; PERCH, KJEMS, RAVN, 1974).

ZEBRAL & ETHER (1984) mencionam que o *Str. faecalis* é o responsável por cerca de 10 a 20% dos casos de endocardite, enquanto MANSUR et alii (1985), estudando 277 episódios de endocardite infecciosa de origem médico-dentária, observaram que os estreptococos eram os agentes etiológicos em 120 casos, sendo 80 atribuídos aos *Str. viridans*, 17 ao *Str. faecalis*, 8 ao *Str. bovis* e 5 a outros tipos.

As bacteremias transitórias, em função de procedimentos odontológicos, vão desde a simples colocação de grampos para isolamento absoluto até cirurgias mais amplas (MOUSLADE, EYKYN, PHILLIP, 1980).

Alguns trabalhos têm relatado a ocorrência de bacteremias associadas a procedimentos restauradores.

Assim, WAGNER & KRUGER (1963) relataram ocorrer bacteremias transitórias após preparos cavitários Classe I e Classe II. Os autores observaram a presença de hemoculturas positivas tanto relacionadas aos preparos cavitários propriamente ditos, como na colocação da matriz.

KLOTZ, GERSTEIN, BAHN (1965) detectaram bacteremias quando foram realizados capeamentos em polpas in-

fectadas, nas quais foram aplicados corticosteróides tópicos.

Não obstante SELTZER & BENDER (1979) afirmam que a simples presença de bactérias na polpa não implica no aparecimento de infecção ou de bacteremias, novos estudos devem ser realizados, a fim de determinar se a manipulação dos tecidos cariados profundos levaria ou não à instalação de bacteremias transitórias, o que, se comprovado, implicaria na indicação de profilaxia antibiótica, nos casos de pacientes de risco, uma vez que nestes casos a prevenção é o fator mais importante (GOODMAN & GILMAN, 1987).

VII. CONCLUSÕES

VII. CONCLUSÕES

- 19) Dos cinquenta casos de cavidades profundas, estudados microbiologicamente de **IMEDIATO**, todos mostraram contaminação da dentina por estreptococos.
- 29) No período **ANTES** do tratamento foram isolados dois grupos principais: os Enterococos e os *Str. viridans*.
- 39) Os Enterococos, **ANTES** do tratamento, ocorreram numa frequência maior que os *Str. viridans*, exceção feita a apenas um grupo de estudo, em que se observou o contrário.
- 49) Dos Enterococos, **ANTES** do tratamento, a espécie predominante foi o *Str. faecalis*, seguido do *Str. faecalis* var. *liquefaciens*, não tendo ocorrido outras espécies de Enterococos.
- 59) Para os *Str. viridans*, a espécie mais prevalente **ANTES** do tratamento foi o *Str. mutans*, seguida do *Str. mitis* e do *Str. sp.*, que foi a espécie de menor prevalência.

- 69) Decorridos 7 e 30 dias de tratamento, os dentes do Grupo Controle mostraram um aumento no número de CFU., aumento este que foi maior após 30 dias.
- 79) Nos dentes em que a dentina profunda foi tratada com os materiais à base de Hidróxido de Cálcio, ocorreu uma diminuição no número de CFU., tanto aos 7 como aos 30 dias.
- 89) Dos materiais testados, a Pasta de Hidróxido de Cálcio apresentou uma atividade superior à dos cimentos, aos 7 dias, sendo que após 30 dias sua ação permaneceu inalterada.
- 99) Os cimentos apresentaram uma ação antimicrobiana mais efetiva que a Pasta de Hidróxido de Cálcio, após 30 dias de tratamento, sendo que o Dycal e o Renew sempre mostraram uma atividade superior à do Life.
- 109) Os materiais à base de Hidróxido de Cálcio, testados *in vivo*, mostraram-se efetivos tanto sobre os Enterococos como sobre os *Str. viridans*, sendo que a atividade sobre o segundo grupo foi sempre maior nos dois períodos estudados.
- 119) Nenhum dos materiais à base de Hidróxido de Cálcio mostrou, nos períodos estudados, capacidade de descontaminar a dentina cariada profunda.

129) Para todos os materiais testados, o tempo de contacto com o tecido contaminado mostrou ter influência na atividade antimicrobiana dos mesmos.

VIII. RESUMO

VIII. RESUMO

O tratamento clínico das cavidades de cárie profundas representa um dos maiores problemas na prática da Odontologia, persistindo dúvidas quanto: a presença ou não de microrganismos na região mais avançada da lesão, a conveniência ou não em se remover totalmente a dentina cariada, com o risco de se expor a polpa e a efetividade ou não dos materiais em descontaminar este tecido.

No presente trabalho foram utilizados 50 dentes permanentes, de pacientes jovens, assintomáticos, portadores de lesões cariosas oclusais (CLASSE I), com comprometimento de 2/3 da dentina, sem evidências de lesões periapicais e que permitissem o isolamento absoluto, os quais foram divididos em 5 Grupos de estudo: Controle, Dycal, Life, Renew e Pasta de Hidróxido de Cálcio.

O exame microbiológico da dentina seguiu a técnica preconizada por GIBBONS et alii (1963) e SOCRANSKY et alii (1963). O referido exame foi realizado de IMEDIATO, para a dentina MESIAL dos 50 dentes, enquanto a dentina DISTAL, devidamente tratada em cada Grupo, foi reexaminada APÓS períodos de 7 dias (25 dentes) e de 30 dias (25 dentes).

De acordo com os resultados obtidos, os auto

res concluíram que em 100% dos casos a dentina **MESIAL** se mostrou contaminada; a dentina **DISTAL** do Grupo Controle, recoberta com material inerte (parafina), apresentou um índice de contaminação diretamente proporcional aos períodos de observação dos estudos; enquanto que nenhum dos materiais testados mostrou capacidade, nos períodos de tempo estudados, em descontaminar a dentina. Os autores observaram ainda, que os diversos materiais à base de Hidróxido de Cálcio possuem diferentes potenciais antimicrobianos entre si, sendo que esta propriedade mostrou ser influenciada pelo tempo de contacto com o tecido contaminado.

IX. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

IX. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AKESTER, J. Disappearing Dycal. Br. dent. J., 146: 369, 1979.
2. AL-MARSOOMI, A. & AL-NASHI, Y. Bacteriology of deep-seated carious lesions. Oral Surg., 50: 89-90, July 1980.
3. ALLEN, E.F. Statistical study of the primary causes of extraction. J. dent. Res., 23: 453, 1944.
4. ANDREWES, G. & KROGH, H.W. Permanent tooth mortality. Dent. Progr., 1: 130, 1961.
5. APONTE, A.J.; HARTSOOK, J.T.; CROWLEY, M.C. Indirect pulp capping success verified. J. Dent. Child., 33: 164-166, May 1966.
6. ARAÚJO, P.A. et alii. Materiais Dentários. I. Não Metálicos. 1 ed. São Paulo. American Med., 1986. p.68.
7. ASSUMPÇÃO, R.M.V. & MORITA, T. Manual de Soluções, Reagentes e Solventes. 1 ed. São Paulo. Edgar Brii-cher Ltda., 1968. p. 239.

8. AZRILIAN, I.I. & KURINA, S.A. The effect of calcium hydroxide on the microflora of caries cavities. Stomat. Moskva., 48(2): 76-77, Mar/Apr. 1969. Apud Oral Res. Abstr., 5: 34, 1970.
9. BAMMANN, L.L. Espectro Microbiano da Cárie Profunda de Dentina. Rio de Janeiro, 1974. (Tese (Mestrado) - UFRJ).
10. BARBOSA, M.T. & ARAÚJO, W.C. Ocorrência de *Lactobacillus* nos nichos microbianos da cavidade da boca. Arq. Cent. Est. Fac. Odont. UFMG., 5: 115-122, 1968.
11. BARKER, B.C.W. & LOCKETT, B.C. Utilization of the Mandibular Pre-molars of the dog for endodontic research. Aust. dent. J., 16: 280-286, 1971.
12. BARKER, J.N. Sterilization of dentin. Aust. dent. J., 29: 156, May 1935.
13. BARNES, I.F. Disappearing Dycal. Br. dent. J., 146: 111, 1979.
14. BATTIEVSKY, E.S. et alii. Pulpitis treatment with bioxyl paste and diadynamic current. Stomat. Moskva., 47(1): 31-33, Jan/fev., 1968. Apud Oral Res. Abstr., 4: 216, 1969.

15. BERGENHOLTZ, G. & REIT, G. Reactions of the dental pulp to microbial provocation of calcium hydroxide treated dentin. Scand. J. dent. Res., 88: 187-192, 1980.
16. BERGMAN, G. & SILJESTRAND, B. Water evaporation *in vitro* from human dental enamel. Arch. Oral. biol., 8: 37, 1963.
17. _____ et alii. An attempt to analyse the enamel fluid. O. Proc., 4: 163, 1966. In: SELTZER, S. & BENDER, I.B. op. cit. ref. 306.
18. BERK, H. The effect of calcium hydroxide methylcellulose past on the dental pulp. J. Dent. Child., 17(4): 65-68, 1950.
19. _____ & KRAKOW, A.A. Efficient vital pulp therapy. Dent. Clin. N. Amer., 7: 373-387, July 1965.
20. _____ et alii. Clinical situation in which amputati^on is preferred to pulp capping because of biologic considerations. J. Am. dent. Ass., 90: 801-805, 1975.
21. BERMAN, K.S. & GIBBONS, R.J. Odophilic polysaccharide syntesis by human and rodent oral bacteria. Arch. O-ral Biol., 11: 533-542, 1966.

22. BESIC, F.C. The fate of bacteria sealed in dental cavities. J. dent. Res., 22: 349-354, 1943.
23. BHASKAR, S.N.; CUTRIGHT, D.E.; VAN-OSDEL, V. Tissue response to cortisone containing and cortisone free calcium hydroxide. J. Dent. Child., 36: 193-198, 1969.
24. BIER, O. Bacteriologia e Imunologia. 22 ed. São Paulo. Melhoramentos, 1982. p. 791.
25. BIFFI, J.C.G. et alii. Avaliação Radiográfica e Histo-bacteriológica da Cárie Dental. Revta. Ass. paul. Cirurg. dent., 37(4): 346-360, Jul/Ago. 1983.
26. BINNIE, W.H. & MITCHELL, D.F. Induced calcification in the subdermal tissues of the rat. J. dent. Res., 52: 1087-1091, 1973.
27. _____ & ROWE, A.H.R. A histological study of the periapical tissues of incompletely formed pulpless teeth filled with calcium hydroxide. J. dent. Res., 52: 1110, 1973.
28. BIRAL, R.R. Estreptococos de placas dentais humanas e seu significado em relação à cárie. Piracicaba, 1968. (Tese (Doutorado) - FOP).

29. BIRAL, R.R. & BERTOLINI, P. Identificação bacteriológica dos estreptococos indutores de cárie (*Str. mutans*). Revta bras. Odont., 27: 291-297, 1970.
30. _____; ABBE, A.; BERTOLINI, P. Ocorrência de "espécies" de enterococos em canais radiculares em tratamentos com cloranfenicol. Revta. Farm. Odont., 366: 4-12, 1971.
31. _____; CONSANI, S.; BERTOLINI, P. Verificação da ocorrência de *Str. mutans*, simultaneamente em placas dentais, cárie superficial e profunda em indivíduos com atividade de cárie moderada e ligeira. Bull Dent. Operat. (FOP/UEC), 3: 106-112, 1971.
32. _____; _____; _____. Verificação da ocorrência de enterococos em placas dentais humanas. Revta. Farm. Odont., 39: 27-30, 1974.
33. _____; PUPPO, J.; VALDRIGHI, L. Medicação tópica intra-canal - Estado atual da questão. Sem. Odont. Piracicaba, 1987. pp. 14-15 (Resumos).
34. BIRKHED, D. & TANZER, J.M. Glycogen syntesis pathway in *Streptococcus mutans* strain netc 104495 and its glycogen syntesis - defective mutant 805. Arch. Oral Biol., 24: 67-73, 1976.

35. BRADY, E.P. The carious tooth. Dent. Cosmos, 76: 1058-1063, Oct. 1934.
36. BRÄNNSTRÖM, M. Cavity preparation and the pulp. Dent. Progr., 2: 4, Oct. 1961.
37. _____. Dentin sensitivity and aspiration of odontoblasts. J. Am. dent. Ass., 66: 366, 1963.
38. _____. Communication between the oral cavity and the dental pulp associated with resorative treatment. Operat. Dent., 9: 57-68, 1984.
39. BREED, R.S.; MURRAY, E.G.D.; SMITH, N.R. Bergey's manual of determinative bacteriology. 7 ed. Baltimore. The Williams & Williams Co., 1957. pp. 508-529.
40. BROUKAL, Z. & ZEMANOVA, E. Antimicrobial properties of a zinc oxid-eugenol cement Caryosan, manufactured in Czeschoslovckia. Prakt. Zub. Lek., 20(2): 36-42, March. 1972. Apud Oral Res. Abstr., 8(4): 327, 1973.
41. BUILDER, J.E. & WALKER, G.J. Metabolism of the reserve Polysaccharide of *Streptococcus mutis*. Properties of Glycogen-syntetase. Carbohydr. Res., 14: 35-51, 1970.
42. BUONOCORE, M.G. How good is vital pulpotomy for primary and permanent teeth? J. Dent. Child., 27: 85-90, 1960.

