

Raul Capp Pallotta

AVALIAÇÃO IN VITRO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA
DE QUATRO MEDICAÇÕES DE USO ENDODÔNTICO,
PELO MÉTODO DA DILUIÇÃO EM CALDO

Universidade Camilo Castelo Branco

Centro de Pós Graduação

Campinas

2001

RAUL CAPP PALLOTTA

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA
DE QUATRO MEDICAÇÕES DE USO ENDODÔNTICO,
PELO MÉTODO DA DILUIÇÃO EM CALDO**

Dissertação apresentada à Universidade Camilo Castelo
Branco – Centro de Pós-Graduação Jose Rocha
Junqueira, para obtenção do grau de Mestre em
Odontologia

Área de Concentração: Endodontia.

CAMPINAS

2001

RAUL CAPP PALLOTTA

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA
DE QUATRO MEDICAÇÕES DE USO ENDODÔNTICO,
PELO MÉTODO DA DILUIÇÃO EM CALDO**

Dissertação apresentada à Universidade Camilo Castelo
Branco – Centro de Pós-Graduação Jose Rocha
Junqueira, para obtenção do grau de Mestre em
Odontologia

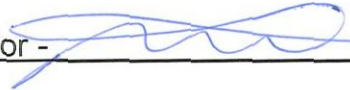
Área de Concentração: Endodontia.

Orientador: Prof. Dr. Manoel Eduardo de Lima Machado

CAMPINAS

2001

Apresentação da dissertação ao Curso de mestrado em Odontologia, subárea
de Endodontia, em 24 de agosto de 2001, á comissão
examinadora constituída pelos Professores Doutores.

Manoel Eduardo de Lima Machado – Orientador - 

Maria Letícia Borges Britto de Lima Machado - *Maria Letícia Borges Britto de Lima Machado*

Norair Salviano dos Reis - 

*“Aos meus pais, **Maria José e Raul**, pelo carinho, pelo amor e pela dedicação, e pelo exemplo de honestidade, perseverança, humildade e fé que nunca será esquecido”.*

*“Ao meu irmão, **Rodney**, pela paciência e companheirismo e pelo prazer da convivência neste tempo todo”.*

AGRADECIMENTOS

Ao **Prof. Dr. Manoel Eduardo de Lima Machado**, meu orientador, não só nesta dissertação, mas em toda a minha vida acadêmica, pela real valorização da minha pessoa, pelo auxílio nas horas difíceis e porque não pelas broncas.

Ao meu pai, **Raul** e a minha mãe, **Maria José**, pois sem eles eu nem existiria, quanto mais estaria aqui.

A **Maria Letícia Borges Britto de Lima Machado**, a Dra. Letícia, pela mãezona de todos os assistentes, que sempre me apoiou nas horas mais difíceis e que sempre teve um conselho amigo para dar e uma paciência enorme para ouvir.

Ao amigo **Arlindo**, pelo exemplo de todas as horas, tanto como professor como enquanto pessoa, é fantástico tê-lo como um apoio e colega.

Ao grande amigo **Massaro**, companheiro desta longa jornada desde o começo, agradeço a todos os momentos convividos e espero que possamos continuar juntos nesta caminhada.

Ao amigo **Daniel**, grande incentivador, com seus conselhos e apoio constante, passamos de colegas a verdadeiros amigos.

Ao amigo **Nilton**, também pela amizade, muito aprendemos juntos e tenho certeza que continuaremos neste caminho.

Ao meu irmão **Rodney**, pela paciência e pela força.

A **Ana Paula, Ana Lucia, Alexandre e Zappa**, por serem bons exemplos de verdadeiros amigos que nos estendem a mão na hora em que realmente precisamos.

Ao grande amigo, quase irmão, **Emerson Nakao**, pela amizade sincera e pelas dicas e conselhos, meu ombro amigo.

A **Dona Alita da Silveira Bulcão**, pois nem todas as pessoas do mundo possuem a bondade dos gestos, nem em um milhão de anos teria como agradecer o que você fez por mim.

Aos meus amigos da UNICSUL, **Prof. Machado, Dra. Letícia, Ana Lúcia, Arlindo, Liliane, Kika, Iara, Ricardo, Karina, Maki, Miguita**, pela oportunidade de formar uma verdadeira equipe

A Profa. **Mariângela**, por estar sempre de ouvidos abertos, pelas idéias brilhantes e pela inteligência sem as quais não seria possível a realização deste trabalho.

Às funcionárias do Laboratório de Microbiologia da PUC-Campinas, **Dona Leonor, Márcia, Cíntia e Andréia**.

A **Tia Norma**, pela ajuda, pela bondade dos gestos e das ações, eu agradeço do fundo do coração.

Às demais professoras da Disciplina de Microbiologia e Imunologia da PUC-Campinas por estarem sempre disponíveis a ouvir o que eu tinha para falar.

Aos professores do Curso de Aperfeiçoamento e de Especialização de Sorocaba, **Ana Paula, Liris, Glenda, Fernanda e João**, pelos ensinamentos aprendidos e compartilhados.

Aos meus colegas da Unicastelo, **Prof. Machado, Dra. Letícia, Ana Lúcia, Arlindo, Massaro, Nilton, Daniel, Zappa, Michele, Monique, Vivian, Maria Emília, Liris, Lucia, Virgínia, Tina e Junio** pela colaboração.

A todas as pessoas que me auxiliaram tanto na confecção como no suporte psicológico desta dissertação, às pessoas que me amam e as quais eu amo e que eu porventura tenha esquecido, o meu sincero **MUITO OBRIGADO**.

"Prece da Serenidade"

Eu peço a Serenidade

Para mudar as coisas que eu não possa aceitar

Para aceitar as coisas que eu não possa mudar

E mais importante: Saber a diferença entre as duas

“ O que um homem sabe aos cinqüenta anos que ele não sabe aos vinte é, em grande parte, incomunicável... todas as observações úteis sobre a vida passíveis de transmissão podem ser bem conhecidas por um homem de vinte anos tão atento quanto um de cinqüenta. Tudo pode ter-lhe sido contado, ele pode ter-se entregue a toda a literatura a respeito, mas ele não viveu totalmente as experiências. O que se sabe aos cinqüenta que não se sabe aos vinte não é o conhecimento de fórmulas ou formas de palavras, mas sim de pessoas, lugares, ações — um conhecimento derivado do toque, da visão, da audição, das vitórias e derrotas, da insônia, da devoção, do amor- e de experiências humanas e emoções deste planeta, de si próprio e de outro homem. Talvez, também, de um pouco de fé e de uma pequena reverência às coisas que não podemos ver”

- Adlai E. Stevenson

SUMÁRIO

	P.
RESUMO	22
1. INTRODUÇÃO	24
2. REVISÃO DA LITERATURA	28
2.1. BACTÉRIAS	28
2.1.1. TIPOS DE BACTÉRIAS	29
2.1.2. PAPEL DAS BACTÉRIAS	32
2.1.3. INFECÇÃO DA REGIÃO PERIAPICAL	34
2.2. ESPÉCIES BACTERIANAS	39
2.2.1. <i>Enterococcus faecalis</i>	39
2.2.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	46
2.2.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	49
2.2.4. <i>Bacteroides fragilis</i>	52
2.2. MEDICAÇÕES	58
2.2.1. IODOFÓRMIO	59

2.2.2. HIDRÓXIDO DE CÁLCIO	70
2.2.3. CFC	81
2.2.4. IODO IODETADO DE POTÁSSIO (IKI)	85
2.3. AVALIANDO A SENSIBILIDADE DOS MICROORGANISMOS ÀS DROGAS	90
3. PROPOSIÇÃO	91
4. MATERIAL E MÉTODOS	92
4.1. MATERIAL	92
4.2. MÉTODO	95
4.2.1. REATIVAÇÃO DAS CULTURAS, MULTIPLICAÇÃO INICIAL E CONFIRMAÇÃO DA IDENTIFICAÇÃO DAS CULTURAS.	97
4.2.2. GRUPOS EXPERIMENTAIS	99
4.2.3. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	100
4.2.3.1. PREPARO DAS CULTURAS COM A MEDICAÇÃO	101
4.2.3.2. AVALIAÇÃO E LEITURA	103
4.2.3.3. CONFIRMAÇÃO	105
4.2.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA	106
5. RESULTADOS	107
5.1. <i>Enterococcus faecalis</i>	107
5.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	115
5.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	122

5.4. <i>Bacteroides fragilis</i>	130
6. DISCUSSÃO	138
7. CONCLUSÕES	166
ABSTRACT	167
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	169
APÊNDICE	
ANEXOS	

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

	p.
FIGURA 4.1. Plano inclinado em que as bactérias são inicialmente encontradas.	95
FIGURA 4.2. Pipeta de 0,1ml. Ponteira encaixada (detalhe)	98
FIGURA 4.3. Pipetas de 0,2 e 0,5ml (200 e 500 μ l). Ponteira encaixada (detalhe)	98
FIGURA 4.4. Jarra de Anaerobiose	99
FIGURA 4.5. Escala de Mac Farland – Valores de 0(zero) a 10 (dez)	103
FIGURA 4.6. Avaliação e leitura – comparação dos crescimentos apresentados pelos tubos com a turbidez da escala de Mac Farland. A. Escala de Mac Farland. B, C e D. leituras de diferentes valores contra uma folha pautada pelo como as linhas da folha pautada são enxergadas.	104
FIGURA 4.7. Demonstração da presença de depósito (A) e película (B)	104
FIGURA 4.8. Confirmação da ausência de crescimento pela Realização de Cultura em Placa de Petri	105
QUADRO 4.1. Valores de correspondência da escala de MacFarland, em relação ao número e a composição do tubo e sua correspondência em número de Unidades Formadoras de Colônias por ml (CFU/ml)	93

LISTA DE TABELAS

	p.
TABELA 5.1. Médias dos valores encontrados contra o <i>Enterococcus faecalis</i> , após a incubação, pela ação de diferentes concentrações dos fármacos, segundo a Escala de MacFarland	108
TABELA 5.1.1. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 0,125 mg/mL, sobre o <i>Enterococcus faecalis</i>	110
TABELA 5.1.2. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 0,25mg/mL, sobre o <i>Enterococcus faecalis</i>	110
TABELA 5.1.3. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 0,50mg/mL, sobre o <i>Enterococcus faecalis</i>	111
TABELA 5.1.4. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 1mg/mL, sobre o <i>Enterococcus faecalis</i>	111
TABELA 5.1.5. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 2mg/mL, sobre o <i>Enterococcus faecalis</i>	112
TABELA 5.1.6. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 4mg/mL, sobre o <i>Enterococcus faecalis</i>	112
TABELA 5.1.7. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 8mg/mL, sobre o <i>Enterococcus faecalis</i>	113
TABELA 5.1.8. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 16mg/mL, sobre o <i>Enterococcus faecalis</i>	113
TABELA 5.1.9. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 32mg/mL, sobre o <i>Enterococcus faecalis</i>	114

QUADRO 4.2. Representação esquemática da seqüência de eventos relativa a execução da parte experimental desta investigação.	96
QUADRO 4.3. Número dado às bactérias, segundo a divisão proposta.	100
QUADRO 4.4. Número dado às medicações segundo a divisão proposta	100
QUADRO 4.5 Número dado às concentrações de medicação.	100

TABELA 5.1.10. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 64mg/mL, sobre o <i>Enterococcus faecalis</i>	114
TABELA 5.2. Médias dos valores encontrados contra o <i>Staphylococcus aureus</i> , após a incubação, pela ação de diferentes concentrações dos fármacos, segundo a Escala de MacFarland	116
TABELA 5.2.1. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 0,125 mg/mL, sobre o <i>Staphylococcus aureus</i>	117
TABELA 5.2.2. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 0,250mg/mL, sobre o <i>Staphylococcus aureus</i>	118
TABELA 5.2.3. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 0,50mg/mL, sobre o <i>Staphylococcus aureus</i>	118
TABELA 5.2.4. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 1mg/mL, sobre o <i>Staphylococcus aureus</i>	119
TABELA 5.2.5. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 2mg/mL, sobre o <i>Staphylococcus aureus</i>	119
TABELA 5.2.6. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 4mg/mL, sobre o <i>Staphylococcus aureus</i>	120
TABELA 5.2.7. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 8mg/mL sobre o <i>Staphylococcus aureus</i>	120
TABELA 5.2.8. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 16mg/mL, sobre o <i>Staphylococcus aureus</i>	121
TABELA 5.2.9. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 32mg/mL, sobre o <i>Staphylococcus aureus</i>	121
TABELA 5.2.10. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 64mg/mL, sobre o <i>Staphylococcus aureus</i>	122
TABELA 5.3. Médias dos valores encontrados contra o <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , após a incubação, pela ação de diferentes concentrações dos fármacos, segundo a Escala de MacFarland	123

TABELA 5.3.1. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 0,125 mg/mL, sobre o <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	125
TABELA 5.3.2. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 0,250 mg/mL, sobre o <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	125
TABELA 5.3.3. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 0,50mg/mL, sobre o <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	126
TABELA 5.3.4. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 1mg/mL, sobre o <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	126
TABELA 5.3.5. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 2mg/mL, sobre o <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	127
TABELA 5.3.6. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 4mg/mL, sobre o <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	127
TABELA 5.3.7. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 8mg/mL, sobre o <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	128
TABELA 5.3.8. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 16mg/mL, sobre o <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	128
TABELA 5.3.9. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 32mg/mL, sobre o <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	129
TABELA 5.3.10. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 64mg/mL, sobre o <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	129
TABELA 5.4. Médias dos valores encontrados contra o <i>Bacteroides fragilis</i> , após a incubação, pela ação de diferentes concentrações dos fármacos, segundo a Escala de MacFarland	131
TABELA 5.4.1. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 0,125 mg/mL, sobre o <i>Bacteroides fragilis</i>	132
TABELA 5.4.2. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 0,250 mg/mL, sobre o <i>Bacteroides fragilis</i>	133

TABELA 5.4.3. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 0,50mg/mL, sobre o <i>Bacteroides fragilis</i>	133
TABELA 5.4.4. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 1mg/mL, sobre o <i>Bacteroides fragilis</i>	134
TABELA 5.4.5. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 2mg/mL, sobre o <i>Bacteroides fragilis</i>	134
TABELA 5.4.6. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 4mg/mL sobre o <i>Bacteroides fragilis</i>	135
TABELA 5.4.7. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 8mg/mL, sobre o <i>Bacteroides fragilis</i>	135
TABELA 5.4.8. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 16mg/mL, sobre o <i>Bacteroides fragilis</i>	136
TABELA 5.4.9. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 32mg/mL, sobre o <i>Bacteroides fragilis</i>	136
TABELA 5.4.10. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 64mg/mL, sobre o <i>Enterococcus faecalis</i>	137

LISTA DE GRÁFICOS

	p.
GRÁFICO 5.1. Médias dos valores encontrados contra o <i>Enterococcus faecalis</i> , após a incubação, pela ação de diferentes concentrações dos fármacos, segundo a Escala de MacFarland	109
GRÁFICO 5.2. Médias dos valores encontrados contra o <i>Staphylococcus aureus</i> , após a incubação, pela ação de diferentes concentrações dos fármacos, segundo a Escala de MacFarland	115
GRÁFICO 5.3. Médias dos valores encontrados contra o <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , após a incubação, pela ação de diferentes concentrações dos fármacos, segundo a Escala de MacFarland	124
GRÁFICO 5.4. Médias dos valores encontrados contra o <i>Bacteroides fragilis</i> , após a incubação, pela ação de diferentes concentrações dos fármacos, segundo a Escala de MacFarland	130

LISTA DE ABREVIATURAS

BHI	Brain Heart Infusion
Ca(OH) ₂	Hidróxido de Cálcio
CFC	25% de ciprofloxacina (Cipro®), 25% de metronidazol (Flagyl®) e 50% de Hidróxido de Cálcio, veiculados em polietilenoglicol 1000
CFU	Unidades formadoras de colônias
FC	Fenol canforado
I-C	iodofórmio e Chlumsky
IKI	iodo iodetado de potássio
LAL	teste de coagulação do lisado de amebócitos do artrópodo <i>Limulus polyphemus</i>
LPS	lipopolissacarídeo
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
NaOCl	Hipoclorito de Sódio
NDP	fosfato de dexametasona (0,12g), paramonoclorofenol (2,00g) polietilenoglicol e rinossoro, em partes iguais (qsp 100ml)
OZE	óxido de zinco e eugenol
PGE ₂	Prostaglandina E ₂
PMC	paramonoclorfenol
PMCC	paramonoclorofenol canforado
PRP	paramonoclorofenol (2,00g) polietilenoglicol e rinossoro, em partes iguais (qsp 100ml)
RCM	Reinforced Clostridium Medium

RESUMO

Quando da realização da terapia endodôntica em dentes portadores de necrose pulpar e lesão periapical, em função dos conhecimentos adquiridos em relação ao tipo e a qualidade da contaminação ali presente uma série de dúvidas são geradas no que se refere à indicação, realização e prognóstico da terapia. É sabido que, em muitos casos, somente o tratamento convencional não surte o efeito desejado, sendo necessária uma complementação com a utilização de medicamentos com ação mais abrangente. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a ação de quatro substâncias utilizadas como medicação intracanal, o Iodofórmio, o Hidróxido de Cálcio (Ca(OH)_2) e duas associações, a primeira que contém 25% de Ciprofloxacina, 25% Metronidazol e 50% Hidróxido de cálcio – denominada CFC – e a outra 2% Iodo, 4% Iodeto de potássio veiculados em glicerina – o IKI – sobre quatro bactérias encontradas em canais radiculares e que apresentam grande capacidade de resistência tanto às condições ambientais como a agentes antimicrobianos -*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* e *Bacteroides fragilis* -. As quatro soluções foram utilizadas em dez concentrações diferentes. O experimento propriamente dito consistia na incubação em tubos de ensaio de 0,9ml de uma associação entre bactérias e meio de cultura líquidos numa concentração constante na qual deveria ser acrescentado

0,1ml da medicação. O procedimento foi repetido 20 vezes para cada concentração de medicação sobre cada bactéria totalizando 3200 tubos de ensaio avaliados (4 bactérias X 4 medicações em 10 concentrações). Um grupo somente com meio de cultura e outro com meio e bactérias sem medicação eram inoculados servindo de controle. Após o período de incubação, verificava-se o crescimento bacteriano, avaliando a turbidez do tubo, comparando com a escala de MacFarland, sendo possível atribuir um valor para cada um dos espécimes. Para o *E.faecalis*, o CFC apresentou melhores resultados, seguido pelo IKI, Hidróxido de Cálcio e Iodofórmio, nesta ordem. Já para o *S.aureus*, o CFC continuou como o mais efetivo tendo o hidróxido de cálcio e o iodofórmio apresentado comportamentos semelhantes entre si aproximando-se do primeiro nas concentrações mais altas testadas, enquanto o IKI não apresentou ação. Em relação ao *P.aeruginosa*, o CFC manteve a melhor ação, seguido pelo Hidróxido de Cálcio e Iodofórmio, e por fim o IKI que não agiu sobre esta cepa bacteriana. Já para o *B.fragilis*, o Iodofórmio foi o mais eficaz seguido pelos outros três com ação semelhante. Para todos os grupos estudados, nas maiores concentrações os resultados foram semelhantes para todos os grupos com exceção do IKI sobre o *P.aeruginosa* e do CFC sobre o *B.fragilis*. Pode ser observada uma relação direta entre a concentração e a ação do medicamento. Os resultados encontrados são inovadores à medida que demonstram a ação antibacteriana de medicamentos em que isso não era conhecido. A sua vez, eles também sugerem uma interação com outros fatores que não só a medicação e a contaminação, como por exemplo, a localização dos mesmos, seja determinante no alcance do sucesso da terapia.

1 INTRODUÇÃO

Quando da constatação de patologia(s) inflamatória(s) pulpar(es), ou de infecção no sistema de canais radiculares, é necessária a realização da terapia endodôntica. A instalação de processo(s) infeccioso(s) no endodonto - que se caracteriza(m) pela presença de microorganismos e de seus subprodutos - origina uma resposta orgânica. Essa resposta - que está intimamente ligada ao tipo, quantidade, virulência e organização do microorganismo que a deflagrou - provoca quadros patológicos específicos: agudos (determinados por microorganismos mais agressivos), como os abscessos dento-alveolares agudos ou crônicos, como os cistos e granulomas.

Desta forma, um dos objetivos da intervenção endodôntica é a diminuição da contaminação, pois somente assim será possível promover um desequilíbrio entre a agressão bacteriana e a resposta do organismo que favoreça a este último, tornando possível a reparação. A desinfecção desse sistema deve ser realizada durante a fase de preparo dos canais radiculares na qual, com o auxílio de instrumentos e de substâncias químicas, é possível reduzir significativamente o número de contaminantes. Entretanto, em muitos casos, apenas esse procedimento não é suficiente para debelar o problema.

Os primeiros relatos encontrados na literatura apontam maior presença de bactérias, apesar de também terem sido observados vírus e fungos nessas

infecções. O desenvolvimento de conhecimentos específicos tornou possível identificar a presença de microorganismos não só no interior dos condutos como também na região periapical, na qual eles podem ser encontrados de duas formas: a) em pequenas colônias no interior das lesões, não importando o tipo da patologia periapical - que pode ser um granuloma, um abscesso ou mesmo um cisto -; b) de maneira bastante organizada, formando o que poderíamos denominar biofilme periapical com a presença de uma associação de bactérias - normalmente unidas por um polissacarídeo extracelular - que, uma vez instalado, é de difícil tratamento pela terapia convencional. Esses biofilmes, bastante organizados, desenvolvem-se nas reentrâncias do cimento periapical. As reentrâncias existem em decorrência da irregularidade do processo de reabsorção apical que os dentes portadores de manifestam.

Essas lesões - nas quais a intervenção endodôntica tradicional tende a falhar - e que se caracterizam clinicamente pela manutenção dos sinais e sintomas (dor, fístula, exsudato etc.) são denominadas "lesões refratárias". As primeiras propostas para tratar tais alterações preconizavam o uso sistêmico de antibióticos por longos períodos, mas o índice de sucesso desse procedimento foi baixo. Como consequência, a terapia indicada para estes casos acabava sendo a radical (cirurgia paraendodôntica).

Desta forma, tornou-se necessário conhecer mais especificamente o comportamento dessas infecções. E o desenvolvimento de novas técnicas para a realização da amostragem, isolamento e cultivo microbiológico possibilitou a melhor avaliação e caracterização da contaminação do sistema de canais radiculares, bem como da porção periapical.

A tipologia bacteriana no periápice é normalmente mista, com a predominância de bactérias anaeróbias estritas e facultativas – dentre as quais são mais freqüentemente encontrados os bacilos gram-negativos da família dos Bacteroides. Mas também algumas cepas atípicas e de difícil tratamento - cujos principais sítios não se encontram nessa região - puderam ser identificadas, como o *Pseudomonas aeruginosa* e o *Staphylococcus aureus*. Outra cepa cuja presença vem sendo cada vez mais relacionada a casos de difícil tratamento é o *Enterococcus faecalis*. Pode-se afirmar, portanto, que a flora bacteriana da infecção endodôntica é bastante complexa, o que faz com que combatê-la seja dificultoso, pois a terapia a ser instituída deve ter uma ação inespecífica sobre todos os agentes contaminantes presentes.

Diante desse quadro, implementaram-se estudos que buscavam tratamentos alternativos, com a utilização de medicamentos que agissem sobre um amplo espectro de microorganismos. Alguns deles provocam a bioestimulação, agindo como verdadeiros quimioterápicos. Um desses agentes é o iodofórmio, que vem sendo utilizado na odontologia há mais de cem anos, com bons resultados. Isto porque ele parece ativar a resposta imunológica, independentemente da contaminação ali presente. A literatura cita várias apresentações dessa droga, como as pastas de Walkhoff, Maisto, Chlumsky etc. Contudo, apesar de sua eficácia clínica, o mecanismo de ação desse agente ainda é incerto.

Talvez a droga mais difundida no tratamento de lesões endodônticas seja o hidróxido de cálcio, cujo mecanismo de ação principal é inverter o pH do meio - tornando-o básico -, em contrapartida à inflamação - que apresenta pH ácido. Assim, cria-se um meio inóspito para o desenvolvimento bacteriano. No entanto,

essa droga não consegue debelar algumas infecções, o que mantém a dúvida quanto à sua ação direta sobre os microorganismos.

Existem ainda os antissépticos específicos, como os haletos, que são substâncias à base de iodo e de cloro. Um de seus representantes é o iodo iodetado de potássio (IKI), que apresentou excelente biocompatibilidade e boa ação bactericida em trabalhos experimentais, apesar de clinicamente não demonstrar essa propriedade.

Como alternativa aos antissépticos de ação inespecífica, existe a possibilidade de se utilizarem antibióticos com ação direta sobre as bactérias mais comumente encontradas no interior dos condutos em casos de infecção. Dentre estes, podemos citar o ciprofloxacina e o metronidazol – que, em associação ao hidróxido de cálcio, formam o CFC. Esta droga é bastante eficaz contra as principais bactérias encontradas no endodonto, mas há que se considerar que, em se tratando de antibióticos, há sempre a possibilidade de encontrarmos uma cepa resistente ao medicamento, que não conseguirá debelar a infecção.

Diante dessas dificuldades, os autores propuseram-se a avaliar a ação de quatro medicamentos indicados em Endodontia, o Iodofórmio, o Hidróxido de Cálcio, o IKI e o CFC, contra outras quatro bactérias distintas, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* e *Bacteroides fragilis*.

