

Claudia Maria Barboza Breder

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO IODOFÓRMIO
E DO HIDRÓXIDO DE CÁLCIO, ASSOCIADOS À DENTINA: ESTUDO
IN VITRO



C.P.O. São Leopoldo Mandic
Centro de Pós-Graduação
Campinas
2003

CLAUDIA MARIA BARBOZA BREDER

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO IODOFÓRMIO
E DO HIDRÓXIDO DE CÁLCIO, ASSOCIADOS À DENTINA: ESTUDO
*IN VITRO***

Dissertação apresentada à C.P.O. São
Leopoldo Mandic - Centro de Pós-
Graduação para obtenção do grau de
Mestre em Odontologia.

Área de Concentração: Endodontia

Orientador: Prof. Dr. Manoel Eduardo de
Lima Machado

CAMPINAS
2003

CLAUDIA MARIA BARBOZA BREDER

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO IODOFÓRMIO
E DO HIDRÓXIDO DE CÁLCIO, ASSOCIADOS À DENTINA: ESTUDO
*IN VITRO***

Dissertação apresentada à C.P.O. São
Leopoldo Mandic - Centro de Pós-
Graduação para obtenção do grau de
Mestre em Odontologia.

Área de Concentração: Endodontia

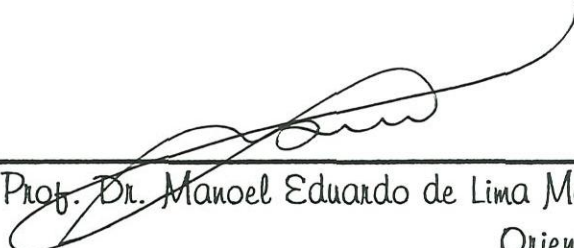
Orientador: Prof. Dr. Manoel Eduardo de
Lima Machado

CAMPINAS
2003

C.P.O. - CENTRO DE PESQUISAS ODONTOLÓGICAS
SÃO LEOPOLDO MANDIC

Folha de Aprovação

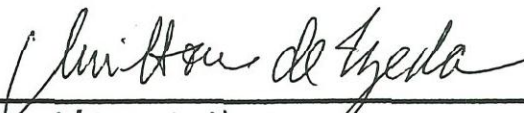
A dissertação intitulada: "Atividade antibacteriana do iodoformio e do hidróxido de cálcio, associados à dentina: estudo *in vitro*" apresentada ao Centro de Pós-Graduação, para obtenção do grau de Mestre em Odontologia, área de concentração: Endodontia em 13 de Junho de 2.003, à comissão examinadora abaixo nominada, foi aprovada após liberação pelo orientador.



Prof. Dr. Manoel Eduardo de Lima Machado
Orientador



Prof. Dr. Arlindo Di Spagna Souza
1º Membro



Prof. Dr. Milton de Uzeda
2º Membro

A TAMARA,

Presente de Deus em minha vida,

Motivo maior de toda minha felicidade.

A você, que sempre compreendeu...

minha ausência, necessária para realização

de meus ideais profissionais,

que sempre me incentivou,

que foi muito madura apesar de sua pouca idade,

que demonstrou muita paciência nos momentos difíceis,

tornando possível a conclusão do curso.

Dedico essa etapa vencida, e a realização de todos os meus ideais.

Agradeço a Deus, por ter me concedido saúde e força, permitindo alcançar o objetivo proposto, aos meus pais e ao meu marido, pelo incentivo e apoio essenciais para a realização desse desafio.

Minha gratidão a todos os Mestres, pelos conhecimentos transmitidos:

Ao Prof. Dr. Manoel Eduardo de Lima Machado meu orientador, responsável por conduzir-me no caminho da pesquisa, cujo espírito inovador, é motivo de admiração e respeito.

Ao Prof. Dr. Arlindo Di Spagna Souza, atencioso e paciente, sempre que solicitei seus preciosos ensinamentos.

A Profa. Dra. Maria Leticia Britto Machado, pela vital participação na conclusão dessa pesquisa.

Ao Prof. Dr. Milton de Uzeda, conhecedor e experiente na área de Microbiologia, pela segura orientação durante todas as etapas da pesquisa, e atenção ímpar com que me recebeu.

*Ao Prof. Dr. Maurício Alves Chagas, amigo que esteve sempre presente,
dedicando seu tempo, valiosa ajuda e incentivo.*

*A amiga Profa. Stella Mariza G. Coelho, pela disponibilidade sempre
demonstrada no desempenho das atividades profissionais*

*Ao meu mestre, Prof. Walker André Chagas, responsável pela minha
carreira no magistério, exemplo de educador (do latim: conduzir; guiar)*

*As amigas Professoras: Dra. Nádia Maria Figueiredo de Athayde e
Dra. Ilizabete Guimarães de Oliveira, transmitindo seus conhecimentos e
resolvendo dúvidas.*

*Ao Dr. Lauro de Freitas Moreira, presença importante na realização da
parte prática dessa pesquisa.*

*Ao Dr. Jaques Titonelli Ferreira, executando gentilmente, a
documentação fotográfica essencial para o trabalho.*

"Alguns homens vêem as coisas como elas são".

e dizem "por quê"?

Eu sonho com coisas que nunca foram feitas,

e digo "por que não"?"

(George Bernard Shaw)

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	9
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	10
LISTA DE ABREVIATURAS	11
RESUMO	12
1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DA LITERATURA	16
2.1 Medicações	16
2.2 Hidróxido de Cálcio	20
2.3 Iodofórmio	31
2.4 Os microrganismos e o papel dos mesmos na instalação do processo infeccioso	39
2.5 Alguns aspectos relacionados aos microorganismos utilizados no presente trabalho	46
3. PROPOSIÇÃO	48
4. MATERIAL E MÉTODO	49
4.1 Material	49
4.2 Método	51
4.2.1 Preparo do Dente	51
4.2.2 Colheita do Material	51
4.2.3 Preparo do Meio de Cultura	52
4.2.4 Preparo dos Medicamentos	53
5. RESULTADOS	57
6. DISCUSSÃO	59
7. CONCLUSÃO	70
ABSTRACT	71
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72
ANEXO	

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 – Colocação dos discos de papel com os medicamentos nas
semeaduras realizadas no Ágar Mitis Salivarius 54
- FIGURA 2 – Imagem da placa de Petri mostrando os halos de inibição
formados no Grupo 1 (Iodofórmio, à esquerda) e no Grupo 2
(Hidróxido de Cálcio, à direita) 55
- FIGURA 3 – Imagem capturada da tela do computador mostrando a
análise computadorizada para obtenção da medida da
distância entre o disco com o medicamento e a colônia
bacteriana mais próxima 56

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

TABELA 1 –	Média final obtida para os dois medicamentos testados na sua atividade inibitória	57
TABELA 2 –	Dados e resultados estatísticos dos Grupos 1 e 2 - Teste T de Student (nível de significância $p = 0,05$)	57
GRÁFICO 5.1 –	Gráfico representativo da atividade antibacteriana dos dois medicamentos avaliados	58

LISTA DE ABREVIATURAS

BHI	Brain - Heart - Infusion
Ca(OH)₂	Hidróxido de cálcio
HPG	Hidróxido de cálcio / Paramonoclorofenol canforado / Glicerina
IKI	Iodo- iodeto de potássio
KOH	Hidróxido de potássio
LPS	Lipopolissacarídeo
NaOCl	Hipoclorito de sódio
NaOH	Hidróxido de sódio
PMCC	Paramonoclorofenol canforado
ZnO	Óxido de zinco

RESUMO

O presente estudo teve o propósito de comparar a atividade antibacteriana de duas substâncias utilizadas como medicação intracanal: o Iodofórmio e o Hidróxido de Cálcio, associados à dentina, sobre *Streptococcus* da cavidade oral. Para realização dessa pesquisa, foi utilizada raiz do dente molar superior extraído, necrosado, com lesão periapical, transformada em pó, a fim de ser misturada com as medicações propostas neste estudo. Foi utilizado um veículo inerte para obtenção da consistência desejada. Placa bacteriana da superfície dental de dez diferentes pacientes com alta atividade cariogênica foi usada para se obter às bactérias próprias da cavidade oral, necessárias para a realização desse trabalho. Essas bactérias foram cultivadas em um meio rico em nutrientes que favoreceu o crescimento das mesmas. Posteriormente, as bactérias presentes nos dez tubos de ensaio, foram semeadas em quarenta Placas de Petri, contendo meio seletivo para *Streptococcus* da boca (Agar Mitis Salivarius). Em seguida foram depositados nessas Placas de Petri, discos de papel estéreis, embebidos nas pastas contendo os dois grupos de medicamentos, associados à dentina tendo como veículo, o propilenoglicol (para cada placa, foram colocados quatro discos de papel: dois para o Iodofórmio e dois para o Hidróxido de Cálcio). Posteriormente, as Placas de Petri foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°C durante um período de 48 horas. Após esse período, foram observados halos de inibição de crescimento bacteriano referentes a atividade dos medicamentos avaliados, que foram devidamente mensurados. As medidas dos halos de inibição bacteriana foram avaliadas, utilizando-se um programa de análise de imagens computadorizada, e os resultados obtidos, analisados estatisticamente, mostraram, que não houve diferença significativa entre os dois medicamentos, quando da média obtida dos halos de inibição de crescimento, sendo possível concluir que: o Iodofórmio e o Hidróxido de Cálcio se mostraram eficientes na formação dos halos e portanto na ação inibitória, na presença da dentina.

1. INTRODUÇÃO

Quando se realiza terapia endodôntica, em casos de necrose pulpar, embora o preparo químico-cirúrgico do canal radicular seja a principal forma de combate à infecção endodôntica, bactérias alojadas em regiões de reentrâncias, istmos, túbulos dentinários e ramificações, podem na maioria das vezes não ser afetada pela ação mecânica das limas e muita menos pelas ações mecânica e química da irrigação.

Se nenhuma medicação for utilizada, observa-se que na metade das vezes, bactérias sobrevivem ao preparo químico-mecânico e proliferam no canal, no período entre as sessões.

Tendo como base essas afirmativas, pode-se salientar a importância da medicação intracanal como medida auxiliar importante para o combate à infecção.

Para a eleição de uma substância que elimine bactérias é necessário que ela preencha vários requisitos, os quais se podem citar alguns, como: ter baixa tensão superficial, ser bactericida, ser radiopaco (o que irá possibilitar melhor controle de difusão e reabsorção). O fato de ser radiopaco é importante, já que a capacidade anti-séptica só será eficaz, enquanto o medicamento estiver presente.

No que diz respeito ao Hidróxido de Cálcio, tem sido recomendado como medicação intracanal em diversas situações, como: curativo de rotina no tratamento endodôntico (dentes com vitalidade e sem vitalidade), controle do exsudato periapical, lesões periapicais extensas, perfurações, fraturas, rizogênese incompleta e lesão endo-pério. Seu mecanismo de ação está relacionado à dissociação dos seus componentes (liberação de íons cálcio e hidroxila). O Hidróxido de Cálcio tem

sido recomendado como medicação intracanal, também devido ao fato, de promover selamento físico provisório do canal, com isso impossibilitando o suprimento de substratos para bactérias remanescentes, e por possuir atividade antibacteriana relacionada ao seu alto pH.

Todavia recente pesquisa realizada por HAAPASALO *et al.* (2000), demonstra ser a dentina capaz de inativar alguns medicamentos, inativando por completo o Hidróxido de Cálcio.

O Iodofórmio por sua vez, é um medicamento usado há mais de 150 anos, porém, alguns mitos foram criados em relação ao seu possível efeito sensibilizante, e seu mecanismo de ação como medicação intracanal nunca foi bem pesquisado. Ainda hoje, existem muitas dúvidas quanto a sua capacidade anti-séptica e observam-se relatos controversos na literatura, justificando a necessidade de mais estudos a seu respeito.

Sabe-se que a presença da dentina e/ou a quantidade de microorganismos, além de seus tipos, podem modificar a atividade da medicação intracanal. A interação da dentina aos medicamentos, irá nesse caso simular as condições reais de atuação da medicação intracanal.

Baseado nisso, passa a ser fundamental a constatação de algumas questões, como: saber se a associação medicação intracanal / dentina, poderá interferir de algum modo na atividade antibacteriana do Hidróxido de Cálcio e do Iodofórmio; verificar se o halo de inibição promovido a partir dessas associações, sofrerá alguma alteração e se a utilização de metodologia diferente das empregadas por outros autores, será capaz de reproduzir os resultados que concluem ser a dentina um agente inativador do Hidróxido de Cálcio.

Torna-se agora imprescindível, estudar a interação medicação intracanal / dentina, observando os fatores que poderão contribuir para o melhor esclarecimento do mecanismo de ação de tais substâncias, justificando seu uso em Endodontia.

2. REVISÃO DA LITERATURA

No presente estudo, a revisão da literatura foi feita dividindo-se os assuntos a serem abordados. A primeira parte relatou a importância da medicação intracanal na terapia endodôntica e a descrição dos medicamentos utilizados, a saber: Hidróxido de Cálcio e Iodofórmio.

Posteriormente, foi feita uma descrição dos microorganismos e o seu papel na instalação do processo infeccioso no endodonto, especialmente aqueles microorganismos utilizados no presente trabalho, apresentando algumas características fundamentais dos mesmos.

2.1 Medicamentos

Uma das etapas fundamentais para a desinfecção e modelagem do canal radicular é o preparo químico-cirúrgico. Mas, mesmo depois de adequado tratamento endodôntico a persistência de fatores que podem perpetuar a lesão, justifica a necessidade de se empregar substâncias que possam atuar sobre as bactérias alojadas naquelas áreas inacessíveis, assim como na região dos túbulos dentinários. A ação da medicação intracanal visa ainda à eliminação dos microorganismos extraradiculares, permitindo o processo de reparo da região periapical.

WALTON, em 1984, considerou que a medicação intracanal é parte integrante do tratamento e importante para o processo de terapia endodôntica. O autor discute a medicação intracanal de acordo com as categorias de uso. Isso inclui a redução dos microorganismos, prevenção da dor pós-operatória e capacidade de neutralizar as remanescentes pulpare.

O autor descreve ainda, os principais medicamentos utilizados em Endodontia de acordo com a classe química do seu princípio ativo, em: 1) Fenólicos - Eugenol, Paramonoclorofenol Canforado, Paraclorofenol, Creosoto; 2) Aldeídos - Formocresol e Glutaraldeído; 3) Halogênios - Iodo Iodeto de Potássio e Iodofórmio (à base de iodo) e Hipoclorito de Sódio (à base de cloro); 4) Esteróides; 5) Hidróxido de Cálcio; 6) Antibióticos e 7) Combinação de várias drogas.

Segundo o autor, todas as medicações possuem contra-indicações, citando a destruição tecidual por contato causada pelos haletos que ao mesmo tempo mostrou ser o menos destrutivo e irritante. Em relação aos antibióticos, os inconvenientes são muitos, como por exemplo, a capacidade de desencadear respostas alérgicas e limitado espectro de ação, além de desenvolver uma população bacteriana selecionada e resistente.

No que diz respeito à propriedade antibacteriana "*in vitro*", o iodo iodetado de potássio (IKI) se mostrou ser o melhor, se comparado com os outros medicamentos estudados, porém de acordo com WALTON sua eficácia clínica é questionável, apesar de ter sido demonstrada sua biocompatibilidade por ter se mostrado inerte à cultura de células.

A importância dos medicamentos no sucesso da terapia endodôntica, foi demonstrado por ABBOT (1990) quando afirmou que é imprescindível a utilização de uma medicação complementar ao preparo, a fim de se obter a limpeza adequada do sistema de canais radiculares. Como propriedades fundamentais da droga a ser escolhida citou a ação bactericida, antiinflamatória, além de estimular a formação de tecidos duros, sem ser tóxico ao hospedeiro. Finalmente, a escolha do material deve levar em conta, as condições patológicas do dente a ser tratado. Nesse estudo, ABBOT divide os medicamentos em grupos, a saber: aqueles que contem anti-

sépticos, aqueles que contêm antibióticos e também uma combinação de medicamentos. A seleção da medicação apropriada é a parte mais importante da terapia endodôntica.

CHONG & PITTIFORD (1992) avaliaram o uso da medicação intracanal no tratamento endodôntico, e neste estudo, os autores concluíram que quando da realização da terapia endodôntica em dentes vitais, não é necessário o uso de medicação intracanal (isso é: sendo o tratamento realizado sob condições assépticas) Concluíram ainda, que em canais infectados, a medicação intracanal será necessária e seu uso, visa: a) eliminar as bactérias que possam ter permanecido após o preparo químico- mecânico; b) diminuir a inflamação existente nos tecidos periapicais e restos pulpares; c) tornar neutros os restos orgânicos que porventura estiverem presentes; d) ter ação de barreira à permeabilidade apical; e) servir para ajudar a secagem dos canais que permanecem úmidos.