43. BURNETT, G.W. & SCHERP, H.W. The distribution of proteolytic and aciduric bacteria in the saliva and the carious lesions. Oral Surg., 4: 469, 1951.
44. _____; _____; SCHUSTER, S.G. Microbiologia Oral e Doenças Infecciosas. 4 ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 1978. pp. 219, 285, 295.
45. BURROWS, W. Textbook of Microbiology. 8 ed. Philadelphia and London. Saunders, 1979. pp. 26, 81.
46. CABRINI, R.L.; MAISTO, O.A.; MANFREDI, E.E. Protection of normal human pulp experimentally exposed to the oral environment. Oral Surg., 19: 244-246, 1965.
47. CAMBY, C.P. & BERNIER, J.L. Bacteriologic studies of carious dentin. J. Am. dent. Ass., 23: 2083-2089, 1936.
48. _____ & BURNETT, G.W. Microorganisms of deep dental caries. J. dent. Res., 39: 685, 1960 (Abstr.).
49. CARLSSON, J. Zooglea forming *Streptococci* resembling *Streptococci sanguis*, isolated from dental plaque in man. Odont. Revy., 16: 348-358, 1965.
50. _____. Presence of carious types of non-hemolytic *Streptococci* in dental plaque and in the other sites of the oral cavity in man. Odont. Revy., 18: 55-74, 1967.

51. CARLSSON, J. A numerical taxonomic study of human oral *Streptococci*. Odont. Revy., 19(2): 137-160, 1968.
52. _____. Nutritional requirements of *Streptococcus sanguis*. Arch. Oral Biol., 17: 1327-1332, 1972.
53. CASTANGNOLA, L. Conservacion de la vitalidad de la pulpa en la operatoria dental. Trad. p. D. Schwarcz, Buenos Aires, Mundi, 1956. pp. 13-19.
54. _____ & ORLAY, H.G. Direct capping of the pulp and vital amputation. Br. dent. J., 88: 324-330, 1950.
55. _____ & _____. Treatment of gangrene of the pulp by the Walkhoff method. Br. dent. J., 93: 93-102, Aug. 1952.
56. _____ & _____. A system of endodontic. London. Pitman Medical Publishing Co., 1956. pp. 33-34, 66-79.
57. CHARBENEAU, G.T. Cavity medication. A critical review of the literature. Dent. Items Interest., 72(5), May 1949.
58. _____ et alii. Principles and Practice of Operative Dentistry. Philadelphia. Lea & Febiger, 1975.

59. CHAVES, M.M. Odontologia Social. 2 ed. Rio de Janeiro. Labor do Brasil, 1977. p. 25.
60. CIPRIANO, T.M. & NETTO, N.G. Hidróxido de Cálcio: Tipos e Indicações. Revta. Ass. paul. Cirurg. Dent., 41(2): 100-111, mar/abr. 1987.
61. CLARK, J.K. On the bacterial factor in the etiology of dental caries. Br. J. Exptl. Path., 5: 141, 1924.
62. CLARK, H.F. Personal Communications, 1959. In: DIFCO MANUAL. op. cit. ref. 81.
63. COFFEY, C.I. et alii. Analysis of human dentinal fluid. Oral Surg., 30: 835, 1970.
64. COHEN, S. & BURNS, R.C. Caminhos da Polpa. 2 ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 1982. p. 376.
65. COLABONE, D.A. & TOLEDO, O.A. Reação do tecido sub-cutâneo do rato ao implante de materiais à base de Hidróxido de Cálcio (Life e Tubulidrox). Estudo Histológico. Ars Cvrandi Odont., 5: 15, abril/maio/junho 1983.
66. COLTON, M.V. & EHRLICH, E. Bactericidal effect obtained by addition of antibiotics to dental cements and direct filling resins. J. Am. dent. Ass., 47(11): 524-531, Nov. 1953.

67. CONRADO, C.A. Bacteriostatic and Bactericidal properties of calcium hydroxide and calcium hydroxide containing cavity bases *in vitro* using carious dentin as the source microorganisms. Alabama, 1963. (Thesis (Master) - Univ. Alab.).
68. _____; FINN, S.D.; WINKLER, C.H. Considerações sobre o pH do Hidróxido de Cálcio. Revta. bras. Odont., 24(134): 56-61, mar/abr. 1965.
69. CORBETT, M.E. The incidence of secondary dentine in carious teeth. Br. dent. J., 114: 142-147, 1963.
70. COTTON, W.R. Bacterial contamination as a factor in healing of pulp exposures. Oral Surg., 38(3): 441-450, Sept. 1974.
71. 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) : 327-339, 1982.
72. CRONE, F.L. Deep dentinal caries from microbiological point view. Int. dent. J., 18: 481-488, 1968.
73. CURTI, A.J.; FICHMAN, D.M.; PAGANI, C. Resistência do Hidróxido de Cálcio, Óxido de Zinco e Eugenol e Cimento de Policarboxilato à condensação de Amálgama. Ars Cvrandi Odont., 61: 34-39, 1979.

74. 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.
75. DAMELE, J.J. Clinical evaluation of indirect pulp capping: Progress report. J. dent. Res., 40: 756, 1961.
76. DAWES, E.A. & SENIOR, P.Y. The role and regulation of energy reserve polymers in microorganisms. Adv. Microb. Physiol., 10: 136-266, 1973.
77. DE DEUS, Q. Endodontia. 2 ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 1976. p. 199.
78. DEIBEL, R.H. et alii. The group D of *Streptococci*. Bact. Revy., 28: 330-336, 1964.
79. DE MOOR, C.E.; DE STOPPELAAR, J.D.; VAN HOUTE, J. The occurrence of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguis* in the blood of endocarditis patients. Caries Res., 6(1): 73-74, 1972.
80. DE STOPPELAAR, J.D. *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* and DENTAL CARIES. Excerpt. Méd., 25(1): 90, 1971.

81. DIFCO MANUAL. Supplementary Literature, Detroit, Michigan. USA, Oct. 1968. pp. 184, 392.
82. DI FIORE, P.M. et alii. The antibacterial effects of calcium hydroxide apertification pastes on *Streptococcus sanguis*. Oral Surg., 55(1): 91-94, Jan. 1983.
83. DORFMAN, A.; STEPHAN, R.M.; MUNTZ, J.A. *In vitro* studies on sterilization of carious dentin. II. Extent of infection in carious lesion. J. Am. dent. Ass., 30(2): 1901-1904, 1943.
84. DOUGHERTY, E.W. Us patent 3,047,408. Dental cements material, 1962. Apud SMITH, D.C. op. cit. ref. 325.
85. DOWDEN, W.E. & LANGELAND, K. A correlation of pulpal histopathology with clinical symptoms. J. dent. Res., 48: 183, 1969 (Abstr.).
86. DUNICAN, L.K. & SEELEY, H.W. Starch hydrolysis by *Streptococcus equinus*. J. Bact., 83: 264-269, 1962.
87. EDA, S. Histochemical analysis on the mechanisms of dentin formation in dog's pulp. Bull Tokyo Dent. Coll., 2(2): 59-88, Sept. 1961.
88. EDWARDSSON, S. Characteristics of caries inducing human *Streptococci* resembling *Str. mutans*. Arch. Oral Biol., 13: 637-646, 1968.

89. EDWARDSSON, S. Bacteriological studies on deep areas of caries dentin. Odont. Revy., 25: 100-103, 1974. (Supply 32).
90. EILDELMAN, E. et alii. Remineralization of carious dentin treated with calcium hydroxide. J. Dent. Child., 32(4). 218-225, 1965.
91. ENGLANDER, H.R.; JAMES, V.E.; MASSLER, M. Histologic effects of silver nitrate on human dentin and pulp. J. Am. dent. Ass., 57(5): 621-630, Nov. 1958.
92. ENGSTRÖM, B. The significance of enterococci in root canal treatment. Odont. Revy., 15: 87, 1974.
93. _____ et alii. Rotkanalsinfektionevs typ och frekvens. Odont. Sam - Finland, 1969-1970. Apud MEJARE, B. op. cit. ref. 233.
94. FACKLAM, R.R. Characteristics of *Streptococcus mutans* isolated from human dental plaque and blood. Int. Y. Syst. Bact., 24(2): 313-319, 1974.
95. FAIRBOURN, D.R.; CHARBENEAU, G.T.; LOESCH, W.J. Effect of improved Dycal an Irm on bacteria in deep carious lesions. J. Am. dent. Ass., 100(4): 547-552, Apr. 1980.

96. FENNER, H. Spatresulfater der einwirkund des Calxyls bei der direkten pulpauber kappung und bei vitalampu tation der pulpa. Schweiz Mschr Zahnl., 54: 651-682, Sept. 1944. Apud CONRADO, C.A. op. cit. ref. 67.
97. 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.
98. FICHMAN, D.M.; CURTI, A.J.; PAGANI, C. Resistência do Hidróxido de Cálcio, Óxido de Zinco e Eugenol e Cimento de Policarboxilato à condensação de Amálgama . Ars. Cvrandi Odont., 4: 24-29, 1977.
99. FINN, S.B. Cavity sterilization - an un necessary step. Dent. Clin. North. Am., 663-670, Nov. 1960.
100. FISH, E.W. Jr. Phisiology of dentine and its reactions to injury and diseases. Br. dent. J., 14: 593, 1928.
101. FISHER, F.J. The viability of micro-organisms in carious dentine beneath amalgam restorations. Br. dent. J., 121: 413-416, Nov. 1966.
102. _____ . The viability of micro-organisms in carious dentin beneath amalgam restorations. Br. dent. J. , 126(8): 355-356, April 1969.

103. FISHER, F.J. The effect of calcium hydroxide water paste on microorganisms in carious dentin. Br. dent. J., 133: 19-21, July 1972.
104. _____. The effect of three proprietary lining materials on microorganisms in carious dentin. Br. dent. J., 143: 231-235, Oct. 1977.
105. _____ & Mc CABE, J.F. Calcium hydroxide base materials. An investigation into relationship between chemical structure and antimicrobial properties. Br. dent. J., 144(12): 341-344, June 1978.
106. _____ & SHORTALL, A.C. Setting calcium hydroxide base materials. Studies on their antibacterial effects *in vitro*. Br. dent. J., 157: 133-135, 1984.
107. FITZGERALD, R.J.; JORDAN, H.V.; STANLEY, H.R. Experimental caries and gengival pathologic changes in the gnotobiotic rat. J. dent. Res., 39: 923, 1960.
108. _____ & KEYES, P.H. Demonstration of the etiologic role of *Streptococci* in experimental caries in the hamster. J. Am. dent. Ass., 61: 9-19, 1960.
109. FITZGERALD, M. et alii. Observation of calcium hydroxide bases after one year planement in monkeys. J. dent. Res., 62: 250, 1983 (Abstr.).

110. FONSECA, G.A. & OLIVEIRA, W.G. Hidróxido de Cálcio :
Substância heróica, seu uso diversificado em Endo-
dontia. Revta. bras. Odont., 39(6): 21-46, nov/dez.
1982.
111. FORSTEN, L.F. & KARJALAINEN, S. Effect of a Ca(OH)₂ so-
lution and a clorhexidine based detergent on the mi-
crocidal activity of human carious teeth. Acta O-
dontol. Scand., 35: 275-280, 1977.
112. _____ & SÖDERLINING, E. The alkaline and antibacte-
rial effect of seven Ca(OH)₂ liners *in vitro*. Acta
Odontol. Scand., 42: 93-98, 1984.
113. FRANCIS, L.E. & DE VRIES, J. An oral antiseptic for
the control pos-extraction bacteremia. J. Can. dent.
Assoc., 39: 55-57, Jan. 1973.
114. FREITAS, J.F. Characterization and aqueous extraction
of a calcium hydroxide materials. Aust. dent. J.,
27(6): 352-356, Dec. 1982.
115. _____. Resistance of calcium hydroxide materials on
phosphoric acid. Aust. dent. J., 29(6): 389-393,
Dec. 1984.
116. FUCHARD, P. Le chirurgien-dentiste - traité des dents.
2 ed. Paris - Chez Pierre, Jean Marriet, 1745.

117. GABEL, A.B. Compêndio de Operat6ria Dental. 9 ed.
Rio de Janeiro. Atheneu, 1959. p. 286.
118. GARBEROGLIO, R. & BRÄNNSTRÖM, M. Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. Arch. Oral Biol., 21: 355-362, 1976.
119. GARDNER, A.F. Partial pulpectomy, an accepted treatment for primary and young permanent teeth. Oral Surg., 3: 498-503, Apr. 1950.
120. GARDNER, P.E.; MITCHELL, D.F.; McDONALD, R.E. Treatment of pulps of monkeys with vancomycin and calcium hydroxide. J. dent. Res., 50: 1273-1277, 1971.
121. GIBBONS, R.J. et alii. The microbiot of the gengival crevice area of man. II. The predominant cultivable organisms. Arch. Oral Biol., 8: 281-289, 1963.
122. _____. Metabolism of intracelular polysaccharide by *Streptococcus mutis* and its relation to inducible enzyme formation. J. Bact., 87(6): 1512-1520, June 1964.
123. _____ et alii. Studies of the predominant cultivable microbiot of dental plaque. Arch. Oral Biol., 9(3): 365-370, 1964.