2 REVISÃO DA LITERATURA

A revisão da literatura da presente dissertação será dividida em duas partes. A primeira delas mostra os mecanismos de agressão, serão descritas as bactérias, os tipos mais encontrados, o papel das mesmas e um breve relato da infecção da região periapical, como também a descrição das cepas ora utilizadas (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacteroides fragilis* e *Enterococcus faecalis*); e seu papel no desenvolvimento da infecção.

Na segunda parte mostrar-se-á o que tem sido feito para debelar esta infecção com a colocação do papel da medicação na terapia e uma descrição daquelas que foram estudadas, a saber, Iodofórmio, Hidróxido de Cálcio, CFC e IIKI.

2.1. BACTÉRIAS

Um grande número de microorganismos já foi identificado em condutos radiculares e em lesões periapicais. As bactérias isoladas variam muito com relação às suas exigências metabólicas - fermentação de determinados açúcares em maior ou menor quantidade - e também no que se refere à necessidade ou não de oxigênio - aeróbios, anaeróbios estritos ou facultativos, e microaerófilos. O conhecimento sobre a complexidade e a especificidade dessa flora aumentou significativamente com o desenvolvimento de novas técnicas de obtenção, e

também com a adoção de métodos de classificação mais adequados. Assim, torna-se indispensável apresentar as principais cepas bacterianas já identificadas, e descrever as cepas ora estudadas.

Vale salientar que, no âmbito dos estudos de microbiologia oral, existe um marco no que concerne à obtenção, ao isolamento e à identificação dos microorganismos: a investigação realizada por MÖLLER (1966) que se constituiu em um verdadeiro tratado; esse trabalho estabeleceu um protocolo para todas as investigações e apresentou os principais métodos para a obtenção de amostras microbiológicas de todos os tecidos bucais. Mais especificamente em relação ao conduto radicular, o autor - além de descrever a técnica de obtenção da amostra - sugere a formulação de meios de transporte para a coleta, o isolamento e a identificação de bactérias anaeróbias. O autor também estabelece, como número médio de Unidades Formadoras de Colônia (CFU) no conduto radicular, entre 10^2 e 10^7 /mL.

2.1.1. TIPOS DE BACTÉRIAS

VON KONOW et al. (1981) investigaram a microbiota de 57 infecções dentoalveolares. Destas infecções, amostras eram retiradas, transportadas, cultivadas e as cepas ali presentes identificadas. Pôde ser verificada a presença, em média, de 4 espécies por infecção, sendo que apenas 1/3 delas eram aeróbias. Das aeróbias, as mais comuns foram da família Streptococcus. Já as facultativas, mais comuns foram da espécie *Streptococcus milleri* em 9 casos. Em dois casos foi encontrado o *Staphylococcus aureus* (um em cultura pura) e em 4 o *Streptococcus*

faecalis. Das anaeróbias, as mais comuns foram o *Fusobacterium nucleatum*, o *Eubacterium* e o *Streptococcus intermedius*.

FABRICIUS et al., em 1982, propuseram-se a estudar a distribuição das diferentes espécies bacterianas em amostras de canais radiculares infectados após exposição intencional da polpa, comparando a presença dos diferentes tipos de microorganismos nos diferentes períodos de observação, bem como avaliar a quantidade de duas espécies microbianas no canal principal com aquelas na porção apical do sistema de canais. Foram então abertos 8 dentes anteriores de 3 macacas. Após 7 dias os dentes de duas das macacas foram submetidos à amostragem microbiológica. Novas amostras foram tomadas após 90 dias no primeiro animal e após 180 dias para o segundo; na outra macaca apenas uma amostra foi retirada após 1060 dias. As amostras finais mostraram a predominância de bactérias anaeróbias estritas (de 85 a 98% das cepas) para todos os grupos, sendo tanto maior quanto mais antiga a lesão. As cepas mais freqüentemente encontradas foram os Bacteroides e os bacilos Gram-negativos.

SKLAVOUNOS et al., em 1986, identificaram a flora de 40 abscessos orofaciais de origem dental provenientes de pacientes que tomaram antibiótico por alguns dias. Do total de casos estudados, 21 demonstraram a presença de bactérias aeróbias ou facultativas, bem como 17 apresentaram cepas anaeróbias. Em 11 deles havia uma cultura mista e 2 dos casos não demonstraram crescimento bacteriano. Os organismos aeróbios predominantes foram os do grupo *Streptococcus ssp.*, *Staphylococcus epidermidis* e *S.aureus*. Entre os anaeróbios gram-positivos, os mais freqüentemente isolados foram os peptostreptococos e os peptococos. Os bacilos gram-negativos do grupo dos Bacteroides foram detectados

em um pequeno número de casos, e as espécies encontradas foram *B.corrodens*, *B.fragilis*, *B.melaninogenicus*, *B.achraceus* e *B.oralis*. Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa na análise quantitativa entre a presença de cepas aeróbias e anaeróbias. A suscetibilidade antibiótica testada contra as cepas anaeróbias demonstrou que as mais eficazes em percentagem de bactérias eliminadas foram a Cefoxitina (85%), Cloranfenicol e Tetraciclina (80%), Eritromicina (75%), Penicilina (70%), Clindamicina (60%) e o Metronidazol (57,5%). Enquanto que para as aeróbias obtiveram como resultados a Ampicilina (98%), Cefoxitina (96%), a Eritromicina e a Gentamicina (92%), Clindamicina (60%), ainda a Dimetoxifenilpenicilina (51%) e a Cloxacilina (45%).

Em 1992, SUNDQUIST realizou um estudo que elucidou alguns mecanismos de manutenção da flora endodôntica e suas inter-relações. O autor postula que uma série de fatores restringe a flora bacteriana do canal radicular a um grupo seletivo de microorganismos; as alterações da população ocorrem com o passar do tempo e, em decorrência das condições propiciadas pelo meio, ocorre o aumento de anaeróbios estritos e a diminuição de aeróbios. A necessidade nutricional das bactérias é também um fator determinante na determinação do estabelecimento da infecção. E, com base nessas constatações, o autor afirma que a ação do tratamento endodôntico pode se dar tanto pela eliminação das bactérias quanto provocando o desequilíbrio da cadeia que existe entre as espécies predominantes e seus nutrientes.

Em uma revisão de literatura publicada em 1994, SUNDQUIST apresenta a taxonomia, a ecologia e a patogenicidade da flora dos canais radiculares. O autor relata que as condições apresentadas pelos condutos são favoráveis ao

crescimento de bactérias anaeróbias - capazes de fermentar aminoácidos e peptídeos, que são predominantes em um ambiente de necrose - em detrimento das bactérias restantes - que normalmente obtêm energia de carboidratos -, restringindo a flora não só pela condição da presença de oxigênio, mas também pelo tipo de nutriente. Durante o desenrolar da infecção ocorre uma interação ligada principalmente às necessidades nutricionais, que determinam o tipo de bactéria que ali persistirá.

2.1.2. PAPEL DAS BACTÉRIAS

TORNECK, em 1969, estabelece o papel dos microorganismos nas doenças endodônticas, através de uma revisão da literatura. O autor divide a relação dos microorganismos com as doenças endodônticas em duas fases, a dos organismos estabelecendo a infecção e a outra, onde os mesmos impedem a reparação. Relata-se que o mecanismo de estabelecimento das infecções de polpa e periápice depende, em princípio, de um trauma pulpar e conseqüente invasão bacteriana nestes tecidos.

Para avaliar se microorganismos conhecidos (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sanguis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Bacteroides fragilis*) em culturas puras inoculadas em canais radiculares poderiam causar inflamação periapical - e também se essas bactérias poderiam ser reisoladas de dentes pulpectomizados inicialmente estéreis -, ALLARD et al. (1979) utilizaram 14 cachorros. As pulpectomias eram realizadas e, em seguida, uma das espécies bacterianas era inoculada. Os dentes permaneciam selados, e tomavam-se amostras bacteriológicas em períodos constantes de 4 a 120 dias. Cepas vivas foram

encontradas durante todo o procedimento. Radiograficamente puderam ser observadas áreas de radiolusência na maioria das raízes e, quando isso não ocorria, a cultura revelava-se negativa. A análise histológica demonstrou a presença de inflamações crônicas nas infecções por *B.fragilis* e *P.aeruginosa*, e inflamações inespecíficas com *S.aureus* e *S.sanguis*.

O papel dos microorganismos no estabelecimento e no desenvolvimento das infecções endodônticas foi avaliado por SELTZER & FARBER (1994). Os autores compararam as alterações da microbiota da cárie - desde o esmalte até a polpa -, bem como os fatores que levam ao comprometimento da região periapical, e constataram que os principais microorganismos presentes são os bacilos gram-negativos anaeróbios, sendo também encontradas espiroquetas. E arrolam os principais mecanismos de sobrevivência dos patógenos, que seriam: A. a adesão das bactérias, às custas de lamininas e fibronectinas presentes em cepas como o *S.aureus*; B. a presença do ácido siálico na membrana das bactérias, que auxilia sua penetração no organismo; C. a proteína M, que melhora a penetração e a multiplicação de células; D. a capacidade de encapsulamento, pois a proteína constituinte da cápsula - por exemplo, do *B.fragilis* - é capaz de induzir abscessos; E. a resistência à fagocitose, pela presença de cápsula, ou pela presença de endotoxinas; F. a capacidade de alguns microorganismos, mesmo após fagocitados, sobreviverem; G. a promoção de alteração de forma e o bloqueio da migração de neutrófilos e polimorfonucleares; e H. o desenvolvimento de resistência à bactérias aos antibióticos. e a relação das bactérias com os sintomas.

2.1.3. INFECÇÃO DA REGIÃO PERIAPICAL

Em estudo da flora endodôntica e periapical de dentes humanos com a utilização de microscopia óptica e de fase, RAMACHANDRAN NAIR (1987) selecionaram 31 lesões - 30 granulomas e 1 cisto -, e constataram a presença de bactéria em todos os condutos. A flora era constituída de cocos, bacilos, organismos filamentosos e espiroquetas. Os bacilos eram normalmente gram-negativos, sendo comum a associação dessas bactérias às paredes do canal em forma de placas bacterianas. A flora do endodonto separava-se da lesão por uma intensa rede de polimorfonucleares, ou por um plug de epitélio no forame. Cinco dos dentes estudados demonstraram a presença de bactéria dentro e fora do conduto.

TRONSTAD et al. (1987) examinaram 8 pacientes com lesões periapicais inflamatórias assintomáticas - refratárias ao tratamento endodôntico em decorrência da presença de infecções endodônticas extrarradiculares - 5 deles tinham fístulas. Os autores realizavam a cirurgia periapical, colhiam amostras do exsudato (amostra 1); do bloco da lesão (amostra 2); e do ápice (amostra 3) e transferiam-nas para um tubo contendo o meio de transporte VMGA III. Nos casos em que foi possível realizar o retratamento, também material do interior do conduto era colhido. No que se refere ao tipo de microorganismo encontrado, os autores observaram duas lesões exclusivamente contaminadas por anaeróbios, cinco lesões com predominância desses microorganismos, e uma lesão em que os estreptococos representaram 60% das bactérias presentes. Com relação ao número de espécies de microorganismos por lesão, 1 caso apresentava somente o *Peptostreptococcus* sp., e os outros 7 manifestaram 3 a 6 bactérias diferentes. O estudo demonstrou

claramente que bactérias anaeróbias são capazes de sobreviver e manter uma doença infecciosa nos tecidos periapicais.

IWU et al., em 1990, avaliaram o conteúdo bacteriano de granulomas periapicais através de uma amostra bacteriológica. Dos 16 granulomas estudados, 14 (88%) apresentaram crescimento, obtendo um total de 47 espécies bacterianas, sendo 26 (55%) anaeróbios facultativos e 21 (45%) anaeróbios estritos. Apresentaram 10 casos de culturas mistas com a presença dos dois tipos de microorganismos, apresentando ainda outras quatro infecções puras, duas de anaeróbios estritos e outras duas de anaeróbios facultativos.

Utilizando microscopia eletrônica e óptica, RAMACHANDRAN NAIR et al. (1990) investigaram a presença de bactérias na porção apical de canais radiculares e no periápice de dentes tratados endodonticamente que evidenciaram lesões periapicais após um período de 4 a 10 anos. Foram realizadas 9 biópsias de lesões com esse perfil. Seis delas revelaram a presença de microorganismos – destas, 4 continham uma ou mais espécies bacterianas, e outras duas também apresentavam fungos. Apenas em um dos casos - em que somente bactérias foram encontradas - foi possível sua visualização pelo microscópio óptico. Quando não havia a presença de bactérias, as biópsias revelaram que as lesões eram reações de granuloma com células gigantes de corpo estranho.

Em estudo realizado com microscópio, procurou-se avaliar a presença de microorganismos na superfície de raízes removidas durante procedimentos cirúrgicos. Dez pacientes com lesões periapicais refratárias ao tratamento endodôntico foram submetidos a apicetomias. Os ápices eram preparados e

observados em microscopia eletrônica de varredura. Os microorganismos puderam ser observados em todos os espécies que aparentemente se apresentavam sem cobertura de cimento. As bactérias organizavam-se em colônias, recobertas por material amorfo. Na superfície das raízes era possível visualizar um tecido fino recobrindo a região; essa superfície, nos diversos casos encontrava-se em estágio de degradação. Também foi possível observar as bactérias, especialmente cocos e bacilos unidos por um material extracelular - que caracterizou a presença do biofilme nas reentrâncias da superfície radicular (TRONSTAD et al., 1990a).

Em outro estudo, TRONSTAD et al. (1990b) descreveram o monitoramento microbiológico e os resultados de um tratamento endodôntico convencional, de um tratamento antibiótico sistêmico, e de um tratamento cirúrgico, em um paciente com um granuloma infectado. O tratamento endodôntico convencional não obteve sucesso porque havia a presença de um biofilme apical que só pôde ser combatido parcialmente com a terapia antibiótica via sistêmica, realizada com penicilina V - 500mg por 21 dias - e metronidazol - 500mg por 10 dias. Os resultados do tratamento antibiótico, e o monitoramento microbiológico, mostraram que a medicação utilizada apenas alterava a flora, sem contudo pôr fim à infecção, que só pôde ser debelada através de apicetomia – tratamento cirúrgico -, seguida de subsequente neoformação óssea após 6 meses.

WAYMAN et al., em 1992, examinaram histológica e micobiologicamente 58 casos nos quais não houve resolução clínica após o tratamento endodôntico convencional. Foi realizada também uma tentativa de correlacionar os achados microbiológicos com sinais e sintomas. As lesões periapicais eram removidas por meio de cirurgia paraendodôntica. Aproximadamente metade dos tecidos era

submetida ao exame histo-patológico, enquanto a outra metade era submetida à cultura microbiológica. Pode ser observado que destas lesões, 29 apresentavam comunicação com a cavidade oral, enquanto a outra metade não. Histologicamente, 41 foram diagnosticadas como granulomas e 16 como cistos. A análise microbiológica aponta, nas lesões sem comunicação com a cavidade oral, que 83% delas demonstraram crescimento bacteriano. Nas que possuíam comunicação, 93% apresentaram crescimento. Foi encontrado um caso com comunicação com a cavidade e a presença de *S.aureus*, um outro caso que não apresentou comunicação e a presença do *B.fragilis*, e 1 caso de cada tipo que apresentou o *P.aeruginosa*.

WEIGER et al., em 1995, desenvolveram uma investigação com o objetivo de avaliar a presença de bactérias em doze periodontites apicais com fístula. A flora endodôntica destas lesões foi também comparada com a do interior dos condutos, desde que os mesmos não tivessem sofrido qualquer intervenção endodôntica. Todas as amostras coletadas apresentavam bactérias. Setenta e uma espécies foram detectadas nas lesões extrarradiculares. Os autores sugerem que uma variedade de microorganismos foi capaz de colonizar as lesões extrarradiculares e, em consequência, originar a fístula, haja vista que em nove dos casos puderam ser identificadas cepas semelhantes nos dois sítios. Em uma das amostras dos condutos, verificou-se a presença do *E.faecalis* e em uma das amostras das fístulas, verificou-se a presença de *P.aeruginosa*.

Para destacar o papel da infecção periapical no fracasso da terapia endodôntica, SIQUEIRA (1997) consultou a literatura existente sobre o assunto observando que, se no início admitia-se a existência de lesões isentas de

microorganismos, estudos mais recentes lançaram essa teoria por terra. Nesse estudo são relatadas as bactérias encontradas em lesões periapicais, que são, entre os anaeróbios gram-positivos: *Actinomyces israeli*, *Arachnia propionica*, *Eubacterium lentum*, *Propionibacterium acnes*, *Peptostreptococcus spp.* e *Peptococcus spp* e, entre os gram-negativos: *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Veillonella parvula* e *Bacteroides fragilis*. E o autor conclui que o tipo e a quantidade de contaminação são mais importantes para o sucesso da terapia que o tipo de patologia desenvolvida.

Em 1998, SIQUEIRA & LOPES realizaram um trabalho cujo objetivo era definir e explicar a estrutura do biofilme perirradicular, descrevendo sua estrutura, sua implicação no insucesso da terapia endodôntico, e as estratégias de tratamento. Sua estrutura básica advém de bactérias que estão aderidas à superfície apical e que são revestidas por uma matriz de lipopolissacarídeos. A aproximação e a adesão microbiana a um substrato orgânico ou inorgânico leva as bactérias a se proliferarem; assim o biofilme atinge a maturidade, e as colônias organizam-se de acordo com as condições ambientais. A presença desse biofilme parece ser responsável por 15 a 100% dos casos de insucessos endodônticos. O tratamento parece ainda ser a grande dúvida, e a terapia radical da cirurgia é a única realmente eficaz até o momento. Assim, são necessários novos estudos sobre esse biofilme para o desenvolvimento de terapia mais conservadora.

2.2. ESPÉCIES BACTERIANAS

2.2.1. *Enterococcus faecalis*

O *Enterococcus faecalis* é uma bactéria que pertence ao grupo dos estreptococos D. Caracteristicamente, essa bactéria é gram-positiva, anaeróbia facultativa, α -hemolítica e tem sido associada a lesões endodônticas de difícil tratamento (MACHADO, 2000).

WINKLER & VAN AMERONGEN, em 1959, realizaram um estudo para avaliar os resultados bacteriológicos de 4000 culturas de canais radiculares. Para tanto selecionaram dentes com patologias pulpares que, depois de abertos, retirava-se uma amostra bacteriológica do seu interior. Dos casos selecionados, 27% foram positivos (1141 culturas), sendo que em 285 casos o *Streptococcus faecalis* foi encontrado (240 em culturas puras e 45 em mistas).

ISERMANN & KAMINSKI, em 1979, avaliaram a resposta pulpar de cachorros à bactérias, através da cavitação com micro-exposição pulpar ou sem exposição de dentes de cachorros e posterior infecção por *E.faecalis*. A avaliação deveria ser realizada por meio de radiografias seriadas, injeção de tintura e secções histológicas. Os casos que foram infectados e com exposição desenvolveram lesão periapical. De dez dentes que tinham cavidades sem exposição pulpar e foram infectados, somente dois demonstraram alterações inflamatórias e perda de função odontoblástica e ainda, dentre esses, apenas um desenvolveu alteração radiográfica.

DAHLÉN et al., em 1982, estudaram se a imunização ativa poderia influenciar no desenvolvimento de periodontites apicais induzidas

experimentalmente através da injeção no interior do conduto de *Streptococcus faecalis*, *Actinomyces bovinus* e *Bacteroides oralis*. Seis meses depois de realizada a imunização, os dentes eram infectados e selados por períodos de 6 a 9 meses em diferentes combinações de espécies bacterianas. Ao término deste período verificava-se a quantidade de bactéria no interior do conduto. Após 6 meses, amostras destes condutos foram analisadas microbiologicamente no que diz respeito ao tipo e a quantidade de bactérias. A análise microbiológica não revela diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos. Radiograficamente, os macacos imunizados apresentavam uma lesão mais delimitada que os não imunizados, o que foi confirmado histologicamente pela presença de uma cápsula mais freqüentemente.

YOSHIDA et al. (1987) tentaram relacionar a presença de determinadas cepas bacterianas aos sintomas indicativos de necessidade de terapia - dor espontânea, dor à percussão e exsudato. Foram selecionados 36 dentes, que apresentavam uma ou mais dessas características e que foram divididos em 3 classes: CLASSE 1 – aqueles que apresentavam dor espontânea e à percussão, além de exsudato; CLASSE 2 – aqueles que apresentavam somente dor à percussão; CLASSE 3 – aqueles que apresentavam dor espontânea e exsudato. Os dentes eram abertos, e uma amostra microbiológica era retirada do interior do conduto, para a realização da cultura e identificação das principais cepas presentes. O grupo denominado CLASSE 1 apresentou predominância de anaeróbios, com prevalência de *Eubacterium*, *Bacteroides* e *Peptostreptococcus*; já entre os microorganismos facultativos, o mais comum foi o *Streptococcus faecalis*. Nos indivíduos enquadrados como CLASSE 2 foram encontradas as mesmas espécies bacterianas,

tanto no que diz respeito às anaeróbias – que, neste grupo também apresentou o *Actinomyces israelii* – quanto no que concerne às facultativas - estas em maior número que no grupo anterior. Nos isolados de CLASSE 3 houve um menor número absoluto de bactérias, com a predominância das facultativas, e também aqui os estreptococos foram os mais comuns, não sendo porém encontrado o *S. faecalis*.

ANDO & HOSHINO (1990) realizaram um estudo para confirmar a presença e o tipo bacteriano nas porções mais profundas (0,5 a 2mm) de dentinas de canais radiculares infectados. Para isso utilizaram oito dentes recém-extraídos que foram clivados ao meio, retirando amostras com brocas nestas regiões. Essas brocas deveriam ser incubadas e as bactérias ali presentes identificadas. Foi observado uma quantidade expressivamente maior de microorganismos anaeróbios em relação ao de aeróbios (10^2 a 10^3 em média $\times 10^1$), bem como um maior número de espécies distintas (média de 80% anaeróbios e 20% aeróbios). O tipo bacteriano predominante foi o de bacilos gram-negativos (68%) e os cocos gram-positivos (27%). Os anaeróbios estritos isolados de forma mais freqüente foram os *Lactobacillus* (30%), os *Streptococcus* (13%) e o *Propionibacterium* (9%). Já entre os facultativos (total de 50 casos), foram encontrados o *Streptococcus* (11 casos, sendo seis do *S. faecalis*), *Actinomyces* e *Lactobacillus* (10 casos) predominantemente.

Em 1990, ØRSTRAVIK & HAAPASALO avaliaram a eficiência de soluções de irrigação e de medicações de uso endodôntico - em dentina bovina - sobre algumas cepas bacterianas específicas, a saber: *E. faecalis*, *S. sanguis*, *E. coli* e *P. aeruginosa*. As espécies eram infectadas por períodos de até 14 dias, e o grau e a profundidade da infecção eram avaliados por meio da coloração de Brown

& Breen, de microscopia eletrônica de varredura, e da cultura do pó de dentina retirado da parte ativa de brocas seqüencialmente maiores utilizadas a partir da luz do canal. Os autores constataram que o *E.faecalis* infectou rapidamente os túbulos; o *S.sanguis* demorou cerca de 2 semanas para fazê-lo; a *E. coli* pouco infectou, mesmo após um longo tempo de exposição; a *P.aeruginosa* infectou rapidamente, mas aparentemente em número bastante reduzido. Quanto ao tempo de sobrevivência, o *E.faecalis* conseguiu manter-se por mais de dois dias sem nutrientes. Em relação às medicações, os autores verificaram que o paramonoclorofenol canforado (PMCC) foi mais eficaz que o Calasept e, como material irrigador, o iodo iodetado de potássio (IKI) apresentou melhores resultados que a clorexidina e o hipoclorito de sódio.

BAUMGARTNER & FALKLER, em 1991 realizaram a cultura e a identificação das bactérias que infectam os 5mm apicais do canal em dentes com exposição coronária de cárie e lesão inflamatória apical. Os dentes selecionados eram extraídos e levados a uma câmara de anaerobiose, onde os seus 5mm apicais eram cortados e cultivados. Cinquenta cepas puderam ser identificadas, sendo as mais comuns os *Actinomyces*, os *Lactobacillus*, os *Bacteroides* pigmentados de negro, a *Veillonella*, o *Enterococcus faecalis*, *Fusobacterium nucleatum*, e *Streptococcus mutans*. De um total de 50 avaliadas, 34 eram anaeróbias estritas.

Para investigar *in vitro* a penetração de algumas bactérias anaeróbias usualmente encontradas em processos patogênicos endodônticos nos túbulos, SIQUEIRA et al. (1996a) confeccionaram cilindros de dentina bovina segundo o método proposto por Ørstravik & Haapasalo. Esses cilindros foram colocados em tubos com *Brain Heart Infusion* (BHI), em associação com as bactérias, por uma

semana. Foram formados seis grupos, de acordo com o tipo de bactéria: *Porphyromonas endodontalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Actinomyces israelii*, *Porphyromonas gingivalis*, *Propionibacterium acnes* e *Enterococcus faecalis* (este último utilizado como controle). Os espécimes foram incubados por 21 dias e posteriormente preparados para exame no MEV. Os resultados apontaram que o *E.faecalis*, o *P.acnes* e o *A.israelii* são os que mais penetraram em quantidade. O *P.gingivalis* penetrou em poucos casos, porém de forma bastante profunda, enquanto o *P.endodontalis* penetrou pouco e de forma superficial. O *F.nucleatum* colonizou bastante a luz do canal, sem contudo colonizar os túbulos.