Os autores preconizam que a medicação intracanal escolhida deverá ter amplo espectro de ação além de agir por um longo período.

GEORGOPOULOU *et al.* (1993) postulam em sua pesquisa, que o sucesso depende de muitos fatores. Entre eles, o mais importante é a redução ou eliminação de bactérias da cavidade pulpar e a remoção do substrato do qual elas dependem. O preparo biomecânico e a irrigação são também importantes, mas o uso da medicação intracanal entre as sessões de tratamento tem como objetivo ajudar a eliminar as bactérias presentes. O medicamento é capaz de reduzir a flora bacteriana e especialmente aqueles microorganismos que penetram em áreas não alcançadas pela instrumentação e irrigação (área de túbulos dentinários). O medicamento pode ainda prevenir a reinfecção dos canais radiculares e reduzir o risco de proliferação de bactérias residuais.

SIQUEIRA JR. *et al.* (1996) verificaram que, a busca de um medicamento ideal para ser utilizado como curativo de demora, tem gerado um número elevado de pesquisas, objetivando encontrar uma medicação que atue efetivamente sobre a variada microbiota do sistema de canais radiculares de dentes com lesão periapical, como também, que desempenhe outras funções de interesse clínico, como por exemplo ter ação anti - exsudativa, induzir a mineralização e que possa estimular o reparo apical e periapical.

SOUZA & DANTAS (2002) realizaram trabalho de pesquisa, cujo objetivo foi verificar através do uso de corantes, a possibilidade da interferência do tampão apical de dentina na ação de contato da medicação intracanal com o coto apical. Foram utilizados 30 dentes pré-molares inferiores humanos extraídos. Os canais deviam permitir acesso ao forame. Foram então divididos em 2 grupos de 15 dentes. No grupo I, os canais foram instrumentados, irrigados com 1 ml de hipoclorito de sódio a 1% a cada mudança de instrumento, sem intenção de compactar raspas de dentina no ápice. No grupo II, foi realizado o mesmo procedimento com o cuidado de fazer a patência apical. Nesse grupo, após o preparo o forame era manipulado (sem ampliação) no seu diâmetro original, com o objetivo de deixá-lo livre das raspas de dentina. Feito o preparo nas condições descritas para os 2 grupos, irrigava-se com 2 ml de soro fisiológico e a secagem era feita com cones de papel absorvente. Em seguida os dentes foram fixados por fita adesiva em posição vertical a uma placa de vidro, e o corante (tinta Nanquim) foi depositado preenchendo todo o canal. Os dentes foram selados com IRM por 72 horas.

Na avaliação da penetração do corante no canal cementário, no grupo I, 9 casos foram positivos e 6 foram negativos. No grupo II, 15 foram positivos e nenhum

negativo. Neste último, através da manutenção da patência do forame não foi permitida a formação do tampão.

Os autores concluíram que em algumas situações clínicas a medicação intracanal pode sofrer limitação de contato com o coto apical o que provocaria restrição total ou parcial na ação do medicamento.

2.2 Hidróxido de Cálcio

O hidróxido de cálcio apresenta-se como um pó branco, alcalino (pH12, 8) pouco solúvel em água (solubilidade de 1,2 g/litro de água, à temperatura de 25° C). Trata-se de uma base forte, obtida a partir da calcinação (aquecimento) do carbonato de cálcio (cal viva).

Estudo feito por HEITHERSAY (1970), a capacidade do hidróxido de cálcio em reduzir o exsudato e de auxiliar na diminuição da reação inflamatória é atribuída à sua propriedade de atuar na diminuição do calibre dos capilares.

Outro trabalho publicado pelo mesmo autor (1975) indicou o uso do hidróxido de cálcio em casos de lesão periapical extensa, reabsorções radiculares, perfurações, fraturas transversas, raízes incompletamente desenvolvidas (em casos de dentes não vitais). Segundo o autor, a presença de íons cálcio agiria diminuindo a permeabilidade dos vasos (encontrados em granulomas). Para a formação da matriz colágena, o cálcio também é essencial, já que a enzima pirofosfatase é dependente do íon cálcio, e o uso da medicação à base de hidróxido de cálcio será capaz de induzir a formação de tecido conjuntivo de reparação, especialmente onde se faz necessário formação de tecido duro.

Em 1978, FERREIRA *et al.* avaliaram o poder bacteriostático e bactericida do hidróxido de cálcio utilizado como curativo de demora nos canais radiculares. O objetivo do trabalho, foi observar o comportamento dos microorganismos existentes no interior dos condutos radiculares, isolados de polpa necrosada, frente ao hidróxido de cálcio. Não houve interesse em selecionar quais os tipos de microorganismos encontrados nas culturas, mas o predomínio era de *Streptococcus*. As amostras foram cultivadas em meio "Brain Heart Infusion". Em saliva fisiológica estéril foram preparadas soluções de hidróxido de cálcio nas concentrações de 5, 10 e 20%. Sucessivamente após 5, 10, 15, 20 e 30 min. de contato do microorganismo com o hidróxido de cálcio, foram repicados 0,1ml para tubos "Flid Thiooglycollate Medium" e incubados à 37°C por 24 horas. Paralelamente, foram realizados controles das culturas empregadas repicando-se 0,2 ml para tioglicolato. A leitura foi feita anotando-se a presença ou ausência de crescimento.

Da pesquisa desenvolvida "*in vitro*" foi possível concluir que: na avaliação do poder bacteriostático e bactericida, a concentração do hidróxido de cálcio é inversamente proporcional ao tempo de contato com os microorganismos e em todos os dentes estudados, os resultados dos testes bacteriológicos, foram negativos quando utilizado o hidróxido de cálcio a 10% como curativo de demora.

Com o objetivo de avaliar o potencial antimicrobiano do hidróxido de cálcio como medicação intracanal, STEVENS & GROSSMANN (1983) utilizaram o método de difusão em ágar, onde a eficácia do hidróxido de cálcio foi comparada com a do paramonoclorofenol canforado. Para realizar o estudo *in vivo*, os autores utilizaram dentes caninos de gatos onde foi feito o acesso aos canais radiculares e os dentes eram preenchidos com *Serratia macrescens* ou com *Enterococcus faecalis*.

Posteriormente era feita uma medicação à base de hidróxido de cálcio em dois dos dentes, uma de PMCC e outro foi controle positivo. Entre as sessões eram realizados culturas com o objetivo de verificar a presença desses microorganismos.

Com o *Enterococcus faecalis*, as medicações foram submetidas a teste de difusão em agar. Os autores puderam concluir que os halos de inibição foram significativamente maiores para as medicações com PMCC do que para as medicações à base de hidróxido de cálcio; e que o *E. faecalis* foi bem atacado pelo PMCC em comparação com o hidróxido de cálcio, onde durante 5 semanas não foi observado qualquer ação do medicamento. Finalizando, os autores concluíram que a *Serratia macrescens* não se mostrou um microorganismo ideal para esse estudo.

Em 1985, BYSTRÖM *et al.* realizaram estudo, cujo objetivo foi avaliar a ação bactericida do hidróxido de cálcio, fenol canforado e PMCC. Os dentes por eles selecionados apresentavam polpas mortas e as imagens radiográficas eram sugestivas de lesão periapical. Dos 65 dentes selecionados, 15 deles tiveram o PMCC preenchendo os canais; 20 foram preenchidos com hidróxido de cálcio e 25 com fenol canforado. Antes disso, todos os dentes foram submetidos ao preparo químico-mecânico, utilizando-se o NaOCl a 0,5% como substância irrigadora para 50 dentes e o NaOCl a 5% para os outros 15 dentes, tendo sido utilizado o hidróxido de cálcio como medicação intracanal. Como resultado, concluíram que 20 dos 30 dentes onde foi utilizados o fenol canforado e o PMCC, a cultura foi positiva. Os dentes que permaneceram com o hidróxido de cálcio a cultura foram negativos (o tempo estabelecido foi de um mês).

BYSTRÖM *et al.* (1987) concluíram que alguns casos de lesões periapicais humanas permaneciam sem reparo, apesar de verificarem que a maior

parte dessas lesões reparavam após uso do hidróxido de cálcio. As infecções extraradiculares eram responsáveis pelos casos onde o reparo não ocorria.

ORSTAVIK & HAAPASALO (1987) utilizaram dentes bovinos com o propósito de realizar estudo para avaliar a ação de medicações intracanaís. Os autores desgastaram os dentes, dando-lhes formato de cilindro. Os dentes foram submetidos a tratamento para remoção do smear-layer e transportados para um caldo nutriente com *E. faecalis*. As medicações escolhidas, foram o Calasept ou o PMCC que serviram para preencher os canais que também eram vedados externamente após 3 semanas. Para verificação da infiltração, foi utilizado o método de coloração de Brown e Brenn e as amostras bacterianas foram extraídas utilizando brocas esféricas de tamanhos progressivamente maiores. Como resultado desta pesquisa, os autores observaram que o PMCC eliminou o *E. faecalis* (até mesmo em grandes profundidades) e o Calasept não eliminaram o *E. faecalis* (mesmo os mais superficiais).

Estudo comparativo foi realizado por STUART *et al.* (1991), analisando o efeito antibacteriano do Hidróxido de Cálcio, PMCC e formocresol. Canais de dentes uniradiculares extraídos, foram instrumentados e inoculados com *Streptococcus mutans*, *Actinomyces viscosus*, *Bacteroides gingivalis* ou *Bacteroides fragilis*. As bactérias testadas foram mantidas em meio Brain-Heart- Infusion (BHI) durante 24 horas. Após uma hora de selamento, os canais foram analisados, sendo que 10 dentes foram tratados com o agente anti-séptico e 10 permaneceram sem tratamento algum (foram usados 20 dentes) e pode ser observado que todos os agentes utilizados apresentaram atividade antibacteriana contra todos os microorganismos utilizados, comparados com o grupo sem medicação. A pesquisa concluiu ainda, que o Ca(OH)_2 mostrou significativamente maior efeito antibacteriano

do que o formocresol sobre o *S. mutans*, *B. gingivalis* ou *B. fragilis*, mas não mostrou atividade sobre o *A. viscosus*.

SJÖGREN *et al.* (1991), em estudo realizado *in vivo*, com 30 dentes unirradiculares com imagem radiográfica sugestiva de lesão periapical, utilizaram *Fusobacterium*, *Lactobacillus*, *Bacteroides* e o *Enterococcus faecalis*. O grupo I consistiu de 12 dentes que durante 10 minutos permaneceram expostos ao hidróxido de cálcio e posteriormente foram lavados. O grupo II consistiu de 18 dentes (o medicamento usado foi o mesmo). O tempo de exposição foi de 7 dias.

Avaliando o crescimento bacteriano, os autores puderam concluir que o grupo II apresentou maior diminuição em relação ao grupo I. Essa pesquisa mostra que para o hidróxido de cálcio exercer sua ação bactericida, deverá permanecer no canal por no mínimo 7 dias (YARED & DAGHER, 1994).

LAGE MARQUES *et al.* (1992) realizaram análise da ação antimicrobiana do hidróxido de cálcio P.A. sobre algumas espécies de microorganismos. O hidróxido de cálcio foi testado na forma pastosa e em solução em contato direto com as cepas bacterianas. Na forma de solução, o efeito foi somente observado quando em concentrações elevadas, enquanto que na forma pastosa a ação antimicrobiana ficou vinculada á superfície de contato com as cepas testadas. As cepas bacterianas utilizadas foram: *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* e *Pseudomonas aeruginosa*. Para o meio sólido foi utilizado o método de difusão em agar e a leitura realizada através da observação do halo de inibição. Para o meio líquido considerou-se o crescimento positivo das culturas quando ocorreu turvação do meio. No presente trabalho, frente aos resultados obtidos, conclui-se que o experimento *in vitro* mostrou que o hidróxido de cálcio em altas concentrações

apresenta poder bactericida frente às espécies utilizadas enquanto que em baixas concentrações, o hidróxido de cálcio não apresenta ação antimicrobiana.

GEORGOPOULOU *et al.* (1993) avaliaram a efetividade *in vitro* do hidróxido de cálcio e do Paramonoclorofenol sobre bactérias anaeróbias dos canais radiculares, em intervalos de 5, 15, 30 e 60 minutos. Os autores utilizaram 30 cepas bacterianas (isoladas clinicamente) que eram inoculadas em tioglicolato a fim de favorecer o crescimento (onde foi utilizada a escala da Mac Farland, na concentração de 3×10^8 / ml para padronização). Dessa forma, retirava-se 0,2 ml e inoculava-se em tubos contendo 10ml de solução aquosa de Paramonoclorofenol ou Hidróxido de Cálcio. Após os intervalos citados, retirava-se 0,01ml de cada uma das associações e transferia-se para um tubo contendo 0,9ml de tioglicolato e 0,1ml de Tween 80, então, realizava-se uma subcultura a partir dessa amostra, utilizando-se para tal, placas de ágar-sangue, verificando assim se ainda havia crescimento.

Os autores observaram que o Hidróxido de Cálcio se mostrou mais eficaz contra os microorganismos anaeróbios do que o Paramonoclorofenol e também foi eficaz contra o *B. melaninogenicus*, o *P. gingivalis* e ainda espécies de *Actinomyces* (esses últimos responsáveis pela sintomatologia clínica).

OHARA *et al.* (1993) verificaram os efeitos antibacterianos de vários medicamentos endodônticos sobre algumas bactérias anaeróbias. Os medicamentos usados nesse estudo foram: a) Formocresol, b) Cresatina, c) PMCC, d) Eugenol, e) Glutaraldeído, f) Iodo Iodeto de Potássio. As bactérias testadas foram: a) *Peptococcus magnus*, b) *Propionibacterium acnes*, c) *Veillonella parvula*, d) *Lactobacillus fermentum*, e) *Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis* e f) *Fusobacterium nucleatum*. Cada medicamento foi testado contra cada bactéria. Grupo controle negativo foi usado com placas contendo o medicamento, mas sem

bactéria. Grupo controle positivo usou placas com bactérias e sem o medicamento. As placas foram colocadas no interior de jaras de anaerobiose.

Após uma semana de incubação a 37°C os halos de inibição foram medidos em cada placa e o Formocresol foi o medicamento que apresentou maior halo de inibição, quando comparado com os demais.

SAFAVI & NICHOLS (1994) estudaram as alterações biológicas do lipopolissacarídeo da membrana bacteriana após tratamento com hidróxido de cálcio. Sabe-se, que o LPS bacteriano é responsável pelo estímulo aos osteoclastos, responsáveis pela reabsorção óssea presente nas infecções apicais, apesar dos mecanismos pelos quais os microorganismos causam reabsorção apical não serem completamente entendidos. Para realizar esse estudo, os autores utilizaram um grupo que era tratado com hidróxido de cálcio em cultura de células (monócitos) e comparavam com outro grupo que não era tratado. A presença de Prostaglandina E₂ (PGE₂) foram verificadas apenas nas células do grupo que recebeu tratamento com hidróxido de cálcio.

KONTAKIOTIS *et al.* (1995), em estudo realizado *in vitro*, avaliaram a ação indireta do hidróxido de cálcio sobre os microorganismos anaeróbicos presentes nos canais radiculares e concluíram que a capacidade do hidróxido de cálcio em absorver o dióxido de carbono representa outro mecanismo da atividade antibacteriana deste medicamento.

SIQUEIRA & UZEDA (1996) utilizaram túbulos dentinários infectados com as bactérias, *A. israelii* e *F. nucleatum* (anaeróbicas) e *E. faecalis* (facultativa). Por um período de 21 dias a 37°C, cilindros de dentina ficaram imersos em meios de cultura, com cada uma das espécies bacterianas até atingirem a concentração de 10⁸ de acordo com a escala de Mac Farland. Em seguida, os cilindros eram colocados em

placa de Petri contendo a medicação (condições anaeróbias eram mantidas) Para verificação do crescimento, 5 cilindros eram retirados em intervalos de 1 hora, 1 dia e 1 semana, lavados e imersos por 40 dias em BHI (meio Brain Heart Infusion).

Os autores concluíram que o hidróxido de cálcio associado ao PMCC se mostrou eficaz contra as bactérias anaeróbias no período de 1 hora, contra o *E. faecalis*, após 1 dia. O hidróxido de cálcio sozinho, não se mostrou eficaz sobre o *E. faecalis* e o *F. nucleatum*, porém o *A. israelii* foi eliminado após 1 dia.