124. GIBBONS, R.J.; KAPSIMALIS, B.; SOCRANSKY, S.S. The source of salivary bacteria. Arch. Oral Biol., 9: 101-103, 1964.
125. _____. Syntesis of extracelular dextran by cariogenic bacteria and its presence in human dental plaque. Arch. Oral Biol., 12: 11-24, 1966.
126. _____ & SOCRANSKY, S.S. Microbiology of the oral cavity. In: DAVIS et alii. Microbiology. 2 ed. Maryland, Harper & Row Publisher, USA, 1973. pp. 957-963.
127. _____ & VAN HOUTE, J. Selective bacterial adherence to oral epithelial surfaces and its role as an ecological determinant. Infect. Immun., 3: 567 - 573, 1971.
128. GINS, H.A. Studies of the role of bacteria in tooth destruction in caries. J. Am. dent. Ass., 26: 827, 1927.
129. GLASS, R.L. & ZANDER, H.A. Pulp healing. J.dent. Res., 28(2): 97-107, Apr. 1949.
130. GOADBY, K.W. The mycology of the mouth. Londres. Green & Co., 1903.

131. GOADBY, K.W. & BARRET, J. The bacteriology of pulpitis. XVII Int. Conj. Med., London Sec. Stomat., 17: 31, 1913.
132. GOLD, O.G.; JORDAN, H.V.; VAN HOUTE, J. The prevalency of enterococci in human mouth and their pathogenicity in animals models. Arch. Oral Biol., 20(7): 473-477, July 1975. Apud Oral Res. Abst., 10(10): 996, 1975.
133. GOODMAN, L.S. & GILMAN, A.G. As Bases Farmacológicas da Terapêutica. 7 ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 1987. p. 739.
134. GORDON, D.F. & GIBBONS, R.J. Studies of the predominant cultivable microorganisms from the human tongue. Arch. Oral Biol., 11: 627-632, 1966.
135. GRANJOWER, R.; HIRSHFELD, Z.; ZALKIND, M. Observations on cavity liners for composite resin restoration. J. Prosth. Dent., 36: 265, 1976.
136. GRINNI, O. Studies on Hemolytic Streptococci. 1 ed. Kobenlaven, A/S CARL Fr. Mortensen. p. 196. 1948. Apud MIRANDA, V.C. op. cit. ref. 240.
137. GROSSMAN, L.I. Endodontia Prática. 8 ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 1976. pp. 38, 44, 55.

138. GUEDES-PINTO, A.C.; QUERIDO, N.G.B.; BASILE NETO, J.
Study of the residual effect on microorganisms of
pastes used as filling materials for deciduous teeth.
Revta. Fac. Odont. São Paulo, 14(2): 253-258, 1976.
139. GUERINI, V. History of Dentistry. Philadelphia. Lea
& Febiger, 1909.
140. GUGGENHEIM, B. *Streptococci* of Dental Plaques. Caries
Res., 2: 147-163, 1968.
141. GUIMARÃES, S.A.C. & ALLE, N. Estudo Histoquímico da
Reação Tecidual do Hidróxido de Cálcio. Estomat.
Cult., 8: 79-82, 1974.
142. HALDI, J. & WYNN, W. Protein fractions of the blood plas-
ma and dental pulp fluid of the dog. J. dent. Res.,
42: 1217, 1963.
143. _____ et alii. Comparative concentrations of vari-
ous constituents of blood plasma and dental pulp flu-
id. J. dent. Res., 44: 427, 1965.
144. HAMMOND, C. & TUNNICLIFF, R. Artificial caries produ-
ced by *Streptococcus viridans*. J. dent. Res., 19:
110, 1940.

145. HARDER, C.J. et alii. The isolation and identification of *Streptococcus mutans* in bacterial endocarditis . 74th. Annual Meeting. American Society for Microbiology. Illinois, U.S.A., 1974.
146. HARRISON, R.W. Lactobacilli versus Estreptococci and their role in the etiology of dental diseases. J. Am. dent. Ass., 37: 391-403, 1948.
147. HARTZELL, T.B. & HENRICI, A.T. Pathogenicity of mouth *Streptococci* and their role in the etiology of dental diseases. J. Nat. dent. Ass., 4: 477-498, 1917.
148. HASSAN, E.H.; VAN HUYSEN, G.; GILMORE, H.W. Deep cavity preparation and tooth pulp. J. Prosth. Dent., 16: 751-755, 1966.
149. HAVERLA, T. & CERMAN, J. Antibacterial effects of calcium hydroxide and other root canal filling materials. Czeskoslov. Stomat., 62: 7-17, Jan. 1962. Apud Dent. Abst., 7: 662, Nov. 1962.
150. HAWES, R.R.; DIMAGGIO, C.J.; SAYEGH, F. Evaluation of direct and indirect pulp capping. J. dent. Res., 43: 808, 1964 (Abst.).
151. HEITHERSAY, G.S. Stimulation of root formation in incompletely develop pulpless teeth. Oral Surg., 29: 620-630, 1970a.

152. HEITHERSAY, G.S. Periapical repair following conservative endodontic therapy. Aust. dent. J., 15: 511 - 518, 1970b.
153. _____. Calcium Hydroxide in the treatment of pulpless teeth with associated pathology. J. Br. End. Soc., 8(2): 74-93, 1975.
154. HELD-WYLER, E. "Natural (Indirect) pulp capping. J. Dent. Child., 31(2): 107-113, 1964.
155. HENRICI, A.T. & HARTZELL, T.B. Br. dent. J., 42: 497-498, 1921. Apud BESIC, F.C. op. cit. ref. 22.
156. HERMANN, B.W. Calcium hydroxide als mittels zum behandeln und füllen von wurzel. Kanällen. Diss., Würzburg, 1920. Apud CASTANGNOLA, L. op. cit. ref. 53.
157. _____. Dentino bliteration der wuzel kanale nach behandlung mit calcium. Zahnaerztl Rdsch., 39: 888-889, 1930. Apud CONRADO, C.A. op. cit. ref. 67.
158. _____. Der desinfektorische wert des Calxyls. Zahnarztl Rundsch., 44: 1929, Nov. 1935.
159. _____. Biologische wurzel behandlung. Frankfurt main, 1950. Apud CONRADO, C.A. op. cit. ref. 67.

160. HESS, W. The treatment of teeth with exposed healthy pulps. Int. dent. J., 1: 10-35, Dec. 1950.
161. HEYS, D.R. et alii. Five week histological evaluation of direct pulp capping agents on normal monkeys. Final histologic report. Michigan, Ann Arbor Dent. Research, Inst. Univ. of Michigan, 1979.
162. HEYS, R.J. et alii. Histological evaluation of two calcium hydroxide compounds on inflamed pulps. J. dent. Res., 56: 163, 1977.
163. HIZATUGU, R. & VALDRIGHI, L. Endodontia. Considerações Biológicas e Aplicação Clínica. Piracicaba. Aloisi, 1974. pp. 36, 43, 47, 124, 125.
164. HOLLAND, R. et alii. Healing process of teeth with open apices. Histological studies. Bull Tokyo dent. Coll., 12: 333-338, 1971a.
165. _____ et alii. Estudo histológico do comportamento do tecido conjuntivo sub-cutâneo do rato ao implante de alguns materiais obturadores de canal radicular. Influência da proporção pó-líquido. Revta. Assoc. paul. Cirurg. Dent., 25: 101-110, 1971b.
166. _____; SOUZA, V.; MELLO, W. Processo de reparo da polpa dental após pulpotomia e proteção com formagem. Revta. Fac. Odont. Araçatuba., 3: 77-85, 1974.

167. 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) - F.O.A.).
168. HOLMBERG, K. & HALLANDER, H.O. Interference between gram-positive microorganisms in dental plaque. J. dent. Res., 51: 588-595, 1972.
169. HOSHINO, E. et alii. Species identification of *Lactobacillus* and *Actinomyces* isolated from human carious dentine. J. Am. J. Oral. Biol., 26: 496-501, 1984.
170. HOWE, P.R. & HATCH, R.E. A study of the microorganisms of dental caries. J. biol. Res., 36: 481, 1917.
171. HOWELL, A. Jr.; STEPHAN, R.M.; PAUL, F. Prevalency of *Actinomyces israelli*, *A. naeslundii*, *Bacterionema matrhotii* and *Candida albicans* in selected areas of the oral cavity and saliva. J. dent. Res., 41: 1050-1059, 1962.
172. HUNTER, H.A. A study of the mechanisms concerned in the deposition of lim salts in bridging over a pulp exposure. J. dent. Res., 34: 697, Oct. 1955.

173. HWAS, M. & SANDRIK, J.L. Acid and water solubility and strenght of calcium hydroxide bases. J. Am. dent. Ass., 108: 46-49, 1984.
174. INGLE, J.I. & BEVERIDGE, E.E. Endodontia. 2 ed. Rio de Janeiro. Interamericana, 1979. pp. 299, 321, 329, 687.
175. IRELAND, R.L. Amoniacal silver nitrate as a sterilizing agent for deep seated decay in decidous teeth. J. Am. dent. Ass., 26: 871-878, Jun. 1939.
176. _____. Treatment of teeth with exposed vital pulps. Nort-West Dent., 29: 168-170, July 1950.
177. ISERMANN, G.T. & KAMINSKI, E.J. Pulpal response to minimal exposure in presence of bacteria and Dycal. J. Endodont., 5(11): 322-327, Nov. 1979.
178. JAGER, C.L. & KLABER, H.C. Microbiology of dental caries. J. dent. Ass. S. Afric., 19(11): 330-336, 1964.
179. JANSEN, H. Uber die baktericide wirkung des hermannschen calxyl preparates verglichen mit schweitzer preparates endoxyl. Dissertation. Bonn. Germany, 1949. Apud CONRADO, C.A. op. cit. ref. 67.

180. JAY, P. An anaerobic isolated from dental caries. J. Bact., 14: 385, 1927.
181. JOLLY, M. & SULLIVAN, H.R. The pathology of carious human dentin. Aust. dent. J., 5: 157, 1960.
182. KAISER, H.J. Management of wide open canals with calcium hydroxide. 31 st. Annual Session, American Association of Endodontists. Washington, 1964.
183. 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): 340-349, Sept. 1965.
184. KALOYANNIDIS, T. The antiseptic ability of some materials used for covering the pulp. Stomat. Thessalonic., 2(3): 89-93, May/June 1970. Apud Oral Res. Abstr., 6: 1089, 1971.
185. KAWAHARA, H.; YAMAGAMI, A.; NAKAMURA, M. Jr. Biological testing of dental materials by means of tissue culture. Int. dent. J., 18: 443, 1968.
186. KENNER, B.A.; CLARK, H.F.; KLABER, P.W. Paper presented at the alpha meetings. 1959. In: DIFCO MANUAL, op. cit. ref. 81.

187. KENNER, B.A.; CLARK, H.F.; KLABER, P.W. Appl. Microbiol., 9: 15, 1961. In: DIFCO MANUAL. op. cit. ref. 81.
188. KERKHOVE, B.C. Jr.; HERMAN, S.C.; Mc DONALD, R.E. Evaluation of indirect pulp capping techniques. J. dent. Res., 43(5): 808, 1964 (Abstr.).
189. KEYES, P.H. Recent advances in dental caries research bacteriology. Bacteriological findings and biological implications. Int. dent. J., 12: 443-464, 1962.
190. KING, J.B.; CRAWFORD, J.J.; LINDAHL, R.L. A bacteriologic study of deep carious lesions. Oral Surg., 20: 663-669, 1965.
191. KLIGER, I.J. A biochemical study and differentiation of oral bacteria with special reference to dental caries. J. All dent. Soc., 10: 141-161, 1915.
192. KLOTZ, M.D.; GERSTEIN, H.; BAHN, A.N. Bacteremia after topical use of prednisolone in infected pulps. J. Am. dent. Ass., 71: 871, 1965.
193. KNIGHTON, H.T. Reflexiones acerca de la terapia con antibioticos en Odontologia. Dent. Clin. Nort. Am., 4: 127-135, 1960.

194. KOMATSU, J. Observações sobre a incidência de exposições pulpares em dentes humanos com lesões cariosas consideradas profundas. Estudo comparativo entre os achados clínico, radiográfico e histológico. Araçatuba, 1975. (Tese - F.O.A.).
195. KOZLOWSKA (1961). Apud CONRADO, C.A. op. cit. ref. 67.
196. KRASSE, B. The proportional distribution of *Streptococcus salivarius* and other *Streptococci* in various parts of the mouth. Odont. Revy., 5: 203-211, 1954a.
197. _____. The relationship between *Lactobacilli*, *Candida* and *Streptococci* and dental caries. Examination of saliva and plaque material collected on the occasion. Odont. Revy., 5: 241-261, 1954b.
198. KURODA, M. Clinico-Pathological study of root canal filling with pastes (calvital), sterilized cotton and pulp extirpation. Shikwa Gahuko., 70: 333-338, 1970.
199. KUTSCHER, A.J. Residual antibiotic activity of a chlor-Tetraciline hydrochloride zinc eugenol cement. J. Connect State. dent. Ass., 32(2): 4-6, Apr. 1958.
200. KUTTLER, Y. Endodoncia Prática. México. Alpha, 1961. p. 3.