SIREN et al., em 1997, estudaram a relação existente entre a realização dos procedimentos endodônticos e a presença de bactérias entéricas. Puderam ser estabelecidos dois grupos, um onde havia a presença de bactérias entéricas facultativas (*Enterococcus*), e/ou a *Pseudomona* e o outro sem a ocorrência das mesmas. O exame bacteriológico dos condutos que seriam tratados deveria ser realizado antes e após o preparo dos mesmos. No que diz respeito aos microorganismos encontrados, o *E.faecalis* foi a mais comum (33% dos casos), Já a presença de *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia* e *Streptococcus sp.* foi bastante usual para ambos os grupos. Pode, ainda, ser observado que a presença de bactérias de origem entérica foi maior se em algum momento do tratamento o dente permaneceu aberto, ou nos casos que demoraram mais para serem fechados (mais de 10 sessões).

Foi realizado um estudo em que foi examinada a microflora de 100 dentes obturados, com periodontite apical verificada radiograficamente, e de outros 20 dentes sem sinais radiográficos de alteração. Os dentes foram examinados e

amostras microbiológicas foram retiradas após a remoção do material obturador e a instrumentação. No grupo de dentes com patologias, 68% apresentaram microorganismos, totalizando 117 espécies; as cepas mais encontradas foram as do grupo *Enterococcus*. Os autores salientam que a utilização do clorofórmio durante a desobturação foi significativa na presença de culturas negativas. No grupo isento de patologias 13 cepas foram encontradas em 9 casos; dessas, 8 apresentavam crescimento pequeno (MOLANDER et al., 1998).

Em 1998, SIQUEIRA et al. investigaram a patogenicidade de anaeróbios estritos e facultativos em culturas puras e em combinação com *Prevotella intermedia* e *Prevotella nigrescens*. Foram cultivados, além destes, *P.gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *F.necrophurum*; *P.acnes*, *Peptostreptococcus magnus*, *Streptococcus sanguis*, *S.anginosus*, *S.gordini*, *E.faecalis*, *Actinomyces naeslundii* e *Eubacterium alactolyticum*. Em seguida esses microorganismos eram misturados com uma ou outra das cepas chaves. Os inóculos eram injetados no dorso de ratos e acompanhados por 7 dias, ao término dos quais os animais deveriam ser sacrificados. No período de acompanhamento os ratos deveriam ser avaliados macroscopicamente, segundo um escore de (0) ausência de infecção; (1) inchaço nodular; (2) abscesso localizado; (3) abscesso ulcerado; (4) morte do animal. Na região inoculada, a pele do animal era retirada e preparada para avaliação microscópica. Os inóculos considerados patogênicos em culturas puras foram: *P.gingivalis*, *F.nucleatum*, *F.necrophurum*, *P.acnes*, *P.magnus*, *S.sanguis*, *S.anginosus*, *E.faecalis* e *A.naeslundii*. Os autores também constataram aumento da agressividade das culturas de *P.endodontalis* em associação com qualquer uma das duas outras cepas.

Investigando a ocorrência de *Enterococcus faecalis* em canais radiculares de dentes que seriam submetidos ao retratamento, PECIULIENE et al. (2000) selecionaram 25 pacientes que apresentavam dentes obturados e radiolusência periapical. O material obturador foi removido de forma mecânica, após o que se extraía a primeira amostra microbiológica; em seguida o preparo químico-cirúrgico foi finalizado, e colhia-se uma nova amostra do interior dos condutos antes da inserção de qualquer agente descontaminante. Essas amostras foram separadas e semeadas em meios de cultura, nos quais eram isoladas e identificadas na busca do *E.faecalis*. Dos 25 dentes testados, 20 apresentaram culturas positivas na primeira amostra - 14 com o *E.faecalis*, 9 com culturas mistas nas quais esse foi o microorganismo predominante, e 5 com culturas puras; estes 5 últimos dentes, que apresentavam culturas puras, assim se mantiveram mesmo após a realização do preparo. No que se refere à quantidade de bactérias, anteriormente ao preparo ela foi $>10^5$ em doze casos, e menor que este valor em outros dois; já após o preparo, a quantidade de bactérias, quando presente, foi inferior a 1% daquela inicialmente anteriormente.

DAHLÉN et al. (2000) avaliaram a ocorrência de diferentes bactérias do grupo *Enterococcus* extraídas do interior de canais radiculares e testaram sua susceptibilidade antimicrobiana *in vitro*. Para isso, selecionaram 29 casos que apresentavam bactérias deste grupo mesmo após a instrumentação e a medicação. Destes, somente três espécies eram de *Enterococcus faecium*, e o restante era de *E.faecalis*. Os microorganismos foram isolados e identificados, e posteriormente inoculados em um meio líquido para obtenção de um padrão de turbidez de 0,5 (densidade óptica 605nm). Uma pequena alíquota desse tubo padrão foi removida e

semeada em uma placa de ágar em foi realizado o E-test. As espécies estudadas demonstraram resistência ao metronidazol - mesmo em condições anaeróbias -, e à clindamicina; algumas também foram resistentes à benzilpenicilina, à ampicilina e à tetraciclina. Por outro lado, demonstraram ser sensíveis à eritromicina e à vancomicina.

2.2.2. *Staphylococcus aureus*

O *Staphylococcus aureus* apresenta-se como cocos agrupados em forma de cacho de uva; é um microorganismo gram-positivo, não móvel e possui uma certa tolerância ao oxigênio, podendo ser encontrado na forma anaeróbia, apesar de ser normalmente aeróbio (MACHADO, 2000 e READER et al., 1994). É considerada uma das bactérias não-esporuladas mais resistentes, pois permanecem viáveis por longos períodos de tempo, mesmo em ambientes secos e após grandes alterações de temperatura.

O *S.aureus* pode ser considerado o símbolo da revolução dos antibióticos (MACHADO, 2000) pois, se inicialmente manifestou sensibilidade a essas drogas - especialmente à penicilina -, foi o primeiro microorganismo em que se verificou o desenvolvimento de resistência a elas -através de um plasmídio com a β -lactamase, que proporcionou resistência à penicilina. Seus principais mecanismos de agressão decorrem da capacidade que tem de produzir endotoxinas e enzimas extracelulares. Entre elas poderíamos citar a coagulase - que leva o sangue a coagular-se -, a hialuronidase - que permite melhor nutrição e locomoção da bactéria -, a estafiloquinase - que leva à destruição de coágulos de fibrina -, e as hemolisinas - que destroem eritrócitos, macrófagos e plaquetas (tipos α e β).

As infecções por estafilococos são caracterizadas pela supuração, que tende a permanecer localizada e pode formar um abscesso. O pus, que consiste de células necróticas que liberaram suas proteínas citoplasmáticas e seus ácidos nucléicos, proporciona uma consistência viscosa e uma coloração amarelada ao exsudato.

WITGOW & SABISTON (1975) realizaram um estudo para identificar as cepas bacterianas presentes em câmaras pulpares de dentes com polpas íntegras em casos de trauma. Amostras foram analisadas da câmara pulpar de 43 dentes, logo após a realização do acesso à mesma. Obtiveram dos 40 dentes cultivados, 32 com culturas positivas, entre elas sete apresentavam culturas puras e o restante continha mais de uma espécie, num total de 82 espécies diferentes isoladas, das quais o *S.aureus* foi encontrado em um caso. A análise de um antibiograma mostra que a lincomicina foi a droga mais eficaz contra as cepas encontradas, sendo também bastante eficazes a clindamicina, a cefalotina e o cloranfenicol. Já a penicilina, a metacilina, a eritromicina, a tetraciclina e a vancomicina apresentaram um maior número de microorganismos resistentes.

Para determinar a ocorrência de microorganismos do grupo estafilococo-micrococo em canais radiculares infectados de dentes permanentes - avaliando a possibilidade de microorganismos do gênero *Staphylococcus* ocorrerem isoladamente -, ZELANTE & PIOCHI (1975) estudaram 206 amostras. O grupo estafilococo-micrococo foi isolado em 13,1% dos casos. O *Staphylococcus aureus* foi isolado em 2,9% dos casos, o *S.epidermidis* em 8,7%, e o *Micrococcus* em 1,5%. Não foram obtidas culturas puras destes microorganismos.

LABRIOLA et al., em 1983, estudando a microbiota de 50 abscessos agudos de origem dental, encontraram quarenta e três culturas mistas, sendo 37 com aeróbios e anaeróbios, 2 só de aeróbios e 4 de anaeróbios. As sete culturas restantes representam 5 culturas puras de aeróbios e 2 de anaeróbios. As cepas mais encontradas foram os Bacteroides, tendo encontrado o *S.aureus* em 3 dos casos. Os autores também observaram 39% das cepas resistentes à penicilina, sendo 100% dos *S.aureus* nessa condição.

Em 1994, READER et al. descreveram uma lesão endodôntica refratária em que o *S.aureus* foi o único microorganismo cultivado na porção apical. Após a realização do tratamento endodôntico a lesão foi mantida. Os autores optaram então por uma terapia radical, com a realização de cirurgia periapical. A cultura da amostra e do exsudato dessa região confirmou a presença deste microorganismo.

Foi realizado um estudo para avaliar o efeito antibacteriano de vários irrigantes de uso endodôntico – álcool, clorexidina, PMCC e Hipoclorito de sódio a 0,5 e a 5,25% - contra *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus salivarius*, *S.pyogenes*, *Escherichia coli* e *Candida albicans*. Essas cepas foram cultivadas de forma aeróbia pelo método de difusão em ágar, adotando-se a mensuração da zona de inibição promovida na placa. A maior zona de inibição foi provocada pelo hipoclorito de sódio a 5,25%; a solução salina (controle) foi sempre ineficaz; o NaOCl a 0,5% foi o menos eficaz; o álcool e a clorexidina apresentaram ações semelhantes; já o PMCC demonstrou uma atividade antibacteriana maior que a destes, ainda que menor a do NaOCl a 5,25% (AYHAN et al., 1999).

2.2.3. *Pseudomonas aeruginosa*

O *Pseudomonas aeruginosa* é descrito por MACHADO (2000) como um bacilo gram-negativo móvel, estritamente aeróbio que, entretanto, pode crescer de forma anaeróbia na presença de um aceptor elétrico como o nitrato ou a arginina. Pode ser clinicamente identificado pela forma das células e das colônias, pela coloração de gram, pelo odor (doce), pela produção de um pigmento azul - a piocianina -, pela ausência de esporos, pela motilidade, bem como pela produção de certas enzimas e pela temperatura de crescimento.

Esses microorganismos necessitam de um meio úmido para a sobrevivência. Em hospitais, por exemplo, podem ser encontrados em equipamentos e em alimentos. Devido às suas necessidades metabólicas simples, podem se desenvolver em meios aquáticos, crescendo inclusive em água destilada. Seus pigmentos são protetores microbianos. Um desses pigmentos - a já citada piocianina - também diminui o consumo de oxigênio dos tecidos e dos leucócitos. Uma das características do *Pseudomonas aeruginosa*, ainda segundo Machado (2000) é a resistência aos antibióticos, que pode ser inata ou adquirida - como ocorre com o *S.aureus* - por meio de um plasmídio. Como este microorganismo é resistente à maioria dos antibióticos utilizados em infecções orais, RANTA et al. (1988) acreditam que a eficácia de ação destas drogas antimicrobianas sobre a flora endodôntica pode favorecer o crescimento do *P.aeruginosa*.

Sua patogenicidade está ligada à presença da elastase - que promove a lise das paredes de vasos, caracterizando as lesões hemorrágicas por infecção com *P.aeruginosa*, além de ser a responsável pela inativação de IgG. Outra enzima

relacionada à patogenicidade dessa cepa é a protease alcalina - que causa necrose tissular, desempenhando a mesma função da fosfolipase C. Essa cepa ainda produz duas hemolisinas e três endotoxinas que, quando injetadas em cachorros e ratos, levaram os animais a óbito e, quando aplicadas em macacos, provocaram choque hipotensivo. Normalmente possui baixa virulência para indivíduos sadios, podendo tornar-se patogênico em pacientes com resistência debilitada. Eles elas não são tão comuns na cavidade oral pois não têm a capacidade de competir com as bactérias da referida cavidade.

BARNETT et al. (1988) relatam o caso de um paciente portador de lesão periapical infectada por *Pseudomonas aeruginosa* - comprovada por meio de uma amostra -, que era refratária ao tratamento endodôntico. Clinicamente, o *P.aeruginosa* tem sido associado a condutos expostos ao meio bucal. O combate a essa infecção somente logrou êxito com a utilização de Ciprofloxacina por 15 semanas; esse tratamento promoveu o fechamento da fístula e a cura da periodontite apical, ao contrário das terapias nas quais foram empregadas penicilina, metronidazol e carbenicilina, que não lograram êxito.

RANTA et al., em 1988, descreve o tratamento de uma monoinfecção de um canal dental por *P.aeruginosa*. Era realizado o acesso aos canais radiculares, de onde amostras microbiológicas eram retiradas e semeadas em placas, as quais deveriam ser mantidas em três condições: anaerobiose com a utilização da jarra, com 5% CO₂ e em meio aeróbio, sendo todas mantidas a 37°C. O crescimento bacteriano era acompanhado diariamente. Pode ser identificado o *P.aeruginosa* nas placas mantidas em 5% CO₂. O canal foi então instrumentado e medicado com hidróxido de cálcio, trocando-o a cada 6, 10 e 30 dias, retirando-se amostras do

interior do conduto a cada troca. Terminado este período, o canal foi obturado, sendo acompanhado por 3 anos com sucesso do caso.

HORII et al., em 1999, avaliaram o efeito dos antibióticos da família dos “carbapenems” na morfologia da parede celular e na liberação de endotoxina de *Pseudomonas aeruginosa*, além de suas alterações morfológicas após a exposição em diversos períodos de tempo. A morfologia da célula e sua parede foram observadas em microscópio de contraste de fase e microscópio eletrônico de transmissão. Com isso os autores buscaram alterações morfológicas que alterassem a liberação de endotoxina. Foram selecionados 20 isolados clínicos de *P.aeruginosa*, testados contra os seguintes antibióticos: ceftazidina, imipenem, panipenem, meropenem e biapenem. Obtiveram os autores que a *P.aeruginosa* foi sensibilizada por todos os antibióticos, menos o panipenem. No que diz respeito à alteração morfológica, após a exposição ao imipenem e ao panipenem as mesmas tornaram-se esféricas, enquanto elas assumiram uma forma mais alongada com o biapenem, enquanto o meropenem induziu a formação de filamentos. O ceftazidine causou a formação de longos filamentos. Um fato a ser considerado diz respeito à exposição aos antibióticos que levou a uma diminuição do número de células viáveis, exceto pelo panipenem. Quanto à liberação de endotoxina, após a exposição a imipenem e panipenem permaneceu baixa por todas as 6 horas, após esse período, o ceftazidine liberou mais endotoxina que os outros, seguido pelo meropenem e biapenem. Por fim, o panipenem e o imipenem com valores semelhantes aos do grupo controle.

2.2.4. *Bacteroides fragilis*

O *B. fragilis*, conforme descrição de HAAPASALO (1989) é um bacilo anaeróbio gram-negativo bile-resistente, normalmente encontrado em infecções de cólon e de abdômen. Muitas cepas desse microorganismo são produtoras de β -lactamase e, portanto resistem à penicilina. Contudo, a grande maioria dessas cepas é susceptível ao metronidazol e à clindamicina. Esses microorganismos normalmente são encontrados em associação com outros anaeróbios, e infectam o endodonto de forma oportunista. Apesar de rara, sua presença nessas infecções leva a complicações de magnitude considerável graças à sua virulência. Esta, por sua vez, está diretamente ligada à produção de endotoxinas (lipopolissacarídeo - LPS) e de polissacarídeos capsulares, que podem levar à formação de abscessos (Machado, 2000).

Para identificar bactérias anaeróbias estritas presentes em dentes com polpas mortificadas e câmaras pulpares intactas, KANTZ & HENRY (1974) retiraram amostras de 24 dentes de 20 pacientes. Cada dente, depois de isolado e desinfetado, era aberto sob uma corrente contínua de nitrogênio. Após a abertura, retirava-se uma amostra microbiológica do interior, transferindo-a para um meio enriquecedor. A seguir, era implementada a contagem das colônias, que inicialmente acusava $3,32 \pm 1,7 \times 10^7$ organismos/mL. De um total de 377 microorganismos, 104 foram identificados, e os que apresentaram maior prevalência foram: *Actinomyces israeli*, *Bacteroides fragilis*, *B. melaninogenicus*, *Campylobacter sputorum*, *Eubacterium alactolyticum*, *Eubacterium fusiforme*, *Fusobacterium varium*, *Peptococcus morbillorum*, *Propionibacterium acnes*, *Veillonella parvula*, além de alguns outros *Actinomyces*.

KEUDELL et al., em 1976, realizaram a análise e identificação de microorganismos, em especial anaeróbios, de câmaras pulpares de dentes que necessitavam tratamento endodôntico por meio de uma amostra microbiológica realizada a partir da comunicação que os mesmos apresentavam com o meio externo. Verificou-se que, em dentes vitais, não existiam bactérias anaeróbias na câmara pulpar, enquanto em dentes despolpados, 64% apresentaram-se infectados com anaeróbios. O principal grupo de bactérias isoladas foram os Bacteroides, sendo que um dos isolados foi o *B.fragilis*, três *B.oralis* e 7 sem classificação específica.

KANNAGARA et al., em 1980, analisaram achados bacteriológicos e o tratamento de infecções relativamente refratárias de origem dental em sessenta e um pacientes. Encontraram quarenta e cinco (74%) pacientes com infecções anaeróbias. Desses casos, 18 (29,5%) continham em sua flora o *B.fragilis*, resistente à penicilina na concentração de 16µg/mL, porém era suscetível à clindamicina em concentrações menores que 2µg/mL. Vinte e cinco dos pacientes foram tratados com penicilina e 80% evoluíram para a cura, nos cinco casos em que o tratamento falhou, o *B.fragilis* estava presente. Por sua vez todos os pacientes tratados com clindamicina evoluíram para a cura.

DAHLÉN & BERGENHOLTZ, em 1980, analisaram a atividade endotóxica dos componentes dos canais radiculares de dentes com necrose pulpar, sendo possível avaliar a agressividade de algumas espécies bacterianas. As cepas selecionadas foram as selvagens *Bacteroides oralis* (Bact-MC3), *Fusobacterium nucleatum* (Fus-MC8), *F. Necrophurum* (Fus-MC4), e *Veillonella parvula* (Veill-H3) e de coleção, o *B.fragilis* (NCTC 9343), *B.melaninogenicus* (NCTC9336), *F.mortiferum*

(VPI8365), *F.nucleatum* (NCTC10562) *F. Necrophum* (NCTC10575) e *Leptotrichia buccalis* (NCTC10249). Essas bactérias eram cultivadas e tinham o seu LPS extraído, avaliando, pela técnica de "Limulus lysate", a agressividade deste componente. Os autores puderam concluir que a atividade de endotoxina dentro do canal está diretamente relacionada à presença de bactérias Gram-negativas.

WILLIAMS et al.. (1983) identificaram e analisaram a microflora de abscessos dentários de origem endodôntica por meio de amostras do exsudato de 10 lesões, retiradas por uma seringa de aspiração. As cepas foram identificadas por técnicas anaeróbicas de diluição e amostragem, o que possibilitou a identificação de 100 culturas isoladas destes elementos. A análise dos resultados mostrou nove das dez culturas com predominância de anaeróbios estritos, responsáveis por 70% de todas as cepas isoladas. As bactérias mais freqüentemente isoladas foram o *F.nucleatum*, o *Peptostreptococcus micros* e os *Bacteroides*.

Uma revisão de literatura, associada à análise de 62 dentes unirradiculares com necessidade de tratamento endodôntico e presença de lesões - nos quais procedeu-se ao tratamento endodôntico com trocas de medicação à base de hidróxido de cálcio -, foi constatada a importância dos *Bacteroides* nas infecções do endodonto. Foi coletado material do interior do conduto nas sessões inicial e subsequente do tratamento. Esse material foi incubado e identificado. Dos 62 casos estudados, em 79% os *Bacteroides* puderam ser isolados – nestes, os pigmentados de negro apresentaram 50% de prevalência, e as outras espécies de *Bacteroides* apareceram em 56%. Os *Bacteroides* sempre estavam associados a alguma outra cepa. Em todos os casos a flora era mista, o que sugere que os sintomas agudos devem-se à presença de uma infecção dessa natureza com a presença de algumas

cepas chave para o seu desenvolvimento. Os casos de infecção por *Bacteroides* pigmentados de negro ou por *Mitsuokella dentalis* apresentaram persistência dos sintomas após o tratamento com hidróxido de cálcio mas, após 4 semanas, todos estavam totalmente assintomáticos. Apesar disto, testou-se a penicilina G em algumas espécies de *Bacteroides*, o que demonstrou a resistência de algumas cepas de *B.buccae* e *B.denticola* à droga. No controle longitudinal, 50 pacientes apresentaram cura completa um ano após o tratamento, 11 tiveram cura parcial e apenas 1 não apresentou qualquer sinal de cura (HAAPASALO, 1989)

YAMAMOTO et al. (1989) avaliaram a susceptibilidade de diferentes microorganismos (*Eubacterium*, *Peptostreptococcus* e *Bacteroides*) -coletados e isolados clinicamente de canais com inflamação periapical aguda - a agentes antimicrobianos (penicilina, cephems, tetraciclina, macrolídeos e aminoglicosídeos). As cepas isoladas foram inoculadas em um meio de ágar que continha as medicações em diferentes concentrações. As placas foram incubadas de forma anaeróbia, adotando-se o *Bacteroides fragilis* como cepa padrão. Foi considerada, como concentração inibitória mínima, considerada aquela que conseguia inibir o crescimento de pelo menos 50% (MIC₅₀) a 90% (MIC₉₀) das bactérias. Os resultados indicaram que todas as cepas foram resistentes aos aminoglicosídeos. Já as penicilinas foram eficazes contra as bactérias das famílias do *Eubacterium* e do *Peptostreptococcus*. Os *Bacteroides* pigmentados de negro foram susceptíveis a todos as drogas, exceto aos aminoglicosídeos. O *Bacteroides fragilis* e outros não pigmentados foram mais resistentes que os pigmentados em relação a todos os antibióticos testados.

Em 1990, GUINEY & BOUIC demonstraram a presença - em *Bacteroides* pigmentados de negro de origem bucal - de transferências conjugais quando cultivados em conjunto no que se refere a resistência a antibióticos. Os autores observaram a transferência de resistência à tetraciclina e à penicilina em *Bacteroides denticola* e *Bacteroides intermedius* a partir de *Bacteroides fragilis*, o que ocorre em função da troca de genes entre esses grupos de espécies bacterianas.

A presença de bactérias anaeróbias em infecções de origem dental foi estudada por ANGLESIO FARINA et al. (1991). A análise dos dados indicou que essas infecções são normalmente mistas e envolvem bactérias que estão presentes na cavidade oral, em especial os anaeróbias estritas, além de relatar a grande prevalência de microorganismos facultativos. Microorganismos prevalentes nas infecções de origem dental, os *Bacteroides*, em especial as espécies *B. melaninogenicus*, *B. oralis* e *B. fragilis*, apresentam um papel não muito claro.

WASFY et al. (1992) avaliaram a microbiologia de infecções periapicais encontradas no Egito. Valendo-se de 85 pacientes com história de trauma e necrose pulpar, os autores encontraram uma média de 3,1 espécies de bactéria por caso, sendo a grande maioria anaeróbia (73%). Os microorganismos mais frequentemente encontrados foram o *Eubacterium* sp. (68%), *Bacteroides* pigmentados (56%), *Streptococcus morbillorum* (47%) e *Bacteroides* não pigmentados (37%).

SVEEN & SKAUG, em 1992, propuseram-se a avaliar a mitogenicidade e a ativação policlonal de células B a partir de lipopolissacarídeos de a. *Veillonella*, b. de *B. fragilis* e *P. intermedia*, apresentando todos o lipídio A bem atípico, e de

Fusobacterium nucleatum e *P.intermedia* que é bem típico, e c. comparar o LPS de bactérias de origem oral e não-oral. Obtiveram, no que refere-se à mitogenicidade, numa ordem decrescente que os LPS apresentaram-se na seguinte ordem: *B.fragilis* > *F.nucleatum* > *Salmonella enterditi*s, *Veillonella* > *P.intermedia*. Ainda com relação à ativação policlonal de células B, o LPS de *B.fragilis* foi o que mais ativou e de *S.interditi*s o que menos ativou, medindo-se pelo total de IG, IgG2a, IgG2b, IgG3 e IgM secretora, enquanto o LPS de *P.inermedia* foi o que mais ativou IgA. Puderam também observar os autores que as respostas desenvolvidas foram eficazes e que independiam de células T, demonstrando a importância da presença do LPS em ativar a resposta imune.

Para caracterizar a natureza da microbiota que infecta o canal, e elucidar a relação entre a expansão desta contaminação e a distribuição de microorganismos, TANI-ISHI et al. (1994) adotaram ratos como modelo experimental. Quarenta molares inferiores de vinte ratos foram abertos e expostos ao meio bucal, permanecendo nessa condição por 7 ou por 15 dias. A seguir, os ratos eram sacrificados e retiravam-se amostras dos seus condutos, para a quantificação e a identificação das mesmas. O número de colônias formado foi semelhante nos dois grupos, mas as porcentagens de bactérias anaeróbias e gram-negativas aumentou na segunda amostra (grupo de exposição por 15 dias). O grupo exposto por 7 dias apresentou predominância de *Streptococcus* e *Bacteroides*, enquanto o grupo exposto por 15 dias apresentou prevalência de *Streptococcus*, *Bacteroides*, *Prevotella*, *Neiseria* e *Peptostreptococcus*, *Streptococcus oralis*, *S.oralis*, *S.mitis*, *S.rattus*, *B.pneumosintes* e *B.urealyticus*.