SIQUEIRA JR. *et al.* (1996) avaliaram a atividade antibacteriana de medicação intracanal. As pastas utilizadas foram: a) Pasta 1: Hidróxido de cálcio (1g), óxido de zinco (0,5g); PMCC (0,5 ml); e glicerina (q.s.); b) Pasta 2: Hidróxido de cálcio (1g); óxido de zinco (0,5g); PMCC (uma gota ~ 0,02 ml) e glicerina; c) Pasta 3: Hidróxido de cálcio (1g); óxido de zinco (1g); PMCC (0,5 ml); e glicerina; d) Hidróxido de cálcio associado à água destilada até obtenção de consistência de creme dental; e) K OH - Hidróxido de potássio (uma pastilha); f) NaOH - Hidróxido de sódio (uma pastilha); g) Óxido de Zinco (ZnO) misturado à água destilada até obtenção de consistência cremosa.

As bactérias testadas foram: *Fusobacterium nucleatum* (anaeróbio estrito); *Enterococcus faecalis* (anaeróbio facultativo); *Streptococcus sobrinus* (anaeróbio facultativo); c) Saliva diluída a 1/10 em solução salina estéril (flora mista).

As bactérias foram mantidas em meio BHI durante 24 horas. Foi utilizado o método de difusão em agar. As médias dos halos de inibição de crescimento bacteriano mostraram, que das 3 bases fortes testadas, os hidróxidos de sódio e potássio apresentaram, atividade associada ao hidróxido de cálcio. Das pastas contendo diferentes proporções de hidróxido de cálcio, óxido de zinco e PMCC, as que continham uma maior quantidade desta última substância, apresentaram

maiores efeitos inibitórios. O óxido de zinco, adicionado á pasta para conferir-lhe radiopacidade, não apresentou qualquer efeito antibacteriano.

SIQUEIRA JR. *et al.* (1997) testaram a atividade antibacteriana de pastas à base de Hidróxido de Cálcio / Paramonoclorofenol Canforado / Glicerina (HPG), contendo diferentes proporções de Iodofórmio, contra 3 bactérias anaeróbias restritas, a saber: *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas endodontalis* e *Prevotella intermedia* e 3 anaeróbias facultativas: *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus sanguis*. Para fins comparativos, testaram-se também os efeitos antibacterianos de pastas à base de Iodofórmio ou Hidróxido de cálcio em glicerina. Os resultados demonstraram que a adição de Iodofórmio à pasta HPG não interferiu em suas propriedades antibacterianas. A pasta de Iodofórmio e glicerina apresentou discreta atividade inibitória contra algumas cepas bacterianas. A pasta de Hidróxido de Cálcio e glicerina, não apresentou qualquer efeito inibitório sobre as espécies bacterianas testadas. Para realização da pesquisa, as bactérias anaeróbias facultativas foram cultivadas e mantidas em meio BHI. Para a avaliação da atividade antibacteriana dos medicamentos, utilizou-se o método de difusão em ágar e os resultados foram obtidos através das médias dos halos de inibição de crescimento bacteriano produzidos pelos medicamentos testados.

Estudo *in vitro* realizado por SIQUEIRA JR. *et al.* em 1998, avaliaram a capacidade de alguns medicamentos em prevenir a recontaminação por bactérias da saliva. Os autores concluíram, que os medicamentos a base de hidróxido de cálcio foram significativamente mais efetivos do que os medicamentos contendo PMCCC.

LEONARDO *et al.* (1999) realizaram trabalho de avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana de pastas utilizadas em Endodontia. Foram utilizadas duas pastas à base de hidróxido de cálcio, e uma pasta à base de óxido de zinco, frente a

cepas bacterianas, incluindo aeróbios e anaeróbios facultativos. As bactérias foram mantidas em meio BHI e incubadas a 37°C por 24 horas.

A metodologia utilizada, foi a de difusão em agar e a zona de inibição formada ao redor das pastas foi mensurada, mostrando os valores médios, em milímetros, dos diâmetros dos halos de inibição obtidos.

Os autores concluíram que as pastas utilizadas apresentaram atividade antimicrobiana *in vitro* sobre todas as cepas bacterianas utilizadas, sendo os menores halos de inibição observados sobre os microorganismos *E. faecalis*, *S. aureus* e *P. aeruginosa*

MOLANDER *et al.* (1999) verificaram o efeito antimicrobiano do Hidróxido de Cálcio nos canais pré-tratados com Iodo Iodeto de Potássio 5% (IKI). Para esse estudo, os autores utilizaram 50 dentes portadores de polpa mortificada e imagem radiográfica sugestiva de lesão periapical. Esses dentes eram instrumentados e após esse procedimento, eram divididos em grupos, a saber: grupo I: os dentes recebiam medicação intracanal a base de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ por um período de 2 meses; grupo II: os dentes recebiam medicação com IKI e eram obturados quando a cultura desse resultado negativo. Se a cultura fosse positiva, os canais eram preenchidos com uma pasta a base de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ que era trocada sempre, até que a amostra do conduto não apresentasse crescimento. Como resultado, os autores observaram 93% das amostras negativas, além da diminuição do número de cepas após o uso do IKI (de 150 para 43) e no grupo do hidróxido de cálcio apenas 15 cepas. O predomínio era das facultativas.

FAVA & SAUNDERS (1999) realizaram estudo, cujo objetivo foi fazer uma revisão sobre as pastas de hidróxido de cálcio, no que se refere ao veículo utilizado. Concluíram os autores, que a velocidade e concentração da liberação de íons, além

de seu poder antibacteriano, está relacionada à utilização de diferentes veículos. Assim, os veículos aquosos são indicados para capeamento pulpar, apicigênese, apicificação, pulpotomias de dentes decíduos e permanentes, dentes sem vitalidade, reabsorção inflamatória interna, medicação intracanal em dentes com polpas vitais.

A liberação de íons nos veículos viscosos é mais lenta (e também mais duradoura) e são indicadas no caso de periodontites apicais e nas reabsorções interna e externa.

Os autores ainda acrescentaram que a adição do iodofórmio ou sulfato de bário melhoram as propriedades do hidróxido de cálcio e outras formulações vem sendo sugeridas.

Segundo DANIEL (1996), diversos veículos já foram empregados com a finalidade de permitir a liberação de íons cálcio e hidroxila, sem alterar suas propriedades. O autor cita: água destilada, paramonoclorofenol canforado, propileno glicol, glicerina, metilcelulose, azeite de oliva, anestésico e polietilenoglicol.

Avaliando a ação inibitória da dentina na atividade antibacteriana de alguns medicamentos, HAAPASALO *et al.* (2000) testaram o hidróxido de cálcio em solução saturada, o hipoclorito de sódio a 1%, a clorexidina a 0,5% e a 0,05% e o IKI na proporção de 2/4% e 0,2/0,4%. A dentina era transformada em pó e incubada com os medicamentos a 37°C por 24 horas ou 1 hora antes de ser adicionado o *Enterococcus faecalis*.

Os resultados obtidos mostraram que o pó da dentina inibiu a ação dos medicamentos. A ação inibitória sobre o hidróxido de cálcio foi completa, sobre o IKI foi parcial, inibindo muito pouco os outros medicamentos utilizados.

2.3 Iodofórmio

Analisando a literatura pertinente, observa-se que há muito tempo o Iodofórmio tem seu uso aplicado na Endodontia. Entretanto, mesmo apresentando resultados clínicos excelentes, existem divergências quanto a sua utilização, apesar de ter sido descoberto há mais de 150 anos (SERULLAS, 1829 apud VELÁZQUEZ, 1955).

STURRIDGE (1924) relata que a sua instabilidade química, seu alto conteúdo de iodo (96%) e sua fácil dissolução nas substâncias graxas, explicam o fato de que, apesar de não possuir propriedades anti-sépticas, quando essa droga entra em contato com secreções ou áreas infectadas, ocorre a liberação de iodo.

AGOSTINI (1934) menciona sua forte ação anti-séptica, inibindo o crescimento bacteriano ou agindo sobre suas toxinas.

PUCCI (1945) afirma que o Iodofórmio age como detergente, desinfetante e desodorizante em decorrência de sua capacidade de oxidação e do poder redutor do iodo sobre as secreções bacterianas. Estimula a formação de um tecido de granulação pela influência específica do iodo sobre o desenvolvimento celular.

Quimicamente, o Iodofórmio corresponde ao tri-iodometano (CHI_3) ou tri-iodeto de formol, obtido pelo aquecimento do iodo, álcool, hidróxido de sódio e água em recipiente fechado, e em cuja reação três átomos de hidrogênio do metano são substituídos por três de iodo (BUCKLEY, 1950).

CASTAGNOLA & ORLAY (1952) utilizaram culturas puras de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus albus*, *Streptococcus* não-hemolíticos e hemolíticos, com o propósito de avaliar a atividade anti-séptica de várias pastas medicamentosas. O método utilizado no estudo foi o de difusão em ágar, tendo sido

obtidos melhores resultados com as pastas iodoformadas Kri 1 e Walkhoff. No mesmo trabalho, os autores ainda concluíram que de 1.000 casos tratados pelo método de Walkhoff, 68% dos casos apresentaram resultados favoráveis, enquanto 78% mostraram considerável melhora. Esse método consistia em ministrar medicações à base de clorofenol e obturação posterior com uma pasta de paraclorofenol-mentol-cânfora-iodofórmio. As células teciduais agiam na remoção do iodofórmio que apresentou fácil reabsorção.

VELÁZQUEZ (1955) relata que ele pode ser facilmente dissolvido em álcool, éter ou gorduras, liberando iodo em estado nascente e exercendo assim sua propriedade anti-séptica.

SOLLMANN (1957) relata que ele é ligeiramente anestésico e volatiliza lentamente exposto ao ar e à temperatura ambiente e, mais rapidamente, a uma temperatura constante de 37°C, liberando iodo.

MAISTO & EURASQUIN (1965) realizaram análise dos tecidos periapicais quando os canais eram obturados com algumas pastas reabsorvíveis à base de iodofórmio. Foi realizado o tratamento endodôntico em 60 ratos e as pastas utilizadas foram: a) pasta lentamente reabsorvível de Maisto cuja fórmula é: 14g de óxido de zinco, 42g de iodofórmio, 2g de timol, 3cc de clorofenol canforado, 0,50g de lanolina; b) pasta rapidamente reabsorvível de Maisto - clorofenol canforado e glicerina em partes iguais; c) pasta rapidamente reabsorvível de iodofórmio e hidróxido de cálcio - foram usadas proporções iguais de pasta diluída em solução aquosa.

A análise dos resultados, mostrou que, um selamento completo do conduto foi obtido em dentes de ratos jovens em comparação com dentes de ratos mais velhos, onde foi observada apenas uma diminuição de sua luz. Foi possível

observar ainda, que as pastas utilizadas ativavam a resposta inflamatória e em caso de extravasamento, havia reabsorção do material. Os autores não relacionaram a reabsorção do cimento da região apical com a utilização das pastas.

ERAUSQUIN & MURUZÁBAL (1969) observaram a reação dos canais obturados com diferentes pastas iodoformadas e reabsorvíveis. Para esse estudo, foram obturados os canais mesiais de 315 ratos. A reabsorção obtida com as diferentes pastas não foi uniforme. Algumas foram reabsorvidas mais lentamente (aquelas que contém na sua fórmula, quantidade maior de óxido de zinco). Para essas pastas, os tecidos neoformados, freqüentemente mostravam reação inflamatória, ocasionalmente resultando em granulomas e/ou abscesso periapical. Os melhores resultados foram obtidos quando a reabsorção das pastas ocasionava também obstrução do forame com remanescentes de dentina ou cálcio precipitado das pastas.

CASTAGNOLA (1976) realizou trabalho verificando o papel de duas das preparações originais de Walkhoff, a saber: 1) solução de clorofenol-cânfora-mentol e 2) pasta de Iodofórmio, conhecida como pasta de Kri. O autor enumera várias vantagens atribuídas às pastas de iodofórmio, como: estimular a formação de novo tecido de granulação, diminuir a secreção ser radiopaco, ser facilmente manipulada podendo sua consistência ser controlado, ser facilmente reabsorvível, caso haja algum extravasamento intencional ou acidental. Como desvantagens, o autor cita o fato das pasta serem reabsorvidas dentro do canal, além de não endurecerem (o que vai provocar selamento inadequado), o sabor desagradável e a possibilidade de provocar alergias. Como indicações, o autor enumera: extirpação da polpa; tratamento de gangrena pulpar (abscessos); preenchimento de fístula artificial;

rizogênese incompleta em pacientes jovens com necrose; tratamento preparatório para apicetomia; tratamento preparatório para implante endodôntico.

SEMERARO & MAGALHÃES (1978), verificaram ser o Iodofórmio um medicamento poderoso, sendo sua grande vantagem, conter 96,7% de iodo, liberável sob condições ideais. Existem, portanto condições para a ação do Iodofórmio confinado em um canal radicular, que são: o canal não tem luminosidade; a temperatura do corpo oferece condições para sua decomposição; há exsudatos derivados de matérias necróticas difíceis de serem removidos pela instrumentação (PUCCI, 1945) com as quais o Iodofórmio entra em contato e libera iodo; esse iodo vai penetrar nos canalículos dentinários, mesmo porque a sua associação em pasta usa veículos de baixa tensão superficial, que facilitam a sua penetração naqueles canalículos; confinado dentro de um canal praticamente isento de ar, em ambiente alcalino, parece atuar em condições ideais. Assim sendo, é um anti-séptico que pode ser aplicado ao canal radicular, qualquer que seja a sua condição. Portanto é indicado tanto nas necropulpectomias quanto nas biopulpectomias; por sua indiferença frente aos tecidos vivos, está especialmente indicado para as lesões graves no periápice.

Em 1981, GUEDES-PINTO *et al.* concluíram ser um sucesso as pastas contendo o iodofórmio usado no tratamento endodôntico de dentes decíduos com polpa mortificada (não havendo qualquer inconveniente no extravasamento da pasta).

A técnica consistia em, após o preparo do canal utilizando-se como substâncias químicas auxiliares o líquido de Dakin e o Endo-PT, realizava-se a obturação com a pasta Guedes (partes iguais de Iodofórmio, PMCC e Rifocort). A técnica utilizada mostrou um alto índice de sucesso, já que os autores constataram

apenas um único fracasso nos 45 casos, após controles feitos a cada dois meses, por um período mínimo de um ano. Nos dentes portadores de fístulas, obtinha-se sua regressão espontânea, após uma semana da execução do tratamento. Em nenhum dos casos tratados, constatou-se problema de dor pós-operatória. Nos casos de extravasamento da pasta, controlado através de exame radiográfico, a reabsorção do material ocorria em mais ou menos 30 dias após a conclusão do tratamento e a análise radiográfica evidenciava ainda que a reabsorção da pasta extravasada era sempre seguida de uma neoformação óssea, e a reparação óssea levava aproximadamente 6 meses para se completar.

Nos casos de mobilidade, os autores verificaram que esta desaparecia entre 7 a 15 dias e que a preservação feita por um período de 2 anos, não constatou qualquer recidiva nos casos tratados.

AYDOS & MILANO (1984) observaram que o Iodofórmio confere radiopacidade a pastas do tipo hidróxido de cálcio, originariamente radiolúcidas; que o Iodofórmio não possui ação antibacteriana *"in vitro"* e que sua ação antibacteriana *in vivo* é divergente, e que devido a falta de investigações, a capacidade de estimulação biológica do Iodofórmio só pode ser considerada uma hipótese.

ROCCA *et al.* (1985) analisaram 59 pacientes (22 homens e 37 mulheres) com idade entre 20 e 69 anos (média de 35 anos de idade). Esses pacientes apresentavam diferentes patologias (38 granulomas, 15 celulites, 4 fístulas, 2 cistos). O objetivo do trabalho foi analisar clinicamente uma alteração da pasta de Walkhoff, usada como tratamento para necrose pulpar. Nesse estudo, os dentes foram instrumentados e foi usada uma pasta cuja fórmula além do iodo, óxido de zinco, mentol, paraclorofenol canforado e eugenol, era acrescida de 1,00g de pó de prata.

Os autores concluíram que radiograficamente, 83,6% dos granulomas e 86,6% das celulites mostraram reparo; 100% das fístulas repararam, sendo que não houve reparo para os cistos. Além disso, a mobilidade diminuiu e a dor pós-operatória se fez em apenas 10% dos casos.