201. KUTTLER, Y. Fundamentos de Endo-Metaendodoncia Prática. 2 ed. México. Mendez Oteo, 1980. p. 21.
202. LACAZEDIEU, M. et alii. Étude comparative *in vitro* du pouvoir désinfectant de quelques produits de coiffage dentito-pulpaire. Revue D'Odont. Stomat., 4(3): 205-208, 1975.
203. LADO, E.A. et alii. *In vitro* antimicrobial activity of six pulp capping agents. Oral Surg., 61(2): 197-200, 1986.
204. LANGELAND, K. Histologic evaluation of pulp reactions to operative procedures. Oral Surg., 12: 1235, Oct. 1970.
205. LARMAS, M. Histochemical demonstration of various dehydrogenases in human carious dentine. Arch. Oral Biol., 17: 1143-1153, 1972.
206. LAWS, A.J. Calcium Hydroxide as a possible root filling materials. N.Z. dent. J., 58: 199-215, 1962.
207. LEBER, T. & ROTTENSTEIN, Y.B. Investigations on paries of the teeth. Berlin, 1867. p. 94. Apud SHAFER, W.G.; HINE, M.K.; LEVY, B.M. op. cit. ref. 309.
208. LEFROWITZ, W. Pulp response to ionization. J. Prosth. Dent., 12: 966, 1957.

209. LEONARDO, M.R. Contribuição para o estudo da reparação apical e periapical pós-tratamento de canais radiculares. Araraquara, 1973. (Tese (Livre-Docência - F.O.A.).
210. _____; LEAL, J.M.; SIMÕES FILHO, A.P. Endodontia. Tratamento de canais radiculares. São Paulo. Panamericana, 1982. p. 56.
211. LEUNG, R.L.; LOESCH, W.J.; CHARBENEAU, G.T. Effect of DYCAL on bacteria in deep carious lesions. J. Am. dent. Ass., 100(2): 193-197, Feb. 1980.
212. LIMA, J.O. & LIMA, M.G.G. Nos Domínios da Microbiologia Oral. Salvador. Gráfica UFBA, 1981. p. 126.
213. LITTLETON, N.W.; Mc CABE, R.M.; CARTER, C.H. Studies of oral health in persons nourished by stomach tube. II. Acidogenic properties and selected bacterial components of plaque material. Arch. Oral Biol., 12: 601-609, 1967.
214. LOESCH, W.J. & SYED, S.A. The predominant cultivable flora of carious plaque and carious dentine. Caries Res., 7: 201-216, 1973.
215. LOPES, H.P.; COSTA FILHO, A.S.; JONES Jr., J. Emprego do Hidróxido de Cálcio associado ao azeite de oliva. RGD., 34(3): 306-310, jul/ago. 1986.

216. LOPES, H.P. & COSTA FILHO, A.S. Uso do hidróxido de cálcio com veículo oleoso. R.G.O., 36(2): 133-138, mar/abr. 1987.
217. LÓSSIO, Y.J.A. Considerações sobre irritantes pulpa-res e materiais de forramento. Revta. Assoc. paul. Cirurg. Dent., 26(2): 67-75, mar/abr. 1972.
218. Mac DONALD, J.B. Prolonged viability of organisms sealed in dentinal caries. Arch. Oral Biol., 7: 525-526, 1962.
219. MAC GREGOR, A.B.; MARSLAND, E.A.; BATTY, I. Experimental studies of dental caries. I. The relation of bacterial invasion of the softening of the dentine. Br. dent. J., 101: 230-235, 1956.
220. MAEGLIN, B. Zur behandlung der tiefen caries mit alkalischen kalksalzen. Dtsch Zahn., 10: 727-733, May 1955. Apud CONRADO, C.A. op. cit. ref. 67.
221. MAISTO, O.A. & CAPURRO, M.A. Obturación de conductos radiculares con Hidróxido de Cálcio-Iodofórmio. Rev. Asoc. Odont. Arg., 52: 167, May 1964.
222. MASSLER, M. Indirect pulp capping and vital pulpotomy for potencial and actual pulp exposures. J. Tenn. St. dent. Ass., 35(4): 393-402, 1955.

223. MASSLER, M. Management of teeth with pulps polyyps. J. Dent. Child., 27: 3-4, 1960.
224. _____ & KUWABARA, R. Pulpal reactions to activity and arrested dentinal caries. J. dent. Res., 43(5): 807, 1964 (Abstr.).
225. MAST, D. Conservative approach to pulp conservation. George Town dent. J., 23: 13-19, Nov. 1957.
226. MAURICE, C.G.; KROEGER, A.V.; KIEGER, M. Antimicrobial activity of root canal sealing agents. J. dent. Med., 20: 7-12, 1965.
227. MAYER, F.C. Comparative value of tymol, alcool and phenol on treatment of caries cavities. Yearbook of Dentistry, Chicago, 1940.
228. Mc COMB, D. Comparison of physical properties of commercial calcium hydroxide lining cements. J. Am. dent. Ass., 107(1): 610-613, 1983.
229. Mc DONALD, R.E. Odontopediatria. 2 ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 1977. pp. 135-136.
230. Mc GEHEE, W.H.D.; TRUE, H.A.; INSKIPP, E.F. Operative Dentistry. 4 ed. New York. Mc Grawhill, 1956. pp. 197-198.

231. Mc NAMARA, T.F.; FRIEDMAN, B.K.; ROTH, P. Salivary access as an ecological determinant. 1979. In: THYLSTRUP, A. & FEJERSKOV, A. op. cit. ref. 362.
232. MEAD, S.V. Enfermidades de la Boca. Trad. por Vilã, V. Barcelona, Publ., 1931. pp. 83. V-1. Apud BIFFI, J.A.C. et alii op. cit. ref. 25.
233. MEJARE, B. On the facultative anaerobic *Streptococci*. In infected dental root canals in man. Odont. Revy., 26(33): 5-24, 1975.
234. MELO, G.R. & RIBAS, M.G.B. Verificação da influência da agitação sobre o pH e a ação antimicrobiana de diferentes concentrações de Hidróxido de Cálcio. Ann. Soc. Bras. Pesq. Odont., 1987. p. 106.
235. MELLO, W. et alii. Capeamento pulpar com Hidróxido de Cálcio ou pasta de óxido de zinco e eugenol. Revta. Fac. Odont. Araçatuba, 1(1): 33-44, 1972.
236. MENAKER, L. Cáries Dentárias. Bases Biológicas. 1 ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 1984. pp. 225 - 227.
237. MERYON, S.D.; JAKEMAN, K.J.; BROWNE, R.M. Penetration *in vitro* of human and ferret dentine by three bacterial species in reaction to their potencial role in pulpal inflammation. Int. End. J., 19: 213-220, 1986.

238. MILLER, W.D. Microorganisms of the human mouth. Philadelphia, 1890a, S.S. White Dental. M/g. Co.; p. 214.
239. _____. The decomposition of the contents of the dental tubulus as a distributing factor in the treatment of pulpless teeth.' Dent. Cosm., 32(5): 349-357, May 1890b.
240. MIRANDA, V.C. Verificação de Streptococos em canais radiculares de dentes com reações periapicais. Araraquara, 1965. (Tese (Doutorado) - F.O.A.).
241. _____. Critérios para a caracterização dos *Streptococcus* cariogênicos. Grupo Bras. Microb. Oral., BH. 1968. pp. 58-66 (Resumos).
242. _____ & PIZZOLITO, A.C. Verificação de Estreptococos orais em placa dental, sulco gengival e língua de crianças. Revta. Fac. Farm. Odont. Araraquara, 1977 (No prelo).
243. MIRICK, G.S. et alii. Studies an a non hemolytic *Streptococcus* isolated from the respiratory tract of human beings. J. Exp. Med., 80: 391-440, 1944.
244. MITCHELL, D.F. & SHANKWALKER, G.B. Osteogenic potential of calcium hydroxide and other materials in soft tissue and bone wounds. J. dent. Res., 37: 1157, 1958.

245. MITCHELL, D.F. The irritational qualities of dental materials. J. Am. dent. Ass., 59: 954-966, 1959.
246. _____. Pulp reaction to commonly used capping materials. J. Dent. Child., 28: 150-153, 1961.
247. MJOR, I.A.; FINN, S.B.; QUIGLEY, B.M. The effect of calcium hydroxide and amalgam on non carious vital dentin. Arch. Oral Biol., 3: 283-291, 1961.
248. MOHAMMED, J.R.; VAN HUYSEN, G.; BOYD, D.A. Filling base materials and the unexposed and exposed tooth pulp. J. Prosth. dent., 11: 503-513, 1961.
249. MONDELLI, J. et alii. Dentística Operatória. 3 ed. São Paulo. Sarvier, 1979. pp. 8, 65, 133.
250. MORRIS, E.O. The bacteriology of the oral cavity. III. *Streptococcus*. Br. dent. J., 96: 95-108, 1954.
251. MOUSLADE, M.T.; EYKYN, S.J.; PHILLIP, J. Infective endocarditis, 1970-1979: A study of culture-positive cases in St. Thomas Hospital. Q.J. Med., 49: 315-328, 1980.
252. MUNTZ, Y.; DORFMAN, A.; STEPHAN, R. *In vitro* studies on sterilization of carious dentin. I. Evaluation of germicides. II. Extent of infection in carious lesions. III. Effective penetration of germicides into carious lesions. J. Am. dent. Ass., 30: 1893, 1943.

253. NESPAULOUS, P. Dentisterie Operatoire. Maison, 1929.
p. 224. Apud BIFFI, J.A.C. et alii. op. cit. ref.
25.
254. NIEDERGESÄSS, K. Anatomische, bacteriologische und chemisch untersuchungen über die entstehung per zahnkaries. Arch. Hyg., 84: 221, 1915. In: BURNETT, G. W.; SCHERP, W.H.; SHUSTER, S.G. op. cit. ref. 44.
255. NIVEN, C.F.; SMILEY, K.L.; SHERMAN, J.M. The hydrolysis of arginine by *Streptococci*. J. Bact., 43: 651-660, 1942.
256. _____; _____; _____. Syntesis of a polysaccharide from sucrose by *Streptococcus*. J. Bact., 51: 711-726, 1946.
257. NOONAN, R.G. Silver amalgam is not antibacterial. J. Dent. Child., 32: 147, 1965.
258. NOSONOWITZ, D.M. Endodontic technique for deciduous molars. N.Y. Stat. dent. J., 26: 235-239, Jun./jul. 1960.
259. NYBORG, H. & SLACK, G.L. Clinical evaluate on off pulpotomy. Int. dent. J., 10: 452-567, Dec. 1960.
260. NYGREEN (1838). In: MONDELLI, J. et alii (1979).
op. cit. ref. 249.

261. OLIVEIRA, C.M. & ARAÚJO, W.C. Identificação bioquímica de *Streptococos* isolados de placa dental humana. Congresso Brasileiro de Microbiologia, Belo Horizonte, 1971. p. 96. (Resumos).
262. 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: 120-128, Dec. 1969.
263. ORLAND, F.J. et alii. Use of "germ-free" animal technique in the study of experimental dental caries. I. Basic observation on rats free of all microorganisms. J. dent. Res., 33: 147-174, 1955.
264. _____. A review of dental research using germ-free animals. Ann. N.Y. Ac. Sci., 78: 825, 1959.
265. OSTRY, B.N. Quest editorial deep caries and indirect pulp capping. Oral Surg., 33: 788-790, 1972.
266. PAIVA, J.G. & ALVARES, S. Endodontia. São Paulo. Atheneu, USP, 1978. p. 88.
267. _____ & ANTONIAZZI, J.H. Endodontia. Bases para a Prática Clínica. 1 ed., Rio de Janeiro. Artes Médicas, 1985. pp. 21-25, 249.

268. PAPAVALASSILIOU, J. Species differentiation of group D *Streptococci*. Appl. Microb. Biol., 10: 65-69, 1962.
Apud MIRANDA, V.C. op. cit. ref. 240.
269. PARDINI, L.C. et alii. Dureza e solubilidade dos cimentos de hidróxido de cálcio sob restaurações de a
málgama. Estudo *in vitro*. Revta. Assoc. paul. Ci-
rurg. Dent., 8: 10-22, 1986.
270. PARIKH, S.R. et alii. Microorganisms in active and ar
rested carious lesions of dentin. N.Y. State. D.J.,
29: 347, 1963.
271. PATERSON, R.C. Bacterial contamination and the respon
se of the exposed rat molar pulp. J. dent. Res., 50:
1165-1170, 1971.
272. _____. Bacterial contamination and the exposed
pulp. Br. dent. J., 140(4): 231-236, 1976.
273. PELCZAR, M.; REID, R.; CHAN, E.C.S. Microbiologia.
Vol. I. São Paulo, Mac Graw-Hill do Brasil, 1980.
pp. 135, 813, 507.
274. PERCH, B.; KJEMS, E.; RAVN, T. Biochemical and serolo
gical properties of *Streptococcus mutans*, from va
rious human and animals sources. Acta. path. Mi-
crob. Scand., 82: 357-370, 1974.

275. PERDIZA, W. Estudo clínico da preservação da polpa dental nas exposições patológicas em casos de pulpites crônicas abertas. Revta. Fac. Farm. Odont. Rib. Preto., 2(9): 108-116, jul-dez. 1972.
276. PEREIRA, M.H. Seletividade do meio de Ikeda e Sandhan (1972) no isolamento de *Str. mutans* da Placa Dental de crianças da cidade de Piracicaba. Piracicaba, 1980. (Tese (Mestrado) - FOP).
277. PERREAULT, J.G.; MASSLER, M.; SCHOUR, I. Reaction of Odontoblasts to medicaments placed in cavity penetrations in rat incisors. J. Am. dent. Ass., 52 : 533, 1956.
278. PHILIPS, R.W. Materiais Dentários de Skinner. 8 ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 1982.
279. PINCUS, P. Pathogenesis of dental caries. Br. dent. J., 76: 231, 1944.
280. PIZSOLITO, A.C. Verificação de espécies de enterococos em fezes humanas normais. Araraquara, 1973. (Tese (Mestrado) - F.O.A.).
281. POETSCHKE, P. The germicidal efficiency of dental cements. Dent. Cosmos., 58: 325-332, 1916.