2.2. MEDICAÇÕES

WALTON, em 1984, descreve os principais medicamentos utilizados em Endodontia de acordo com a classe química que pertence o seu princípio ativo. Assim temos os *Fenólicos* (Eugenol, Paramonoclorofenol canforado, Paraclorofenol, Cresoto,...), *Aldeídos* (Formocresol e Glutaraldeído), *Haletos* (a base de iodo - Iodo Iodetado de Potássio e Iodofórmio por exemplo e os a base de cloro - Hipoclorito de Sódio), *Esteróides*, *Hidróxido de Cálcio*, e os *Antibióticos* (PSBC, PSBN), bem como a combinação de várias destas drogas. Analisando comparativamente, o melhor medicamento no que diz respeito à propriedade antibacteriana "in vitro" é o IKI (iodo iodetado de potássio), esta medicação também demonstrou ser bastante inerte à cultura de células demonstrando sua biocompatibilidade, contudo sua eficácia clínica é questionável segundo o autor. Todavia, todas as medicações possuem contra-indicações. O autor escreve, por exemplo, que os haletos são causadores de destruição tecidual por contato (apesar de ser o menos destrutivo e irritante de todos), e ainda o fato de , os a base de iodo, serem capazes de desenvolver alergia, o que nunca foi relatado clinicamente. Já os antibióticos possuem uma série de inconvenientes, entre eles poderíamos citar o fato de promover uma população bacteriana selecionada e resistente, a capacidade de desenvolver respostas alérgicas e um espectro de ação sempre limitado.

ABBOTT (1990) demonstra a importância dos medicamentos no sucesso da Endodontia, afirmando que é imprescindível a utilização de uma medicação complementar ao preparo para obter a limpeza adequada do sistema de canais radiculares. São propriedades fundamentais da droga a ser escolhida a ação bactericida, antiinflamatória bem como estimular a formação de tecidos duros sem

ser tóxico ao hospedeiro. A escolha do material deve levar em conta as condições patológicas do dente a ser tratado

Para avaliar o papel da medicação intracanal na terapia endodôntica, CHONG & PITTFORD realizaram um estudo, publicado em 1992. Inicialmente, os autores relatam a ação das bactérias durante o desenvolvimento das patologias e as suas implicações na terapia a ser aplicada – e constataam que o tipo de resposta inflamatória depende diretamente da quantidade, do tipo e do tempo de exposição dos tecidos a esses microorganismos. E postulam que, na ausência de agentes contaminantes, os tecidos periapicais podem ser reparados. Deste modo, a realização de um tratamento de dentes vitais - desde que sob condições assépticas - não implica, necessariamente, o emprego medicações intracanaais. Já em dentes infectados, a utilização de medicações tem por objetivos: 1) eliminar as bactérias que porventura possam ali permanecer após a instrumentação - neste caso a medicação de escolha deve ter um amplo espectro de ação e agir por um longo período; 2) reduzir a inflamação dos tecidos periapicais e remanescentes pulpare; 3) neutralizar os restos orgânicos que possam estar ali presentes; 4) agir como barreira à permeabilidade apical; 5) auxiliar a secar canais persistentemente úmidos. Para esses autores, a prescrição de medicações deve ser feita em casos de contaminação intensa e/ou em casos cujo intervalo de tempo entre as sessões seja grande.

2.2.1. IODOFÓRMIO

O iodofórmio foi descoberto por SERULLAS em 1822, e introduzido na terapêutica por BOUCHARADT em 1836 (citado por DANIEL, 1998). Foi

considerado anestésico - por apresentar analogia clínica com o clorofórmio -, anti-sifilítico - por sua relação com os iodetos - e antisséptico - por ter o iodo como componente.

Uma das primeiras pastas desenvolvidas em endodontia a partir desse componente foi a de WALKHOFF, em 1928 (*citado por* MAISTO & EURASQUIM, 1965). Essa pasta foi amplamente difundida e utilizada, ainda que sua fórmula exata não tenha sido divulgada. Sua composição foi estudada e apresentada por CASTAGNOLA & ORLAY (1952) que assim a descreveram: 60 partes de iodofórmio e 40 partes de uma mistura de clorofenol (45%), álcool canforado (49%) e mentol (6%). Sua utilização demandava uma técnica precisa para preparo do canal.

Sua eficácia pôde ser comprovada nos trabalhos de HONEGGER, em 1932 citado por MAISTO (1975) que demonstraram um índice de sucesso de 70 a 75% nos casos de dentes tratados com a pasta de Walkhoff, avaliando a presença histológica de um selamento apical com deposição de cimento.

Para PUCCI (1945) o iodofórmio é formado por cristais hexagonais brilhantes, de cor amarelo-limão, odor penetrante e sabor desagradável. É pouco solúvel em água (1:10.000), mas apresenta boa solubilidade ao álcool (1:60), ao óleo de oliva (1:34), ao éter (1:7,5) e, mais acentuadamente, aos ácidos graxos. Quando em presença de substâncias orgânicas em desintegração é pouco estável e de fácil decomposição, promovendo a liberação de iodo; sua dissolução nas substâncias graxas garante-lhe propriedades antissépticas. 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, e proporciona uma ligeira anestesia. O contato entre a pasta iodoformada – que é facilmente decomposta e reabsorvida – e as lesões periapicais estimula a regeneração tissular. Por ser radiopaco, seu grau de penetração nos tecidos periapicais patológicos pode ser comprovado, radiograficamente, controlando sua reabsorção periódica e benéfica.

ENGEL (1950) citado por MAISTO (1975) avaliou a pasta de Walkhoff onde de 18 casos tratados, 17 apresentaram sinais clínicos de melhora e 15 sinais histológicos com o fechamento do foram apical.

Para avaliar a atividade antisséptica de várias pastas medicamentosas através da difusão em ágar, CASTAGNOLA & ORLAY (1952) utilizaram culturas puras de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus albus*, *Streptococcus* hemolíticos e não-hemolíticos, *Enterococcus* e culturas mistas de aeróbios e anaeróbios. Os melhores resultados foram obtidos pelas pastas iodoformadas Kri 1 e Walkhoff. Nesse trabalho, os autores também relatam o tratamento de 1.000 casos pelo método de Walkhoff – que consistia da ministração de medicações à base de clorofenol e posterior obturação posteriormente com uma pasta de paraclorofenol-mentol-cânfora-iodofórmio. Nessa amostragem, 68% dos casos apresentaram resultados perfeitos e dos demais, 78% manifestaram melhoras consideráveis. Um outro fato a ser considerado é a fácil reabsorção do iodofórmio, cuja remoção ocorre somente pela ação de células teciduais.

JUGE, em 1959, avalia a utilização de pastas reabsorvíveis para a obturação de canais, afirmando que as mesmas não deveriam interferir no processo

natural de cura. Sua indicação deveria estar restrita aos casos em que os condutos apresentavam-se infectados, com ou sem lesão periapical, em que havia o risco de extravasamento de material obturador pelo periápice, nesse sentido, o autor concordou apenas com a indicação das pastas iodoformadas e de hidróxido de cálcio. Como propriedades do iodoformio, o autor afirmou que, segundo Walkhoff, ele não é irritante, é reabsorvível, paralisa secreções, tem ação anti-séptica de longa duração até ser reabsorvido e é bem tolerado pelos tecidos periapicais, produzindo fechamento fisiológico do ápice. O hidróxido de cálcio, por sua vez, seria mais útil para obturação após pulpectomia ou pulpotomia.

MAISTO & EURASQUIN (1965) analisaram o comportamento dos tecidos periapicais frente a algumas pastas reabsorvíveis à base de iodoformio. Avaliaram, para isso, o tratamento endodôntico de 60 ratos que foram divididos em grupos obturados com três pastas reabsorvíveis: a) pasta lentamente reabsorvível de Maisto - 14g de óxido de zinco, 42g de iodoformio, 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 iodoformio e hidróxido de cálcio - em proporções iguais em uma solução aquosa. Os autores observaram que as pastas utilizadas ativam a resposta inflamatória, e que, quando da ocorrência de extravasamento, o material é facilmente reabsorvido. Em dentes jovens foi obtido um selamento completo do conduto; já em dentes de ratos mais velhos houve simplesmente uma diminuição de sua luz. A reação às pastas não apresentou diferenças significativas; a reabsorção do cimento apical não parece ter relação direta com a sua utilização.

MAISTO (1975) relatou que as pastas anti-sépticas à base de iodofórmio e clorofenol canforado-mentol ou glicerina são rapidamente reabsorvíveis na zona periapical. O iodofórmio é acentuadamente radiopaco, volatiliza-se lentamente em contato com o ar e à temperatura ambiente, porém de forma mais rápida quando a 37°C. por sua vez, a pasta anti-séptica à base de iodofórmio, com uma parte de óxido de zinco e eugenol para cada três partes de iodofórmio, é lentamente reabsorvível na zona periapical e praticamente não se reabsorve dentro do conduto. Além disso, agregado a outros anti-sépticos é perfeitamente tolerado no periápice, ainda que em grandes sobreobturações. Seu valor como anti-séptico é muito relativo, mas são bem conhecidas as reparações de extensas lesões periapicais posteriormente à sua aplicação. O iodofórmio libera iodo em estado nascente ao entrar em contato com o tecido periapical, estimula a formação de novo tecido de granulação, o que contribui para a posterior reparação óssea. Ele atua em melhores condições privado de oxigênio, em meio alcalino. A sua ação depende da quantidade e concentração das drogas assim como da sua velocidade de reabsorção.

Valendo-se de dentes permanentes de seis cachorros sem o ápice completamente formado, VOJINOVIC & SRNIĆ (1975) avaliaram a resposta histológica dos tecidos periapicais - e subsequente formação destes tecidos - frente a duas pastas utilizadas como materiais obturadores: a) iodofórmio e Chlumsky (I-C) - 30g de fenol, 30g de cânfora e 110g álcool absoluto -; b) hidróxido de cálcio. Foram extirpadas, de cada animal, as polpas de dois pré-molares vizinhos - e cada um deles foi preenchido com uma das pastas. Os cachorros, divididos em dois grupos, foram sacrificados após 2 meses (grupo 1) e após 7 meses e meio (grupo 2)

para observação histológica. Radiograficamente os grupos não apresentaram grandes diferenças porém, histologicamente, a pasta I-C, no grupo sacrificado após dois meses, apresentou uma inflamação crônica em continuidade com o periodonto, e a presença de tecidos mineralizados que formavam uma barreira menor que a formada pelo hidróxido de cálcio. Após 7 meses e meio (grupo 2), ambos os tratamentos levaram à formação de um tecido mineralizado na região apical.

CASTAGNOLA (1976) verificou o papel da pasta iodoformada de Walkhoff na terapia endodôntica moderna. Duas das preparações originais de Walkhoff mereceram destaque: a) a solução de clorofenol-cânfora-mentol e b) pasta de iodofórmio, as quais são modernamente conhecidas como a pasta de Kri. Como vantagens destas manipulações o autor coloca a estimulação da formação de tecido de granulação, a diminuição da secreção, a radiopacidade, a facilidade de manipulação, podendo controlar sua consistência, além do fato de ser facilmente removível e reabsorvível. As contra-indicações citadas pelo autor referem-se ao fato das mesmas serem reabsorvidas do interior do canal, bem como o seu não endurecimento, o que não permite um selamento adequado, o gosto desagradável e o fato de poder desenvolver alergias. Sua indicação corresponde aos casos de extirpação da polpa, tratamento de gangrena da polpa (abscessos), podendo ser utilizado ou como medicação entre as sessões ou utilizando junto com a obturação, onde ao cimento é acrescida uma pequena quantidade de iodofórmio e através do método de Maisto lentamente reabsorvível. Ainda estão indicadas estas pastas, como preenchimento da fístula artificial em pacientes jovens com o ápice aberto e necrose, como tratamento preparatório para apicetomia e tratamento preparatório para implante endodôntico.

SEMERARO & MAGALHÃES (1978) referem-se às vantagens de se utilizar o iodofórmio em Endodontia, pois este apresenta condições propícias à liberação do iodo contido na pasta: o canal não tem luminosidade; a temperatura do corpo oferece condições para sua decomposição; há exsudatos derivados de matérias necróticas irremovíveis pela instrumentação, com as quais o iodofórmio entra em contato, liberando iodo (PUCCI, 1945); esse iodo penetrará nos túbulos dentinários, mesmo quando associado em pasta, desde que se utilizem veículos com baixa tensão superficial, o que facilita sua penetração. Assim, esse antisséptico pode ser utilizado tanto em polpas vivas quanto em polpas necrosadas, e é indicado em casos de lesões mais severas.

GUEDES-PINTO et al. (1981) mostram que o iodofórmio é bastante difundido na Odontopediatria. Estes autores propõem uma alteração na técnica terapêutica de dentes decíduos com polpa mortificada onde, após o preparo do canal, utilizando-se como substâncias químicas auxiliares o líquido de Dakin e o Endo-PTC, os canais eram obturados com a pasta Guedes, que é constituída de partes iguais de Iodofórmio, Rifocort[®] e Paramonoclorofenol Canforado. O tratamento foi bem-sucedido em 45 dos 46 casos, com regressão das fístulas que possivelmente estavam presentes, sendo que nenhum dos casos apresentou dor pós-operatória. Radiograficamente pode ser observado, nos casos de extravasamento da pasta, a reabsorção da mesma num período de 30 dias seguida de neoformação óssea.

RIFKIN, em 1982, descreve casos de tratamentos de dentes decíduos abscedados com uma pasta a base de iodofórmio (KRI), os quais foram acompanhados por 3 a 4 anos. Dos trinta e oito pacientes que foram acompanhados

durante este período para controle, 30 dentes permanentes erupcionaram sem qualquer problema, e os demais decíduos permaneciam na boca sendo acompanhados com sucesso aparente.

AYDOS & MILANO (1984) realizaram uma revisão da literatura sobre a utilização do Iodofórmio na Endodontia. Os autores investigaram sua radiopacidade, capacidade anti-séptica e a possibilidade de estimulação biológica, levando ao reparo do tecido periapical. Concluíram que o iodofórmio confere radiopacidade à pastas à base de hidróxido de cálcio, que os mesmos não possuem ação antibacteriana "*in vitro*", apresentando grande divergência no que se refere à sua ação "*in vivo*". A capacidade de estimulação biológica do iodofórmio, pela falta de investigações, só pode ser considerada como uma hipótese.

Para analisar clinicamente uma alteração da pasta de Walkhoff em tratamento da necrose pulpar, ROCCA et al. (1985) analisaram 59 pacientes com diferentes patologias (granulomas, abscessos crônicos e agudos e cistos). Os dentes foram instrumentados e obturados com uma pasta modificada pelo acréscimo de 1,00g de prata na composição. Para a avaliação do sucesso, foram observadas a mobilidade dental - que diminuiu significativamente - e a dor pós-operatória - que apresentou 10% de ocorrências. Radiograficamente, todos os casos mostraram reparação após 6 meses de observação, à exceção dos cistos.

Em 1987, GARCIA-GODOY estudou a eficácia da pasta de iodofórmio no tratamento endodôntico de dentes decíduos infectados. Para tanto, avaliou 55 dentes de diferentes crianças que, depois de limpos e preparados, foram preenchidos com a pasta KRI (2,025% de paraclorofenol; 4,86% de cânfora; 1,215%

mentol; 80,8% de iodofórmio). Os casos foram controlados a cada seis meses por meio de exames clínico e radiográfico. A pasta de iodofórmio foi considerada um bom material obturador para dentes decíduos infectados, sendo reabsorvida da região de furca depois de uma a duas semanas de aplicação, pela ação dos macrófagos. O autor destaca, como desvantagem, a possibilidade de os dentes assumirem uma coloração amarelo-castanha na sua coroa, o que torna indispensável a limpeza da câmara após a inserção da pasta.

MANISALI et al. (1989) descrevem um caso onde houve o extravasamento da obturação com uma pasta iodoformada do canal de um segundo pré-molar inferior esquerdo. O extravasamento não se limitou à região periapical, mas foi até a região do segundo molar. Pode ser verificado que não houve alteração alguma na região nem sintomatologia dolorosa por parte do paciente, sendo a pasta rapidamente reabsorvida.

Para avaliar o sucesso do tratamento de canais de dentes decíduos com óxido de zinco e eugenol (OZE) ou com KRI, HOLAN & FUKS (1993) utilizaram 78 molares decíduos, nos quais adotaram um dos tratamentos, avaliando o pós-operatório. Os canais foram abertos, instrumentados e preenchidos com a pasta, tanto no limite, como sobreobturados e subobturados. O índice de sucesso nos tratamentos com o KRI foi de 84% e, com o OZE, de 65%, o que representa uma diferença estatisticamente significativa. A sobreobturação com o OZE fracassou em 59% dos casos, e com o KRI em 21%; a subobturação apresentou resultados semelhantes nos dois tratamentos - 17% de fracasso com o OZE e 14% com o KRI. Assim, os autores concluíram que o KRI teve melhor desempenho que o OZE.

WRIGHT et al. (1994) avaliaram a suposta ação antimicrobiana da pasta de Kri 1, comparando sua eficácia antimicrobiana e citotóxica com o óxido de zinco. O método de avaliação escolhido foi o teste de difusão em ágar, comparando os halos de inibição promovidos. A cepa utilizada como controle foi o *Streptococcus faecalis*. Também se media a citotoxicidade celular pelo teste de contato célula-material de SPÅNGBERG, bem como pelo teste de contato indireto de Sfavi. Constataram os autores que o óxido de zinco promovia uma área de inibição consideravelmente maior, a despeito de ser mais citotóxico.

Para verificar se havia uma relação entre o iodofórmio e a endotoxina bacteriana, FERNANDES (1997) adotou o teste de coagulação do lisado de amebócitos do artrópodo *Limulus polyphemus* (teste LAL), a ressonância magnética nuclear de prótons e a análise espectrofotométrica. Com base nos resultados obtidos, o autor concluiu que possivelmente existe uma interação química entre o iodofórmio e a endotoxina bacteriana, e que essa alteração deve ocorrer na sua porção polissacarídica.

SIQUEIRA et al. (1997) avaliaram a possível influência da adição de iodofórmio sobre as propriedades antibacterianas de uma associação de hidróxido de cálcio e paramonoclorofenol canforado (PMCC) em glicerina. Para tanto, utilizaram as seguintes bactérias anaeróbias estritas: *Porphyromonas endodontalis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*; e os microorganismos facultativos *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus sanguis* e *Staphylococcus aureus*. As pastas utilizadas foram: a) associação de hidróxido de cálcio com PMCC em glicerina; b) hidróxido de cálcio e iodofórmio (3:1) com PMCC em glicerina; c) hidróxido de cálcio e iodofórmio (6:1) com PMCC em glicerina; d) hidróxido de cálcio em glicerina; e e)

iodofórmio em glicerina. A atividade antibacteriana foi avaliada pela medida de halos de inibição com o método de difusão em ágar. Os autores observaram que a adição de iodofórmio à pasta não interfere nas propriedades antibacterianas. A pasta de iodofórmio e glicerina apresentou discreta atividade antibacteriana, e a pasta de hidróxido de cálcio e glicerina não apresentou qualquer efeito inibitório sobre as espécies testadas.

Foi realizado um estudo para comparar, *in vitro*, a citotoxicidade do iodofórmio e do hidróxido de cálcio - associados a dois veículos diferentes: carbowax e PEG 400 - frente a fibroblastos NIH 373. Para tanto, adotou-se o método de ensaios de viabilidade pela exclusão de células pelo azul de Trypan. Foram avaliados, num primeiro momento a resposta celular imediata ao contato com as pastas e, numa segunda fase, o efeito dessas substâncias sobre o crescimento e a proliferação celular. Os resultados demonstram que, na primeira etapa do experimento, não houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo controle, os veículos e as associações com o hidróxido de cálcio, e que a aplicação de iodofórmio, após 24 horas, causou a morte da maioria das células. Já a longo prazo, a viabilidade do hidróxido de cálcio foi semelhante àquela do grupo controle; a associação iodofórmio/carbowax apresentou proliferação celular até o quinto dia; a associação iodofórmio/PEG 400 mostrou inibição da proliferação celular a partir do terceiro dia, e, transcorridos 5 dias, a cultura praticamente não apresentava células viáveis. Assim, o hidróxido de cálcio mostrou não ser citotóxico, enquanto o iodofórmio apresentou diferentes níveis de citotoxicidade - quando associado ao carbowax, sua agressividade sobre as células foi menor do que quando associado ao PEG 400 (DANIEL, 1998).

Em 1999, DANIEL et al. realizaram de uma revisão da literatura sobre as propriedades e controvérsias da utilização do iodofórmio como medicação intracanal. Dentre os fatores que fizeram com que a endodontia não mais utilizasse essa droga os autores citam o 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 do medicamento (embora não haja, na literatura, a comprovação de incidentes dessa ordem). Quanto à sua capacidade antisséptica, uma das explicações possíveis está relacionada à potencialização do seu efeito quando em contato com secreções ou áreas infectadas, liberando iodo em estado nascente. Como características positivas dessa droga os autores arrolam 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. Entretanto, outros fatores também devem ser considerados, como o poder irritante, a tolerância tecidual, a ação estimulante da formação de tecido de granulação cicatricial e a toxicidade. E os autores ressaltam que as propriedades irritantes do iodofórmio estimulam a proliferação celular, produzindo reação inflamatória inicial com necrose tecidual, o que atrai células de defesa para a região e leva à formação de um tecido de granulação, bem como de neoformação óssea, favorecendo o reparo da lesão e promovendo o fechamento do forame apical e das ramificações do canal radicular.

2.2.2. HIDRÓXIDO DE CÁLCIO

O hidróxido de cálcio é um pó branco, pouco solúvel em água e de pH bastante elevado. É obtido quimicamente pela hidratação do óxido de cálcio – que, por sua vez, deriva da calcinação do carbonato de cálcio. Seu mecanismo de ação

depende diretamente da liberação de íons cálcio (Ca^{++}) e hidroxila (OH^-), que ocorre mediante o contato entre a droga e os tecidos (SIQUEIRA & LOPES, 1999; FAVA & SAUNDERS, 1999).

HEITHERSAY, em 1975, demonstrou os efeitos da utilização do hidróxido de cálcio no tratamento de dentes despulpados com patologias, descrevendo os procedimentos clínicos e discutindo os possíveis mecanismos de ação deste medicamento. Clinicamente ele está indicado como medicação intracanal, tanto temporária como por longos períodos, no controle das reabsorções radiculares, defeitos de reparação internos e externos, perfurações, fraturas transversas, sendo ainda possível a indução da formação apical de dentes despulpados. Seus principais mecanismos de ação, segundo o autor, dizem respeito à sua alcalinidade, em contrapartida às inflamações que são ácidas e às bactérias que raramente resistem a pH superiores a 9,5. Uma outra hipótese de mecanismo de ação desta droga é relativa à presença de cálcio que pode levar à diminuição da permeabilidade de vasos que estão presentes em granulomas, além de poder agir na síntese de colágeno, cuja formação da matriz é dependente de enzimas que também dependem de cálcio (pirofosfatase, por exemplo).

STEVENS & GROSSMANN (1983) avaliaram a eficácia do hidróxido de cálcio como medicação intracanal - *in vivo* em dentes de gato e *in vitro* pelo método de difusão em ágar -, comparando-o com o paramonoclorofenol canforado. Nos animais, os autores adotaram o seguinte procedimento: após o livre acesso aos condutos, eram inoculados *Serratia macrescens* ou *Enterococcus faecalis* no seu interior; nas sessões seguintes era administrada uma medicação à base de hidróxido de cálcio em dois dos dentes (um deles com o Pulpdent[®], como pasta

pronta), uma de PMCC em outro e um controle positivo. Culturas eram realizadas entre as sessões, para verificar a presença desses microorganismos. Por fim, as medicações foram submetidas a um teste de difusão em ágar com o *E.faecalis*. Os autores constataram que o *S.macrescens* não é um bom microorganismo para esse tipo de experimento. Já o *E.faecalis* - que foi uma bactéria representativa - foi bem combatido pelo PMCC, mas não pelo hidróxido de cálcio, que não demonstrou qualquer ação em um período de 5 semanas. Também as zonas de inibição foram significativamente maiores com o PMCC do que com as medicações à base de hidróxido de cálcio.

BYSTRÖM et al., em 1985, avaliaram a ação bactericida do hidróxido de cálcio, fenol camforado e PMCC. Ao todo, selecionaram 65 dentes com polpas mortificadas e câmara pulpar intacta, com indicação radiográfica de lesão periapical. Os dentes eram submetidos ao tratamento endodôntico, sendo irrigados 50 com NaOCl a 0,5%, desses, quinze foram preenchidos com PMCC, outros tantos com paraclorofenol canforado e os vinte restantes com hidróxido cálcio. Os outros quinze dentes foram irrigados com NaOCl a 5% e medicados com hidróxido de cálcio. A ação da terapia foi monitorada microbiologicamente. Obtiveram que nenhum dos dentes que permaneceram com o hidróxido de cálcio por um mês apresentou crescimento bacteriano, já nos casos com o paraclorofenol e o paramonoclorofenol canforados, 20 dos 30 dentes revelaram culturas positivas. Deve ser levado em consideração ainda o fato de três casos de hidróxido de cálcio terem apresentado pericementite pós-operatória.