GARCIA -GODOY (1987) avaliou a eficácia da pasta de Iodofórmio usada no tratamento endodôntico de dentes decíduos infectados. O autor cita o trabalho de ERAUSQUIN & MURUZABAL (1969) onde ficou demonstrado que as pastas de óxido de zinco eugenol eram irritantes para os tecidos periapicais e provocavam necrose do osso e cimento. A pasta usada por GARCIA-GODOY foi a pasta Kri, (que é basicamente a pasta Walkhoff) levada para o interior do canal com lentulo. A fórmula da pasta é: 2,025% de paraclorofenol; 4,86% de cânfora; 1,215% de mentol e 80,8% de iodofórmio. Para avaliar os resultados foram realizados exames clínicos e radiográficos a cada 6 meses. O tratamento era considerado sucesso, se clinicamente o dente se apresentasse sem dor, sem mobilidade e ausência de fístula. Radiograficamente o reparo ocorria em 6 meses. A pasta de Iodofórmio utilizada neste trabalho foi reabsorvida na região da furca após uma ou duas semanas do término do tratamento, sendo, portanto considerada um bom material obturador quando usada no tratamento de dentes decíduos infectados. Outra vantagem da pasta Kri, foi ter permanecido em forma de pasta e nunca formar uma massa dura. Remover o material para retratamento torna-se, portanto, procedimento fácil. Alguns dentes tratados, entretanto, apresentaram escurecimento da coroa.

VIGIL *et al.* (1990) avaliaram a eficácia do tratamento endodôntico com a técnica de Walkhoff modificada, em dentes com polpa necrosada e/ ou lesões periapicais. O posterior controle clínico e radiográfico realizado num período de 3, 6 e 12 meses evidenciou uma melhora das lesões periapicais, com neo-formação

óssea e desaparecimento completo das áreas radiolúcidas em um período de até 12 meses. Observou-se ainda, um bom pós-operatório imediato. Todos os dentes foram tratados em seção única após: remoção da polpa necrótica; limpeza mecânica com eventual sobreinstrumentação (acidental ou intencional, no último caso citado as imagens eram circunscritas, fistulizadas ou não); irrigação abundante com hipoclorito de sódio a 2,5% (em alguns casos alternados com clorexidina a 0,5%). A obturação era feita com pasta iodofórmica (pasta Kri, cuja fórmula consiste em: clorofenol, 0,025%; cânfora, 4,86%; mentol, 1,215%; iodofórmio, 80,8% e glicerina, q.s.p.) levada ao interior do canal radicular com o uso de broca lentulo, preenchendo todo o canal e também a área radiolúcida. Cones de guta-percha eram acrescentados, fazendo-se condensação lateral.

O bom pós-operatório levou os autores a concluir que a pasta iodofórmica tem um efeito antibacteriano nos canais radiculares, assim como nos canalículos acessórios e delta apical.

BENGTSON *et al.* (1994) avaliaram a efetividade clínica da pasta proposta por GUEDES-PINTO (iodofórmio + paramonocanforado + rifocort) para a realização de pulpotomias de molares decíduos. Foram utilizados 90 molares decíduos cariados, com vitalidade pulpar, de crianças com idade média em torno de 6 anos, nos quais foram realizadas pulpotomias e as câmaras pulpares foram preenchidas com a pasta Guedes-Pinto.

Os autores concluíram que esta é uma técnica viável para dentes decíduos pulpotomizados, após análise geral e a confirmação do sucesso clínico e radiográfico.

Em 1997, SIQUEIRA JR. *et al.* adicionaram o Iodofórmio a pastas de hidróxido de cálcio e PMCC em glicerina, a fim de observar a atividade

antibacteriana. Utilizaram para tanto, 3 bactérias anaeróbias estritas e 3 anaeróbias facultativas. As anaeróbias estritas foram: *Porphyromonas endodontalis*, *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella intermedia*. As facultativas foram: *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus sanguis* e *Staphylococcus aureus*.

As bactérias anaeróbias facultativas foram cultivadas e mantidas em meio BHI. Os resultados foram avaliados pela medida dos halos de inibição, através do método de difusão em agar, sendo as pastas utilizadas, as seguintes: 1) Hidróxido de Cálcio + PMCC + Glicerina; 2) Hidróxido de Cálcio + Iodofórmio (3:1) + PMCC + Glicerina; 3) Hidróxido de Cálcio + Iodofórmio (6:1) + PMCC + Glicerina; 4) Hidróxido de Cálcio + Glicerina; 5) Iodofórmio + Glicerina.

Os resultados demonstraram que a pasta de Iodofórmio + Glicerina, apresentou discreta atividade antibacteriana contra algumas cepas bacterianas. A pasta de Hidróxido de Cálcio + Glicerina não apresentou qualquer efeito antibacteriano sobre as bactérias testadas. Os autores concluíram ainda, que o Iodofórmio adicionado às pastas, não interferiu nas propriedades antibacteriana das mesmas.

DANIEL *et al.* (1999) realizaram uma revisão da literatura sobre o emprego do iodofórmio em Endodontia, concluindo: 1) O iodofórmio é uma substância acentuadamente radiopaca, facilmente reabsorvível e com alto índice de sucesso clínico; 2) Há divergências entre os autores com relação à capacidade anti-séptica e de estimulação biológica do iodofórmio; 3) Assim sendo, tornam-se necessários novos estudos laboratoriais e clínicos, referentes à capacidade anti-séptica e de estimulação biológica, que justifiquem o emprego ou o abandono do iodofórmio no tratamento de lesões periapicais refratárias.

Dentre os fatores que fizeram com que a endodontia não mais utilizasse essa substância os autores citam: seu odor penetrante e desagradável, a alteração cromática que promove nos dentes e algumas reações adversas de pacientes sensíveis ao alto teor de iodo presente na composição química do medicamento (não foram encontrados na literatura, comprovação para tais fatos).

Dentre os fatores positivos, os autores citam: a radiopacidade, o grau de penetração nos tecidos periapicais, a analgesia que promove, a diminuição da secreção de feridas, a facilidade de reabsorção e a propriedade de estimulação biológica.

2.4 Os microrganismos e o papel dos mesmos na instalação do processo infeccioso

Deve-se sempre ter em mente, que a grande maioria dos problemas de origem endodôntica, tem um agente etiológico bacteriano. Embora fungos (Cândida) e vírus (HIV) já tenham sido isolados de canais radiculares infectados, bactérias são os microorganismos mais comumente associados a etiopatogenia dos problemas endodônticos. Embora outros fatores de ordem química ou física possam estar envolvidos, sem dúvida alguma, e na grande maioria das vezes, bactérias e seus produtos exercem papel de extrema relevância, na indução de patologia pulpar e perirradicular.

A cárie e a polpa necrosada e infectada representam as principais fontes de irritantes bacterianos para a indução de patologia pulpar e perirradicular. A cárie dental é, inquestionavelmente, a causa mais comum de exposição pulpar. Quando a lesão de cárie destrói quantidade suficiente de tecido dentinário, a polpa torna-se então exposta diretamente a microorganismos e seus produtos, presentes tanto na

lesão cariosa quanto na saliva. Uma miríade de espécies bacterianas passa a colonizar a superfície da polpa exposta.

Sempre que a dentina é exposta por perda de esmalte ou cimento, a polpa é colocada em risco devido à permeabilidade relativamente alta da dentina (presença de túbulos dentinários). Assim, uma dentina exposta oferece uma franca via de acesso para bactérias alcançarem o tecido pulpar.

Bactérias contactam a dentina basicamente de três formas:

- contaminação de uma área de dentina exposta por saliva;
- formação da placa bacteriana sobre uma superfície dentinária exposta;
- por um processo de cárie.

O diâmetro dos túbulos dentinários é inteiramente compatível com o da maior parte das bactérias encontradas na cavidade oral.

A polpa também pode tornar-se exposta após trauma ou por procedimentos iatrogênicos. Uma polpa vital, sadia, exposta por trauma, apresenta uma grande resistência à invasão bacteriana, a qual ocorre lentamente.

Durante o curso de uma doença periodontal, bactérias e seus produtos presentes na bolsa podem ter acesso à polpa via forames laterais associados a ramificações do canal (canal lateral), túbulos dentinários e forame apical.

Em determinadas situações, em casos que apresentavam lesões perirradiculares associadas a dentes com polpa necrosada, nenhum microorganismo foi isolado no canal radicular. Destarte, baseado nestes achados, acreditava-se que

o tecido pulpar necrosado, embora estéril, fosse um irritante para os tecidos perirradiculares capaz de, por si só, induzir e perpetuar uma lesão.

Em meados da década de 70, com o desenvolvimento e aperfeiçoamento das técnicas de isolamento e cultivo, foi gerado um interesse considerável quanto ao papel destes microorganismos na patogênese das doenças endodônticas. Importantes trabalhos foram realizados e seus achados revolucionaram os conceitos vigentes até então. WINKLER *et al.* (1956) observaram os resultados bacteriológicos de 4000 culturas de canais radiculares. *Streptococcus* representaram 61% dos microorganismos isolados, sendo que os *Streptococcus mitis* no parecer dos autores foram considerados os que possuíam mais chances de contaminação.

Os autores observaram que o *Streptococcus mitis* ocorre com a mesma freqüência em culturas feitas em polpa vital e em polpa necrótica, existindo, portanto grandes possibilidades de contaminação por esse microorganismo, já que ele existe em abundância na boca. A chance de carregar bactérias presentes em cavidade de cárie, para o interior do canal durante o tratamento endodôntico, na etapa de acesso aos canais é relativamente grande.

KEUDELL *et al.* (1976) realizaram trabalho, cujo propósito foi isolar e identificar os microorganismos presentes na câmara pulpar, necessitando tratamento endodôntico.

Anaeróbios não foram detectados nas câmaras pulpares vitais. Das câmaras pulpares necróticas, 64% continham anaeróbios obrigatórios. A maioria dos dentes com polpa necrótica resultante de trauma, foram infectados com anaeróbios. Esse resultado reforça a importância do preparo biomecânico nos procedimentos endodônticos.

SUNDQVIST (1976) avaliou as condições bacteriológicas de canais radiculares de dentes com coroas intactas, polpas necrosadas em casos de dentes traumatizados e concluiu que: 1) 90% dos microorganismos isolados eram anaeróbios estritos (sendo os mais frequentes o *Bacteroides melaninogenicus*, *Fusobacterium*, *Eubacterium* e *Peptostreptococcus*); 2) Só foram encontradas bactérias em dentes com lesões perirradiculares associadas; 3) O maior número de bactérias no canal estava associado aos casos sintomáticos; 4) De 1 a 12 foi o número de espécies presentes no interior dos canais; 5) O número de células e espécies bacterianas no interior do canal radicular estava diretamente relacionado ao tamanho da lesão; 6) A sintomatologia estava relacionada com a presença de *Bacteroides melaninogenicus*.

Em 1981, VON KONOW et al. estudaram em 57 infecções dentoalveolares, o tipo de microbiota encontrada. Esses autores retiravam amostras destas infecções, cultivavam e identificavam as cepas presentes, verificando em média a presença de 4 espécies por infecção (sendo apenas 1/3 aeróbias). As bactérias aeróbias mais encontradas foram *Streptococcus*. Das facultativas, o *Streptococcus milleri* foi o mais comum e esteve presente em 9 casos; em 2 casos o *Staphylococcus aureus* esteve presente e o *Streptococcus faecalis* foi encontrado em 4 casos. O *Eubacterium* e os *Streptococcus intermedius* foram as anaeróbias mais freqüentes.

FABRICIUS et al. (1982) realizaram estudo utilizando 8 dentes anteriores de 3 macacas. Nos dentes de duas macacas, foi feita amostragem microbiológica após 7 dias. Após 90 dias novas amostras foram feitas (primeira macaca) e após 180 dias (segunda macaca). No terceiro animal foi feita uma amostra microbiológica após 1.060 dias. Para todos os grupos, as amostras finais mostraram a

predominância de bactérias anaeróbias estritas (85 a 98% das cepas). Os resultados mostraram ainda que, quanto mais antiga a lesão, maior o percentual de microrganismos. Os bacilos Gram-negativos e os *Bacteroides* foram às cepas mais freqüentes.

Com esse trabalho, os autores observaram a distribuição das diferentes espécies bacterianas utilizando amostras de canais radiculares infectados (após exposição intencional da polpa) e compararam a presença dos diferentes tipos de microorganismos em períodos diferentes de observação. Os autores avaliaram ainda a quantidade de duas espécies microbianas no canal principal do sistema de canais radiculares.

TRONSTAD *et al.* (1990) verificaram a presença de bactérias em dentes portadores de lesões refratárias ao tratamento endodôntico. Essas bactérias (placa bacteriana apical) foram observadas nas irregularidades presentes na região apical.

RAMACHANDRAN *et al.* (1990) afirmaram que a maioria dos microorganismos presentes nos canais radiculares (bactérias e fungos) se mostrou persistente nas lesões periapicais.

ORSTAVIK & HAAPASALO (1990) verificaram que a anatomia dental interna, variada e complexa, com milhares de túbulos dentinários e ramificações do sistema de canais radiculares, abrigam microorganismos, os quais ficam protegidos da ação da solução irrigadora e dos instrumentos endodônticos, contribuindo para a persistência da infecção.

BAUMGARTNER & FALKLER (1991) realizaram estudo no qual isolaram e também identificaram as bactérias que estavam presentes nos 5mm apicais do canal radicular e verificaram que 68% eram anaeróbios estritos. *Actinomyces*,

Peptostreptococcus, *Fusobacterium nucleatum* e bacilos produtores de pigmentos negros foram os anaeróbios mais freqüentes.

Importante trabalho foi realizado por SUNDQVIST em 1992, quando o autor afirma que vários fatores restringem a flora bacteriana do canal radicular a um grupo seletivo de microorganismos; além disso, o aumento de anaeróbios estritos e a diminuição de aeróbios, ocorre em decorrência das condições propiciadas pelo meio. Outra constatação é que, as alterações ocorrem com o passar do tempo.

Na determinação do estabelecimento da infecção a necessidade nutricional das bactérias, é fator essencial. Com esse trabalho, o autor elucidou alguns mecanismos de manutenção da flora endodôntica e suas inter-relações, e afirmou que a ação do tratamento endodôntico pode se dar pela eliminação das bactérias e/ou pelo desequilíbrio provocado na cadeia que existe entre as espécies predominantes e seus nutrientes.

Em 1994 SUNDQVIST realizou uma revisão da literatura onde apresenta a taxonomia, a ecologia e a patogenicidade da flora dos canais radiculares. O autor postula, que durante o desenrolar da infecção se estabelece uma interação relacionada especialmente às necessidades nutricionais que irão determinar o tipo de bactéria que irá persistir e que as condições apresentadas pelos condutos são favoráveis ao crescimento de bactérias anaeróbias (aquelas capazes de fermentar aminoácidos e peptídeos que predominam em necrose) ao contrário das bactérias restantes (que obtêm na maioria das vezes energia a partir de carboidratos), o que irá restringir a flora, pela presença ou não de oxigênio e pelo tipo de nutriente. O autor conclui ainda, que a patogenicidade das diversas bactérias existentes no canal radicular, depende do sinergismo bacteriano.

SELTZER & FARBER (1994) avaliaram o papel dos microorganismos no estabelecimento e no desenvolvimento das infecções endodônticas. As alterações da microbiota da cárie (do esmalte até a polpa) e os fatores que levam ao comprometimento da região periapical foram avaliados e os autores concluíram que os principais microorganismos presentes foram os bacilos gram-negativos e os espiroquetas também foram encontradas.

Os autores postulam ainda no mesmo trabalho, os principais mecanismos de sobrevivência dos patógenos: 1) As lamininas e as fibronectinas presentes em cepas como o *S. aureus*, são responsáveis pela adesão das bactérias; 2) O ácido siálico (presente na membrana das bactérias) auxilia sua penetração no organismo; 3) O papel da proteína M que atua na penetração e multiplicação de células; 4) A proteína constituinte da cápsula (*B. fragilis*) é capaz de induzir abscessos; 5) Presença de cápsula, ou presença de endotoxinas relacionada a resistência à fagocitose; 6) Alguns microorganismos são capazes de sobreviver mesmo após fagocitados; 7) A relação das bactérias com os sintomas, e o desenvolvimento da resistência a bactérias; 8) O bloqueio da migração de neutrófilos e polimorfonucleares e a promoção da alteração de forma.

LEONARDO *et al.* (1995) realizaram trabalho de pesquisa utilizando dentes de cães com necrose pulpar e a presença de lesão periapical crônica. Os autores verificaram a existência de microorganismos nos locais considerados inacessíveis à instrumentação, como as crateras apicais e tecidos periapicais.

ASSED *et al.* (1996) verificaram a presença de bactérias anaeróbias em 100% dos dentes humanos portadores de necrose pulpar e lesão periapical crônica analisados. O objetivo dos autores foi avaliar a prevalência de anaeróbios gram-negativos. Os autores utilizaram o método da imunofluorescência indireta.