282. PRADER, F. Conservative treatment of the floor of the carious cavity-carious dentine near the pulp. Int. dent. J., 627-638, dez. 1958.
283. PRATA, E.G.; GUEDES-PINTO, A.C.; BRUNNER, V. Estudo da variação do pH da saliva de escolares. R.G.O., 35(2): 115-118, mar/abr. 1987.
284. PROELL, F. Über die eigenschaffen des calxyls und seine vorzuge von anderenin der zahnartzichen praxis auge wandten medikamenten. Zahn Rdsch., 58: 255, 1949. Apud CONRADO, C.A. op. cit. ref. 67.
285. PROSSER, H.S.; GROFFMAN, D.N.; WILSON, A.D. A sensitivity conductiometric method for measuring the material initially water-leached from dental cements. J. Dent., 10: 113-120, 1982.
286. PUCCI, F.M. Tratamento de condutos radiculares infectados. Estado Actual del problema. Revta. Odont., 39(1): 1-19, 1951.
287. PULLKINEN (1971). In: THYLSTRUP, A. & FEJERSKOV, O. (1988). op. cit. ref. 362.
288. REEVES, R. & STANLY, H.R. The Relation Sasp of Bacterial Penetration and Pulpac Patlosis in Carious Teeth. Oral Surg., 22: 59-65, 1966.

289. RIBAS, L.M.T.; MACCHI, R.L.; BEIGELIS, A.A. Estabilidade en Bases Cavitarias de Materiaes con Hidróxido de Cálcio. Revt. Assoc. Odont. Arg., 67(L): 5-7, fev/mar. 1979.
290. RIPA, L.W. et alii. The effect of calcium hydroxide and zinc oxide eugenol on dentine extracted human teeth. Oral Surg., 34: 531-537, 1972.
291. ROSEN, L.J. Deciduous pulp capping its present status and report on penicilin pulp therapeutics. J. Miss. Int. Ass., 32: 11-12, Jan. 1952.
292. ROSENSTEIN, S.N. Studies in the conservation of deciduous and early permanent teeth. J. Dent. Res., 16: 29, 1937.
293. RUBBO, S.O.; REICH, J.; DIXSON, S. The use of C^F a combination of Heomycin, Bacitracin and Polynyxin in Endodontic. Oral Surg., 8: 878-896, 1958.
294. SAMPAIO, P. Alterações histológicas da polpa dental do rato, após contaminação com Estreptococos e proteção com Hidróxido de Cálcio. Revta. Arq. Cent. Est. Fac. Odont. UFMG., 4(1): 121-139, 1967.

295. SANTOS, M.A.A. et alii. Estudo da eficiência da solução de Co(OH)_2 na antissepsia dos canais radiculares e comparação por meios de cultura, a partir de colheitas efetuadas com cones de papel absorvente e com irrigação-aspiração. Estomat. Cult., 8(2): 273-280, jul/dez. 1974.
296. SAVAFI, K.E.; DOWDEN, W.E.; LANGELAND, K. Comparison of antimicrobial effects of calcium hydroxide and iodine-potassium iodide. J. End., 11(10): 454-456, 1985.
297. SCHJIMDT, H.S. et alii. A bacteriologic of an investigation to study *in vivo* the effectiveness of certain drugs for the sterilization of carious dentin. Oral Surg., 13: 80-88, 1960.
298. SCHEMEISSNER, H. & WEBER, H.J. Bacteriological studies of a histoacryl as a direct capping material. Zahn Z., 26(2): 285-289, Feb. 1971. Apud Oral Res. Abst., 6: 794, 1971.
299. SCHOROEDER, A. Indirect capping and the treatment of deep carious lesions. Int. dent. J., 18: 381-391, 1968.
300. SCHOROEDER, D.H. et alii. Permeability beneath orthodontic band variation dependent on cement type and cement removal method. Ann. J. Orth., 65: 453, 1974.

301. SCHOUBOE, T. & Mac DONALD, J.B. Prolonged viability of organisms sealed in dentinal caries. Arch. Oral Biol., 7: 525-526, 1962.
302. SCOPP, I.W. Oral Medicine. Mosby, St. Louis, 1969.
303. SEELEY Jr., H.W. & VAN DEMARK, P.J. Microbes in Action. A Laboratory Manual of Microbiology. 3 ed. San Francisco. Freeman and Company, 1981. pp. 50-54.
304. SELTZER, S. The bacteriologic status of the dentin after cavity preparation. J. Am. dent. Ass., 27(2) : 1799-1801, 1940.
305. _____. The comparative value of various medicaments in cavity sterilization. J. Am. dent. Ass., 28(2) : 1844, 1941.
306. _____ & BENDER, I.B. A Polpa Dental. 2 ed. Rio de Janeiro. Labor do Brasil, 1979. pp. 239, 245, 264.
307. _____; _____; ZIONTS, M. The dynamics of pulp inflammation: correlation between diagnostic and actual histologic findings in the pulp. Oral Surg., 16: 969-977, Aug. 1963.
308. SEKINE, N. et alii. Clinico-Pathological study of vital pulpotomy. Bull. Tokyo Dent. Coll., 1: 29-57, 1960.

309. SHAFER, W.G.; HINE, M.K.; LEVY, B.M. Tratado de Patologia Bucal. 4 ed. Rio de Janeiro. Interamericana, 1985. p. 443.
310. SHAKLAIR, I.L. & KEENE, H.J. A biochemical scheme for the separation of the varieties of *Streptococcus mutans*. Arch. Oral Biol., 19: 1079-1081, 1974.
311. SHATTOCK, P.M.F. The identification and classification of *Streptococcus faecalis* and some associated *Streptococci*. Ann Inst. Pauster Lille., 7: 95-110, 1955.
312. SHERMAN, J.M. The *Streptococci*. Bact. Revy., 1: 3-97, 1937.
313. _____; NIVEN, C.F.; SMILEY, K.L. *Streptococcus salivarius* and other non hemolytic *Streptococci* of human throat. J. Bact., 45: 249-263, 1943.
314. SHORER, V.; HIRSHEFELD, Z.; GRANJOWER, R. Dycal: physical properties and resistance to amalgam condensation. J. Prosth. Dent., 51: 358-363, 1984.
315. SHOVELTON, D.S. A study of deep carious dentine. Int. dent. J., 18: 392-405, 1968.
316. _____. The maintenance of pulp vitality. Br. dent. J., 133: 95-107, 1972.

317. SHOVELTON, D.S. Studies of dentine and pulp in deep caries. Int. dent. J., 20: 283-296, 1970.
318. SHOVLIN, F.E. Isolation of gram-positive bacilli from deep dentinal caries. J. dent. Res., 43(5): 846 - 847, 1964 (Abstr.).
319. _____ & GILLIS, R.E. Biochemical and antigenic studies of *Lactobacilli* isolated from deep dentinal caries. J. dent. Res., 48(3): 356-360, May-June 1969.
320. SHOROFF, F.F. The healing powers of the dental pulp. Oral Surg., 12: 1249-1256, 1949.
321. SICHER, H. Orban's Oral Histology and Embriology. 5 ed. St. Louis. Cv. Mosby. Co., 1962. p. 160.
322. SLACK, G.L. Vital pulpotomy in the treatment of fractured incisors. Br. dent. J., 85: 169-174, 1948.
323. SLANETZ; BENT; BARTLEY. Pulp Hlth. Reports., 70: 67, 1955. In: Difco Manual. op. cit. ref. 81.
324. _____ & BARTLEY. J. Bact., 74: 591, 1957. In: Difco Manual. op. cit. ref. 81.
325. SMITH, D.C. Dental Cements. Current status and future prospects. Dent. Clin. N. Am., 27(4): 771, 1983.

326. SNEATH, P.H.A. Some thoughts on bacterial classification. J. gen. Microbiol., 17: 184, 1957a.
327. _____. The application of computers to taxonomy. J. gen. Microbiol., 17: 201, 1957b.
328. SOARES, J.B.; CASIMIRO, A.R.S.; AGUIAR, L.M.M.B.A. Microbiologia Básica. 1 ed. Vol. I. Ceará. EUFC, 1987. p. 99.
329. SOLÉ-VERNIN, C. & ARAÚJO, W.C. Estudos sobre os estreptococos. III. Estreptococos não hemolíticos (tipo alfa e gama) isolados de garganta de crianças normais. Ann. Microbiol., 5: 195-219, 1957.
330. _____. Contribuição para o estudo da conservação de culturas microbiológicas com especial referência aos estreptococos. São Paulo, 1960. (Tese (Doutorado) F.M.USP).
331. SOCRANSKY, S.S. et alii. The microbiota of gingival crevice area for man. I. Potal microscopic and viable counts of specific organisms. Arch. Oral Biol., 8: 275-280, 1963.
332. _____ et alii. Bacteriological studies of developing supragingival dental plaque. J. Period. Res., 12: 90-106, 1977.

333. SOUZA, V. & HOLLAND, R. Treatment of the inflamed dental pulp. Aust. dent. J., 19: 191-196, 1974.
334. SOWDEN, J.R. Preliminary report on the recalcification dentin. J. Dent. Child., 23: 187-188, 1956.
335. SPERANÇA, P.A. et alii. Análise da propriedade antimicrobiana da solução (água de cal) e da suspensão (lama de cal) do hidróxido de cálcio. Odont. Mod., 12 (8): 31-36, 1985.
336. _____; BIRAL, R.R.; VALDRIGHI, L. Cimentos à base de hidróxido de cálcio. Análise da ação antimicrobiana frente a microorganismos frequentes em cavidades de cárie. Estudo *in vitro*. R.G.O., 34(2): 127-131, mar/abr. 1986.
337. _____ et alii. Verificação da influência do tempo de contacto na ação antimicrobiana dos cimentos odontológicos à base de hidróxido de cálcio sobre *Str. faecalis*. Estudo *in vitro*. (Em publicação), 1988a.
338. _____ et alii. Verificação da atividade germicida da suspensão e da solução saturada de hidróxido de cálcio sobre o *Str. faecalis*. Estudo *in vitro*. (Em publicação), 1988b.

339. St. MARTIN, E.J. & WITTENBERGER, C.L. Regulation and function of ammonia assimilating enzymes in *Streptococcus mutans*. Infect. Immunol., 28: 220-224, 1980.
340. STANDART METHODS (1960). In: MANUAL BBL. Productos para laboratorios de microbiologia. México, Baltimore Biological Laboratory INC, 1979.
341. STANLEY, H.R.; WHITE, C.L.; MAC GRAY, L. The rate of tertiary (preparative) dentine formation in the human tooth. Oral Surg., 21: 180-189, 1967.
342. _____ & LUNDI, T. Dycal therapy for pulp exposures. Oral Surg., 34: 818-827, 1972.
343. _____ & SWERDLOW, H. Reaction of the human pulp to cavity preparation; results produced by eight different operative grinding techniques. J. Am. dent. Ass., 58: 49, May 1959.
344. STEAGALL, L. & SCHARFSTEIN, A. Efeitos dos ácidos sobre os cimentos de hidróxido de cálcio. Revta. Assoc. paul. Cirurg. Dent., 41(4): 194-196, jul/ago., 1987.
345. STEPHAN, R.M. Correlation of clinical tests with microscopic pathology of dental pulp. J. dent. Res., 16: 267-277, 1937.

346. STEPHAN, R.M.; MUNTZ, J.A.; DORFMAN, A. *In vitro* studies on sterilization of carious dentin. III. Effectiveness penetration of germicides into carious lesions. J. Am. dent. As's., 30: 1905-1908, 1943.
347. _____. New York State Dent. J., 17: 185-189, 1951.
348. STEVENS, R.H. & GROSSMAN, L.I. Evaluation of the antimicrobial potential of calcium hydroxide as an intracanal medicament. J. Endodont., 9(9): 372- 374, Sept. 1983.
349. STRALBERGEN (1630). Apud WEIBERGER, B.W. (1948). *op. cit.* ref. 378.
350. STRALFORS, A. Investigation into the bacterial chemistry of dental plaques. Odont. T., 58: 155, 1950.
351. STÜBEN, V.J. & KREUDENSTEIN, T.S. Dentinstoffwechsel studien. VI. Papier elektrophoretische untersuchungen über die zusammensetzung der dentin-liquorproteine. Deutsche Zahnartl Z., 12: 500, 1957. In: SELTZER, S. & BENDER, I.B. (1979). *op. cit.* ref. 306.
352. STURDEVANT, C.M. et alii. The art and science of operative dentistry. New York. Mc Graw-Hill, 1968. pp. 99-100.