Com o objetivo de desenvolver um método de deflagrar a infecção dentinária - e assim avaliar a ação de medicações intracanais -, HAAPASALO &

ØRSTRAVIK (1987) valeram-se de dentes bovinos. Os dentes eram desgastados e recortados para formar um cilindro padrão, submetidos a um tratamento para remoção do *smear-layer* e, posteriormente, eram esterilizados. Esses corpos de prova eram transportados para um caldo nutriente com *E.faecalis*. Após 3 semanas, os canais eram vedados externamente, e seu interior era preenchido com a medicação escolhida - Calasept ou o PMCC. A extração das amostras bacterianas era realizada com brocas esféricas de tamanhos progressivamente maiores, e também com a coloração de Brown e Brenn para a verificação de sua infiltração. Os autores observaram que o PMCC eliminou o *E.faecalis*, mesmo em grandes profundidades, enquanto o Calasept não eliminou o microorganismo de forma adequada nem sequer superficialmente.

FOREMAN & BARNES, em 1990, realizaram uma revisão a respeito do hidróxido de cálcio. Como principais propriedades bioquímicas desta droga, puderam ser notadas: (a) iniciação da mineralização; (b) mineralização induzida por ele; (c) formação de ponte de dentina; (d) capacidade de destruição bacteriana; (e) dissolução de tecido necrótico. Todos esses mecanismos de ação dependem diretamente do pH desta droga. O hidróxido de cálcio, como medicação intracanal, é utilizado sob a forma de pó acrescido ou não de um líquido, este que pode ser inerte, ou com ação específica. O Ca(OH)_2 é de grande valia na apicigênese e na apicificação, auxiliando na prevenção e tratamento da reabsorção radicular, ainda no reparo de perfurações de furca e de fraturas horizontais.

Em 1991, SJÖGREN et al. avaliaram, *in vivo*, a ação antibacteriana do hidróxido de cálcio como medicação intracanal. Utilizaram 30 dentes unirradiculares com lesão periapical, que eram quais eram submetidos a dois tipos de tratamentos:

grupo 1 – constituído por 12 dentes, que eram expostos ao hidróxido de cálcio por 10 minutos e, logo em seguida, eram lavados; grupo 2 – constituído por 18 dentes, exposto ao mesmo medicamento durante 7 dias; ambos os grupos eram monitorados microbiologicamente. A avaliação do crescimento bacteriano mostrou que o grupo 2 apresentou maior diminuição que o grupo 1. As bactérias mais comumente encontradas após o tratamento com o hidróxido de cálcio foram o *Fusobacterium*, os *Lactobacilus* e os *Bacteroides*, como anaeróbios estritos; como facultativo, somente o *Enterococcus faecalis* persistiu.

STUART et al., em 1991, compararam o efeito antibacteriano de Hidróxido de Cálcio (Ca(OH)_2), Paramonoclorofenol canforado (PMCC) e formocresol em canais radiculares de dentes extraídos contra microorganismos presentes em infecções pulpares. Canais de dentes uniradiculares foram instrumentados, autoclavados e então inoculados com *Streptococcus mutans*, *Actinomyces viscosus*, *Bacteroides gingivalis* ou *Bacteroides fragilis*. Um total de vinte dentes foi utilizado para cada teste, 10 tratados com o agente antisséptico e 10 sem tratamento algum. Após 1 hora de selamento, os canais foram analisados para o número de cepas viáveis comparado com o grupo sem medicação. Todos os agentes apresentaram atividade antibacteriana contra todas as bactérias. O Ca(OH)_2 apresentou uma maior atividade antimicrobiana que o PMCC e o formocresol para todos os microorganismos estudados, com exceção do *A. viscosus*.

Para avaliar a efetividade *in vitro* do hidróxido de cálcio e do PMC em bactérias anaeróbias dos canais radiculares, GEORGOPOULOU et al. (1993) utilizaram 30 cepas bacterianas isoladas clinicamente - as quais eram identificadas e inoculadas em tioglicolato para crescimento, que foi padronizado, segundo a

escala de MacFarland, na concentração de 3×10^8 /mL. Dessa amostra, retirava-se 0,2mL, que era inoculado em tubos contendo 10mL de solução aquosa de PMC ou hidróxido de cálcio. Após intervalos de 5, 15, 30 e 60 minutos, 0,01mL de cada uma das associações era transferido para um tubo contendo 0,9mL de tioglicolato e 0,1mL de Tween 80. Desta amostra, era realizada uma subcultura em placas de ágar-sangue, para verificar se ainda havia crescimento. Os resultados mostraram que o hidróxido de cálcio foi mais eficaz que o PMC contra as cepas anaeróbias, além de ser eficaz contra cepas responsáveis pela presença de sintomatologia clínica, como o *B. melaninogenicus*, o *P. gingivalis* e espécies de *Actinomyces*.

Foi realizado um estudo para avaliar se há alguma alteração no lipopolissacarídeo (LPS) da membrana bacteriana após o tratamento com hidróxido de cálcio, medido pela produção de Prostaglandina E_2 (PGE_2). Foram utilizados dois grupos: um era tratado com o hidróxido de cálcio em cultura de células de monócitos; o outro não recebia tratamento; ambos eram monitorados para detecção da presença da PGE_2 . Verificou-se a presença dessa linfocina somente nas células do grupo não tratado (SAFAVI & NICHOLS, 1994).

KONTAKIOTIS et al. (1995) realizaram um estudo, *in vitro*, para avaliar o mecanismo de ação do hidróxido de cálcio. Para a realização do estudo, os autores selecionaram quarenta microorganismos de isolados clínicos - 20 anaeróbios estritos e 20 facultativos. Após identificados, esses microorganismos eram diluídos (até 10^6 da amostra inicial) e inoculados em dois meios: 1) ágar-sangue - grupo controle; 2) ágar-sangue misturado a uma pasta de hidróxido de cálcio em um veículo, na proporção de 6:4. As placas eram colocadas em estufa por 72 horas de forma anaeróbia; transcorrido esse período, verificava-se o número de colônias

formadas. O grupo tratado apresentou redução do número de cepas, o que indica que a ação do pH no meio é importante para diminuir o desenvolvimento das bactérias.

Avaliando a atividade antibacteriana de alguns medicamentos - paramonoclorofenol canforado; paramonoclorofenol aquoso a 2%; paramonoclorofenol associado a Furacin; pasta de hidróxido de cálcio em água destilada associada a PMC a 2% - sobre bactérias anaeróbias estritas (*Porphyromonas endodontalis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Propionibacterium acnes* e *Bacteroides fragilis*), SIQUEIRA et al. (1996b) valeram-se do método de difusão em ágar. Os medicamentos que apresentaram melhores resultados foram o PMCC, o PMC associado a Furacin e o hidróxido de cálcio com o PMC a 2%. O PMC aquoso a 2% demonstrou uma baixa atividade antibacteriana, e o hidróxido de cálcio aquoso não manifestou qualquer ação bactericida.

MOLANDER et al., em 1999, avaliaram a eficácia do hidróxido de cálcio em duas situações, mantido por dois meses no interior do canal ou após sofrer um pré-tratamento com o IKI. Foram utilizados 50 dentes com polpas necrosadas e lesão periapical assintomática, os quais após abertos tinham uma amostra microbiológica retirada do seu interior. Em seguida os mesmos deveriam ser instrumentados e divididos em dois grupos. No primeiro uma medicação a base de Ca(OH)_2 era mantida por dois meses. No outro grupo, o dente era medicado inicialmente com IKI e, a partir deste instante, o dente deveria ser monitorado microbiologicamente, podendo ser obturado a partir do momento em que a cultura fosse negativa, caso contrário, uma pasta de Ca(OH)_2 deveria ser colocada e trocada periodicamente até a ausência de crescimento da amostra do conduto.

Obtiveram os autores 93% das amostras negativas. Também pôde ser observada uma redução do número de cepas, de mais de 150, para cerca de 43 após a aplicação do IKI, onde predominavam as facultativas, ao contrário da inicial que era de anaeróbias estritas. No grupo que foi mantido por dois meses com o Ca(OH)_2 , apenas 15 cepas, sendo 13 de facultativos puderam ser identificadas.

Em 1996, SIQUEIRA & UZEDA compararam os efeitos bactericidas do hidróxido de cálcio em solução salina e em PMCC em túbulos dentinários infectados com duas bactérias anaeróbias - *A.israelii* e *F.nucleatum* - e uma facultativa - *E.faecalis*. Cilindros de dentina foram imersos em meios de cultura com cada uma das espécies bacterianas por 21 dias a 37°C, até atingirem a concentração de 10^8 segundo a escala de MacFarland. Após esse período, os cilindros eram colocados em uma placa de Petri repleta de medicação e mantidos em condição anaeróbia. Em intervalos de 1 hora, 1 dia e 1 semana, 5 cilindros eram retirados, lavados e imersos por 40 dias em BHI, para verificação do crescimento. O hidróxido de cálcio associado ao PMCC foi eficaz contra as bactérias anaeróbias no período de 1 hora, e, contra o *E.faecalis*, após 1 dia. Já o hidróxido de cálcio sozinho não foi eficaz para eliminar o *E.faecalis* e o *F.nucleatum*, tendo eliminado o *A.israelii* após 1 dia.

BARBOSA et al., em 1997, compararam a ação bactericida do hidróxido de cálcio, gluconato de Clorexidine e PMCC in vitro. Após a seleção de 311 dentes unirradiculares com polpas necrosadas e presença radiográfica de lesão periapical, os mesmos eram abertos, instrumentados e medicados inicialmente com uma medicação a base de PMCC. Numa segunda sessão, realizava-se uma amostra microbiológica dos condutos. Os dentes eram então preenchidos com as seguintes medicações: a)hidróxido de cálcio em água destilada; b)PMCC; c)Clorexidine. Na

visita seguinte, avaliava-se a cultura do conduto e, caso a mesma se apresentasse negativa, procedia-se à obturação normal, caso contrário, repetia-se a colocação da medicação até que a cultura fosse negativa. Um outro experimento foi realizado pelo teste de difusão em Agar dos medicamentos contra *Porphyromonas endodontalis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Actinomyces israelii*, *Fusobacterium nucleatum*, *Propionibacterium acnes* e como facultativas seriam: *Actinomyces naeslundii*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* e *Pseudomonas aeruginosa* (aeróbia). Obtiveram os autores que na segunda sessão, 69,2% dos casos tratados revelaram-se culturas negativas, na sessão seguinte 73,3% no caso do hidróxido de cálcio e 77,8% nos casos de Clorexidine resultando numa diferença estatisticamente significativa entre os grupos. O Clorexidine apresentou ação contra todas as cepas, sem, contudo ser mais eficaz que o PMCC. O hidróxido de cálcio só apresentou atividade antibacteriana contra o *A. naeslundii* e o *A. israelii*.

PETTINI et al., em 1998, avaliaram a atividade antibacteriana de alguns medicamentos de origem endodôntica, o Stomidros e o Endodidrox a base de hidróxido de cálcio, o Stomylex, a base de óxido de cálcio e a Cresatina contra as seguintes cepas bacterianas: *Staphylococcus aureus*, *Bacteroides fragilis*, *Escherichia coli*, *Streptococcus viridans* e a *Candida albicans*. Para isso valeram-se do método de difusão em ágar, onde cada bactéria deveria ser semeada em seu meio específico e as medicações colocadas em cavidades realizadas neste. Obtiveram os autores um maior halo para o *S.aureus* e para o *S.viridians* da Cresatina, seguida do Stomidros, e por fim o Stomylex e o Endoidrox com comportamento bastante semelhantes. Já para a *E.coli* e para o *B.fragilis*, o maior

halo continuou para a Cresatina, porém não houve diferença entre os outros grupos, ainda, para a *C.albicans*, somente a Cresatina apresentou alguma ação.

SIQUEIRA & UZEDA, em 1998, avaliaram a influência de diferentes veículos na ação bactericida do hidróxido de cálcio através do método de difusão em ágar. Para isso valeram-se da pasta de hidróxido de cálcio misturada: **a.** com solução salina; **b.** com glicerina ou **c.** com PMCC e glicerina (1:1). Avaliando seu efeito contra duas bactérias anaeróbias estritas: *Porphyromonas endodontalis* e *Prevotella intermedia* e duas facultativas: *E.faecalis* e *Streptococcus sanguis*. Estas bactérias eram semeadas em placas nas quais deveriam ser realizadas cavidades que posteriormente eram preenchidas com as diferentes medicações. Após intervalos de 5 e 30 minutos, 1 hora, 1 e 3 dias alíquotas de 0,1mL eram retirados da região vizinha ao poço de medicação e levadas a um meio de cultura, onde eram mantidos por 1 semana verificando-se o crescimento por turbidez do meio. Puderam observar que a pasta de hidróxido de cálcio/PMCC e glicerina foram as mais eficazes contra todas as cepas testadas e que todas as bactérias sobreviveram na associação com salina pelos 3 dias.

Os mecanismos de ação antimicrobiana do hidróxido de cálcio e suas limitações têm sido objeto de estudos. Os principais mecanismos de eliminação das bactérias por essa droga são a lise da membrana celular citoplasmática - que, por meio da peroxidação lipídica destrói os fosfolipídios da membrana -; a desnaturação de proteínas - as enzimas bacterianas possuem um pH ótimo de ação, e a presença do Ca(OH)_2 , que é bastante alcalino, pode bloquear essa ação; a ação direta dos íons hidroxila - que agem como oxidantes de radicais livres - sobre as proteínas estruturais; os danos que o Ca(OH)_2 provoca no DNA - seja demembrando-o por

ação direta, seja pela ação de radicais livres, que impedem ou alteram sua replicação - obstruindo, desta forma o desenvolvimento normal da célula (SIQUEIRA & LOPES, 1999).

FAVA & SAUNDERS, em 1999, realizaram uma revisão das pastas de hidróxido de cálcio no que se refere ao tipo de veículo utilizado, estabelecendo uma classificação e as respectivas indicações clínicas. A utilização de diferentes veículos nos leva a algumas alterações das propriedades, especialmente no que se refere à velocidade e concentração da liberação de íons, como também seu poder antibacteriano. Os aquosos possuem como características uma liberação rápida de íons hidroxila e cálcio, sendo indicados no capeamento pulpar, o tratamento de dentes sem vitalidade, apicigênese e apicificação, pulpotomias de decíduos e permanentes, como medicação temporária em polpas vitais e ainda nos casos de reabsorção inflamatória interna. Os veículos viscosos e oleosos diferem dos aquosos no que diz respeito à liberação de íons, que é mais lenta, porém mais duradoura, estas pastas devem ser indicadas em casos de reabsorções interna e externa, bem como no tratamento das periodontites apicais, com forte ação antibacteriana. Segundo o autor, algumas outras formulações vêm sendo desenvolvidas no sentido de melhorar as propriedades do hidróxido de cálcio, em especial a radiopacidade com a adição de sulfato de bário ou iodofórmio, a antibacteriana com a adição de antibióticos específicos como é o caso do CFC.

HAAPASALO et al. (2000) avaliaram a inibição que a dentina provoca na atividade antibacteriana de alguns medicamentos. Foram testados o hidróxido de cálcio em solução saturada, o hipoclorito de sódio a 1% e a 0,5%, a clorexidina a 0,05% e o IKI na proporção de 2/4%. A dentina utilizada foi autoclavada e reduzida

a pó; uma parte dela era incubada com os medicamentos em tubos testes a 37°C por 24 horas ou 1 hora antes da adição da bactéria *Enterococcus faecalis*. Os resultados apontaram que o pó de dentina tem ação inibitória sobre todos os medicamentos. Ele inibiu por completo a ação do hidróxido de cálcio, e parcialmente a do IKI, inibindo muito pouco a ação dos demais.

2.2.3. CFC

O CFC é um produto desenvolvido por ANTONIAZZI & MARQUES[#] - é uma associação de 50% de hidróxido de cálcio, 25% de metronidazol e 25% de ciprofloxacina veiculados em polietilenoglicol 1000 (FAVA & SAUNDERS, 1999; SCELZA et al., 1999).

O ciprofloxacina possui como base a ciprofloxacina, que é um antibiótico sintético pertencente ao grupo dos quinolônicos. Ele age diretamente sobre a DNA-girase (enzima que inibe a replicação do material genético), o que possibilita ação bactericida sobre um grande número de bactérias. O ciprofloxacina é eficaz contra as bactérias dos grupos *Pseudomonas*, *Enterobacter* e *Staphylococcus*, mas é pouco efetivo em relação a cepas anaeróbicas. Já o metronidazol tem como principal indicação o tratamento de infecções por cepas anaeróbicas, como o *B.fragilis* e outros *Bacteroides*, bem como o *Clostridium* e outros cocos anaeróbios.

Para verificar a efetividade de algumas drogas às infecções com exsudato provenientes de abscessos dento-alveolares, LEWIS et al. (1988) isolaram e identificaram bactérias de 50 abscessos. Foram avaliadas amoxicilina 2µg,

[#] comunicação pessoal

cefaloridina 5µg, clindamicina 2µg, penicilina 2UI, metronidazol 5µg e eritromicina 15µg. As bactérias foram testadas tanto em culturas mistas como em culturas puras pelo método de difusão em ágar. Como controle, cepas de *S.aureus* e *Clostridium perfringens* foram submetidas ao mesmo procedimento. Se uma ou mais das cepas presentes fossem resistentes aos antibióticos testados o abscesso era considerado resistente; em caso contrário era considerado sensível. Todos os abscessos foram considerados sensíveis a alguma das drogas, porém nenhuma delas foi eficaz contra todos os inóculos. Uma minoria das cepas foi resistente aos antibióticos testados, com exceção do metronidazol, ao qual todos os facultativos manifestaram resistência.

ALACAM et al. (1993) avaliaram o efeito germicida do hidróxido de cálcio, do metronidazol e do hipoclorito de sódio (NaOCl) em determinadas cepas anaeróbias - *Bacteroides melaninogenius*, *Bacteroides oralis*, *Peptostreptococcus anaerobius* e *Veillonella alcalescens*. Também foi realizada uma comparação da citotoxicidade destes medicamentos em culturas de células. A atividade germicida foi avaliada pela ação das medicações - na concentração inibitória mínima pré-determinada - sobre as diferentes bactérias. Vinte pontas de papel absorvente foram imersas em um tubo contendo um caldo de cultura com, em média, 10^6 organismos/mL, e ali deixadas por 3 minutos. A seguir, esses mesmos foram transferidos para outros tubos que continham a associação do meio com a medicação, devendo ser mantidos por 5 (amostra A) ou 10 minutos (amostra B). Decorrido esse tempo, os cones foram transferidos para tubos com meio estéril e incubados por 72 horas, para verificar um possível crescimento. No que diz respeito à atividade antibacteriana, a medicação mais eficaz foi o NaOCl, que só não agiu

sobre o *V.alcalescens* na amostra A nos períodos de 48 e 72 horas. Já o hidróxido de cálcio não agiu também, nas amostras A, contra o *B.melaninogenicus* e o *P.anaerobius*. O metronidazol apresentou a mesma condição do NaOCl para o *B.melaninogenicus* (ineficácia da amostra A), além de não apresentar ação sobre o *V.alcalescens* em qualquer das amostras avaliadas.

Para demonstrar a ação bactericida de uma mistura de drogas antibacterianas contra bactérias de lesões cariosas e endodônticas, SATO et al. (1993) valeram-se de 6 tipos de drogas: a) ciprofloxacina (quinolona); b) metronidazol (derivados do nitromidazol); c) amoxicilina (aminopenicilina); d) cefaclor; e) cefroxadina (família dos cefenos); f) fosfomicina (fosfomicina); g) roxitamicina (um macrolídii) e h) minociclina. As drogas foram misturadas para que, em todos os casos, estivessem presentes o ciprofloxacina e o metronidazol em associação a uma das outras drogas, o que resultou em seis grupos. Amostras de bactérias de cárie e de polpas necrosadas foram retiradas e cultivadas em meio anaeróbio até apresentarem crescimento, quando eram transferidas para um meio estéril com a medicação escolhida. Os autores constataram que todas as associações foram eficazes contra as infecções presentes nas lesões. E também colocaram um cimento de fosfato tricálcico que continha as associações das drogas, o que comprovou ser suficiente para a esterilização das lesões cariosas *in situ*.

HOSHINO et al., em 1996, propuseram-se a avaliar a ação antimicrobiana de uma mistura de ciprofloxacina, metronidazol e minociclina, com e sem a adição de rifampicina em dentina cariosa e polpas infectadas. Para a mensuração, valeu-se do método da dispersão, em que uma determinada quantidade de bactéria deveria ser inoculada no meio enriquecedor puro ou em

associação a essas drogas, verificando seu crescimento. Como resultados pudemos obter que o metronidazol tem efeito sobre as bactérias, que aumenta à medida que a concentração da droga aumentava. Das outras drogas, nenhuma delas conseguiu eliminar todas as cepas, apesar de todas serem eficazes contra pelo menos uma delas.

Em 1997, SIQUEIRA & UZEDA realizaram uma comparação *in vitro* do metronidazol e da clorexidine com o rotineiramente utilizado hidróxido de cálcio em associação com diferentes veículos - PMCC, glicerina e água destilada - contra bactérias encontradas em canais radiculares infectados: anaeróbias estritas - *Porphyromonas endodontalis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Actinomyces israelii*, *Fusobacterium nucleatum*, *Propionibacterium acnes*, *Campylobacter rectus*; e facultativas - *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sanguis*, *Actinomyces viscosus*, *Streptococcus mutans*, (*Streptococcus salivarius*). Os autores utilizaram o teste de difusão em ágar, no qual a ação da medicação era analisada medindo-se o halo de inibição formado ao seu redor. Os melhores resultados foram obtidos pelo Ca(OH)_2 em associação ao PMCC – que foi efetivo contra todas as bactérias - e pela clorexidina - que também inibiu o crescimento de todas as bactérias, sem contudo ser mais eficaz que a primeira associação. Já o metronidazol agiu contra todos os anaeróbios criando, no *P.endodontalis*, um halo de inibição maior que o hidróxido de cálcio associado ao PMCC. O Ca(OH)_2 associado à água ou à glicerina não teve qualquer ação.

ROCHA et al., em 1998, realizaram a avaliação histológica e microbiológica de 30 lesões periapicais, além de determinar o perfil de sensibilidade a antimicrobianos de amostras de *Fusobacterium nucleatum* isoladas. Pode ser

observada a presença de 137 cepas diferentes, das quais 90 eram anaeróbias estritas e 40 facultativas. As espécies mais freqüentemente isoladas foram o *F.nucleatum*, bacilos gram-negativos e gram-positivos, *Peptostreptococcus sp.* e *Streptococcus mitis*. A análise histopatológica demonstrou prevalência de granuloma periapical. Já no que se refere à sensibilidade a antimicrobianos, das 16 diferentes cepas de *F.nucleatum* estudadas, todas apresentaram suscetibilidade à cefoxitina, tetraciclina e metronidazol: os percentuais de resistência à penicilina e à eritromicina foram 12,5 e 66,8 respectivamente.

Para estudar a resposta biológica de diferentes medicamentos intracanais implantados por meio de um carreador (Fibrinol®) em perfurações corticais realizadas em ambos os lados de mandíbulas de ratos, SCELZA et al., (1999) utilizaram 53 ratos Wistar (*Rattus norvergicus albinus*) avaliados em períodos de 1, 7, 14, 21, 28 e 60 dias. Os autores observaram que o paramonoclorofenol (2,00g) polietilenoglicol e rinossoro (PRP), em partes iguais (qsp 100mL); e o CFC apresentaram comportamento semelhante àquele do grupo controle, enquanto o Rifocort® e o fosfato de dexametasona (0,12g), paramonoclorofenol (2,00g) polietilenoglicol e rinossoro, em partes iguais (qsp 100mL) - NDP - mostraram um atraso no processo de reparação, bem como a presença de seqüestros ósseos e focos de microorganismos.

2.2.4. IODO IODETADO DE POTÁSSIO (IKI)

O iodo iodetado de potássio é uma substância - utilizada como medicação intracanal - pertencente à família dos haletos e cujo principal agente é o

iodo. Sua composição básica é de 2% de iodo e 4% de iodeto de potássio diluídos em glicerina.

Segundo PUCCI (1945) o iodo é um metalóide, obtido a partir de algas, que se apresenta como um cristal pesado, de cor azul escura, friável, de brilho metálico e odor característico. É pouco solúvel em água (1:2950, 1:5500), porém é solúvel em álcool (1:12,5), glicerina (1:80), clorofórmio, éter e soluções iodetadas. Suas principais propriedades são linfocíticas, antissépticas e antitóxicas. A atividade linfocítica é representada pela ativação da proliferação de células de defesa do sangue, bem como pelo aumento da velocidade de reparação, além de ser dotado de uma grande atividade de opsonização (aparentemente combinando-se com as bactérias). Sua capacidade antisséptica parece ser a ideal, pois só age sobre as bactérias, preservando o tecido conjuntivo e as células remanescentes. Seu mecanismo de ação deve-se ao seu poder desinfetante e antipútrido, que impede a proliferação bacteriana. Além disto, o iodo ainda tem a propriedade de depositar-se mais sobre tecidos necróticos que sobre tecidos normais, o que promove a diminuição de sua toxicidade, e apresenta uma ação tixotrópica, responsável pela absorção do exsudato formado.

Deve ser considerada também a sua precipitação após ser convertidos em iodeto, o que sempre ocorre. Antes dessa conversão, entretanto, o iodo combina-se com as células protéicas, o que lhe proporciona uma maior agressividade, ao mesmo tempo em que aumenta seu poder de penetração, tornando-o uma solução mais difundíveis e de fácil reabsorção. A presença do iodeto de potássio retarda essa precipitação do iodo e, conseqüentemente, favorece sua penetração, o que aumenta seu poder desinfetante. Em casos de periodontites

apicais, sua ação se dá por irritação sensorial - ele produz uma hiperemia artificial que estimula a reabsorção de toxinas, por isso só age quando em contato direto, devendo ser utilizado extravasando para a região periapical.