DAHLÉN *et al.* (2000) verificaram que os *Enterococcus* são normalmente encontrados no intestino humano, mas podem ser encontrados temporariamente na cavidade oral. Especialmente o *Enterococcus faecalis* que são freqüentes na placa bacteriana, saliva e gengiva. Na cavidade oral, os *Enterococcus* ocorrem associados com lesão de mucosa, e pacientes imunocomprometidos, estando presentes em periodontites e persistindo em infecções endodônticas, postulam os autores.

2.5 Alguns aspectos relacionados aos microorganismos utilizados no presente trabalho

Os *Streptococcus* da cavidade oral constituem um dos mais populosos grupos de bactérias da boca. Os *Streptococcus salivarius*, são as espécies mais facilmente identificadas entre os estreptococos orais, pois suas colônias têm a forma de "gotícula de orvalho" em meio de agar contendo sacarose. Colônias típicas deste organismo crescido em Ágar Mitis Salivarius são de forma convexa e se assemelham a "balas jujuba". O componente responsável por este tipo de colônia é uma levana extracelular produzida à partir da sacarose do meio. As propriedades mínimas que identificam a maioria dos *S. salivarius* são: cocos Gram-positivos em cadeias, catalase-negativos, não apresentem hemólise e suas colônias têm a forma de gotículas de orvalho em Ágar Mitis Salivarius.

Os *Streptococcus sanguis* são as espécies mais freqüentemente isoladas de pacientes com endocardite bacteriana e também estão entre os isolados com maior freqüência de placa dental. São capazes de fermentar manitol e sorbitol e de produzir amônia e dióxido de carbono a partir da arginina.

Os *Streptococcus mitis* são bactérias Gram-positivas, difíceis de serem identificadas e a distinção entre *S. mitis* e *S. oralis* é definida pelo fato dos últimos

produzirem IgA-protease e uma neuraminidase, enquanto o *S. mitis* é negativo para essas propriedades.

Os *Streptococcus mutans* ao contrário de muitos outros estreptococos orais que fermentam apenas pequena quantidade de carboidratos, esse grupo fermenta diversos açúcares. São estreptococos que fermentam o manitol e sorbitol, mas não hidrolisam a arginina. O *S. mutans* acumula maior quantidade de ácido e provoca maior queda de pH no meio sólido que as cepas de *S. sanguis*. (NISENGARD & NEWMAN, 1994).

3. PROPOSIÇÃO

O presente trabalho teve o propósito de avaliar a ação antibacteriana *in vitro* sobre *Streptococcus* da cavidade oral, de duas pastas contendo medicação intracanal, Iodofórmio e Hidróxido de Cálcio associados à dentina, extraída de ápices dentais contaminados, através de culturas e computação gráfica.

4. MATERIAL E MÉTODO

4.1 MATERIAL

- Água Destilada (Laboratório Musa Rodolpho Jordana Ltda, Rio de Janeiro, RJ – Brasil);
- Balança Eletrônica (Gehaka, Alemanha);
- Bico de Bunsen (JON - Comércio de Produtos Odontológicos Ltda, São Paulo, SP – Brasil);
- Broca Maxicut (Duflex, S.S. White Artigos Dentários Ltda, Rio de Janeiro, RJ – Brasil);
- Caldo BHI desidratado (Difco – Interlabor, Importadora e Distribuidora Ltda, Rio de Janeiro – Brasil);
- Colher de dentina (Duflex, S.S White Artigos Dentários Ltda, Rio de Janeiro – Brasil);
- Discos Blank estéreis (Interlabor, Importadora e Distribuidora Ltda, Rio de Janeiro – Brasil);
- Documentação Fotográfica (Máquina Fotográfica digital SONY-MAVICA 8.5; USA);
- Espátula nº 24 (Duflex, S.S White Artigos Dentários Ltda, Rio de Janeiro; RJ – Brasil);
- Estufa para cultura Bacteriológica (Olidef CZ., São Paulo- Brasil);
- Filme Radiográfico periapical (Kodak, México);

- Hidróxido de Cálcio (Fórmula & Ação Farmácia de manipulação - São Paulo – SP – Brasil);
- Iodofórmio (Fórmula & Ação Farmácia de manipulação – São Paulo; SP – Brasil);
- Meio de Cultura Ágar Mitis Salivarius (Difco – Interlabor, Importadora e Distribuidora Ltda, Rio de Janeiro, RJ – Brasil);
- Meio Brain – Heart - Infusion (B.H.I.) (Difco – Interlabor, Importadora e Distribuidora Ltda, Rio de Janeiro, RJ – Brasil);
- Micro-motor e peça de mão (Dabi Atlante S. A. Indústria Médica Odontológicas, Ribeirão Preto, SP – Brasil);
- Molar superior extraído (doado por paciente da Faculdade de Odontologia de Nova Friburgo);
- Placa Bacteriana (obtida de pacientes da Faculdade de Odontologia de Nova Friburgo);
- Placa de vidro 10 mm (J. O. N - Comércio de Produtos Odontológicos Ltda, São Paulo, SP – Brasil);
- Placas de Petri (90 mm de diâmetro) (Difco-Interlabor, Importadora e Distribuidora Ltda, Rio de Janeiro, RJ – Brasil);
- Pinça (Duflex, S.S White Artigos Dentários Ltda, Rio de Janeiro, RJ – Brasil);
- Propilenoglicol (Fórmula & Ação Farmácia de manipulação – São Paulo, SP – Brasil);
- Régua milimetrada (Duflex, SS White Artigos Dentários Ltda, Rio de Janeiro, RJ – Brasil);

- Software de análise de imagens (Image Pro-Plus, Media Cybernetics, USA);
- Swabs estéreis (Inlab Diagnóstica, São Paulo, SP - Brasil);
- Tubos de ensaio (J.O.N –Comércio de Produtos Odontológicos Ltda – São Paulo, SP – Brasil).

4.2 MÉTODO

4.2.1 Preparo do Dente

Foi utilizada a raiz do dente molar superior, necrosado e com lesão periapical, indicado para extração. Com auxílio de broca Maxicut montada em peça de mão, a raiz do dente foi transformada em pó, a fim de ser misturada com as medicações.

4.2.2 Colheita do Material

Foi colhida placa bacteriana, da superfície dental, de dez diferentes pacientes com alta atividade cariogênica, sendo então depositadas em dez tubos de ensaio, contendo Caldo BHI (BRAIN HEART INFUSION) desidratado. Este, consiste em um caldo rico de uso geral, utilizado na cultura de microorganismos de difícil desenvolvimento, incluindo Streptococcus, cuja fórmula é:

Infusão de cérebro bovino	200g / litro
Infusão de coração bovino	250g / litro
Proteose Peptone	10g / litro

Cloreto de Sódio	5g / litro
Fosfato Dissódico	2,5g / litro
Bacto – Dextrose	2g / litro

Este caldo é adquirido na forma desidratada, sendo necessário reidratá-lo com 3/7g/ litro de água destilada.

Os tubos de ensaio foram levados à estufa bacteriológica à 37°C para incubação, por 48 horas.

4.2.3 Preparo do Meio de Cultura

Foi usado meio de cultura seletivo para *Streptococcus* da boca - AGAR MITIS SALIVARIUS (preparado segundo as recomendações do fabricante). Os microorganismos da boca selecionados incluem os *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguis* e *Enterococcus*. O meio de cultura possui a seguinte composição:

- Polipeptona - 1,5g
- Extrato de levedura - 0,5g%
- Sacarose - 5,0g%
- NaCl - 0,5%
- H₂ O destilada - 100 ml
- pH - 7,2 a 7,4

4.2.4 Preparo dos Medicamentos

Os medicamentos utilizados foram misturados com o pó de dentina e com o propilenoglicol da seguinte forma:

GRUPO 1: Iodofórmio (1g) + pó de dentina (1g) + propilenoglicol (q.s.p.)

GRUPO 2: Hidróxido de Cálcio (1g) + pó de dentina (1g) + propilenoglicol (q.s.p.).

A consistência obtida foi a de pasta.

Após o período de incubação, as bactérias presentes nos dez tubos de ensaio, foram semeadas em quarenta placas de Petri correspondendo a quatro culturas para cada uma das dez amostras da placa bacteriana, contendo meio de cultura seletivo (Agar Mitis Salivarius). Com o propósito de evitar possíveis contaminações do meio de cultura, os procedimentos microbiológicos laboratoriais foram conduzidos na Zona de segurança do Bico de Bunsen. As quarenta placas de Petri foram levadas à estufa bacteriológica, durante 15 minutos para pré-difusão do material.

Em seguida, foram depositados nas semeaduras realizadas no Ágar Mitis Salivarius quatro discos de papel estéreis, embebidos nas pastas contendo os medicamentos (GRUPO 1 e GRUPO 2). Os dois discos contendo o Iodofórmio como medicamento, foram depositados no meio de cultura, do lado esquerdo das placas de Petri, e os dois discos contendo o Hidróxido de Cálcio como medicamento, foram depositados do lado direito do meio de cultura, com auxílio de uma pinça estéril e resfriada, pressionando levemente cada disco para baixo para assegurar contato uniforme (FIG. 1).

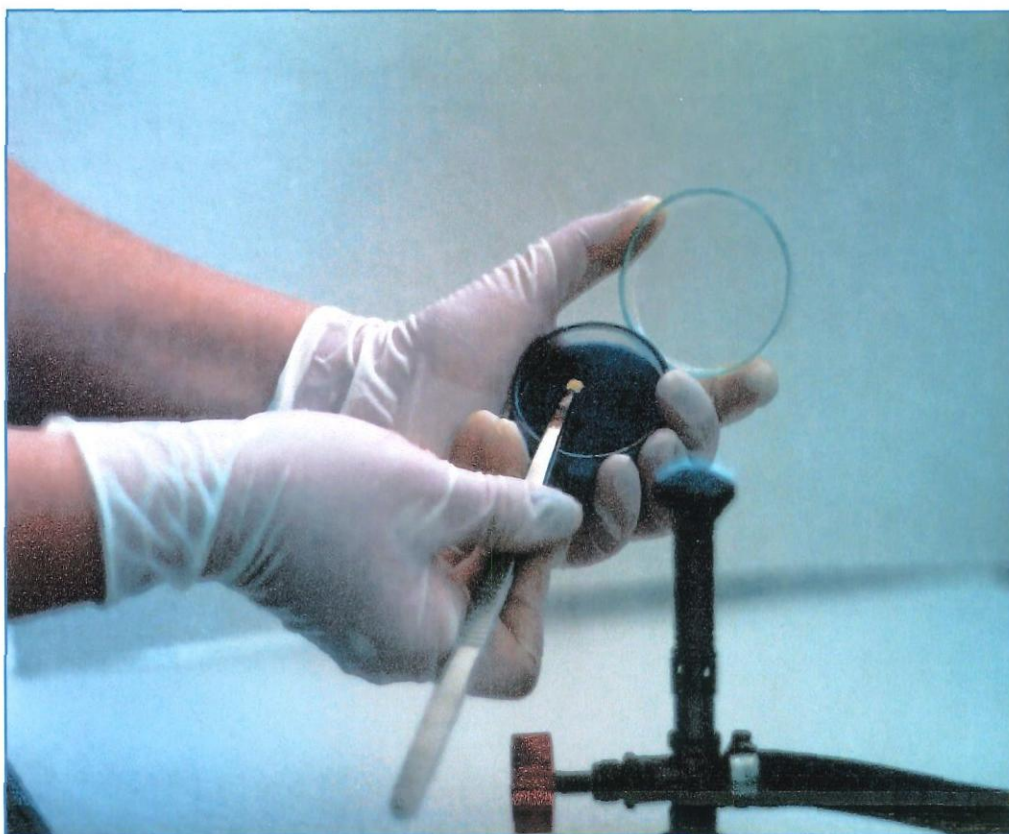


FIGURA 1 – Colocação dos discos de papel estéreis contendo os medicamentos nas sementeiras realizadas no Agar Mitis Salivarius

Foram também espaçados, cuidadosamente, de modo a não ficarem mais próximos do que 1.0 a 1.5 mm da borda da placa de Petri e suficientemente separados uns dos outros para evitar superposição dos halos de inibição. As culturas semeadas foram então incubadas, em estufa bacteriológica à 37°C durante um período de 48 horas, com as tampas voltadas para baixo.

Na leitura dos resultados, foram observados halos de inibição de crescimento bacteriano no GRUPO 1 e no GRUPO 2, referentes à atividade antibacteriana dos referidos medicamentos (FIG. 2).

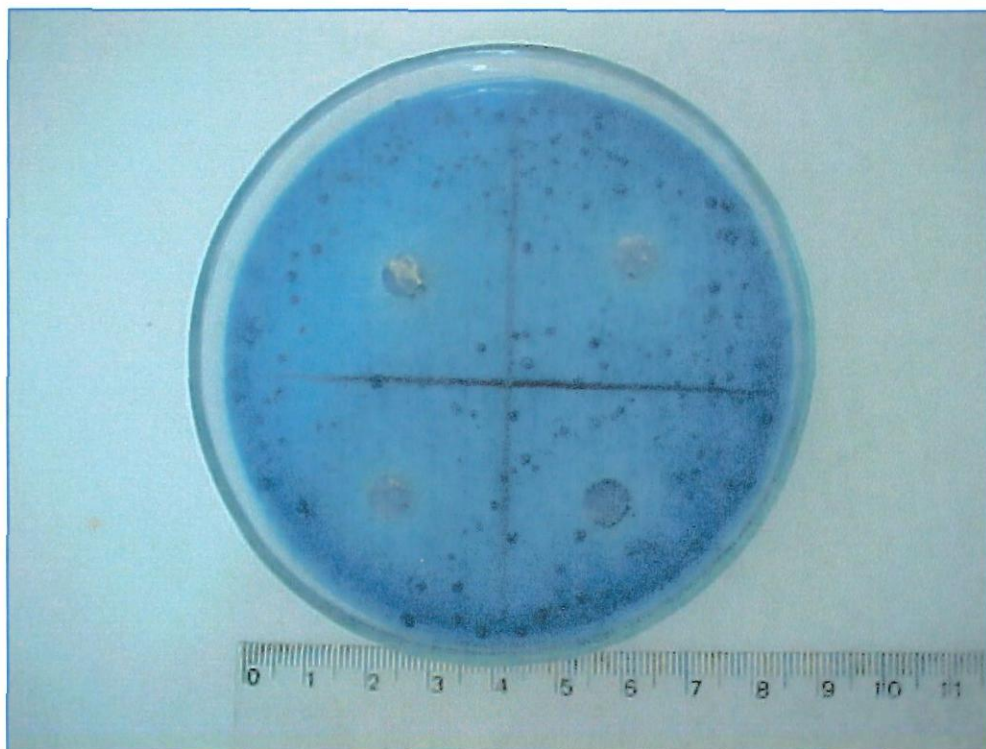


FIGURA 2 – Imagem da placa de Petri mostrando os halos de inibição formados no grupo 1 (Iodofórmio, à esquerda) e no grupo 2 (Hidróxido de cálcio, à direita)

Para obtenção das imagens, cada placa foi fotografada com uma máquina digital. Estas imagens foram analisadas com a utilização de um software de morfometria - *Image Pro Plus* - Media Cybernetics, o qual delimitou o bordo do disco de papel estéril, contendo as pastas (GRUPO 1 e GRUPO 2) assim como a colônia bacteriana mais próxima desse bordo, obtendo dessa forma a medida em mm, da distância entre um e outro (FIG. 3). Posteriormente foi feita a análise estatística dos dados obtidos, que comparou a atividade antibacteriana dos dois medicamentos utilizados no trabalho, a saber: Iodofórmio e Hidróxido de Cálcio, ambos associados à dentina.