353. SUMMEY, D.L. & JORDAN, H.V. Characterization of bacteria isolated from human root surface carious lesions. J. dent. Res., 53: 343-351, 1974.
354. SWERDLOW, H. & STANLEY, H.R. Higher species in dentistry. J. Dis. Col. Dent. Soc., 34: 4, June 1959.
In: INGLE, J.I. & BEVERIDGE, E.E. op. cit. ref. 174.
355. SWIPT, H.F. The *Streptococci*. In: Dubos, R.J. Bacterial and mycotic infections of man. 2 ed. Philadelphia. J.B. Lippincott Co., 1952. pp. 265- 323.
Apud MIRANDA, V.C. op. cit. ref. 240.
356. TAKAYAMA, S.; RUSSO, M.; HOLLAND, R. Permeabilidade e infiltração marginal de radioisótopos em restaurações dentais. Estudo realizado com materiais temporários e pastas obturadoras de canais. Revta. bras. Odont., 25: 60-67, 1968.
357. _____ et alii. Permeabilidade e infiltração de óxido de zinco e eugenol, hidróxido de cálcio e corticosteróides utilizados como protetores indiretos da polpa dental. Estudo histológico em cães. Revta. Fac. Odont. Araçatuba., 2: 237-247, 1973.
358. TEUSCHER, G.M. & ZANDER, H. Preliminary report on pulpotomy. North west Univ. Bull., 39: 4-8, 1938.

359. THANIK, K.D.; BOYD, D.A.; VAN HUYSEN, G. Cavity base materials and the exposed pulp marginal blood vessels. J. Prost. Dent., 12: 165-171, 1962.
360. THEILADE, E. et alii. Microbiological studies of plaque in artificial fissures implanted in human teeth. Caries Res., 7: 130-138, 1979.
361. THOMAS, B.O.A. Penetration of phenol in tooth structure. J. dent. Res., 20: 435-445, 1941.
362. THYLSTRUP, A. & FEJERSKOV, O. Tratado de Cariologia. 1 ed. Rio de Janeiro. Cultura Médica, 1988. pp. 111, 112, 155, 164, 176, 179, 216, 217.
363. _____; FEATHERSTONE, J.D.B.; FREDBO, L. Surface morphology and dynamics of early enamel caries development. In: Leach, S.A. & Edgar, W.H. Desmineralization and remineralization of the teeth. Irl press Ltd., Arlington, 1983. pp. 165-184. In: THYLSTRUP, A. & FEJERSKOV, O. op. cit. ref. 362.
364. TOMASI, A.D. & CORONELLI, E. Quantitative study of salivary flora. Rass Trim. Odont., 54(4): 153-159, Oct/Dec. 1973. Apud Oral Res. Abstr., 10(4): 312, 1975.
365. TOMES, S.J. A system of dental surgery. 2 ed. Londres. John Churchill, 1859. p. 336.

366. TRAUBMAN, L.A. A critical clinical and television radiographic evaluation of indirect pulp capping. Indiana, 1967. (Thesis (Master) - Univ. Indiana).
367. TRONSTAD, L. & MJOR, I.A. Pulp reactions to calcium hydroxide containing materials. Oral Surg., 33: 961-965, 1972.
368. _____. Reactions of the exposed pulp to Dycal treatment. Oral Surg., 38(6): 945-953, Dec. 1974.
369. URZŪA, S. & GILMOUR, M. Antibacterial effect of essential oils and antibiotics in zinc oxid pastes. I.A. D.R., 35: 103-104, 1957. (Abstracts).
370. VAN HOUTE, J. et alii. Adherence as an ecological determinant for *Streptococci* in the human mouth. Arch. Oral Biol., 16: 1131-1141, 1971.
371. _____ et alii. Ecology of human oral *Lactobacilli*. Infect. Immun., 6: 723-729, 1972.
372. VERRI, R.A. Avaliação da eficiência de um método de antisepsia pré-cirúrgica da cavidade bucal na redução do número de Estreptococos do sulco gengival. Ribeirão Preto, 1973. (Tese (Livre-Docência) - FFORB).

373. VIEGAS, A.R. Odontologia Sanitária. Aspectos Preventivos da Cárie Dentária. 1 ed. São Paulo, 1961.
p. 8.
374. WAGONER, R.P. & KRUGER, G.O. Bacteriological investigation of bacteremias following restorative dental procedures utilizing blood sampling techniques. J. dent. Res., 135, 1963 (Abstracts).
375. WAHL, R. & MEYER, P. Les épreuves dites "biochimiques" (aditions enzymatiques et resistance a des agents i nibiteurs) pour l'identification des Streptocoques. II. Resultats. Ann. Inst. Pauster., 91: 147-161, 1956a.
376. _____ & _____. Les épreuves dites "biochimiques" (aditions enzymatiques et resistance a des agents i nibiteurs) pour l'identification des Streptocoques. III. Interpretation. Ann. Inst. Pauster., 91: 279-291, 1956b.
377. WALKHOFF, O. Ein beitrage der pharmakologie der chloro-phenol kanpler-preparate. Zhnrztl Rdsch., 1925: 965, 1891. Apud PUCCL, F.M. op. cit. ref. 286.
378. WEIBERGER, B.W. An Introduction to the history of Dentistry. Mosby Co. St. Louis, 1948.

379. WEISBERGER, H.T. Terapia general con antibiotics. O-
dont. Clin. Nort. Am., 4: 136-147, 1960.
380. WHITEHEAD, F.I.; MAC GREGOR, A.B.; MARSLAND, E.A. The
relation of bacterial invasion to softening of the
dentine in permanent and deciduous teeth. Br. dent.
J., 108: 261, 1960.
381. WILLIAMS, R.E.O. & HIRCH, A. The detection of Strepto
cocci in air. J. Hys., 48: 504-524, 1950.
382. _____. Laboratory diagnosis of Streptococci infec-
tions. Bull Wld Hlth. Org., 19: 153-176, 1958.
Apud MIRANDA, V.C. op. cit. ref. 240.
383. WILLIAMS, N.B. et alii. A study of simultaneous occur-
rence of enterococci, lactobacilli and yeasts in sa-
liva from human beings. J. dent. Res., 29: 563-570,
1950.
384. WILSON, G.S. & MILES, A.A. Principles of Bacteriolo-
gy and Immunity. 5 ed. Vol. II. London, Edward Ar-
nold Ltd., 1964. pp. 693-745.
385. _____ & _____. Topley and Wilson's principles
of bacteriology and immunity. 4 ed. Vol. II. Lon-
don. Edward Arnold Ltd., 1955. pp. 649-698.

386. WINTER & SANDHOLZER. Us Depto. Int. Fishery Leaflet 201. Part. II, Nov. 1946. In: Difco Manual, op. cit. ref. 81.
387. WIRTHZIN, M.R. Jr. Acid reacting stains, softening and bacterial invasion in human carious dentin. J.dent. Res., 49: 42, 1970.
388. WIRZENRIED, P.K. Histologische untersuchungen ueber die wirkung von silber nitrat bei der belandlung der milch zahn karies. Tesis zurich, 1922.
389. YOSHIDA, S. Study on the pulp healing follow five pulpotomy with calcium hydroxide. J. Osaka Univ. dent. Soc., 4: 525-528, 1959.
390. YOSHIKI, S. & MORI, M. Enzyme histochemistry on the tissue reaction to calcium hydroxide. Bull Tokyo Dent. Coll., 2(1): 32-43, May 1961.
391. ZANDER, H.A. Bacteria in the dentin after cavity preparation. Der Zahnarztl., 1: 375, 1940.
392. _____. Reaction of the pulp to calcium hydroxide. J. dent. Res., 18: 373-379, 1939.
393. _____. Bacteria in the dentin after cavity preparation. Ill. Dent. J., 9: 207, 1940.

394. ZANDER, H.A. & SMITH, H.W. Penetration of silver nitrate into dentin. J. dent. Res., 24: 121-128, 1941.
395. _____ & LAW, D.B. Pulp management in fractures of young permanent teeth. J. Am. dent. Ass., 29: 737-741, 1942.
396. ZEBRAL, A.A. & ETHER, S.S. Classificação e prevalência dos grupos bacterianos encontrados nos canais radiculares infectados. Odont. Mod., 11: 14-24, 1984.
397. ZINSSER, H. & BAYNE-JONES, S. Tratado de Bacteriologia. 1 ed. Rio de Janeiro. Imprensa Nacional, 1947. pp. 304, 305, 310.

APÊNDICE

APÊNDICE

Neste capítulo são apresentadas as Tabelas originais da determinação do número mais provável de Estreptococos (Exame Quantitativo) em cada Grupo de Estudo. São apresentadas, ainda, as Tabelas com os critérios taxonômicos utilizados para o enquadramento dos diferentes tipos de colônias encontrados, bem como os resultados das provas bioquímicas e de resistência frente aos agentes inibidores, realizadas para cada colônia isolada (Exame Qualitativo).

Tabela XVII - GRUPO CONTROLE

PERÍODO TIPOS DE COLONIA PACIENTES	NÚMERO DE COLONIAS *											
	ANTES DO TRATAMENTO						DEPOIS DO TRATAMENTO					
	A	B	C	D	TOTAL	A	B	C	D	TOTAL		
1	14	82	-	-	96	92	42	-	29	163		
2	34	38	-	-	72	78	34	-	-	112		
3	-	49	22	11	-	82	72	33	21	18	144	
4	88	-	-	-	25	113	112	-	-	20	132	
5	102	-	-	-	-	102	142	-	-	-	142	
TOTAL	287	142	11	25	465	496	109	21	67	693		
MÉDIA	57,4	28,4	2,2	5,0	93	99,2	21,8	4,2	13,4	138,6		

* CFU x 10⁸ / MG DE DENTINA.

Tabela XVIII - GRUPO CONTROLE

PERÍODO TIPOS DE COLONIA PACIENTES	NÚMERO DE COLÔNIAS *											
	ANTES DO TRATAMENTO						DEPOIS DO TRATAMENTO					
	A	B	C	D	TOTAL	A	B	C	D	TOTAL		
6	72	48	-	-	120	84	57	-	32	173		
7	75	-	18	-	93	94	-	15	-	109		
8	71	32	-	24	127	88	34	-	18	140		
9	63	42	-	-	105	73	47	-	-	120		
10	87	-	-	-	87	95	-	-	-	95		
TOTAL	368	122	18	24	532	434	138	15	50	637		
MÉDIA	73,6	24,4	3,6	4,8	106,4	86,8	27,6	3,0	10	127,4		

* CFU x 10⁸ / MG DE DENTINA.

Tabela XIX - GRUPO DO DYCAL

PERÍODO TIPOS DE COLÔNIA PACIENTES	NÚMERO DE COLÔNIAS *													
	ANTES DO TRATAMENTO							DEPOIS DO TRATAMENTO						
	A	B	C	D	TOTAL	A	B	C	D	TOTAL				
1	-	-	-	52	52	-	-	-	22	22				
2	63	-	28	-	91	11	-	-	-	11				
3	67	22	-	-	89	15	-	-	-	15				
4	41	23	-	12	76	26	-	-	-	26				
5	104	-	23	-	127	24	-	-	-	24				
TOTAL	275	45	51	64	435	76	-	-	22	98				
MÉDIA	55	9,0	10,2	12,8	87	15,2	-	-	4,4	19,6				

* CFU x 10⁸ / MG DE DENTINA,

Tabela XX - GRUPO DO DYCAL

PERÍODO TIPOS DE COLONIA PACIENTES	NÚMERO DE COLONIAS *											
	ANTES DO TRATAMENTO						DEPOIS DO TRATAMENTO					
	A	B	C	D	TOTAL	A	B	C	D	TOTAL		
6	79	-	-	-	79	42	-	-	-	42		
7	53	32	-	26	111	29	27	-	-	56		
8	68	-	8	-	76	71	-	-	-	71		
9	92	18	-	23	133	89	-	-	-	89		
10	65	29	-	-	94	59	-	-	-	59		
TOTAL	357	79	8,0	49	493	290	27	-	-	317		
MÉDIA	71,4	15,8	1,6	9,8	98,6	58	5,4	-	-	63,4		

* CFU x 10⁸ / MG DE DENTINA.

Tabela XXI - GRUPO DO LIFE

PERÍODO TIPOS DE COLÔNIA PACIENTES	NÚMERO DE COLONIAS *											
	ANTES DO TRATAMENTO						DEPOIS DO TRATAMENTO					
	A	B	C	D	TOTAL	A	B	C	D	TOTAL		
1	-	63	-	43	106	-	81	-	-	81		
2	37	58	-	-	95	24	44	-	-	68		
3	82	-	36	-	118	74	-	-	-	74		
4	46	68	-	-	114	37	54	-	-	91		
5	82	-	-	-	82	68	-	-	-	68		
TOTAL	247	189	36	43	515	203	179	-	-	382		
MÉDIA	49,4	37,8	7,2	8,6	103	40,6	35,8	-	-	76,4		

* CFU x 10⁸ / MG DE DENTINA.

Tabela XXII - GRUPO DO LIFE

PERÍODO TIPOS DE COLÔNIA PACIENTES	NÚMERO DE COLÔNIAS *											
	ANTES DO TRATAMENTO						DEPOIS DO TRATAMENTO					
	A	B	C	D	TOTAL	A	B	C	D	TOTAL		
6	86	-	13	26	125	79	-	10	21	110		
7	87	-	-	-	87	119	-	-	-	119		
8	112	37	-	-	149	102	25	-	-	127		
9	73	-	-	-	73	69	-	-	-	69		
10	68	42	-	34	144	63	35	-	28	126		
TOTAL	426	79	13	60	578	432	60	10	49	551		
MÉDIA	85,2	15,8	2,6	12	115,6	86,4	12	2,0	9,8	110,2		

* CFU x 10⁸ / MG DE DENTINA.