SPÅNGBERG et al., em 1979, avaliaram a citotoxicidade e o efeito da permeabilidade vascular de alguns medicamentos de uso endodôntico. Para isso selecionaram 145 ratos nos quais as diferentes soluções foram injetadas de maneira intradérmica em diversas concentrações. Os sítios onde eram injetadas as medicações eram retirados e preparados para análise histológica. As medicações utilizadas foram o IKI, o PMCC, o Formocresol, a Cresatina e o Fenol canforado (FC). Ao mesmo tempo, um outro experimento conduzido foi a ação direta sobre a cultura de células, verificando a relação entre a quantidade de células mortas e vivas. Quanto à permeabilidade vascular, o FC foi a medicação menos irritante, com comportamento semelhante ao obtido pelo IKI, seguidos pelo PMCC, Formocresol e Cresatina, nessa ordem. Em relação à citotoxicidade, o medicamento que precisa ser menos diluído para não ser irritante é o IKI, seguido do FC, sendo que os demais precisam ser muito mais diluídos.

Com o objetivo de verificar o efeito da medicação sobre a resposta inflamatória periapical e a reabsorção de tecido duro, LAMERS et al. (1980) avaliaram, em 72 dentes de macacos, a reação apical seguida da irrigação com NaOCl a 1%, seguida ou não de uma medicação com IKI. Os condutos eram selados com uma bolinha de algodão e Cavit e, após 2, 7 e 42 dias, os animais eram sacrificados. Os resultados não apontaram diferença significativa, no que concerne à reação inflamatória provocada, entre os grupos experimentais.

SAFAVI et al., em 1985, compararam a ação in vivo do hidróxido de cálcio com o Iodo Iodetado de potássio por meio de culturas de canais radiculares divididas da seguinte forma, uma cultura ao término do preparo (1) e uma outra cultura prévia à obturação (2). Caso a cultura 1, após uma semana apresentasse crescimento, repetia-se a medicação. Os condutos eram somente obturados no caso das culturas se apresentarem negativas. Os efeitos das duas drogas foram analisados, tendo o hidróxido de cálcio apresentado um número maior de culturas negativas que o IKI.

Em 1990, LARDINOIS & VREVEN compararam o poder bactericida do IKI, do glutaraldeído e do fenol canforado, com outras medicações prontas, como o Rocklès (dexametasona, fenol, formaldeído, guaiacol em 100g de excipiente), o Crésophene (dexametasona, hexaclorofenol, timol, paraclorofenol, cânfora em rosmarini q.s.p. 100g) e o Terra-Cortil (hidrocortisona, terramicina e polimixina B). Foram utilizadas 21 espécies bacterianas de diferentes origens – *Actinomyces odontolyticus*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacillus* sp., *Bacteroides assacharolyticus*, *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides intermedius*, *Bifidobacterium dentium*, *Candida albicans*, *Fusobacterium mortiferum*, *Klebsiella* sp., *Lactobacillus* sp., *Streptococcus salivarius*, *Capnocytophaga* sp., *Corynebacterium* sp., *Enterococcus faecalis*, *Leptotrichia*, *Peptococcus*, *Proteus morganella*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*. O crescimento foi avaliado pela inoculação de 0,1mL de bactéria com meio em 9,9mL da medicação, que foi testada pura e diluída 2, 10, 50, 75 e 100 vezes, mantendo constante o inóculo da cepa. De cada associação contendo 10mL retirava-se 0,1mL após 2 e após 5 minutos, levando-os para um meio com tioglicolato, que era incubado no

tempo e nas condições compatíveis para verificar a ocorrência de crescimento. Após 2 minutos de contato, o Rocklès 4®, o Cresophène®, o IKI e o fenol canforado foram eficazes contra todas as bactérias. Já o Terra-Cortil e o glutaraldeído a 2% não agiram contra qualquer cepa. No que diz respeito à diluição, somente o Cresophène permaneceu eficaz após a diluição a 1:100.

Foram testados medicamentos comumente utilizados - a) formocresol; b) cresatina; c) paramonoclorofenol canforado; d) eugenol; e) glutaraldeído; f) iodo iodetado de potássio - contra determinadas bactérias anaeróbias encontradas em canais infectados - a) *Peptococcus magnus*; b) *Propionibacterium acnes*; c) *Veillonella parvula*; d) *Lactobacillus fermentum*; e) *Porphyromonas gingivalis*; f) *Fusobacterium nucleatum*. O método utilizado foi a difusão em ágar. Os resultados apontaram que o formocresol promoveu maiores halos de inibição, seguido pelo PMCC e a cresatina, que apresentaram halos maiores que aqueles obtidos pelo o eugenol, cujo comportamento foi semelhante ao do IKI e do glutaraldeído (OHARA et al., 1993).

WALTIMO et al. (1999) verificaram a atividade antibacteriana de quatro desinfetantes, IKI, Ca(OH)_2 , acetato de clorexidine e hipoclorito de sódio - e de suas combinações - contra sete espécies de *C.albicans*. Para tanto, adotaram a seguinte metodologia: imergiam discos de papel absorvente em soluções dos fungos, transferindo-os para uma solução dos desinfetantes por diferentes períodos de tempo (30seg., 5min., 1h e 24h). Após esses períodos, os discos eram colocados para cultivo em um meio líquido. Os autores observaram que o hidróxido de cálcio não foi eficaz no combate ao *C.albicans*, enquanto o NaOCl e o IKI eliminaram o fungo após 30 segundos, e a clorexidina após 5 minutos. A combinação das

medicações provou ser eficaz na medida em que as medicações individuais também o fossem.

2.3. AVALIANDO A SENSIBILIDADE DOS MICROORGANISMOS ÀS DROGAS

RIBEIRO & SOARES, em 1993, descrevem o antibiograma como uma prova de sensibilidade aos antimicrobianos utilizada para alguns grupos de bactérias, em especial os microorganismos relacionados ao processo infeccioso. Estes testes são úteis não somente para orientar o tratamento clínico mas também para investigações epidemiológicas, testes de novas drogas e identificação preliminar de bactérias. Para a realização deste teste, alguns métodos foram propostos, entre eles o método de difusão em ágar, valendo-se de discos com as drogas e verificando, após incubação, o tamanho do halo de inibição promovido. Uma alternativa mais confiável seria pela diluição, onde concentrações variadas do antibiótico são inoculadas com uma determinada quantidade de microorganismos (10^4 a 10^5 Unidades Formadoras de Colônia/mL - CFU/mL), o qual é determinado pela comparação de turbidez com uma solução padrão. Neste caso deve ser determinada a Concentração Inibitória Mínima (CIM), que é a concentração mais baixa da droga que evita o crescimento após a incubação. Os autores ainda afirmam que freqüentemente a sensibilidade de uma bactéria isolada é julgada pela correlação dos valores da CIM com a concentração da droga nos líquidos orgânicos.

3. PROPOSIÇÃO

Após uma vasta revisão de literatura, percebe-se que ainda persiste a dúvida no que se refere à capacidade de eliminar microorganismos de diversos medicamentos utilizados como medicação intracanal. Diante disso, o presente trabalho tem por objetivo analisar a atividade antimicrobiana, através do método da diluição em caldo, de quatro medicações de uso endodôntico, o Iodofórmio, o Hidróxido de Cálcio, o CFC e o IKI, em dez diferentes concentrações, verificando a eficácia destas frente a quatro bactérias encontradas em canais radiculares de difícil tratamento, uma anaeróbia facultativa, o *Enterococcus faecalis*; duas aeróbias: *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*; e uma anaeróbia, o *Bacteroides fragilis*.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. MATERIAL

- Agitador de tubos – VORTEX (São Paulo – SP)
- Anaerobac 9cm de diâmetro X 1cm de altura - PROBAC do Brasil (São Paulo – SP)
- Autoclave - modelo 104 - FARBE (São Paulo – SP)
- Bactérias:
 - Enterococcus faecalis* (ATCC 29212)
 - Staphylococcus aureus* (ATCC 6538)
 - Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853)
 - Bacteroides fragilis* (ATCC 25285)
- Computador COMPAQ ® PRESARIO 7453
- Estufa para manutenção da temperatura a 37°C ambiente modelo 3155E - FANEM (São Paulo – SP)
- Estufa para secagem dos tubos 100°C - FARBE (São Paulo – SP)
- Escala de MacFarland (FIGURA 4.5.) - composição e equivalência da turbidez em relação ao número de unidades formadoras de colônias descritas no QUADRO 4.1

➤ Fluxo laminar modelo VLFS-12 - VECO (Campinas – SP)

➤ Folha pautada

QUADRO 4.1 Valores de correspondência da escala de MacFarland, em relação ao número e a composição do tubo e sua correspondência em número de Unidades Formadoras de Colônias por mL (CFU/mL)

Nº da escala	Composição	CFU/mL
0 (zero)	• 10mL de H ₂ SO ₄ 1%	0
½ (meio)	• 0,05mL de CaCl ₂ 1% • 9,95mL de H ₂ SO ₄ 1%	1,5 X 10 ⁶
1 (um)	• 0,10mL de CaCl ₂ 1% • 9,90mL de H ₂ SO ₄ 1%	3 X 10 ⁶
2 (dois)	• 0,20mL de CaCl ₂ 1% • 9,80mL de H ₂ SO ₄ 1%	6 X 10 ⁶
3 (três)	• 0,30mL de CaCl ₂ 1% • 9,70mL de H ₂ SO ₄ 1%	9 X 10 ⁶
4 (quatro)	• 0,40mL de CaCl ₂ 1% • 9,60mL de H ₂ SO ₄ 1%	12 X 10 ⁶
5 (cinco)	• 0,50mL de CaCl ₂ 1% • 9,50mL de H ₂ SO ₄ 1%	15 X 10 ⁶
6 (seis)	• 0,60mL de CaCl ₂ 1% • 9,40mL de H ₂ SO ₄ 1%	18 X 10 ⁶
7 (sete)	• 0,70mL de CaCl ₂ 1% • 9,30mL de H ₂ SO ₄ 1%	21 X 10 ⁶
8 (oito)	• 0,80mL de CaCl ₂ 1% • 9,20mL de H ₂ SO ₄ 1%	24 X 10 ⁶
9 (nove)	• 0,90mL de CaCl ₂ 1% • 9,10mL de H ₂ SO ₄ 1%	27 X 10 ⁶
10 (dez)	• 1,00mL de CaCl ₂ 1% • 9,00mL de H ₂ SO ₄ 1%	30 X 10 ⁶

➤ Jarras de Anaerobiose (FIGURA 4.4.) - PROBAC do Brasil (São Paulo – SP)

➤ Meios de cultura: Reinforced Clostridium Medium* - OXOID CM 149
BHI (Brain Heart Infusion) 0037-17* – DIFCO
Manitol*
Ágar Nutriente*

* Todos os meios foram manipulados de acordo com as instruções do fabricante

- **Medicações: Iodofórmio***
 - Hidróxido de cálcio***
 - CFC** (50% Hidróxido de cálcio, 25% Metronidazol e 25% Ciprofloxacina)*
 - IKI** (iodo 2% e iodeto de potássio 4%)*
- * Todas as medicações foram utilizadas nas concentrações de 125µg/mL, 250µg/mL, 500µg/mL, 1000µg/mL (1mg/mL), 2mg/mL, 4mg/mL, 8mg/mL, 16mg/mL, 32mg/mL e 64mg/mL, com diluição realizada em um veículo inerte, a glicerina, constituindo 20mL de cada uma - Farmácia "O Artífice" (São Paulo – SP).
- Padrão de turbidez, obtido pela adição de 0,5mL de solução de BaCl₂·2H₂O (0,048m) em 99,5mL de H₂SO₄ 0,36N.
- Pipeta de 0,1mL (FIGURA 4.3.)
- Pipeta de 0,2mL ISO ALMITEL (FIGURA 4.4.)
- Pipeta de 0,5mL ISO ALMITEL (FIGURA 4.4.)
- Placas de Petri de 10cm de diâmetro x 1,5cm de altura - VIDROLABOR (São Paulo – SP)
- Serra de diamante
- Software GMC (Prof. Geraldo Maia Campos), versão 7.7 para análise estatística
- Tubos de ensaio com rosca, 10cm de altura X 1 cm de diâmetro - VIDROLABOR (São Paulo – SP)

4.2 MÉTODOS

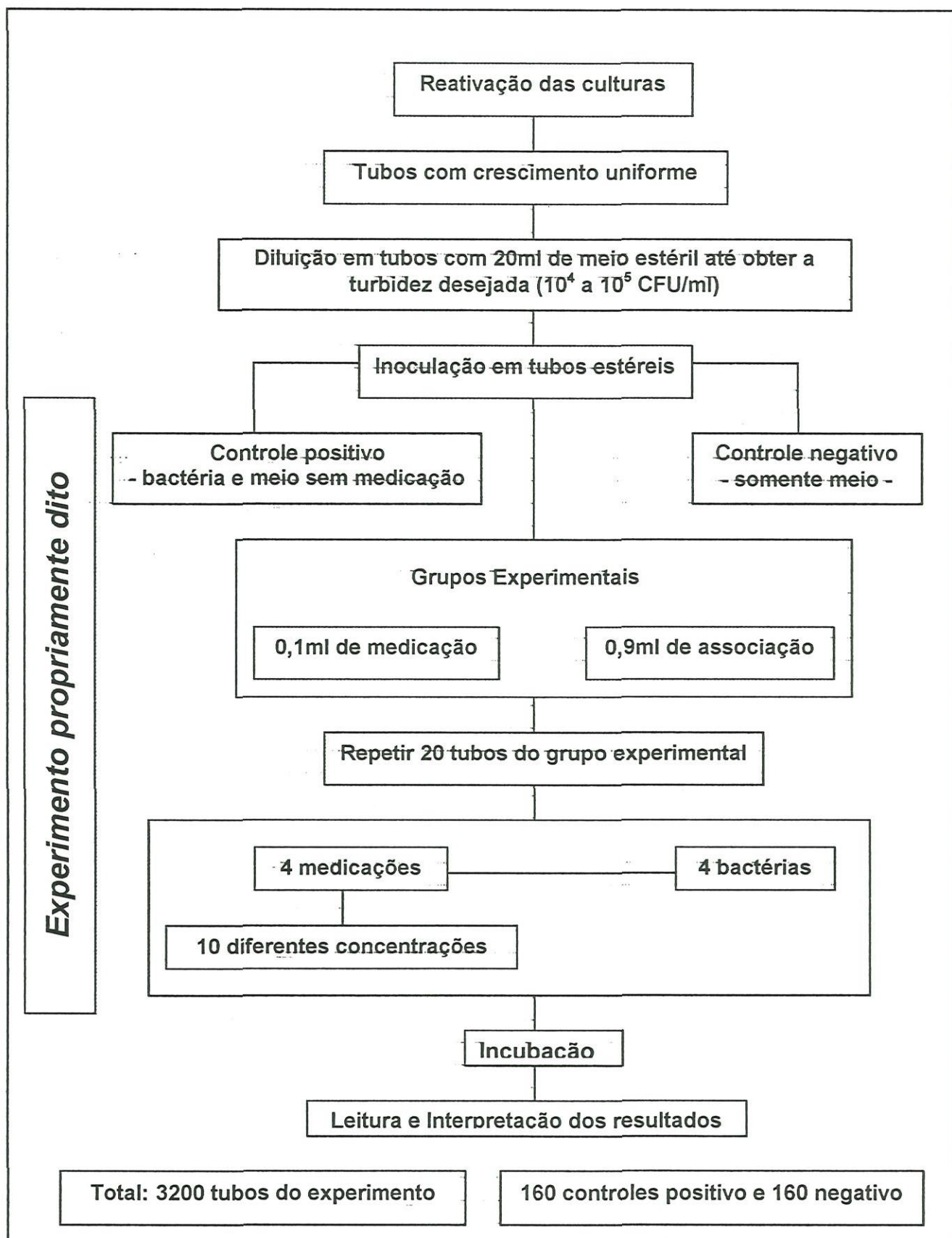
A seqüência de eventos do procedimento realizados está descrita no QUADRO 4.2. Das quatro cepas bacterianas selecionadas, as duas aeróbias - *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* - e a facultativa - *Enterococcus faecalis* - foram recebidas do fornecedor em meio de cultura sólido inclinado - ágar nutriente - (FIGURA 4.1.), acondicionado em um tubo de ensaio. As mesmas apresentavam um crescimento uniforme.

Já o *Bacteroides fragilis*, apresentava-se liofilizado, estando dentro de uma ampola, devendo ser reativado. Todos os procedimentos a serem realizados com os microorganismos foram dentro de um fluxo laminar para que minimizássemos o problema da contaminação cruzada.



FIGURA 4.1. – plano inclinado em que as bactérias são inicialmente encontradas.

QUADRO 4.2. Representação esquemática da sequência de eventos relativa a execução da parte experimental desta investigação.



fabricante. As jarras contendo os tubos foram seladas e assim permaneciam por 48 horas em estufa, para avaliação de seu crescimento.

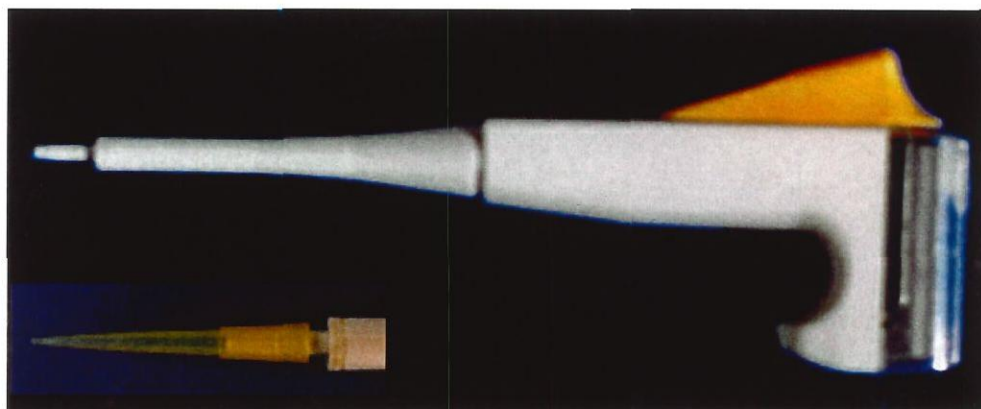


FIGURA 4.2. Pipeta de 0,1mL. Ponteira encaixada (detalhe)

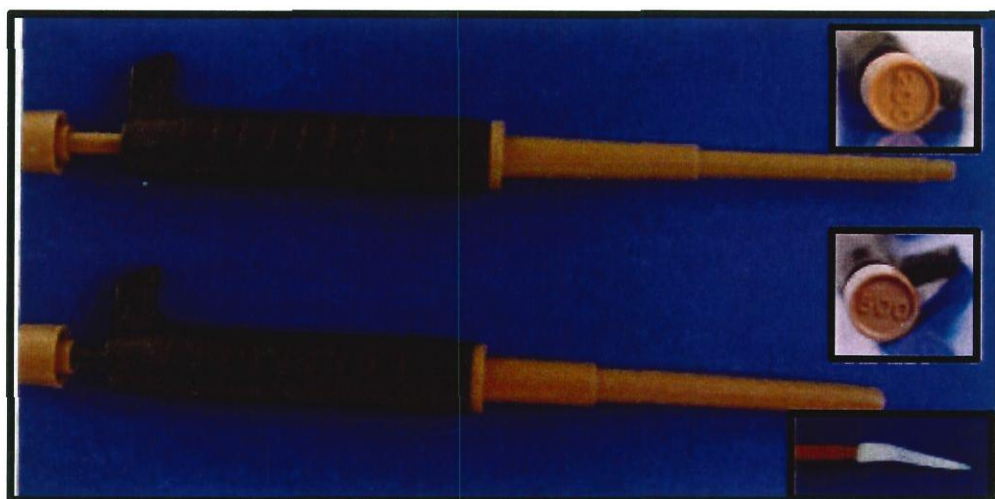


FIGURA 4.3. Pipetas de 0,2 e 0,5mL (200 e 500µl). Ponteira encaixada (detalhe)

Findo este período da primeira incubação, confirmava-se o crescimento bacteriano por meio da turbidez destes meios. Além disso, a presença de depósito no fundo do tubo era fator determinante no crescimento - esse depósito era maior nos tubos que continham os inóculos de *S.aureus* e do *E.faecalis*, e menor no caso do *B.fragilis*. Já na avaliação do crescimento da *P.aeruginosa*, além da turbidez do tubo, a mesma deveria apresentar uma camada de película sobrenadante de cor

esverdeada ou acastanhada. Deveria ser confirmada a identificação das cepas, procedendo-se ao experimento propriamente dito.

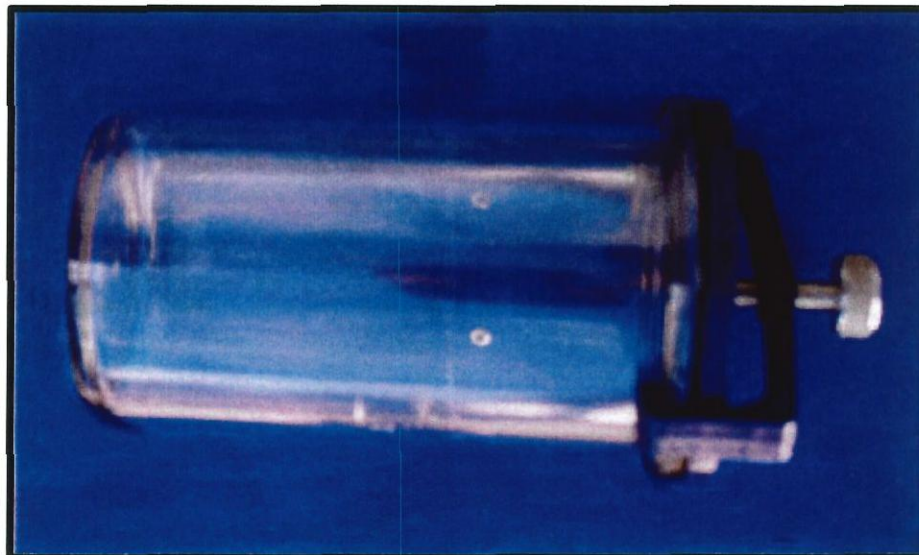


FIGURA 4.4. Jarra de Anaerobiose

4.2.2 GRUPOS EXPERIMENTAIS

A determinação dos grupos experimentais era realizada mediante a atribuição de três números: o primeiro número corresponde ao da bactéria testada, conforme o QUADRO 4.3; o segundo número identifica o tipo de medicação (QUADRO 4.4), e o terceiro número corresponde à concentração da medicação, conforme o QUADRO 4.5. Assim sendo, um tubo com a identificação 1.1.1 correspondia à bactéria *Enterococcus faecalis*, com o iodofórmio na concentração de 125µg/mL.

QUADRO 4.3 Número dado às bactérias, segundo a divisão proposta.

Número no tubo	Bactéria
1	<i>Enterococcus faecalis</i>
2	<i>Staphylococcus aureus</i>
3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
4	<i>Bacteroides fragilis</i>

QUADRO 4.4 Número dado às medicações segundo a divisão proposta

Número no tubo	Medicação
1	Iodoformio
2	Hidróxido de Cálcio
3	CFC
4	IKI

QUADRO 4.5 Número dado às concentrações de medicação.

Número no tubo	Concentração da medicação
1	125 µg/mL ou 0,125 mg/mL
2	250 µg/mL ou 0,25 mg/mL
3	500 µg/mL ou 0,5 mg/mL
4	1000 µg/mL ou 1 mg/mL
5	2000 µg/mL ou 2mg/mL
6	4000 µg/mL ou 4 mg/mL
7	8000 µg/mL ou 8 mg/mL
8	16000 µg/mL ou 16 mg/mL
9	32000 µg/mL ou 32 mg/mL
10	64000 µg/mL ou 64 mg/mL

4.2.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Um dos tubos que deveria ser utilizado no estudo permaneceu estocado em geladeira a 4°C e o outro seguia no experimento, sendo repicado a cada 24 horas. No caso do *B.fragilis*, o tubo permanecerá na jarra enquanto estiver na geladeira, para manutenção das condições de anaerobiose, enquanto o repique dos tubos a serem estudados será realizado a cada 48 horas. Na necessidade de utilização de um desses grupos estocados, os mesmos deveriam ser novamente inoculados.

Realizou-se a repicagem inicial retirando-se 0,2mL dos tubos com crescimento e distribuindo-os por outros dez tubos que eram incubados com o meio estéril. Esse processo foi repetido a cada 24 horas, repicando-se os tubos que não eram utilizados no período; aqueles que não eram utilizados serão desprezados, para garantir que a cultura estivesse sempre bem ativa.

4.2.3.1 PREPARO DAS CULTURAS COM A MEDICAÇÃO

Com pelo menos 5 a 10 tubos de ensaio com crescimento de 24 horas, passaremos ao experimento propriamente dito. Inicialmente deveriam ser separados 20 tubos de ensaio com aproximadamente 20mL de meio previamente esterilizado em autoclave. De cada um desses tubos retirava-se 1mL, que era incubado para atuar como controle negativo (somente meio de cultura).

Utilizando um dos tubos com o crescimento inicial, amostras de 0,1mL , com o auxílio de pipetas (FIG. 4.2 e 4.3.) eram retiradas e inoculadas nos tubos com meio estéril repetidas vezes, até atingir o padrão de turbidez desejada (aproximadamente 10^4 a 10^5 bactérias por mililitro). A cada 0,1mL colocado, o tubo era homogeneizado no agitador de tubos. Desta associação foi transferido 1mL para um tubo vazio, que serviu como controle positivo (associação de bactéria+ meio sem medicação).