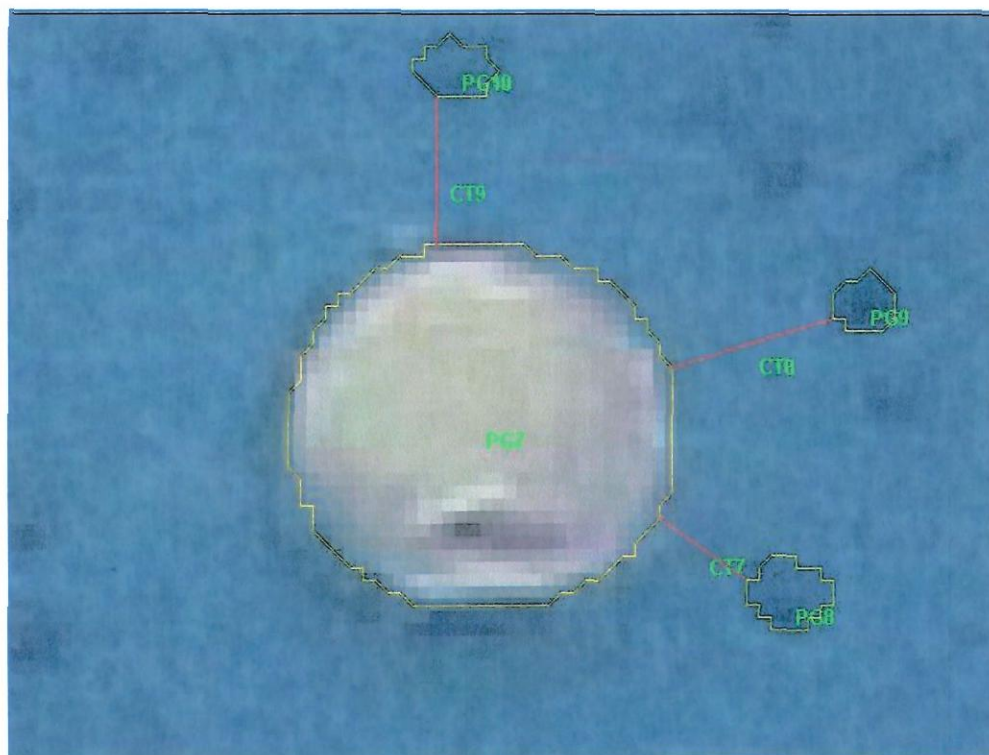


FIGURA 3 – Imagem capturada da tela do computador mostrando a análise computadorizada para obtenção da medida da distância entre o disco com o medicamento e a colônia bacteriana mais próxima

5. RESULTADOS

As médias dos halos de inibição de crescimento bacteriano produzidos pelos medicamentos testados estão expressas na TAB. 1, onde os seus valores individuais, encontram-se no ANEXO 1.

TABELA 1 – Média final obtida para os dois medicamentos testados na sua atividade inibitória

IODOFÓRMIO	HIDRÓXIDO DE CÁLCIO
3,787	3,331

Para realizar os cálculos estatísticos tanto do grupo 1 como do grupo 2, utilizou-se o software Graph Pad Prism (TAB. 2).

TABELA 2 – Dados e resultados estatísticos dos Grupos 1 e 2 - Teste T de Student (nível de significância $p = 0,05$)

Parameter Table Analyzed	Value Data Table -1 Columns A and B
Unpaired t test	0.4432
P value	ns
P value summary	No
Are means signif. different? ($P < 0.05$)	Two-tailed
One - or two-tailed P value? t, df	$t = 0.7711$ df = 72
How big is the difference?	
Mean $\pm$ SEM of column A	3.787 ± 0.4521 N=37
Mean $\pm$ SEM of column B	3.331 ± 0.3804 N=37
Difference between means	0.4555 ± 0.5908
95% confidence interval	-1.635 to 0.72370.008190
R squared	
Are variances significantly different?	No

Frente aos resultados, tanto o Iodofórmio, quanto o Hidróxido de Cálcio se mostraram eficientes na formação dos halos e, portanto na ação inibitória de crescimento bacteriano, tendo sido observado, no entanto uma predominância da ação do Iodofórmio sobre o Hidróxido de Cálcio, como está representado no GRAF. 5.1., embora esta não seja significativa estatisticamente.

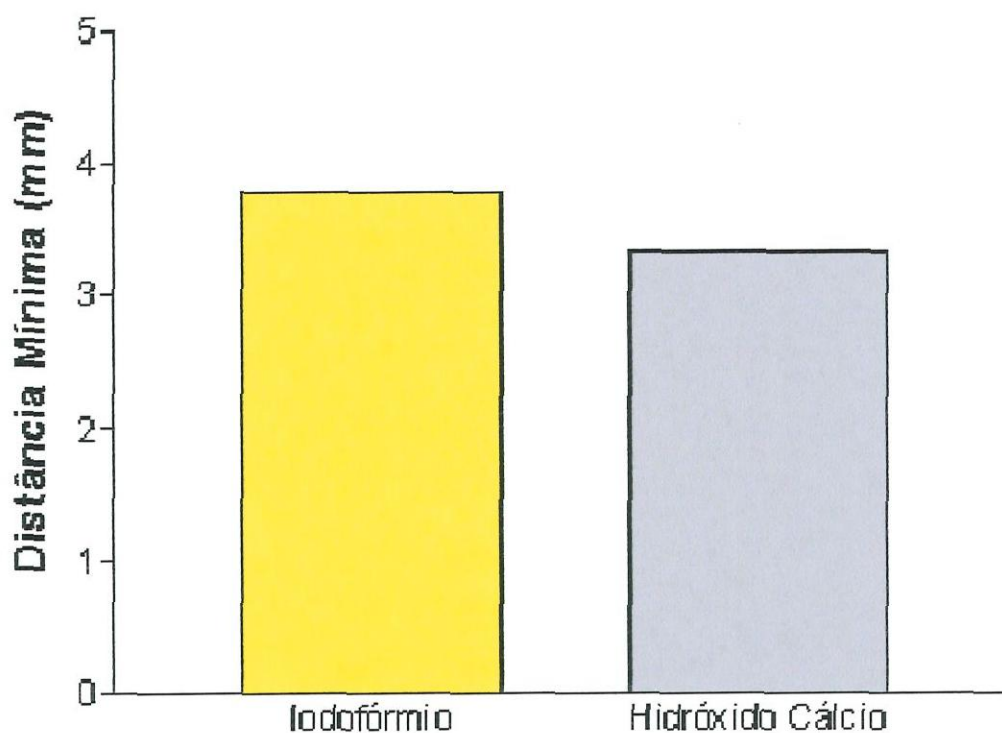


GRAFICO 5.1 – Gráfico representativo da atividade antibacteriana dos dois medicamentos avaliados, onde não houve diferença estatística significativa

6. DISCUSSÃO

O objetivo do tratamento endodôntico é eliminar as bactérias dos canais radiculares dos dentes envolvidos, para possibilitar então, o reparo dos tecidos perirradiculares danificados. Estes fatores passam a ser demonstrados na literatura através de inúmeros ensaios: MILLER (1894), relacionando a associação entre bactérias e as patologias pulpares e perirradiculares, KAKEHASHI *et al.* (1965) trabalhando com ratos convencionais e germ-free confirmaram que na ausência de microorganismos, as polpas se repararam por deposição de dentina reacional, na área da exposição.

No que se refere à população microbiana relacionada com o tema em questão, até meados da década de 1970, a maioria dos estudos microbiológicos das infecções endodônticas indicava o predomínio das bactérias facultativas. As espécies comumente isoladas eram *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* e *Enterococcus*. Também foram freqüentemente isolados em canais radiculares infectados os *Staphylococcus epidermidis*, *Lactobacillus*, *Pseudomona* e *Candida albicans* (WINKLER *et al.*, 1956). Entretanto, em meados da década de 1970, com o desenvolvimento e aperfeiçoamento das técnicas de isolamento e cultivo de anaeróbios estritos, ficou demonstrado que a maioria das infecções endodônticas é mista e de etiologia polimicrobiana, com predomínio de anaeróbios estritos (SUNDQVIST, 1976).

É possível que muitos patógenos verdadeiros, ainda não tenham sido detectados, pois o método mais amplamente utilizado até hoje, o de cultura, pode não ser suficiente para tal (LOPES & SIQUEIRA, 1999).

Assim, embora um grande avanço tenha ocorrido nos últimos anos, a respeito do conhecimento das infecções endodônticas e do papel dos microorganismos na etiopatogenia das doenças perirradiculares, devemos reconhecer que muito ainda está por se descobrir.

Em virtude disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar se medicações com comprovada ação e eficácia clínica, utilizada rotineiramente em Endodontia, possuíam atividade antibacteriana *in vitro* sobre bactérias facultativas, as quais justificam seu estudo, devido a fácil metodologia a ser empregada além de que, estes microorganismos são comumente encontrados na cavidade oral e canal radicular (fase inicial da infecção endodôntica).

Entretanto outro fator foi considerado: estas medicações que nada mais são do que componentes químicos poderiam sofrer interações químicas com as estruturas presentes? Neste sentido HAAPASALO *et al.* (2000) executa ensaios nos quais levanta a possibilidade de interação de medicamentos a base de Hidróxido de Cálcio, que poderiam combinar-se com a dentina presente, anulando ou mesmo minimizando sua ação. Desta forma, constata o autor as grandes diferenças de resultados desta medicação quando os ensaios são realizados *in vitro*, com as pesquisas realizadas *in vivo*.

Neste particular, o presente experimento é realizado *in vitro*, mas apresentando como variável a presença de dentina associada à medicação, com vistas a contribuir para o esclarecimento da questão, propiciando um melhor entendimento do mecanismo de ação de tais substâncias e a possibilidade de interações com os tecidos dentários.

No caso do Hidróxido de Cálcio, suas propriedades antibacterianas são atribuídas ao seu pH fortemente alcalino (em torno de 12,0) o que destrói por

contato as bactérias que possam ter permanecido no canal (MATSUMIYA; KITAMURA, 1960; HEITHERSAY, 1975; TRONSTAD *et al.*, 1990; STUART *et al.*, 1991), altera a síntese da membrana celular citoplasmática, provoca desnaturação de proteínas estruturais e lise do DNA, neutraliza o efeito residual do lipopolissacarídeo (SAFAVI & NICHOLS, 1994), controla o exsudato periapical.

Esse medicamento é indicado ainda em lesões periapicais extensas, perfurações, fraturas, rizogênese incompleta, apicigênese e apicificação e lesão endo-pério (HEITHERSAY, 1975; FOREMAN & BARNES 1990, FAVA & SAUNDERS, 1999). Também promove selamento físico provisório do canal, com isso impossibilitando o suprimento de substratos para bactérias remanescentes (SIQUEIRA JR *et al.*, 1996). Em sua utilização clínica, associa-se rotineiramente a um veículo que poderá ter ação antimicrobiana ou ser inerte. Nesta pesquisa o veículo utilizado foi o propilenoglicol, que é inerte (FOREMAN & BARNES, 1990; SJÖGREN *et al.*, 1991; DANIEL, 1996; FAVA & SAUNDERS, 1999).

Tem sido demonstrado, no entanto, que contra algumas bactérias facultativas, como o *Enterococcus faecalis*, esse medicamento não é tão eficaz (STEVENS & GROSSMAN, 1983; HAAPASALO & ORSTAVIK, 1987).

O Hidróxido de Cálcio é um fármaco que tem sido extensivamente usado em Endodontia, tendo sido esse fato relevante na sua escolha para a realização deste trabalho. Muitas pesquisas *in vitro* foram desenvolvidas, com o objetivo de avaliar o poder de inibição bacteriana desse medicamento. Algumas delas utilizaram o mesmo meio rico utilizado neste trabalho, que é o Brain-Heart-Infusion; podemos citar as pesquisas realizadas por FERREIRA *et al.*, em 1978; por SJÖGREN *et al.*, em 1991; por SIQUEIRA *et al.*, em 1996; por SIQUEIRA *et al.*, em 1997 e por LEONARDO *et al.*, em 1999.

A utilização de polpa necrosada, onde predominavam os *Streptococcus*, como neste experimento, foi material do trabalho realizado por FERREIRA *et al.* em 1978 e nesse caso, ficou comprovado que a concentração do Hidróxido de Cálcio é inversamente proporcional ao tempo de contato com os microorganismos. Os *Streptococcus* foram escolhidos por diversos autores para realização de seus trabalhos. Os *Streptococcus mutans* foram utilizados por SJOGREN *et al.*, em 1991. Em 1992, LAGE MARQUES *et al.*, usaram os *Streptococcus mutans* e *sanguis* e os *Streptococcus sobrinus* foram usados por SIQUEIRA *et al.*, em 1996, que também utilizaram os *Streptococcus sanguis* em 1997. Também trabalhando com polpa necrosada em dentes com lesão periapical, como nesta pesquisa, BYSTROM *et al.* (1985), confirmaram a ação bactericida do Hidróxido de Cálcio.

No que diz respeito ao Iodofórmio, é um medicamento que tem seu mecanismo de ação relacionado a liberação do iodo, quando essa droga entra em contato com secreções ou áreas infectadas, (STURRIDGE, 1924; PUCCI, 1945; SOLLMAN, 1957; VELÁZQUEZ, 1955). Apresenta-se caracteristicamente radiopaco, o que facilita o exame radiográfico, possibilitando melhor controle de sua difusão e reabsorção (PUCCI, 1945; AYDOS & MILANO, 1984; MANISALI *et al.*, 1989). Esse fato é importante, pois sua capacidade anti-séptica só se realiza enquanto o medicamento estiver presente (CASTAGNOLA & ORLAY, 1952; PUCCI 1945; CASTAGNOLA, 1976).

É um fármaco que apresenta propriedade anestésica (PUCCI, 1945; SOLLMAN, 1957), além de ser bem tolerado pelos tecidos periapicais (WALKHOFF, 1928 citado por JUGE, 1959), apesar de sua toxicidade ser maior em relação ao Hidróxido de Cálcio, parecendo esse fator, ser importante para que o medicamento

seja capaz de exercer sua ação estimulando o processo inflamatório e desencadeando a resposta imunológica (DANIEL, 1998).

A capacidade de estimulação biológica deste medicamento é questionada por alguns autores (AYDOS & MILANO, 1984) e aceita por outros (PUCCI, 1945; MAISTO & EURASQUIM, 1965; MAISTO, 1975; CASTAGNOLA, 1976) que acreditavam que o Iodofórmio teria a propriedade de promover a formação de tecido de granulação, estimulando a resposta inflamatória, contribuindo desse modo para a reparação óssea.

Os canais contaminados apresentam uma série de fatores que ativam a ação do Iodofórmio, como ausência de luminosidade e temperatura ideal (MAISTO, 1975; SEMERARO & MAGALHÃES, 1978); presença de tecidos orgânicos em desintegração (PUCCI, 1945); ausência de oxigênio (MAISTO, 1975). O sabor desagradável e a possibilidade de provocar alergia foram citados por CASTAGNOLA (1975) além do fato de poder provocar pigmentação nos dentes (GARCIA-GODOY, 1987).

O Iodofórmio foi escolhido para realização do presente estudo porque a sua utilização em Endodontia obteve índice elevado de sucesso, como citam CASTAGNOLA & ORLAY, 1952; CASTAGNOLA & ORLAY 1956; HONEGGER, 1932 citado por MAISTO, 1975; ENGEL, 1950 citado por MAISTO, 1975; ROCCA, (1985).

Em relação à utilização da dentina, sabe-se que sua presença e/ou a quantidade de microorganismos, além de seus tipos, pode modificar a atividade da medicação intracanal. A interação da dentina aos medicamentos, irá nesse caso simular as condições reais de atuação da medicação intracanal. A associação da dentina aos medicamentos tem o propósito de verificar se sua presença interfere na

ação dos mesmos. Com esse mesmo objetivo, HAAPASALO *et al.*, (2000) testou vários medicamentos (inclusive o Iodofórmio e o Hidróxido de Cálcio), sendo constatado que a presença da dentina inativou a ação do Hidróxido de Cálcio sobre o *E. faecalis*. Esse autor utilizou terceiros molares extraídos, cuja dentina foi transformada em pó.

Dentro da metodologia utilizada na pesquisa, alguns aspectos se revestem de importância significativa. A captação da dentina obtida da raiz do molar extraído tem como proposta padronizar as condições microbiológicas entre os dois grupos.

No presente trabalho, não foi propósito avaliar a ação bactericida específica sobre determinada colônia bacteriana, mas sobre toda o gênero de *Streptococcus* da cavidade oral. Entretanto, pode-se justificar o uso desses microorganismos, pois foram as bactérias aeróbias mais encontradas na pesquisa realizada por VON KONOW *et al.*, em 1981.

A microbiota da lesão endodôntica inicial é muito parecida com a microbiota da lesão de cárie (LOPES & SIQUEIRA, 1999) justificando o uso das bactérias utilizadas nesse trabalho.

Foi utilizado meio de cultura seletivo (Ágar Mitis Salivarius) para *Streptococcus* presentes na cavidade oral, sendo: os *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mileri* e *Enterococcus*, obtidos através da placa bacteriana da superfície dental de pacientes com alta atividade cariogênica, que foi depositada em tubos de ensaio, contendo caldo Brain-Heart-Infusion, que é um meio rico, utilizado na cultura de microorganismos de difícil desenvolvimento.

O tempo de incubação de 48 horas foi escolhido em função de ser assim esperado um crescimento ideal em um meio de cultura rico e específico como é o BHI.

Nesse sentido, outra pesquisa foi realizada por LEONARDO *et al.* (1999) e SIQUEIRA JR. *et al.* (1997) utilizando também esse caldo.

Das quarenta culturas em placas de Petri utilizadas, três foram descartadas por problemas ocorridos, como contaminação do meio e halos de inibição pouco evidentes.