Tabela XXIII - GRUPO DO RENEW

PERÍODO TIPOS DE COLÔNIA PACIENTES	NÚMERO DE COLÔNIAS *											
	ANTES DO TRATAMENTO						DEPOIS DO TRATAMENTO					
	A	B	C	D	TOTAL	A	B	C	D	TOTAL		
1	44	39	-	-	83	35	-	-	-	35		
2	53	68	-	33	154	34	9	-	-	43		
3	66	72	-	-	138	47	-	-	-	47		
4	98	-	15	-	113	59	-	-	-	59		
5	87	-	-	-	87	62	-	-	-	62		
TOTAL	348	179	15	33	575	237	9	-	-	246		
MÉDIA	69,6	35,8	3,0	6,6	115	47,4	1,8	-	-	49,2		

* CFU x 10⁸ / MG DE DENTINA.

Tabela XXIV - GRUPO DO RENEW

PERÍODO TIPOS DE PACIENTES COLÔNIA	NÚMERO DE COLÔNIAS *									
	ANTES DO TRATAMENTO					DEPOIS DO TRATAMENTO				
	A	B	C	D	TOTAL	A	B	C	D	TOTAL
6	95	-	-	12	107	79	-	-	-	79
7	128	-	-	-	128	96	-	-	-	96
8	79	-	-	-	79	64	-	-	-	64
9	89	43	-	-	132	76	37	-	-	113
10	97	13	-	-	110	78	-	-	-	78
TOTAL	488	56	-	12	556	393	37	-	-	430
MÉDIA	97,6	11,2	-	2,4	111,2	78,6	7,4	-	-	86

* CFU x 10⁸ / MG DE DENTINA.

Tabela XXV - GRUPO DA PASTA DE HIDRÓXIDO DE CÁLCIO

PERÍODO TIPOS DE PACIENTES	NÚMERO DE COLÔNIAS *											
	ANTES DO TRATAMENTO						DEPOIS DO TRATAMENTO					
	A	B	C	D	TOTAL	A	B	C	D	TOTAL		
1	51	76	-	38	165	38	55	-	-	93		
2	104	-	28	-	132	96	-	-	-	96		
3	119	37	-	68	224	98	34	-	-	132		
4	92	51	-	-	143	62	25	-	-	87		
5	134	-	-	-	134	82	-	-	-	82		
TOTAL	500	164	28	106	798	376	114	-	-	490		
MÉDIA	100	32,8	5,6	21,2	159,6	75,2	22,8	-	-	98		

* CFU x 10⁸ / MG DE DENTINA

Tabela XXVI - GRUPO DA PASTA DE HIDROXIDO DE CÁLCIO

PERÍODO TIPOS DE COLÔNIA PACIENTES	NÚMERO DE COLÔNIAS *									
	ANTES DO TRATAMENTO					DEPOIS DO TRATAMENTO				
	A	B	C	D	TOTAL	A	B	C	D	TOTAL
6	164	74	-	-	238	122	15	-	-	137
7	134	-	-	-	137	124	-	-	-	124
8	111	-	-	-	111	85	-	-	-	85
9	136	-	28	31	195	77	-	-	-	77
10	125	-	-	-	125	82	-	-	-	82
TOTAL	673	74	28	31	806	490	15	-	-	505
MÉDIA	134,6	14,8	5,6	6,2	161,2	98	3,0	-	-	101

* CFU x 10⁸ / MG DE DENTINA.

Tabela XXVII - CRITÉRIO TAXONÔMICO PARA A CLASSIFICAÇÃO DOS ENTEROCOCOS

Testes	"Espécies"	<i>Str. faecalis</i>	<i>Str. faecalis</i> var. <i>liquefaciens</i>	<i>Str. faecalis</i> var. <i>zimogenes</i>	<i>Str. faecium</i>	<i>Str. durans</i>
Crescimento em:						
caldo ácida-glicose à 45°C		+	+	+	+	+
leite azul de metileno à 0,1%		+	+	+	+	+
Redução do 2,3,5, cloreto de trifenil tetrazólico		+	+	+	-	-
Liquefação da gelatina		-	+	-	-	-
Hemólise Beta		-	-	+	-	-
Fermentação:						
Manitol		+	+	+	+	-
Sorbitol		+	+	+	-(+)	-

Tabela XXVIII - CRITÉRIOS TAXONÔMICOS NA CLASSIFICAÇÃO DE ESTREPTOCOCOS NOS GRUPOS DE CARLSSON

Grupos	Grupo II	Grupo III	Grupo IV	Grupo V				
Espécies prováveis	(<i>Str. mutans</i>)	(<i>Str. salivarius</i>)	(<i>Str. sp</i>)	(Str. mitis, etc.)				
Variedades				Va	Vb	Vc	Ve	Vf
Provas realizadas								
Tipo de col. no MSA	R.	L.	L.	L.	L.	L.R.	L.	L.
Bile solubilidade	-	-	-	-	-	-	-	-
Hemólise	-	de modo geral, alfa-hemolíticas		-	-	-	-	-
Catalase	+	-	-	-	-	-	-	-
Viscosidade em caldo com 5% de sacarose								
Pp. densa após adição de etanol (99,5%)	+							
a. uma parte	+							
b. três partes	+							
Cresc. em 4% de NaCl	+							
Cresc. em 6,5% de NaCl	-							
Cresc. em 0,01% Az. Met.	-							
Cresc. em 0,1% Az. Met.	-							
Hidrólise da arginina	-							
Hidrólise do amido(**)	-							
Fermentação:								
a. Inulina	+							
b. Rafinose	+							
c. Manitol	+							
d. Sorbitol	+							

(*) Seguimos, na organização geral desta tabela, as diretrizes da similar de CARLSSON (1967a). Legenda Quadro I. Foram emitidos os sub-grupos Ic e Ie; Vd1, Vg e Vi porque não ocorreram em nossos achados.

(**) Prova realizada somente para os Grupos I e II (produtores de dextrana).

COLÔNIAS TIPO a (MORFOLOGIA: ENTEROCOCCOS)

PACIENTE	PROVAS	CATALASE	HEMÓLISE	ÁGAR CONF. P/ ENTEROCOCOS	LIQUEF. DA GELATINA	FERMENT. MANITOL	FERMENT. SORBITOL	RED. DO 2,3,5 TRIFEN.	CLASSIFICAÇÃO
1A 1 - 37	ANTES	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>
1A 2 - 46	ANTES	-	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável		Não viável
1A 3 - 46	ANTES	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>
1A 4 - 47	ANTES	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>
1A 5 - 36	ANTES	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>
1A 1 - 37	30 DIAS	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>
1A 2 - 46	30 DIAS	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>
1A 3 - 46	30 DIAS	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>
1A 4 - 47	30 DIAS	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>
1A 5 - 36	30 DIAS	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>
1B 6 - 37	ANTES	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>
1B 7 - 47	ANTES	-	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável		Não viável

COLÓNIAS TIPO a (MORFOLOGIA: ENTEROCOCCOS)

PROVAS	CATALASE	HEMÓLISE	ÁGAR CONF. P/ ENTEROCOCOS	LIQUEF. DA GELATINA	FERMENT. MANITOL	FERMENT. SORBITOL	RED. DO TRITEN.	CLASSIFICAÇÃO
PACIENTE I _B 8 - 36 ANTES	-	gama	+	-	+	+	+	Str. faecalis
I _B 9 - 47 ANTES	-	gama	+	-	+	+	+	Str. faecalis
I _B 10 - 37 ANTES	-	gama	+	-	+	+	+	Str. faecalis
I _B 6 - 37 7 DIAS	-	gama	+	-	+	+	+	Str. faecalis
I _B 7 - 47 7 DIAS	-	gama	+	-	+	+	+	Str. faecalis var. liquefaciens
I _B 8 - 36 7 DIAS	-	gama	+	-	+	+	+	Str. faecalis
I _B 9 - 47 7 DIAS	-	gama	+	-	+	+	+	Str. faecalis
I _B 10 - 37 7 DIAS	-	gama	+	-	+	+	+	Str. faecalis
II _A 2 - 37 ANTES	-	gama	+	-	+	+	+	Str. faecalis
II _A 3 - 47 ANTES	-	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável		Não viável
II _A 4 - 47 ANTES	-	gama	+	-	+	+	+	Str. faecalis
II _A 5 - 37 ANTES	-	gama	+	-	+	+	+	Str. faecalis

COLÔNIAS TIPO a (MORFOLOGIA: ENTEROCOCCOS)

PROVAS	CATALASE	HEMOLISE	ÁGAR CONF. P/ ENTEROCOCOS	LIQUEF. DA GELATINA	FERMENT. MANITOL	FERMENT. SORBITOL	RED. DO TRIFEN.	CLASSIFICAÇÃO
IIA 2 - 37 30 DIAS	-	gama	+	-	+	+	+	Str. faecalis
IIA 3 - 47 30 DIAS	-	gama	+	-	+	+	+	Str. faecalis
IIA 4 - 47 30 DIAS	-	gama	+	-	+	+	+	Str. faecalis
IIA 5 - 37 30 DIAS	-	Não viável		Não viável	Não viável			Str. faecalis
II B 6 - 47 ANTES	-	gama	+	-	+	+	+	Str. faecalis
II B 7 - 36 ANTES	-	gama	+	-	+	+	+	Str. faecalis
II B 8 - 37 ANTES	-	gama	+	-	+	+	+	Str. faecalis
II B 9 - 47 ANTES	-	gama	+	-	+	+	+	Str. faecalis
II B 10 - 46 ANTES	-	gama	+	-	+	+	+	Str. faecalis
II B 6 - 47 7 DIAS	-	gama	+	-	+	+	+	Str. faecalis
II B 7 - 36 7 DIAS	-	gama	+	-	+	+	+	Str. faecalis
II B 8 - 37 7 DIAS	-	gama	+	-	+	+	+	Str. faecalis

COLÔNIAS TIPO a (MORFOLOGIA: ENTEROCOCCOS)

PROVAS PACIENTE	CATALASE	HEMÓLISE	AGAR CONF. P/ ENTERO- COCOS	LIQUEF. DA GELATINA	FERMENT. MANITOL	FERMENT. SORBITOL	RED. DO 2-3-5 TRITEN.	CLASSIFICAÇÃO
111 B 9 - 47 7 DIAS	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>
111 B 10 - 46 7 DIAS	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>
111 A 2 - 46 ANTES	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>
111 A 3 - 47 ANTES	-	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável		Não viável
111 A 4 - 35 ANTES	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>
111 A 5 - 36 ANTES	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>
111 A 2 - 46 30 DIAS	-	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável			Não viável
111 A 3 - 47 30 DIAS	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>
111 A 4 - 36 30 DIAS	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>
111 A 5 - 36 30 DIAS	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>
111 B 6 - 48 ANTES	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>
111 B 7 - 47 ANTES	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>

COLÔNIAS TIPO a (MORFOLOGIA: ENTEROCOCOS)

PROVAS	CATALASE	HEMÓLISE	ÁGAR CONF. P/ ENTEROCOCOS	LIQUEF. DA GELATINA	FERMENT. MANITOL	FERMENT. SORBITOL	RED. DO TRIFEN.	CLASSIFICAÇÃO
III _B 8 - 37 ANTES	-	gama	+	+	+	+	+	<i>Str. faecalis</i> var. <i>liquefaciens</i>
III _B 9 - 46 ANTES	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>
III _B 10 - 47 ANTES	-	gama	+	+	+	+	+	<i>Str. faecalis</i> var. <i>liquefaciens</i>
III _B 6 - 48 7 DIAS	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>
III _B 7 - 47 7 DIAS	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>
III _B 8 - 37 7 DIAS	-	gama	+	+	+	+	+	<i>Str. faecalis</i> var. <i>liquefaciens</i>
III _B 9 - 46 7 DIAS	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>
III _B 10 - 47 7 DIAS	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i> var. <i>liquefaciens</i>
IV _A 1 - 47 ANTES	-	gama	+	+	+	+	+	<i>Str. faecalis</i> var. <i>liquefaciens</i>
IV _A 2 - 37 ANTES	-	gama	+	+	+	+	+	<i>Str. faecalis</i> var. <i>liquefaciens</i>
IV _A 3 - 37 ANTES	-	Não viável		Não viável	Não viável			Não viável
IV _A 4 - 47 ANTES	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>

COLÔNIAS TIPO a (MORFOLOGIA: ENTEROCOCCOS)

PROVAS	CATALASE	HEMÓLISE	ÁGAR CONF. P/ ENTEROCOCOS	LIQUEF. DA GELATINA	FERMENT. MANITOL	FERMENT. SORBITOL	RED. DO 2,3,5 TRIPN.	CLASSIFICAÇÃO
PACIENTE								
IV _A 5 - 47 ANTES	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>
IV _A 1 - 47 30 DIAS	-	gama	+	+	+	+	+	<i>Str. faecalis</i> var. <i>liquefaciens</i>
IV _A 2 - 37 30 DIAS	-	gama	+	+	+	+	+	<i>Str. faecalis</i> var. <i>liquefaciens</i>
IV _A 3 - 37 30 DIAS	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>
IV _A 4 - 47 30 DIAS	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>
IV _A 5 - 47 30 DIAS	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>
IV _B 6 - 47 ANTES	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>
IV _B 7 - 37 ANTES	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>
IV _B 8 - 37 ANTES	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>
IV _B 9 - 36 ANTES	-	gama	+	+	+	+	+	<i>Str. faecalis</i> var. <i>liquefaciens</i>
IV _B 10 - 37 ANTES	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>