Ainda deste tubo inicial com crescimento, porções de 0,9mL eram distribuídas entre os 20 tubos do grupo a ser tratado; o 0,1mL restante foi preenchido com o fármaco nas mais diferentes concentrações. Assim, nos grupos tratados, tínhamos 0,9mL de uma associação de bactéria e meio em uma concentração padrão, e 0,1mL do fármaco empregado nas mais diferentes

concentrações. Para testar cada concentração de determinada medicação deveria ser utilizado o mesmo tubo da associação diluída, possibilitando padronizar a concentração de bactérias e, conseqüentemente, minimizar o erro.

Desta forma, tínhamos 20 tubos para cada uma das 10 concentrações de medicação. Considerando que são 4 as medicações, e 4 as bactérias – todas elas testadas entre si –, serão utilizados 3200 tubos como grupo tratado, além dos 160 tubos de controle positivo e dos 160 tubos de controle negativo.

- **Bactérias aeróbias e bactéria facultativa**

No caso das bactérias aeróbias (*S.aureus* e *P.aeruginosa*) e da bactéria facultativa (*E.faecalis*), o meio utilizado foi o BHI durante todo o experimento, sendo a incubação realizada em estufa a 37°C por 24 horas; ao término deste período o crescimento foi verificado.

- **Bactéria anaeróbia**

Para o *B.fragilis*, os tubos de ensaio com as associações de bactérias e medicações eram acondicionados em jarras de anaerobiose, nas quais foi promovida a ausência de oxigênio pela utilização do “Anaerobac”, de acordo com as normas do fabricante. A anaerobiose é assegurada pela alteração da cor de um dos reagentes no próprio dispositivo – que mudava de azul para branca na ausência de oxigênio –, voltando à primeira condição de acordo com a presença desse gás. As jarras deveriam então permanecer seladas em estufa por 48 horas para crescimento; ao término deste período comportamento das associações nos tubos de ensaio foi verificado.

4.2.3.2 AVALIAÇÃO E LEITURA

O crescimento bacteriano foi classificado pela comparação do grau de turbidez dos tubos - através da Escala de MacFarland (FIG. 4.5.) - após a incubação. Essa escala consiste de uma associação de fármacos que representa a turbidez relativa à diversas concentrações bacterianas.



FIGURA 4.5. Escala de Mac Farland – Valores de 0(zero) a 10 (dez)

Desta forma os tubos, após incubados, eram colocados entre dois tubos de números diferentes e subseqüentes – 1 e 2, por exemplo - da escala de MacFarland contra uma folha pautada, para que fosse possível verificar, por comparação, o grau de turbidez da amostra (FIG. 4.6.), pela visualização das linhas através dos tubos, estabelecendo o grau de nitidez por comparação.

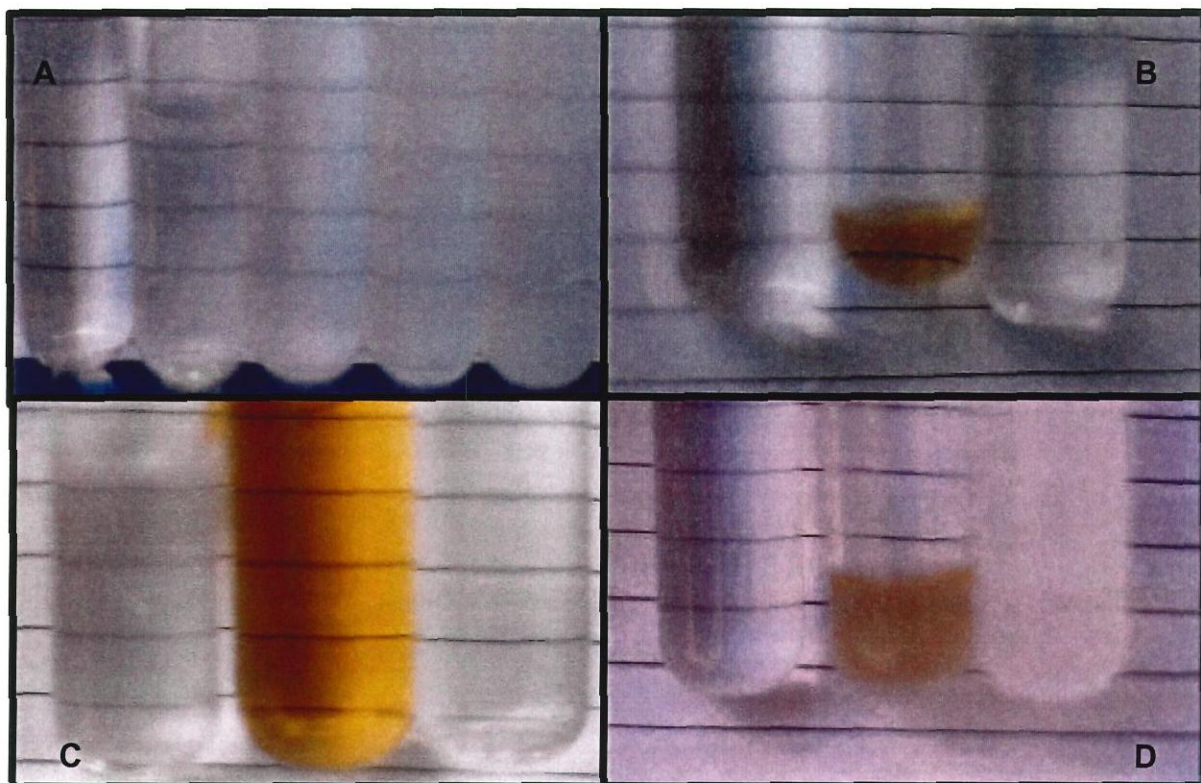


FIGURA 4.6. Avaliação e leitura – comparação dos crescimentos apresentados pelos tubos com a turbidez da escala de Mac Farland. **A.** Escala de Mac Farland. **B, C e D.** leituras de diferentes valores contra uma folha pautada pelo como as linhas da folha pautada são enxergadas.

Um outro fator avaliado foi a presença de depósito ou de película sobrenadante, os quais seriam típicos das bactérias, conforme descrito anteriormente (FIG. 4.7.).

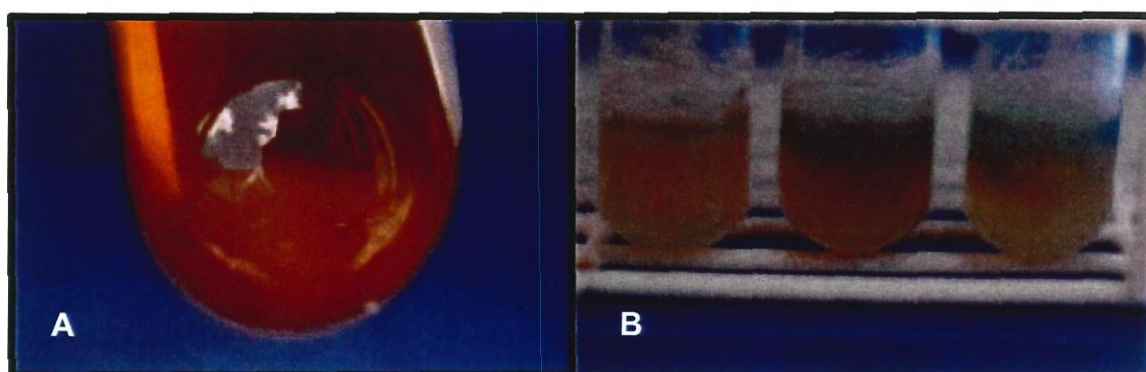


FIGURA 4.7. Demonstração da presença de depósito (A) e película (B)

4.2.3.3 CONFIRMAÇÃO

Para assegurar os resultados, as mais baixas concentrações de medicação que atingirem escore 0 (zero) segundo a escala eram submetidas a uma nova cultura. Esta deveria ser realizada através de semeadura com a alça de platina do seu conteúdo em placas de ágar nutriente - no caso das cepas aeróbias ou facultativas - deixando-as crescer pelas mesmas 24 horas; no caso do *B.fragilis*, 0,1mL da amostra final será colocado em tubos de ensaio com aproximadamente 3mL de meio estéril de RCM. Estes procedimentos têm como objetivo confirmar que realmente não houve crescimento bacteriano.

As medicações que, mesmo nas maiores concentrações, não apresentarem ação sobre as bactérias (considerando-se o valor zero da escala) eram consideradas ineficazes contra aquelas bactérias.

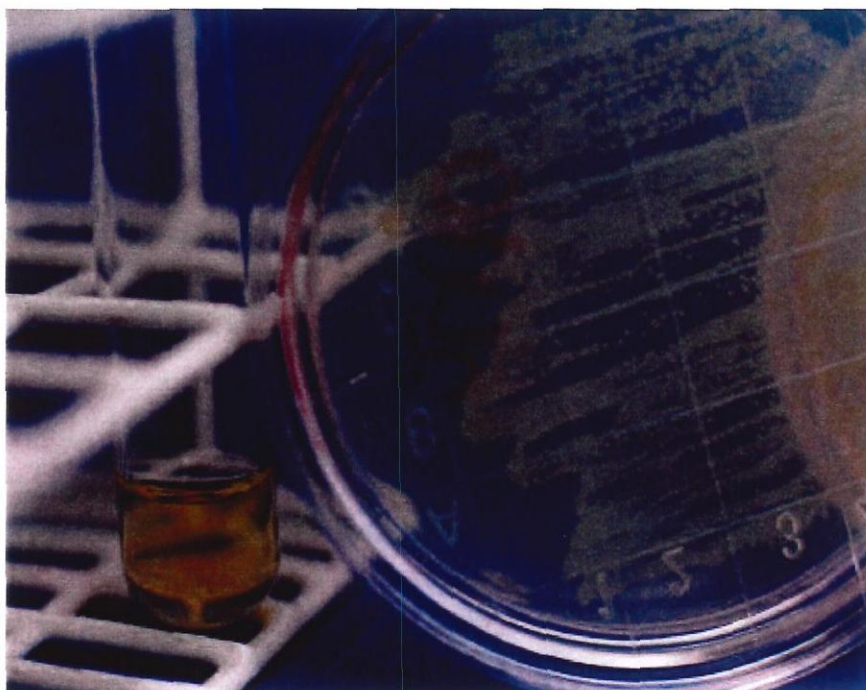


FIGURA 4.8. Confirmação da ausência de crescimento pela Realização de Cultura em Placa de Petri

4.2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram colocados em tabelas, seus valores individuais e suas médias foram analisados e comparados estatisticamente, adotando-se como grau de significância estabelecendo como comparação a significância ao nível de 5%. As comparações foram realizadas entre as diferentes concentrações da droga contra um mesmo microorganismo, e também entre as diferentes drogas numa mesma concentração. Assim, cada uma dessas comparações foi submetida a análise da distribuição dos dados e a conseqüente análise estatística.

5 RESULTADOS

Todos os tubos que continham a associação bactéria e meio receberam o fármaco. Após o término do período de incubação esses tubos foram avaliados, e seus valores foram estabelecidos em conformidade à escala de MacFarland. A seguir, estabeleceu-se uma média aritmética de todos os valores obtidos para cada droga - em todas as suas concentrações - contra cada uma das cepas. Os valores individuais dessas drogas e concentrações, e sua eficácia sobre as diferentes cepas, constam do APÊNDICE.

5.1 *Enterococcus faecalis*

As médias dos valores encontrados contra o *E.faecalis* pela ação de diferentes concentrações dos fármacos – segundo a escala de MacFarland - estão representadas na TAB. 5.1.e no GRÁF. 5.1. Observando-a, é possível verificar que o iodofórmio, o hidróxido de cálcio e o IKI apresentaram comportamento bastante semelhante: nas menores concentrações seu efeito foi fraco, mas melhorou progressivamente com o aumento da quantidade de medicamento utilizada. Já o CFC apresentou boa ação antibacteriana desde as menores concentrações.

TABELA 5.1. Médias dos valores encontrados contra o *Enterococcus faecalis*, após a incubação, pela ação de diferentes concentrações dos fármacos, segundo a Escala de MacFarland

Fármaco				
Concentração	Iodofórmio	Ca(OH) ₂	CFC	IKI
(1) 0,125 mg/mL	3,25 (1,25)	3,45 (1,36)	0,2 (0,30)	2,1 (0,78)
(2) 0,25 mg/mL	2,15 (1,17)	2,6 (0,60)	0,25 (0,34)	1,2 (0,70)
(3) 0,5 mg/mL	1,375 (0,92)	1,75 (0,91)	0,175 (0,25)	0,975 (0,60)
(4) 1 mg/mL	1,275 (0,79)	2,05 (1,00)	0,2 (0,25)	0,825 (0,57)
(5) 2mg/mL	1,375 (0,87)	1,6 (0,75)	0,175 (0,24)	0,4 (0,35)
(6) 4 mg/mL	1,75 (0,90)	1,65 (0,91)	0,075 (0,18)	0,525 (0,34)
(7) 8mg/mL	1,3 (0,75)	1,45 (0,72)	0,275 (0,30)	0,425 (0,37)
(8) 16 mg/mL	1,2 (0,63)	0,525 (0,55)	0,35 (0,32)	0,375 (0,36)
(9) 32 mg/mL	0,625 (0,32)	0,125 (0,45)	0,175 (0,33)	0,275 (0,34)
(10) 64 mg/mL	0,55 (0,36)	0,1 (0,26)	0,2 (0,25)	0,2 (0,25)

Quanto à existência de depósito de fármaco no fundo do tubo, foi possível constatar-la a partir da oitava concentração de iodofórmio, com aumento progressivo até a última amostra. O hidróxido de cálcio, por sua vez, começou a apresentar

depósito - ainda que pequeno - na concentração de 8mg/mL, com aumento progressivo. Já no IKI – que é uma medicação líquida - não se observou qualquer depósito, enquanto que o CFC apresentou grande quantidade de depósito no fundo do tubo a partir da concentração de 16mg/mL.

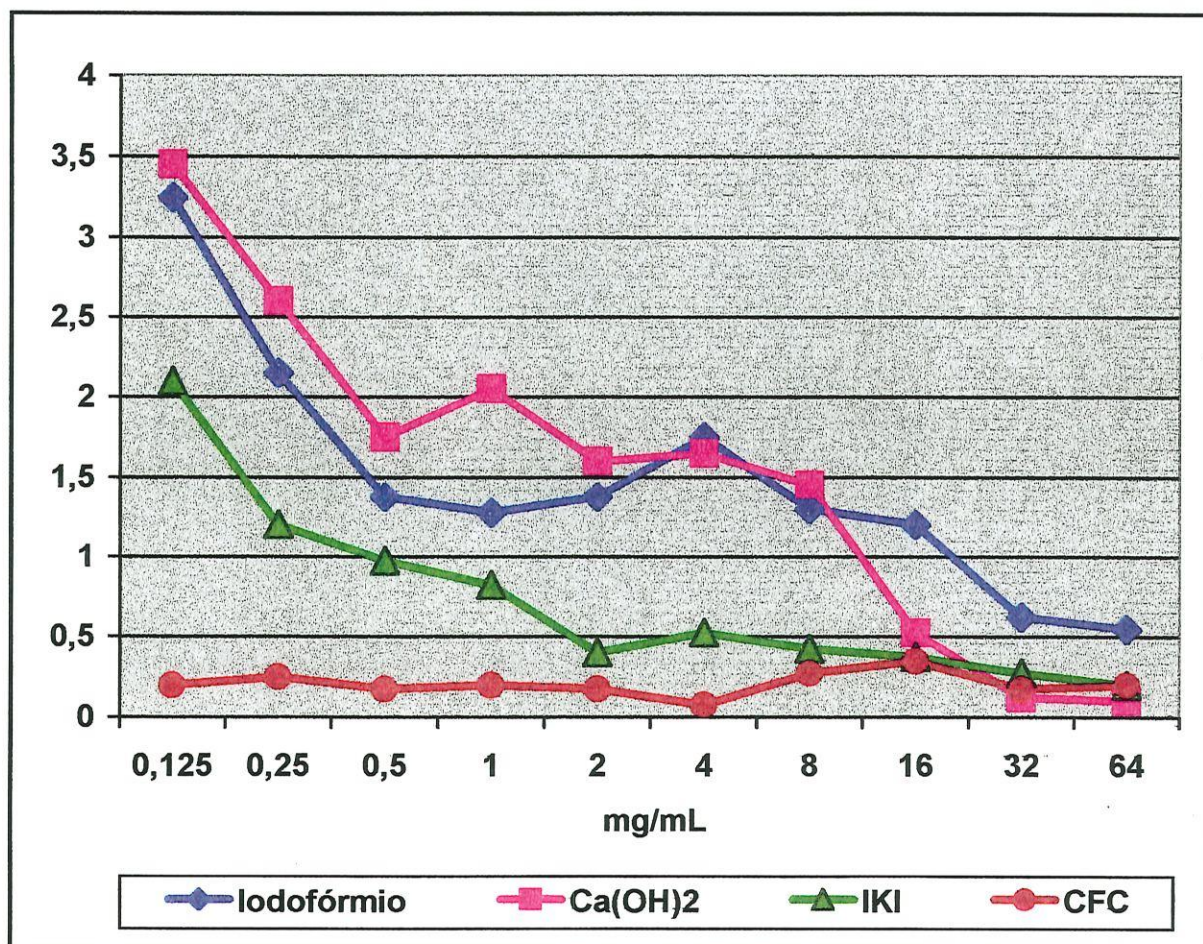


GRÁFICO 5.1.- Médias dos valores encontrados contra o *Enterococcus faecalis*, após a incubação, pela ação de diferentes concentrações dos fármacos, segundo a Escala de MacFarland

As amostras testadas foram analisadas estatisticamente comparando os diferentes fármacos nas mesmas concentrações. As TAB. 5.1.1. a 5.1.10. relatam os resultados dessa análise. As distribuições amostrais dos dados (ANEXOS 1 a 10),

revelam uma distribuição normal para as concentrações 0,125mg/mL, 0,250mg/mL, 4mg/mL, 8mg/mL e 64mg/mL, onde foi realizado o teste t de Student. Para as demais concentrações foi realizado o teste de Kruskal-Wallis em função da distribuição das amostras revelar ser não-normal.

TABELA 5.1.1. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 0,125 mg/mL, sobre o *Enterococcus faecalis*

TESTE T						
Fármacos	Valor calculado de t	Graus de liberdade	Média da Amostra		Prob de igualdade	significância
			1	2		
Iodo x Ca(OH)2	0,48	38	3,25	3,45	63,58%	Ns
Iodo x CFC	10,60	38	3,25	0,20	0,00%	1%
Iodo x IKI	3,48	38	3,25	2,10	0,16%	1%
Ca(OH)2 x CFC	10,46	38	3,45	0,20	0,00%	1%
Ca(OH)2 x IKI	3,85	38	3,45	2,10	0,08%	1%
CFC x IKI	10,08	38	0,20	2,10	0,00%	1%

TABELA 5.1.2. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 0,25mg/mL, sobre o *Enterococcus faecalis*

TESTE T						
Fármacos	Valor calculado de t	Graus de liberdade	Média da Amostra		Prob de igualdade	significância
			1	2		
Iodo x Ca(OH)2	1,53	38	2,15	2,60	13,06	Ns
Iodo x CFC	6,96	38	2,15	0,25	0,00%	1%
Iodo x IKI	3,12	38	2,15	1,20	0,38%	1%
Ca(OH)2 x CFC	15,23	38	2,60	0,25	0,00%	1%
Ca(OH)2 x IKI	6,82	38	2,60	1,20	0,00%	1%
CFC x IKI	5,47	38	0,25	1,20	0,00%	1%

TABELA 5.1.3. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 0,50mg/mL, sobre o *Enterococcus faecalis*

Fármacos	Significância Estatística
Iodo x Ca(OH) ₂	0,1%
Iodo x CFC	5%
Iodo x IKI	0,1%
Ca(OH) ₂ x CFC	0,1%
Ca(OH) ₂ x IKI	5%
CFC x IKI	Ns

Valor de Kruskal-Wallis calculado : 46,1769

Valor de X^2 para 3 graus de liberdade : 46,18

Probabilidade de H_0 para esse valor : 0,00%

Significante ao nível de 1% ($\alpha=0,01$)

TABELA 5.1.4. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 1mg/mL, sobre o *Enterococcus faecalis*

Fármacos	Significância Estatística
Iodo x Ca(OH) ₂	0,1%
Iodo x CFC	0,1%
Iodo x IKI	0,1%
Ca(OH) ₂ x CFC	1%
Ca(OH) ₂ x IKI	1%
CFC x IKI	0,1%

Valor de Kruskal-Wallis calculado : 51,3923

Valor de X^2 para 3 graus de liberdade : 51,39

Probabilidade de H_0 para esse valor : 0,00%

Significante ao nível de 1% ($\alpha=0,01$)

TABELA 5.1.5. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 2mg/mL, sobre o *Enterococcus faecalis*

Fármacos	Significância Estatística
Iodo x Ca(OH) ₂	Ns
Iodo x CFC	0,1%
Iodo x IKI	0,1%
Ca(OH) ₂ x CFC	0,1%
Ca(OH) ₂ x IKI	0,1%
CFC x IKI	5%

Valor de Kruskal-Wallis calculado : 54,5830
 Valor de X^2 para 3 graus de liberdade : 54,58
 Probabilidade de H_0 para esse valor : 0,00%
 Significante ao nível de 1% ($\alpha=0,01$)

TABELA 5.1.6. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 4mg/mL, sobre o *Enterococcus faecalis*

TESTE T						
Fármacos	Valor calculado de t	Graus de liberdade	Média da Amostra		Prob de igualdade	significância
			1	2		
Iodo x Ca(OH) ₂	0,35	38	1,75	1,65	72,72%	Ns
Iodo x CFC	8,19	38	1,75	0,08	0,00%	1%
Iodo x IKI	5,71	38	1,75	0,52	0,00%	1%
Ca(OH) ₂ x CFC	7,52	38	1,65	0,08	0,00%	1%
Ca(OH) ₂ x IKI	5,13	38	1,65	0,52	0,00%	1%
CFC x IKI	5,17	38	0,08	0,52	0,00%	1%

TABELA 5.1.7. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 8mg/mL, sobre o *Enterococcus faecalis*

TESTE T						
Fármacos	Valor calculado de t	Graus de liberdade	Média da Amostra		Prob de igualdade	significância
			1	2		
Iodo x Ca(OH) ₂	0,64	38	1,30	1,45	53,06%	Ns
Iodo x CFC	5,67	38	1,30	0,28	0,00%	1%
Iodo x IKI	4,67	38	1,30	0,43	0,02%	1%
Ca(OH) ₂ x CFC	6,70	38	1,45	0,28	0,00%	1%
Ca(OH) ₂ x IKI	5,63	38	1,45	0,43	0,00%	1%
CFC x IKI	1,40	38	0,28	0,43	16,70%	Ns

TABELA 5.1.8. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 16mg/mL, sobre o *Enterococcus faecalis*

Fármacos	Significância Estatística
Iodo x Ca(OH) ₂	0,1%
Iodo x CFC	0,1%
Iodo x IKI	0,1%
Ca(OH) ₂ x CFC	Ns
Ca(OH) ₂ x IKI	Ns
CFC x IKI	Ns

Valor de Kruskal-Wallis calculado : 26,5043

Valor de X^2 para 3 graus de liberdade : 26,50

Probabilidade de H_0 para esse valor : 0,00%

Significante ao nível de 1% ($\alpha=0,01$)

TABELA 5.1.9. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 32mg/mL, sobre o *Enterococcus faecalis*

Fármacos	Significância Estatística
Iodo x Ca(OH) ₂	0,1%
Iodo x CFC	5%
Iodo x IKI	5%
Ca(OH) ₂ x CFC	0,1%
Ca(OH) ₂ x IKI	0,1%
CFC x IKI	Ns

Valor de Kruskal-Wallis calculado : 29,2608

Valor de X^2 para 3 graus de liberdade : 29,26

Probabilidade de H_0 para esse valor : 0,00%

Significante ao nível de 1% ($\alpha=0,01$)

TABELA 5.1.10. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 64mg/mL, sobre o *Enterococcus faecalis*

TESTE T

Fármacos	Valor calculado de t	Graus de liberdade	Média da Amostra		Prob de igualdade	Significância
			1	2		
Iodo x Ca(OH) ₂	4,53	38	0,55	0,10	0,02%	1%
Iodo x CFC	3,57	38	0,55	0,20	0,14%	1%
Iodo x IKI	3,57	38	0,55	0,20	0,02%	1%
Ca(OH) ₂ x CFC	1,23	38	0,10	0,20	22,32%	Ns
Ca(OH) ₂ x IKI	1,23	38	0,10	0,20	22,32%	Ns
CFC x IKI	0,00	38	0,20	0,20	22,32%	Ns

5.2 *Staphylococcus aureus*

As médias dos valores encontrados contra o *S.aureus* pela ação de diferentes concentrações dos fármacos - segundo a escala de MacFarland - estão representadas na TAB. 5.2. e no GRAF. 5.2. A análise dessa tabela demonstra que o CFC foi o fármaco que menores valores apresentou – em qualquer das concentrações adotadas – e que o IKI não manifestou ação contra esse microorganismo específico.