No que se refere à determinação do número de amostras que compõem o presente trabalho, apresentando um total de 148, sendo que 74 para cada grupo (GRUPO 1 e GRUPO 2), justifica-se quando da realização do projeto piloto, que não apresentou diferenças estatísticas. Dessa forma, aumentando significativamente o número de amostras, foi possível de fato constatar essa tendência, quando da avaliação dos resultados com o universo amostral mais consistente.

As imagens obtidas foram analisadas utilizando-se um software de análise de imagens (Image Pro Plus, Media Cybernetics). O programa delimitou o bordo do disco de papel estéril contendo o medicamento, assim como a colônia bacteriana mais próxima desse bordo, obtendo dessa forma a medida precisa em mm, da distância entre um e outro. A medida dos halos de inibição são muitas vezes, efetuadas utilizando-se régua milimetrada, paquímetro (SIQUEIRA JR. *et al.*, 1997; LEONARDO *et al.*, 1999) ou com o auxílio de lupa (ZELANTE *et al.*, 1975), mas optou-se pela medida dos halos de inibição feita em computador, devido a precisão do resultado (LEAL *et al.*, 2001).

Este procedimento justifica-se, pois foi utilizado, um meio de cultura seletiva (Agar Mitis Salivarius) que não permite crescimento homogêneo da cultura bacteriana, não formando tapete de crescimento, o que dificulta a determinação exata da borda do halo de inibição bacteriana, impedindo que o mesmo seja medido pelo método padrão (régua ou paquímetro) (RIBEIRO & SOARES, 1993).

Para a avaliação da atividade antibacteriana dos medicamentos, utilizou-se o método de difusão em ágar (ORSTAVIK, 1981; GROSSMAN, 1983; ORSTAVIK & HAAPASALO, 1987; LAGE MARQUE, 1992; SIQUEIRA JR. *et al.*, 1996; SIQUEIRA JR. *et al.*, 1997; LEONARDO *et al.* 1999) uma vez que este é preferível ao método alternativo, de diluição em caldo, devido a sua rapidez e simplicidade e também pela pouca solubilidade apresentada pelo Hidróxido de Cálcio e pelo Iodofórmio (RIBEIRO & SOARES, 1993), o que representaria dificuldades.

Verificou-se no trabalho, que a pré-incubação das placas de Petri para permitir a difusão das pastas contendo os medicamentos no meio sólido contendo ágar foi fator importante para a avaliação da atividade antibacteriana, pois desta forma estaremos testando a ação antimicrobiana dos medicamentos na fase logarítmica de crescimento bacteriano. Tal procedimento foi também adotado por LEONARDO *et al.* (1999), com a mesma finalidade. Com isso poderia se justificar a diferença de resultados em relação ao trabalho realizado por SIQUEIRA & UZEDA (1997) no qual a pré-incubação não foi realizada.

Quando da realização da análise dos resultados, foi utilizada a média obtida entre os halos de inibição formados pelos medicamentos, em cada placa de Petri, e não os valores individuais, porque é mais confiável trabalhar com a média das quatro leituras obtidas (duas para cada medicamento usado). O propósito foi diminuir possíveis distorções de leitura, visando assim corrigir erros. Em Biologia é

mais confiável trabalhar com médias do que com valores individuais, onde a margem de erro seria provavelmente maior.

Vários autores também obtiveram em seus experimentos, as médias dos halos de inibição de crescimento bacteriano (GROSSMAN, 1983; LAGE MARQUES *et al.*, 1992; SIQUEIRA JR. *et al.*, 1996; SIQUEIRA JR. *et al.*, 1997; LEONARDO *et al.*, 1999) confirmando dessa forma a confiabilidade desta pesquisa.

Analisando os valores obtidos nas médias dos halos de inibição para os dois grupos, observou-se discrepância nesses valores e isso pode ser explicado porque de acordo com a metodologia utilizada, cada grupo de quatro culturas, corresponde à microbiota de placa dental de um paciente, que possivelmente apresenta variações na composição microbiana, determinando então, variações nas medidas dos halos de inibição microbiana.

Os resultados obtidos sofreram análise estatística, para comprovar se as variações dos resultados encontrados são ou não estatisticamente significativas. Os métodos estatísticos visam a possibilitar que se possam tirar conclusões sobre os parâmetros populacionais, partindo de informações obtidas a partir de amostras dela retiradas. Para tal, foi utilizado o Teste T de Student, que é um teste paramétrico para duas amostras (independentes ou vinculadas) com nível de significância $p = 0,05$. A partir deste nível, os desvios são devidos a lei do acaso e o resultado é considerado não significativo (VIEIRA, 1991). O valor de p encontrado mostrou que não existe diferença significativa entre as médias dos grupos de medicamentos testados. Os testes estatísticos em geral, e entre eles o Teste T, visam a estabelecer precisamente os limites além dos quais duas amostras já não devam ser consideradas como retiradas de uma mesma população, e sim como pertencentes a populações diferentes (MACHADO & MACHADO).

Assim, com base nos resultados obtidos neste trabalho, foi possível concluir então, que o Iodofórmio possui ação inibitória sobre os microorganismos estudados. Esse resultado se reveste de especial importância, pois contradiz os resultados do trabalho realizado *in vitro*, por CASTAGNOLA (1952), que analisou várias bactérias (inclusive *Streptococcus*) sendo também utilizado o método de difusão em Ágar. Este autor constatou ser incerto e passível de discussão o poder desinfetante do Iodofórmio, além de não possuir ação inibitória bacteriana.

Outro trabalho que concluiu que o Iodofórmio não possui ação antibacteriana *in vitro*, sendo divergente sua ação *in vivo*, foi o realizado por AYDOS & MILANO (1984). Acredita-se que essas conclusões se devam a inexistência de trabalhos bem dirigidos neste sentido.

Diante dos resultados obtidos, parece lícito afirmar que o Iodofórmio tem ação inibitória do crescimento bacteriano, e que essa capacidade de agir sobre bactérias que foi questionada nos trabalhos mais antigos, agora é realidade, sendo este fato, relevante nesta pesquisa.

Os resultados obtidos no presente estudo no que se refere ao Iodofórmio são inovadores, pois se acreditava que a ação antibacteriana desse fármaco fosse muito pequena ou mesmo que não existisse (AYDOS & MILANO, 1984). Essa constatação é ainda mais interessante quando se considera que tal medicamento, foi utilizado na presença da dentina, contrariando o trabalho realizado por HAAPASALO *et al.*, 2000, quando ficou comprovado sua ineficácia quando da presença de dentina.

Frente aos resultados obtidos, o Iodofórmio se mostrou eficiente na formação dos halos e, portanto na ação inibitória (o que contradiz os trabalhos mais antigos). Sugere-se, no entanto, que outros trabalhos sejam realizados, no sentido

de determinar se nesse caso, a atividade dos medicamentos testados se dá através de ação bacteriostática ou bactericida. Estes resultados são animadores, e encorajando continuar empregando o Iodofórmio como medicação intracanal.

Na metodologia utilizada no presente estudo, fica comprovada a ação inibitória desse medicamento, sendo sua eficácia similar a do Hidróxido de Cálcio justificando dessa maneira seu emprego em Endodontia.

7. CONCLUSÕES

Com base neste experimento, parece lícito concluir que:

1. O Iodofórmio e o Hidróxido de Cálcio exibem atividade antibacteriana *in vitro*; não apresentando diferenças estatísticas significativas entre eles;
2. A presença da dentina não impediu a atividade antibacteriana dos medicamentos testados.

ABSTRACT

The current study intends to compare the antibacterial activity of the two substances utilized as intracanal dressing: the Iodoform and the Calcium Hydroxide associated to the dentin used against *Streptococcus* from the oral cavity. For the accomplishment of this research, the extracted superior molar tooth in necrosis from periapical lesion was selected, then powdered to be mixed with the medications proposed by this research. An inert vehicle was utilized to obtain the desired consistency. The bacterial plaque from the dental surface of ten different patients with high levels of carious activity was used in order to obtain the oral cavity's own bacteria necessary to the accomplishment of this research. These bacteria were cultivated in a culture media rich in nutrients which favored their growth. Later, the bacteria present in the ten test tubes were seeded in quarantine Petri dishes, containing a selective media for the mouth *Streptococcus* (Agar Mitis Salivarius). Immediately afterwards, sterile paper discs were deposited in these Petri dishes, and dipped in pastes containing the two groups of medicine associated to the dentin using propilenoglicol as a vehicle (four discs of paper were placed in each plaque: two for the Iodoform and two for the Calcium Hydroxide). Afterwards, inoculated Petri dishes were incubated at the temperature of 37°C for a period of forty-eight (48) hours. After this period, halos of bacterial growth inhibition referent to the activity of evaluated medicine were observed and subsequently measured. The measurements of the halos of bacterial inhibition were evaluated, using a program of computer analysis, and the results obtained statistically analyzed showed that there was no significant difference between the two medicaments, according to the average obtained from the growth inhibition *halos*; therefore it is possible to conclude that the iodoform and the Calcium Hidroxide have shown themselves to be efficient in the formation of halos and, as such, in antimicrobial action in the presence of dentin.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹

1. ABBOTT, P. V. Medicaments: aids to success in endodontics. Part 1: a review of the literature. **Aust Dent J**, Sydney, v. 35, n. 5, p. 438-48, Oct. 1990.
2. AGOSTINI, E. The therapeutic value of iodoform. **Dent Items Interest**, Philadelphia, v. 56, n. 10, p. 820-1, Oct. 1934.
3. ALCORTA, P. J. El yodoformo en endodocia. **Prensa Méd Argent**, Buenos Aires, v. 55, n. 43/44, p. 2036-9, 1968.
4. ALLARD, U. et al. Experimental infections with *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sanguis*, *Pseudomonas aeruginosa* and *bacteroides fragilis* in jaws of dogs. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, Saint Louis, v. 48, p. 454-62, 1979.
5. ANTHONY, D. R.; GORDON, T. M.; Del RIO, C. E. The effect of three vehicles on the pH of calcium hydroxide. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, Saint Louis, v. 54, n. 5, p. 560-5, Nov. 1982.
6. ASSED et al. Anaerobic microorganisms in root canals of human teeth with chronic apical periodontitis detected by indirect immunofluorescence. **Endod Dent Traumatol**, Copenhagen, v. 12, p. 66-8, 1996.
7. AYDOS, J. H.; MILANO, N. F. Revisão bibliográfica sobre o uso do Iodofórmio em endodontia. **Rev Fac Odontol P Alegre**, v. 26, p. 43-51, mar. 1984.
8. BAUMGARTNER, J. C.; FALKLER JR., W. A. Bacteria in the apical 5 mm of infected root canals. **J Endod**, Baltimore, v. 17, n. 8, p. 380-3, Aug. 1991.
9. BELL, J. W. Kri i paste. **N Z Dent J**, Dunedin, v. 65, n. 300, p. 96-106, Apr. 1969.
10. BENGTON, A. L. et.al. Nova conduta nas pulpotomias de dentes decíduos. **RGO**, Porto Alegre, v. 42, n. 1, p. 7-11, jan./fev. 1994.
11. BHASKAR, S. N. Bone lesions of endodontic origin. **Dent Clin North Am**, Philadelphia, p. 521-33, Nov. 1967.

¹ De acordo com a NBR 6023: Referências Bibliográficas, de 2002, da Associação Brasileira de Normas Técnicas- ABNT, e abreviatura dos títulos de periódicos em conformidade com o Index Medicus.

12. BUCKLEY, J. P. **Matéria médica, farmacológica e terapêutica dentária.** Tradução Almeno de Souza. Rio de Janeiro: Científica, 1950, 63 p.
13. BYSTRÖM, A. et al. Healing of periapical lesions of pulpless teeth after endodontic treatment with controlled asepsis. **Endod Dent Traumatol**, Copenhagen, v. 3, n. 2, p. 58-63, Apr. 1987.
14. BYSTRÖM, A.; CLAEISSON, R.; SUNDQUIST, G. The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. **Endod Dent Traumatol**, Copenhagen, v. 1, n. 5, p. 170-175, Oct. 1985.
15. CASTAGNOLA, L. et al. The use of iodoform paste (Walk Hoff method) in modern endodontic therapy. **Quintessence Int**, Berlin, v. 7, n. 4, p. 19-23, Apr. 1976.
16. CASTAGNOLA, L.; ORLAY, H. G. Treatment of gangrene of the pulp by the Walkhoff method. **Br Dent J**, London, v. 93, n. 4, p. 93-102, Aug. 1952.
17. CHONG, B. S.; PITTFORD, T. R. The role of intracanal medication in root canal treatment. **Int Endod J**, Oxford, v. 25, n. 2, p. 97-106, Mar. 1992.
18. COHEN, S.; BURNS R. C. **Caminhos da Polpa.** 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. cap. 13. p. 437-48.
19. DAHLÉN, G. et al. Identification and antimicrobial susceptibility of enterococci isolated from the root canal. **Oral Microbiol Immunol**, Copenhagen, v. 15, n. 5, p. 309-12, Oct. 2000.
20. DANIEL, R. L. D. P. **Análise comparativa da citotoxicidade *in vitro* do iodofórmio e do hidróxido de cálcio empregando-se dois veículos diferentes.** São Paulo, 1998, 200p. Dissertação (Mestrado em Endodontia) – Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.
21. DANIEL, R. L. D. P.; JAEGER, M. M. M.; MACHADO, M. E. L. Emprego do iodofórmio em Endodontia – revisão da literatura. **RPG Rev Pós Grad**, São Paulo, v. 6, n. 2, p. 175-9, abr./jun. 1999.
22. ERAUSQUIN, J.; MURUZÁBAL, M. Tissue reaction to root canal fillings with absorbable pastes. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, Saint Louis, v. 28, n. 4, p. 567-78, Oct. 1969.

23. FABRICIUS, L. et al. Predominant indigenous oral bacteria isolated from infected root canals after varied times of closure. **Scand J Dent Res**, Copenhagen, v. 90, n. 2, p. 134-44, Apr. 1982.
24. FAVA, L. R. G.; SAUNDERS, W. P. Calcium hydroxide pastes: classification and clinical conditions. **Int Endod J**, Oxford, v. 32, n. 4, p. 257-282, Aug. 1999.
25. 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. **Rev Bras Odontol**, Rio de Janeiro, v. 35, n.2, p. 15-21, mar./abr. 1978.
26. FISH, E. W. Bone infection. **J Am Dent Assoc**, Chicago, v. 26, n. 5, p. 691-712, May 1939.
27. FOREMAN, P. C.; BARNES, F. A review of calcium hydroxide. **Int Endod J**, Oxford, v. 23, n. 6, p. 283-97, Nov. 1990.
28. FUKUSHIMA, H.; YAMAMOTO, K.; HIROHATA, T. Localization and identification of root canal bacteria in clinically asymptomatic periapical pathosis. **J Endod**, Baltimore, v. 16, n. 11, p. 534-8, Nov. 1990.
29. GARCIA-GODOY, F. Evaluation of an iodoform past in root canal therapy for infected primary teeth. **ASDC J Dent Child**, Chicago, v. 54, n. 1, p. 30-4, Jan./Feb. 1987.
30. GEORGOPOULOU, M.; KONTAKIOTIS, E.; NAKOU, M. *In vitro* evaluation of the effectiveness of calcium hydroxide and paramonochlorophenol on anaerobic bacteria from the root canal. **Endod Dent Traumatol**, Copenhagen, v. 9, n. 6, p. 249-53, Dec. 1993.
31. GUEDES-PINTO, A.; PAIVA, J. G.; BOZZOLA, J. R. Tratamento endodôntico de dentes decíduos com polpa mortificada. **Rev Assoc Paul Cir Dent**, São Paulo, v. 35, n. 3, p. 240-5, maio/jun.
32. HAAPASALO, H. K. et al. Inactivation of local root canal medicaments by dentine: an *in vitro* study. **Int Endod J**, Oxford, v. 33, n. 2, p. 126-31. Mar. 2000.
33. HAAPASALO, M.; ORSTAVIK, D. *In vitro* infection and disinfection of dentinal tubules. **J Dent Res**, Washington, v. 66, n. 8, p. 1375-9, Aug. 1987.