COLONIAS TIPO a (MORFOLOGIA: ENTEROCOCCOS)

PROVAS	CATALASE	HEMÓLISE	ÁGAR CONF. P/ ENTEROCOCOS	LIQUEF. DA GELATINA	FERMENT. MANITOL	FERMENT. SORBITOL	RED. DO TRITEN.	CLASSIFICAÇÃO
PACIENTE								
IV _B 6 - 47 7 DIAS	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>
IV _B 7 - 37 7 DIAS	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>
IV _B 8 - 37 7 DIAS	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>
IV _B 9 - 36 7 DIAS	-	gama	+	+	+	+	+	<i>Str. faecalis</i> var. <i>Liquefaciens</i>
IV _B 10 - 37 7 DIAS	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>
V _A 1 - 38 ANTES	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>
V _A 2 - 47 ANTES	-	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável		Não viável
V _A 3 - 48 ANTES	-	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	+	Não viável
V _A 4 - 37 ANTES	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>
V _A 5 - 46 ANTES	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>
V _A 1 - 38 30 DIAS	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>
V _A 2 - 47 30 DIAS	-	gama	+	-	+	+	+	<i>Str. faecalis</i>

COLÔNIAS TIPO b (MORFOLOGIA: *Skt. viscidans*)

PROVAS	CATALASE	HEMOLISE	AGAR CONF. P/ ENTEROCOCOS	CRESC. EM CALDO NIPER SACAROSADO	PREC. P/ ADIÇÃO 1 PARTE ETAN. PREC. P/ A-DIÇÃO 3 PARTES ETANOL	HIDRÓLISE DE AMIDO * HIDRÓLISE DA ARGININA	FERMENT. HANITOL	FERMENT. SORBITOL	FERMENT. RAFINOSE	FERMENT. INULINA	CLASSIFI. CAÇÃO	
PACIENTES												
I A 1 - 37 ANTES	-	gama	-	+	+	-	+	+	+	+	Skt. mucans	
I A 2 - 46 ANTES	-	gama	-	+	+	-	+	+	+	+	Skt. mucans	
I A 3 - 46 ANTES	-	Não viável										
I A 1 - 37 30 DIAS	-	alfa	-	+	+	-	+	+	+	+	Skt. mucans	
I A 2 - 46 30 DIAS	-	gama	-	+	+	-	+	+	+	+	Skt. mucans	
I A 3 - 46 30 DIAS	-	Não viável										
I B 6 - 37 ANTES	-	gama	-	+	+	-	+	+	+	+	Skt. mucans	
I B 8 - 36 ANTES	-	gama	-	+	+	-	+	+	+	+	Skt. mucans	
I B 9 - 47 ANTES	-	gama	-	+	+	-	+	+	+	+	Skt. mucans	
I B 6 - 37 7 DIAS	-	gama	-	+	+	-	+	+	+	+	Skt. mucans	
I B 7 - 36 7 DIAS	-	alfa	-	-	-	-	-	-	-	-	Skt. mucans	
I B 9 - 47 7 DIAS	-	gama	-	+	+	-	+	+	+	+	Skt. mucans	
I I A 3 - 47 ANTES	-	gama	-	+	+	-	+	+	+	+	Skt. mucans	
I I A 4 - 47 ANTES	-	Não viável										
											Não viável	

* Realizada somente para os dextrana positivo

COLÔNIAS TIPO 9 (MORFOLOGIA: *Sct. vinidans*)

PROVAS	CATALASE	HEMOLISE	ÁGAR CONF. P/ ENTERO-COCOS	CRESC. EM CALDO HIPER-SACAROSADO	PREC. P/ ADIÇÃO 1 PARTE ETANOL	PREC. P/ A-DIÇÃO 3 PARTES ETANOL	HIDROLISE DE AMIDO*	HIDROLISE DA ARGININA	FERMENT. MANITOL	FERMENT. SORBITOL	FERMENT. RAFINOSE	FERMENT. INULINA	CLASSIFI. CAÇÃO
PACIENTES													
11 _B 7 - 36 ANTES	-		Não viável	Não viável	Não viável	Não viável			Não viável				Não viável
11 _B 9 - 47 ANTES	-	alfa	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	Sct. múltis
11 _B 10 - 46 ANTES	-	gama	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	Sct. mucosa
11 _B 7 - 36 7 DIAS	-		Não viável	Não viável	Não viável	Não viável			Não viável				Não viável
11 _B 8 - 37 7 DIAS	-	alfa	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	Sct. múltis
111 _A 1 - 47 ANTES	-	gama	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	Sct. múltis
111 _A 2 - 46 ANTES	-	gama	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	Sct. múltis
111 _A 4 - 36 ANTES	-	alfa	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	Sct. mucosa
111 _A 1 - 47 30 DIAS	-		Não viável	Não viável	Não viável	Não viável			Não viável				Não viável
111 _A 2 - 46 30 DIAS	-		Não viável	Não viável	Não viável	Não viável			Não viável				Não viável
111 _A 4 - 36 30 DIAS	-	alfa	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	Sct. múltis
111 _B 8 - 37 ANTES	-		Não viável	Não viável	Não viável	Não viável			Não viável				Não viável
111 _B 10 - 47 ANTES	-	alfa	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	Sct. múltis

* Realizada somente para os dextrana positivo

COLONIAS TIPO b (MORFOLOGIA: Sét. *ultracolorans*)

PROVAS	CATALASE	HEMOLISE	AGAR CONF. P/ ENTERO-COCOS	CRESC. EM CALDO HIPER SACAROSADO	PREC. P/ ADIÇÃO 1 PARTE ETAN. PREC. P/ A-DIÇÃO 3 PARTES ETANOL	HIDRÓLISE DE AMIDO * HIDRÓLISE DA ARGININA	FERMENT. MANITOL	FERMENT. SORBITOL	FERMENT. RAFINOSE	FERMENT. INULINA	CLASSIFI-CAÇÃO
PACIENTES											
III B - 37 7 DIAS	-		Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável
III B 10 - 47 7 DIAS	-	alfa	-	-	-	-	-	-	+	-	Sét. <i>mutans</i>
IV A 1 - 47 ANTES	-	gama	-	+	+	-	+	+	+	+	Sét. <i>mutans</i>
IV A 2 - 37 ANTES	-	alfa	-	+	+	-	+	+	+	+	Sét. <i>mutans</i>
IV A 3 - 37 ANTES	-		Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável
IV A 2 - 37 30 DIAS	-	alfa	-	+	+	-	+	+	+	+	Sét. <i>mutans</i>
IV B 9 - 36 ANTES	-	gama	-	+	+	-	+	+	+	+	Sét. <i>mutans</i>
IV B 10 - 37 ANTES	-	alfa	-	+	+	-	+	+	+	+	Sét. <i>mutans</i>
IV B 9 - 36 7 DIAS	-		Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável
V A 1 - 38 ANTES	-	alfa	-	+	+	-	+	+	+	+	Sét. <i>mutans</i>
V A 3 - 48 ANTES	-		Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável
V A 4 - 37 ANTES	-	gama	-	+	+	-	+	+	+	+	Sét. <i>mutans</i>
V A 1 - 38 30 DIAS	-	alfa	-	+	+	-	+	+	+	+	Sét. <i>mutans</i>
V A 3 - 48 30 DIAS	-		Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável

* Realizada somente para os dextrina positivo

COLONIAS TIPO B (MORFOLOGIA: Sst. vicidiana)

PROVAS	CATALASE	HEMOLISE	AGAR CONF. P/ ENTERO-	COCOS	CRESC. EM CALDO HIPER SACAROSADO	PREC. P/ ADIÇÃO 1 PARTE ETAN.	PREC. P/ A-ADIÇÃO 3 PAR	TEST ETANOL	HIDROLISE DE AMIDO *	HIDROLISE DA ARGININA	FERMENT. MANTOL	FERMENT. SORBITOL	FERMENT. RAFINOSE	FERMENT. INULINA	CLASSIFI. CAÇÃO
PACIENTES															Sst. múltiplos
V _A 4 - 37	alfa														Não viável
V _B 6 - 38															Não viável
30 DIAS ANTES															

* Realizada somente para os dextrana positivo

COLONIAS TIPO c (MORFOLOGIA: *Sct. viscidans*)

PROVAS	CATALASE	HEMOLISE	AGAR CONF.	P/ ENTERO-	COCOS	CRESC. EM CALDO HIPER SACAROSADO	PREC. p/ ADIÇÃO 1 PARTE ETAN.	PREC. p/ A-DIÇÃO 3 PAR	TESTES ETANOL	HIDROLISE DE AMIDO *	HIDROLISE DA ARGININA	FERMENT. HANITOL	FERMENT. SORBITOL	FERMENT. RAFINOSE	FERMENT. INULINA	CLASSIFI CAÇÃO
PACIENTES																
I _A 3 - 46 ANTES	-			Não viável		Não viável			Não viável			Não viável				Não viável
I _A 3 - 46 30 DIAS	-	gama	-	+		+	+		-		-	+	+	+	+	Sct. mutans
I _B 7 - 47 ANTES	-	gama	-	+		+	+		-		-	+	+	+	+	Sct. mutans
I _B 7 - 47 7 DIAS	-			Não viável		Não viável						Não viável				Não viável
II _A 2 - 37 ANTES	-	gama	-	+		+	+		-		-	+	+	+	+	Sct. mutans
II _A 5 - 37 ANTES	-	gama	-	+		+	+		-		-	+	+	+	+	Sct. mutans
II _B 8 - 37 ANTES	-	gama	-	+		+	+		-		-	+	+	+	+	Sct. mutans
III _A 3 - 47 ANTES	-	gama	-	+		+	+		-		-	+	+	+	+	Sct. mutans
III _B 6 - 48 ANTES	-			Não viável		Não viável						Não viável				Não viável
III _B 6 - 48 7 DIAS	-	gama	-	+		+	+		-		-	+	+	+	+	Sct. mutans
III _B 10 - 47 7 DIAS	-	gama	-	+		+	+		-		-	+	+	+	+	Sct. mutans
IV _A 4 - 47 ANTES	-	gama	-	+		+	+		-		-	+	+	+	+	Sct. mutans
V _A 2 - 47 ANTES	-	gama	-	+		+	+		-		-	+	+	+	+	Sct. mutans
V _B 9 - 47 ANTES	-	gama	-	+		+	+		-		-	+	+	+	+	Sct. mutans

* Realizada somente para os dextrana positivo

COLONIAS TIPO d (MORFOLOGIA: Sét. viridana)

PACIENTES	PROVAS	CATALASE	HEMOLISE	AGAR CONF. P/ ENTERO-COCOS	CRESC. EM CALDO HIPER SACAROSADO	PREC. P/ ADIÇÃO 1 PARTE ETAN. PREC. P/ ADIÇÃO 3 PAR	RES ETANOL	HIDROLISE DE AMIDO	HIDROLISE DA ARGININA	FERMENT. MANITOL	FERMENT. SORBITOL	FERMENT. RAFINOSE	FERMENT. INULINA	CLASSIFI. CAÇÃO
I A 4 - 47	ANTES	-	alfa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	Sét. <i>mütis</i>
I A 1 - 37	30 DIAS	-		Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável
I A 3 - 46	30 DIAS	-		Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável
I A 4 - 47	30 DIAS	-	alfa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	Sét. <i>mütis</i>
I B 8 - 36	ANTES	-		Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável
I B 6 - 37	7 DIAS	-	alfa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	Sét. <i>mütis</i>
I B 8 - 36	7 DIAS	-	alfa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	Sét. <i>mütis</i>
II A 1 - 46	ANTES	-	alfa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Sét. <i>sp</i>
II A 4 - 47	ANTES	-	alfa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	Sét. <i>mütis</i>
II A 1 - 46	30 DIAS	-	alfa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Sét. <i>sp</i>
II B 7 - 36	ANTES	-		Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável
II B 9 - 47	ANTES	-		Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável
III A 1 - 47	ANTES	-	alfa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Sét. <i>sp</i>
III B 6 - 48	ANTES	-		Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável	Não viável

* Realizada somente para os dextrana positivo

COLÔNIAS TIPO d (MORFOLOGIA: *Szn. viscidans*)

PROVAS	CATALASE	HEMOLISE	AGAR CONF.	P/ ENTERO-	COCOS	CRESC. EM	CALDO HIPER	SACAROSADO	PREC. P/ ADIÇÃO 1	PART. ETAN.	PREC. P/ A-DIÇÃO 3 PAR	TEST. ETANOL	HIDROLISE DE AMIDO	HIDROLISE DA ARGININA	FERMENT. HANTIDOL	FERMENT. SORBITOL	FERMENT. RAFINOSE	FERMENT. INULINA	CLASSIFI. CAÇHO
PACIENTES																			
III _B 10 - 47 ANTES	-	alfa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	Szn. mucos.
III _B 6 - 48 7 DIAS	-	alfa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	Szn. mucos.
III _B 10 - 47 7 DIAS	-	alfa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	Szn. mucos.
IV _A 2 - 37 ANTES	-	alfa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Szn. sp
IV _A 4 - 47 ANTES	-	alfa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	Szn. mucos.
IV _B 6 - 47 ANTES	-	alfa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Szn. sp
V _A 1 - 38 ANTES	-	alfa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Szn. sp
V _A 3 - 48 ANTES	-	alfa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	Szn. mucos.
V _B 9 - 47 ANTES	-	alfa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Szn. sp

* Realizaba somente para os dextrana positivo