34. HEITHERSAY, G. S. Calcium hydroxide in the treatment of pulp less teeth with associated pathology. **J Br Endod Soc**, London, v. 8, n. 2, p. 74-93, July 1975.
35. HEITHERSAY, G. S. Periapical repair following conservative endodontic therapy. **Aust Dent J**, Sydney, v. 15, n. 6, p. 511-8, Dec. 1970.
36. HELD, A. J. L'iodoforme doit'il être abandonné? **Rev Mes Suisse Odont-Stomatol**, v. 74, p. 715-35, 1964.
37. KANNANGARA, D. W.; THADEPALLI, H.; McQUIRTER, J. L. Bacteriology and treatment of dental infections. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, Saint Louis, v. 50, n. 2, p. 103-109, Aug. 1980.
38. KEUDELL, K. et al. Microorganisms isolated from pulp chambers. **J Endod**, Baltimore, v. 2, n. 5, p. 146-8, May. 1976.
39. KONTAKIOTIS, E.; NAKOU, M.; GEORGOPOULOU, M. *In vitro* study of the indirect action of calcium hydroxide on the anaerobic flora of the root canal. **Int Endod J**, Oxford, v. 28, n. 6, p. 285-9, Nov. 1995.
40. LAGE-MARQUES, J. L. et al. Análise da ação antimicrobiana do hidróxido de cálcio P.A. sobre algumas espécies de microorganismos. Contribuição ao estudo. **Rev Fac Odontol FZL**, São Paulo, v. 4, n. 2, p. 75-80, jul-dez. 1992
41. LEAL, M. M. et al. Morphometry of Murin MID-Palatal Suture by videomicroscopy image analysis system, **Microsc Acta Suppl**, Stuttgart, v. 18, p. 79 -80, Nov. 2001.
42. LEONARDO, M. R. et al. Histopathological observations of periapical repair in teeth with radiolucent areas submitted to two different methods of root canal treatment. **J Endod**, Baltimore, v. 21, n. 3, p. 137-41, Mar. 1995.
43. LEONARDO, M.R. et al. Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana de pastas utilizadas em endodontia. **Rev da Assoc Paul Cir Dent**, São Paulo, v. 53, n. 5, p. 367-70, set./out. 1999.
44. LIMA, L. A. et al. Healing of intrabony defects and its relationship to root canal therapy. A histologic and histometric study in dogs. **J Periodontol**, Chicago, v. 68, n. 3, p. 240-8, Mar. 1997.
45. LIITTER, M. **Farmacologia**. 2. ed. Buenos Aires: El Ateneo, 1961. 110 p.

46. LOPES, H. P.; SIQUEIRA, J. F. **Endodontia: biologia e técnica**. São Paulo: Medsi, 1999. cap. 19, p. 397-425.
47. LOPES, H. P.; SIQUEIRA, J. F. **Endodontia: biologia e técnica**. São Paulo: Medsi, 1999. cap. 10, p. 185-216.
48. MACHADO, M. E. L. et al. Histofisiologia e histopatologia de polpa e periápice In: **Endoatlas** 2000. Disponível em: <<http://www.endoatlas.com.br/cap.3.html>>. Acesso em: nov. 2000.
49. MAISTO, O. A.; ERAUSQUIN, J. Reacción de los tejidos periapicales del molar de la rata e las pastas de obturación, reabsorbibles. **Rev Assoc Odontol Argent**, Buenos Aires, v. 53, n. 1, p. 12-20, ene. 1965.
50. MATSUMIKA, S.; KITAMURA, M. Histo-pathological and histo-bacteriological studies of the relation between the conditions of sterilization of the interior of the root canal and the healing process of periapical tissues in experimentally infected root canal treatment. **Bull Tokyo Dent Coll**, Tokyo, v. 1, n. 1, p. 1-19, Oct. 1960.
51. MOLANDER, A.; REIT, C.; DAHLÉN, G. The antimicrobial effect of calcium hydroxide in root canals pretreated with 5% iodine potassium iodide. **Endod Dent Traumatol**, Copenhagen, v. 15, n. 5, p. 205-209, Oct. 1999.
52. NAIR, P. N. R. et al. Intraradicular bacteria and fungi in root-filled asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: a long-term light and electron microscopic follow-up study. **J Endod**, Baltimore, v. 16, n. 12, p. 580-8, Dec. 1990.
53. NEISENGARD, R. J.; NEWMAN, M. G. **Microbiologia oral e imunologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. cap. 30, p. 336-41
54. OHARA, P.; TORABINEJAD, M.; KETTERING, J. D. Antibacterial effects of various endodontic medicaments on selected anaerobic bacteria. **J Endod**, Baltimore, v. 19, n. 10, p. 498-500, Oct. 1993.
55. ORSTAVIK, D.; HAAPASALO, M. Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. **Endod Dent Traumatol**, Oxford, v. 6, n. 4, p. 142-9, Aug. 1990.
56. PUCCI, F. M. **Conductos radiculares: anatomia, patología y terapia**. Montevideu: Medico Quirurgica, 1945. v. 2, p. 344-375.

57. QUACKENBUSH, L. *In vitro* testing of 3 types of endodontic medicaments against anaerobic bacteria. **J Endod**, Baltimore, v. 12, n. 3, p. 132, Mar. 1986.
58. RAMACHANDRAN NAIR, P. N. et al. Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: a long-term light and electron microscopic follow-up study. **J Endod**, Baltimore, v.16, n.12, p. 580-8, Dec. 1990.
59. READER, C. M.; BONIFACE, M.; BUJANDA-WAGNER, S. Refractory endodontic lesion associated with *Staphylococci aureus*. **J Endod**, Baltimore, v. 20, n. 12, p. 607-9, Dec. 1994.
60. READER, C.; BONIFACE, M.; BUJANDA-WAGNER, S. Refractive endodontic lesion associated with *Staphylococci aureus*. **J Endod**, Baltimore, v. 20, n.12, p. 607-9, Dec. 1994.
61. RIBEIRO, M. C.; SOARES, M. M. S. R. **Microbiologia prática**: roteiro e manual, bactérias e fungos. São Paulo: Atheneu, 1993. cap. 10, p. 69-79.
62. ROCCA, J. P. et al. Thérapeutique des complications de la gangrène pulpaire: évaluation clinique d'une pâte de Walkhoff modifiée utilisée en technique monocône. **Chir Dent Fr**, Paris, v. 55, n. 306, p. 97-9, Sept. 1985.
63. SAFAVI, K. E.; NICHOLS, F. C. Alteration of biological properties of bacterial lipopolysaccharide by calcium hydroxide treatment. **J Endod**, Baltimore, v. 20, n. 3, p. 127-9, Mar. 1994.
64. SAFAVI, K. E.; NICHOLS, F. C. Effect of calcium hydroxide on bacterial lipopolysaccharide. **J Endod**, Baltimore, v. 19, n. 2, p. 76-8, Feb. 1993.
65. SAFAVI, K. E.; NICHOLS, F. C. Alteration of biological properties of bacterial lipopolysaccharide by calcium hydroxide treatment. **J Endod**, Baltimore, v. 20, n. 3, p.127-9, Mar.1994.
66. SARRAZIN, M. J. H. Iodoform. **Dent Items Interest**, Philadelphia, v. 56, p. 10-4, 1924.
67. SELTZER, S.; FARBER, P. A. Microbiologic factors in endodontology. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, Saint Louis, v. 78, n. 5, p. 634-45, Nov. 1994.

68. SEMERARO, D.; MAGALHÃES, T. R. Iodofórmio: um medicamento poderoso. **Rev Farm Odontol**, Rio de Janeiro, v. 44, n. 446, p. 445-7, jul. 1978.
69. SIQUEIRA JR., J. F. **Avaliação da invasão bacteriana de túbulos dentinários e da atividade antibacteriana de medicamentos intracanaís**. Rio de Janeiro, 1996 (Tese de Mestrado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro. In: SIQUEIRA JÚNIOR, J. F. **Tratamento das infecções endodônticas**. [S.l.]: Medsi, 1997. cap. 12: Antibioticoterapia em Endodontia. p. 157-70.
70. SIQUEIRA JR., J. F. et al. Atividade antibacteriana da pasta de hidróxido de cálcio/ paramonoclorofenol canforado/ glicerina contendo diferentes proporções de iodofórmio sobre bactérias anaeróbicas estritas e facultativas. **Rev Paul Odontol**, São Paulo, v. 19, n. 2, p. 17-21, mar./abr. 1997.
71. SIQUEIRA JR., J. F.; LOPES, H. P. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. **Int Endod J**, Oxford, v. 32, n. 5, p. 361-9, Sept. 1999.
72. SIQUEIRA JR., J. F.; UZEDA, M. Disinfection by calcium hydroxide pastes of dentinal tubules infected with two obligate and one facultative anaerobic bacteria. **J Endod**, Baltimore, v. 22, n. 12, p. 674-6, Dec. 1996.
73. SIQUEIRA JR., J. F.; MAGALHÃES, F. A. C.; UZEDA, M. Avaliação da atividade antibacteriana de medicação intracanal; três bases fortes e pastas à base de hidróxido de cálcio e paramonoclorofenicol canforado. **RGO**, Porto Alegre, v. 44, n. 5, p. 271-4, set./out. 1996.
74. SOUNIS, E. **Bio-estatística: princípios fundamentais, estatística, aplicação às ciências biológicas**. 2. ed. rev. [S.l.]: McGraw do Brasil, 1975. cap. 14, p. 153-67.
75. SJÖGREN, V. et al. The antimicrobial effect of calcium hydroxide as a short-term intracanal dressing. **Int Endod J**, Oxford, v. 24, n. 3, p. 119-25, May 1991.
76. SOLLMANN, T. H. **A manual of pharmacology and its applications to therapeutics and toxicology**. 8. ed. Philadelphia: Saunders, 1957. 1535p.
77. SPÄNGBERG, L. Biological effects of root canal filling materials. 1. Media for the investigation of the toxic effect of water-soluble substances on human cells *in vitro*. **Odontol Revy**, Lund, v. 20, n. 2, p. 123-32, 1969a.

78. SPÅNGBERG, L. Biological effects of root canal filling materials. 2. Effect *in vitro* of water-soluble components of root canal filling material on HeLa cells. **Odontol Revy**, Lund, v. 20, n. 2, p. 133-45, 1969b.
79. SPÅNGBERG, L. Biological effects of root canal filling materials. 3. Effect of Tween 80® on human cells *in vitro*. **Odontol Revy**, Lund, v. 20, n. 3, p. 283-399, 1969c.
80. SPÅNGBERG, L. Biological effects of root canal filling materials. 4. Effect of *in vitro* of solubilised root canal filling materials on HeLa cells. **Odontol Revy**, Lund, v. 20, n. 2, p. 289-99, 1969d.
81. SPÅNGBERG, L. Biological effects of root canal filling materials. 5. Toxic effect *in vitro* of root canal filling materials on HeLa cells and human skin fibroblasts. **Odontol Revy**, Lund, v. 20, n. 4, p. 427-36, 1969e.
82. STEVENS, R. H.; GROSSMAN, L. I. Evaluation of the antimicrobial potential of calcium hydroxide as an intracanal medicament. **J Endod**, Baltimore, v. 9, n. 9, p. 372-4, Sept. 1983.
83. STUART, K. G. et al. The comparative antimicrobial effect of calcium hydroxide. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, Saint Louis, v. 72, n. 1, p. 101-4, July 1991.
84. STURRIDGE, E. Iodoform in root canal work. **Dent Items Interest**, Philadelphia, v. 56, n. 9, p. 14-7, 1924.
85. SUNDQUIST, G. Ecology of the root canal flora. **J Endod**, Baltimore, v.18, n. 9, p. 427-430, Sept. 1992.
86. SUNDQUIST, G. Taxonomy, ecology, and pathogenicity of the root canal flora. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, Saint Louis, v. 78, n. 4, p. 522-30, Oct. 1994.
87. SUNDQUIST, G. **Bacteriological studies of necrotic dental pulps**. 1976. 94 p. Dissertação - Umea University Odontological, Sweden.
88. SYDNEY, G. B. **Identificação de bactérias anaeróbicas após o preparo do canal radicular com emprego de medicação de hidróxido de cálcio em diferentes tempos**. São Paulo, 1996. 147p. Tese (Doutorado em Endodontia) – Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

89. TRONSTAD, L.; BARNETT, F.; CERVONE, F. Periapical bacterial plaque in teeth refractory to endodontic treatment. **Endod Dent Traumatol**, Copenhagen, v. 6, n. 2, p. 73-77, Apr. 1990a.
90. KRESHTOOL, D.; BARNETT, F. Microbiological monitoring and results of treatment of extraradicular endodontic infection. **Endod Dent Traumatol**, Copenhagen, v. 6, n. 3, p. 129-36, June 1990b.
91. VELÁZQUEZ, B. L. **Terapéutica con sus fundamentos de farmacología experimental**. 10. ed. Barcelona: Científica, 1955. v. 1. p. 132-4.
92. VERNIEKS, A. A.; MESSER, L. B. Calcium hydroxide induced healing of periapical lesions: a study of 78 non-vital teeth. **J Br Endod Soc**, London, v. 11, n. 2, p. 61-9, July 1978.
93. VIEIRA, S. **Introdução à bio estatística**. 2 ed. rev. aum. Campos: [s.n], 1991. cap. 12, p.125-39.
94. VIGIL, M. A. V. et al. Evaluation of endodontic treatment with modified Walkhoff technique in teeth with necrotic pulp and/or periapical lesions. **Rev Eur Odontoestomatol**, Barcelona, v. 2, n. 6, p. 383-90, Nov. 1990.
95. VON KONOW, L.; NORD, C. E.; NORDENRAM, A. Anaerobic bacteria in dentoalveolar infections. **Int J Oral Surg**, Copenhagen, v. 10, n. 5, p. 313-22, Apr. 1981.
96. WALTON, R. E. Intracanal medicaments. **Dent Clin North Am**, Philadelphia, v. 28, n. 4, p. 783-96. Oct. 1984.
97. WASFY, M. O. et al. Microbiological evaluation of periapical infections in Egypt. **Oral Microbiol Immunol**, Copenhagen, v. 7, n. 2, p. 100-5, Apr. 1992.
98. WAYMAN, B. E. et al. A Bacteriological and histological evaluation of 58 periapical lesions. **J Endod**, Baltimore, v. 18, n. 4, p. 152-5, Apr. 1992.
99. WILLIMAS, B. L.; MCCANN, G. F.; SCHOENKECHT, F. D. Bacteriology of dental abscess of endodontic origin. **J Clin Microbiol**, Washington, v.18, n. 4, p. 770-4, Oct. 1983.

100. WINKLER, K. C.; VAN AMERONGEN, J. Bacteriologic results from 4,000 root canals cultures. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, Saint Louis, v. 12, n. 7, p. 857-75, July. 1959.
101. WITGOW, W. C.; SABISTON, C. B. Microorganisms from pulpal chambers of intact teeth with necrotic pulps. **J Endod**, Baltimore, v. 1, n. 5, p. 168-71, May 1975.
102. YAMASAKI, M. et al. Endotoxin and gram-negative bacteria in the rat periapical lesions. **J Endod**, Baltimore, v. 18, n. 10, p. 501-4, Oct. 1992.
103. YARED, G. M.; DAGHER, F. E. B. Influence of apical enlargement on bacterial infection during treatment of apical periodontitis. **J Endod**, Baltimore, v. 20, n. 11, p. 535-7, Nov. 1994.
104. ZELANTE, F.; PIOCHI, B. J. A. Contribuição para o estudo de Staphylococcus isolados da cavidade bucal. IV. Staphylococcus isolados de canais radiculares infectados. **Rev Fac Odontol Univ São Paulo**, São Paulo, v. 13, n. 2, p. 277-85, jul./ago. 1975.

ANEXO

UNICASTELO
C.P.O – SÃO LEOPOLDO MANDIC

Aprovado pelo CEP

Campinas, 02 de Ago de 2.00 2.

Ao

C.D. Claudia Maria Barboza Breda

Curso Endodontia

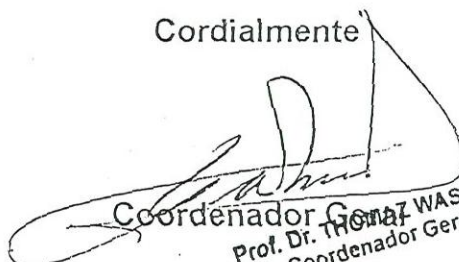
Prezado Mestrando:

O projeto de sua autoria Atividade anti bacteriana do iodoformio
e hidróxido de cálcio associados a dentina.
Estudo "in vitro"

Orientado pelo Prof.Dr. Manoel Eduardo Lima Machado

Entregue na Secretaria de Pós-graduação da Unicastelo – C.P.O São Leopoldo Mandic, no dia 15/06/02 com número de protocolo 659, foi APROVADO pelo comitê de Ética e Pesquisa instituído nesta Universidade de acordo com a resolução 196/1.996 do CNS – Ministério da Saúde, em reunião realizada no dia 01/08/02

Cordialmente


Coordenador Geral
Prof. Dr. THOMAZ WASSALL
Coordenador Geral