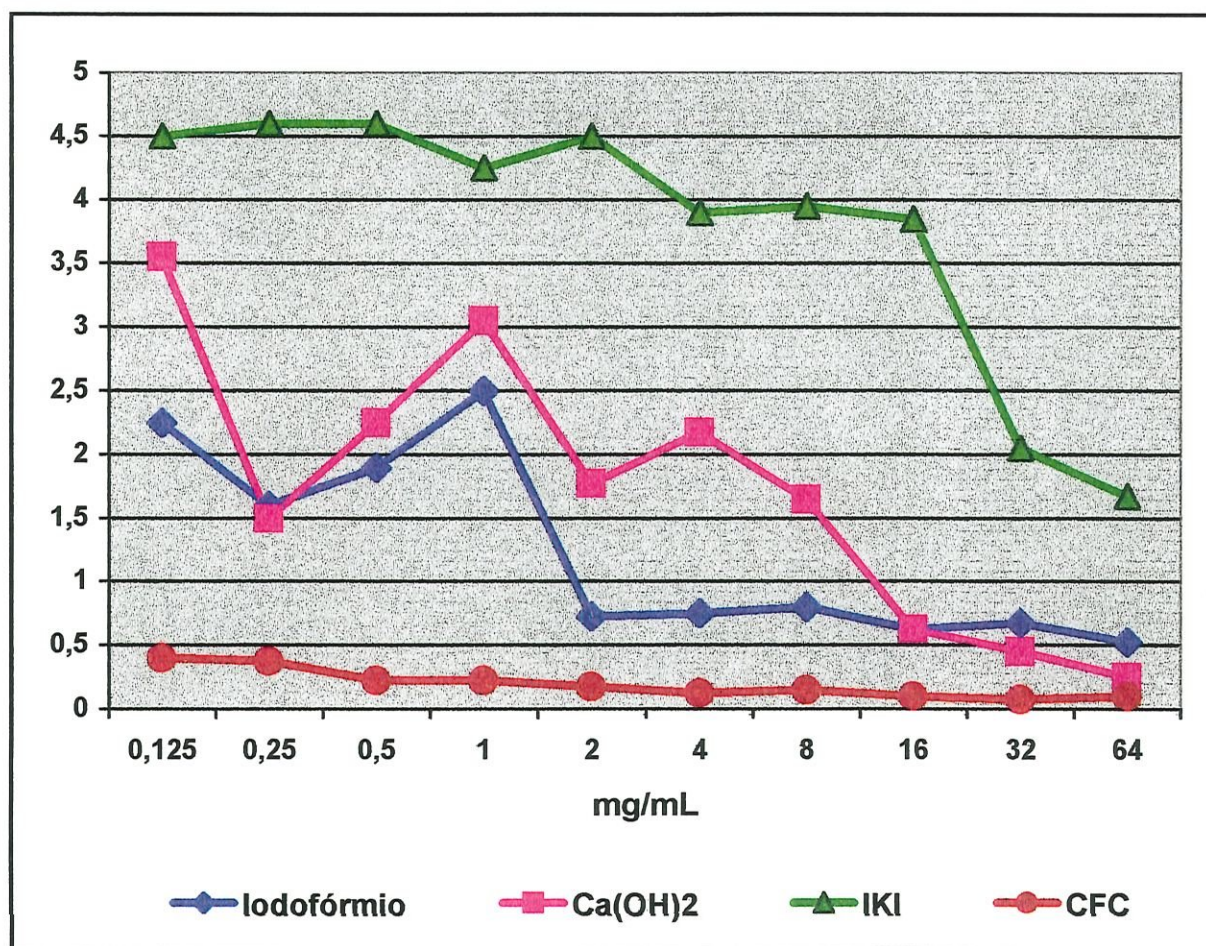


GRÁFICO 5.2.- Médias dos valores encontrados contra o *Staphylococcus aureus*, após a incubação, pela ação de diferentes concentrações dos fármacos, segundo a Escala de MacFarland

TABELA 5.2.- Médias e desvio padrão dos valores encontrados contra o *Staphylococcus aureus*, após a incubação, pela ação de diferentes concentrações dos fármacos, segundo a Escala de MacFarland

Fármaco	Iodofórmio	Ca(OH) ₂	CFC	IKI
Concentração				
(1) 0,125 mg/mL	2,25 (0,85)	3,55 (0,51)	0,4 (0,35)	4,5 (1,32)
(2) 0,25 mg/mL	1,6 (0,50)	1,5 (1,14)	0,375 (0,32)	4,6 (1,10)
(3) 0,5 mg/mL	1,9 (0,71)	2,25 (0,79)	0,225 (0,25)	4,6 (1,05)
(4) 1 mg/mL	2,5 (0,60)	3,05 (0,83)	0,225 (0,25)	4,25 (1,07)
(5) 2mg/mL	0,725 (0,57)	1,775 (0,91)	0,175 (0,24)	4,5 (1,00)
(6) 4 mg/mL	0,75 (0,34)	2,175 (0,94)	0,125 (0,22)	3,9 (0,91)
(7) 8mg/mL	0,8 (0,47)	1,65 (0,49)	0,15 (0,23)	3,95 (0,69)
(8) 16 mg/mL	0,625 (0,58)	0,625 (0,89)	0,1 (0,21)	3,85 (0,67)
(9) 32 mg/mL	0,675 (0,37)	0,45 (0,39)	0,075 (0,18)	2,05 (0,76)
(10) 64 mg/mL	0,525 (0,38)	0,25 (0,25)	0,1 (0,21)	1,675 (0,70)

Quanto à existência de depósito de fármaco no fundo do tubo, o hidróxido de cálcio, o iodofórmio e o CFC - a partir das concentrações de 4mg/mL, 16mg/mL e

8mg/mL, respectivamente - apresentaram essa ocorrência, cujo volume aumentou progressivamente até as concentrações mais altas. Já os depósitos bacterianos puderam ser vistos apenas no IKI até a concentração de 2mg/mL.

Da mesma forma que para a bactéria anterior, o efeito das medicações sobre o *Staphylococcus aureus* foi comparado nas diferentes concentrações estatisticamente (TAB. 5.2.1. a 5.2.10.). A análise preliminar da distribuição amostral (ANEXOS 11 a 20) revelou uma distribuição normal para as concentrações de 0,125mg/mL, 1mg/mL, 4mg/mL e 8mg/mL, onde foi realizado o teste t de forma individual. Nas outras concentrações foi realizado o teste de Kruskal-Wallis.

TABELA 5.2.1. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 0,125 mg/mL, sobre o *Staphylococcus aureus*

TESTE T						
Fármacos	Valor calculado de t	Graus de liberdade	Média da Amostra		Prob de igualdade	Significância
			1	2		
Iodo x Ca(OH)2	5,86	38	2,25	3,55	0,00%	1%
Iodo x CFC	9,00	38	2,25	0,40	0,00%	1%
Iodo x IKI	6,56	38	2,25	4,55	0,00%	1%
Ca(OH)2 x CFC	22,81	38	3,55	0,40	0,00%	1%
Ca(OH)2 x IKI	3,17	38	3,55	4,55	0,34%	1%
CFC x IKI	13,63	38	0,40	4,55	0,00%	1%

TABELA 5.2.2. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 0,250mg/mL, sobre o *Staphylococcus aureus*

Fármacos	Significância Estatística
Iodo x Ca(OH) ₂	Ns
Iodo x CFC	0,1%
Iodo x IKI	0,1%
Ca(OH) ₂ x CFC	0,1%
Ca(OH) ₂ x IKI	0,1%
CFC x IKI	0,1%
Valor de Kruskal-Wallis calculado : 60,7925	
Valor de X ² para 3 graus de liberdade : 60,79	
Probabilidade de H ₀ para esse valor : 0,00%	
Significante ao nível de 1% ($\alpha=0,01$)	

TABELA 5.2.3. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 0,50mg/mL, sobre o *Staphylococcus aureus*

Fármacos	Significância Estatística
Iodo x Ca(OH) ₂	Ns
Iodo x CFC	0,1%
Iodo x IKI	0,1%
Ca(OH) ₂ x CFC	0,1%
Ca(OH) ₂ x IKI	0,1%
CFC x IKI	0,1%
Valor de Kruskal-Wallis calculado : 67,0152	
Valor de X ² para 3 graus de liberdade : 67,02	
Probabilidade de H ₀ para esse valor : 0,00%	
Significante ao nível de 1% ($\alpha=0,01$)	

TABELA 5.2.4. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 1mg/mL, sobre o *Staphylococcus aureus*

TESTE T						
Fármacos	Valor calculado de t	Graus de liberdade	Média da Amostra		Prob de igualdade	Significância
			1	2		
Iodo x Ca(OH)2	2,40	38	2,50	3,05	2,02%	5%
Iodo x CFC	15,45	38	2,50	0,22	0,00%	1%
Iodo x IKI	6,36	38	2,50	4,25	0,00%	1%
Ca(OH)2 x CFC	14,62	38	3,05	0,22	0,00%	1%
Ca(OH)2 x IKI	3,97	38	3,05	4,25	0,06%	1%
CFC x IKI	16,36	38	0,22	4,25	0,00%	1%

TABELA 5.2.5. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 2mg/mL, sobre o *Staphylococcus aureus*

Fármacos	Significância Estatística
Iodo x Ca(OH)2	0,1%
Iodo x CFC	0,1%
Iodo x IKI	0,1%
Ca(OH)2 x CFC	0,1%
Ca(OH)2 x IKI	0,1%
CFC x IKI	0,1%

Valor de Kruskal-Wallis calculado : 64,1090

Valor de X^2 para 3 graus de liberdade : 64,10

Probabilidade de H_0 para esse valor : 0,00%

Significante ao nível de 1% ($\alpha=0,01$)

TABELA 5.2.6. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 4mg/mL, sobre o *Staphylococcus aureus*

TESTE T						
Fármacos	Valor calculado de t	Graus de liberdade	Média da Amostra		Prob de igualdade	Significância
			1	2		
Iodo x Ca(OH) ₂	6,39	38	0,75	2,17	0,00%	1%
Iodo x CFC	6,82	38	0,75	0,13	0,00%	1%
Iodo x IKI	14,45	38	0,75	3,90	0,00%	1%
Ca(OH) ₂ x CFC	9,53	38	2,17	0,13	0,00%	1%
Ca(OH) ₂ x IKI	5,90	38	2,17	3,90	0,00%	1%
CFC x IKI	17,99	38	0,13	3,90	0,00%	1%

TABELA 5.2.7. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 8mg/mL sobre o *Staphylococcus aureus*

TESTE T						
Fármacos	Valor calculado de t	Graus de liberdade	Média da Amostra		Prob de igualdade	Significância
			1	2		
Iodo x Ca(OH) ₂	5,60	38	0,80	1,65	0,00%	1%
Iodo x CFC	5,53	38	0,80	0,15	0,00%	1%
Iodo x IKI	16,93	38	0,80	3,95	0,00%	1%
Ca(OH) ₂ x CFC	12,36	38	1,65	0,15	0,00%	1%
Ca(OH) ₂ x IKI	12,20	38	1,65	3,95	0,00%	1%
CFC x IKI	23,42	38	0,15	3,95	0,00%	1%

TABELA 5.2.8. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 16mg/mL, sobre o *Staphylococcus aureus*

Fármacos	Significância Estatística
Iodo x Ca(OH) ₂	Ns
Iodo x CFC	0,1%
Iodo x IKI	0,1%
Ca(OH) ₂ x CFC	0,1%
Ca(OH) ₂ x IKI	0,1%
CFC x IKI	0,1%

Valor de Kruskal-Wallis calculado : 70,8324
 Valor de X^2 para 3 graus de liberdade : 70,83
 Probabilidade de H_0 para esse valor : 0,00%
 Significante ao nível de 1% ($\alpha=0,01$)

TABELA 5.2.9. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 32mg/mL, sobre o *Staphylococcus aureus*

Fármacos	Significância Estatística
Iodo x Ca(OH) ₂	0,1%
Iodo x CFC	0,1%
Iodo x IKI	0,1%
Ca(OH) ₂ x CFC	5%
Ca(OH) ₂ x IKI	0,1%
CFC x IKI	0,1%

Valor de Kruskal-Wallis calculado : 55,9406
 Valor de X^2 para 3 graus de liberdade : 55,94
 Probabilidade de H_0 para esse valor : 0,00%
 Significante ao nível de 1% ($\alpha=0,01$)

TABELA 5.2.10. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 64mg/mL, sobre o *Staphylococcus aureus*

Fármacos	Significância Estatística
Iodo x Ca(OH) ₂	1%
Iodo x CFC	0,1%
Iodo x IKI	0,1%
Ca(OH) ₂ x CFC	Ns
Ca(OH) ₂ x IKI	0,1%
CFC x IKI	0,1%
Valor de Kruskal-Wallis calculado : 52,7951	
Valor de X ² para 3 graus de liberdade : 52,80	
Probabilidade de H ₀ para esse valor : 0,00%	
Significante ao nível de 1% ($\alpha=0,01$)	

5.3 *Pseudomonas aeruginosa*

As médias dos valores encontrados contra o *P.aeruginosa* pela ação de diferentes concentrações dos fármacos - segundo a escala de MacFarland - aponta algumas tendências (TAB. 5.3 e GRÁF. 5.3). Mais uma vez, o CFC mostrou melhores resultados, promovendo ações bastante eficazes, mesmo quando em pequenas concentrações. O IKI apresentou um poder bactericida muito fraco com relação a esse microorganismo. O iodofórmio manteve o comportamento manifestado contra o *E.faecalis* e o *Staphylococcus aureus*, qual seja, baixa eficiência quando utilizado em concentrações inferiores, e efetividade maior a partir da concentração de 8mg/mL, como pode ser visto no GRÁF. 5.3. Esse fármaco apresentou película nas concentrações de número um e dois, com pequeno depósito a partir de 8mg/mL, depósito que foi aumentando progressivamente até os 64mg/mL.

TABELA 5.3. - Médias e desvio padrão dos valores encontrados contra o *Pseudomonas aeruginosa*, após a incubação, pela ação de diferentes concentrações dos fármacos, segundo a Escala de MacFarland

Fármaco	Iodofórmio	Ca(OH) ₂	CFC	IKI
Concentração				
(1) 0,125 mg/mL	5,5 (0,76)	6 (0,00)	0,35 (0,29)	6,25 (0,64)
(2) 0,25 mg/mL	6 (0,56)	6 (0,00)	0,225 (0,30)	6,3 (0,57)
(3) 0,5 mg/mL	4 (2,50)	5,75 (0,44)	0,35 (0,23)	6,15 (0,81)
(4) 1 mg/mL	5,075 (2,13)	5,9 (0,31)	0,25 (0,30)	6,5 (0,51)
(5) 2mg/mL	5,3 (1,63)	5,85 (0,37)	0,375 (0,22)	6,2 (0,90)
(6) 4 mg/mL	5,075 (1,90)	5,75 (0,44)	0,275 (0,25)	6,4 (0,50)
(7) 8mg/mL	1,1 (1,30)	5,65 (0,49)	0,4 (0,26)	6,25 (0,71)
(8) 16 mg/mL	1,525 (1,30)	5,3 (0,57)	0,375 (0,28)	6,4 (0,75)
(9) 32 mg/mL	1,375 (1,09)	0,825 (0,37)	0,35 (0,29)	6,1 (0,85)
(10) 64 mg/mL	0,775 (0,30)	0,725 (0,41)	0,175 (0,24)	5,8 (1,64)

Inicialmente, a ação bactericida do hidróxido de cálcio foi bastante fraca; essa ação foi progressivamente melhorando, e as duas últimas concentrações foram aquelas que melhores resultados apresentaram. Houve presença de película até a

concentração de 16mg/mL, mas não foi observado depósito de medicação para qualquer das concentrações deste fármaco.

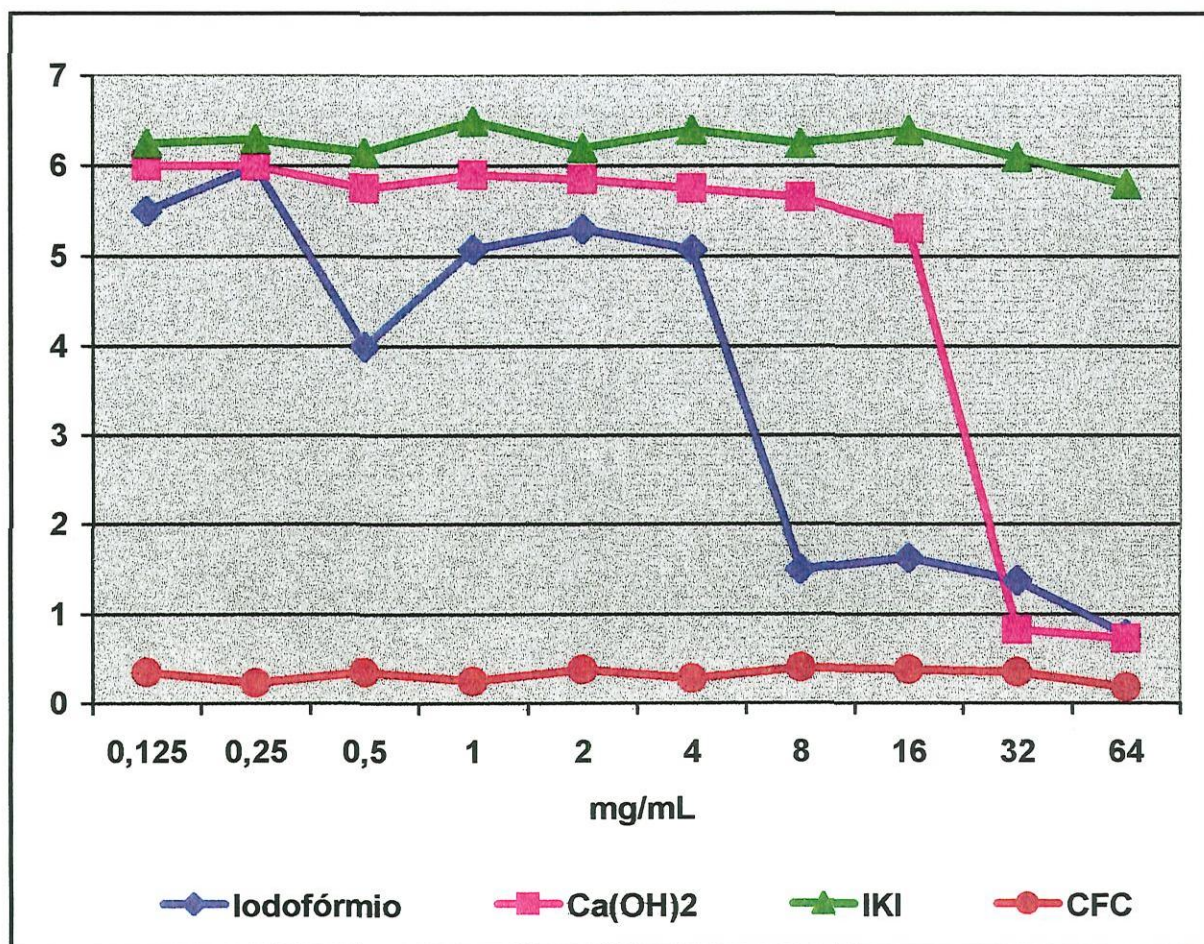


GRÁFICO 5.3.- Médias dos valores encontrados contra o *Pseudomonas aeruginosa*, após a incubação, pela ação de diferentes concentrações dos fármacos, segundo a Escala de MacFarland

Procedeu-se então à análise estatística da ação das diferentes medicações numa mesma concentração (TAB. 5.3.1. a 5.3.10.). A distribuição amostral (ANEXOS 21 a 30) revelou uma distribuição não-normal dos dados em todas as concentrações com exceção dos 16mg/mL. Neste caso, o teste utilizado foi o teste t de Student onde os dados foram emparelhados dois a dois. Nos demais casos, o teste utilizado foi o de Kruskal-Wallis.

TABELA 5.3.1. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 0,125 mg/mL, sobre o *Pseudomonas aeruginosa*

Fármacos	Significância estatística
Iodo x Ca(OH) ₂	1%
Iodo x CFC	0,1%
Iodo x IKI	0,1%
Ca(OH) ₂ x CFC	0,1%
Ca(OH) ₂ x IKI	Ns
CFC x IKI-	0,1%

Valor de Kruskal-Wallis calculado : 59,4881

Valor de X^2 para 3 graus de liberdade : 59,49

Probabilidade de H_0 para esse valor : 0,00%

Significante ao nível de 1% ($\alpha=0,01$)

TABELA 5.3.2. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 0,250 mg/mL, sobre o *Pseudomonas aeruginosa*

Fármacos	Significância estatística
Iodo x Ca(OH) ₂	Ns
Iodo x CFC	0,1%
Iodo x IKI	5%
Ca(OH) ₂ x CFC	0,1%
Ca(OH) ₂ x IKI	5%
CFC x IKI-	0,1%

Valor de Kruskal-Wallis calculado : 59,1565

Valor de X^2 para 3 graus de liberdade : 59,16

Probabilidade de H_0 para esse valor : 0,00%

Significante ao nível de 1% ($\alpha=0,01$)

TABELA 5.3.3. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 0,50mg/mL, sobre o *Pseudomonas aeruginosa*

Fármacos	Significância Estatística
Iodo x Ca(OH) ₂	1%
Iodo x CFC	0,1%
Iodo x IKI	0,1%
Ca(OH) ₂ x CFC	0,1%
Ca(OH) ₂ x IKI	Ns
CFC x IKI	0,1%

Valor de Kruskal-Wallis calculado : 49,6698

Valor de X^2 para 3 graus de liberdade : 49,67

Probabilidade de H_0 para esse valor : 0,00%

Significante ao nível de 1% ($\alpha=0,01$)

TABELA 5.3.4. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 1mg/mL, sobre o *Pseudomonas aeruginosa*

Fármacos	Significância Estatística
Iodo x Ca(OH) ₂	Ns
Iodo x CFC	0,1%
Iodo x IKI	0,1%
Ca(OH) ₂ x CFC	0,1%
Ca(OH) ₂ x IKI	0,1%
CFC x IKI	0,1%

Valor de Kruskal-Wallis calculado : 56,7861

Valor de X^2 para 3 graus de liberdade : 56,79

Probabilidade de H_0 para esse valor : 0,00%

Significante ao nível de 1% ($\alpha=0,01$)

TABELA 5.3.5. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 2mg/mL, sobre o *Pseudomonas aeruginosa*

Fármacos	Significância Estatística
Iodo x Ca(OH) ₂	Ns
Iodo x CFC	0,1%
Iodo x IKI	0,1%
Ca(OH) ₂ x CFC	0,1%
Ca(OH) ₂ x IKI	1%
CFC x IKI	0,1%
Valor de Kruskal-Wallis calculado : 55,2700 Valor de X ² para 3 graus de liberdade : 55,27 Probabilidade de H ₀ para esse valor : 0,00% Significante ao nível de 1% ($\alpha=0,01$)	

TABELA 5.3.6. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 4mg/mL, sobre o *Pseudomonas aeruginosa*

Fármacos	Significância Estatística
Iodo x Ca(OH) ₂	Ns
Iodo x CFC	0,1%
Iodo x IKI	0,1%
Ca(OH) ₂ x CFC	0,1%
Ca(OH) ₂ x IKI	0,1%
CFC x IKI	0,1%
Valor de Kruskal-Wallis calculado : 57,3731 Valor de X ² para 3 graus de liberdade : 57,37 Probabilidade de H ₀ para esse valor : 0,00% Significante ao nível de 1% ($\alpha=0,01$)	

TABELA 5.3.7. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 8mg/mL, sobre o *Pseudomonas aeruginosa*

Fármacos	Significância Estatística
Iodo x Ca(OH) ₂	0,1%
Iodo x CFC	Ns
Iodo x IKI	0,1%
Ca(OH) ₂ x CFC	0,1%
Ca(OH) ₂ x IKI	1%
CFC x IKI	0,1%

Valor de Kruskal-Wallis calculado : 65,3008

Valor de X^2 para 3 graus de liberdade : 65,30

Probabilidade de H_0 para esse valor : 0,00%

Significante ao nível de 1% ($\alpha=0,01$)

TABELA 5.3.8. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 16mg/mL, sobre o *Pseudomonas aeruginosa*

TESTE T

Fármacos	Valor calculado de t	Graus de liberdade	Média da Amostra		Prob de igualdade	Significância
			1	2		
Iodo x Ca(OH) ₂	11,95	38	1,52	5,30	0,00%	1%
Iodo x CFC	3,89	38	1,52	0,38	0,06%	1%
Iodo x IKI	14,57	38	1,52	6,40	0,00%	1%
Ca(OH) ₂ x CFC	34,74	38	5,30	0,38	0,00%	1%
Ca(OH) ₂ x IKI	5,20	38	5,30	6,40	0,00%	1%
CFC x IKI	33,57	38	0,38	6,40	0,00%	1%

TABELA 5.3.9. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 32mg/mL, sobre o *Pseudomonas aeruginosa*

Fármacos	Significância Estatística
Iodo x Ca(OH) ₂	Ns
Iodo x CFC	0,1%
Iodo x IKI	0,1%
Ca(OH) ₂ x CFC	0,1%
Ca(OH) ₂ x IKI	0,1%
CFC x IKI	0,1%

Valor de Kruskal-Wallis calculado : 58,2858
 Valor de X^2 para 3 graus de liberdade : 58,29
 Probabilidade de H_0 para esse valor : 0,00%
 Significante ao nível de 1% ($\alpha=0,01$)

TABELA 5.3.10. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 64mg/mL, sobre o *Pseudomonas aeruginosa*

Fármacos	Significância Estatística
Iodo x Ca(OH) ₂	Ns
Iodo x CFC	0,1%
Iodo x IKI	0,1%
Ca(OH) ₂ x CFC	0,1%
Ca(OH) ₂ x IKI	0,1%
CFC x IKI	0,1%

Valor de Kruskal-Wallis calculado : 55,2657
 Valor de X^2 para 3 graus de liberdade : 55,27
 Probabilidade de H_0 para esse valor : 0,00%
 Significante ao nível de 1% ($\alpha=0,01$)

5.4 *Bacteroides fragilis*

A ação de todos os fármacos sobre o *B. fragilis* - demonstrada na TAB. 5.4. e no GRÁF.5.4 – foi melhor que o desempenho que tiveram contra os outros microorganismos estudados.

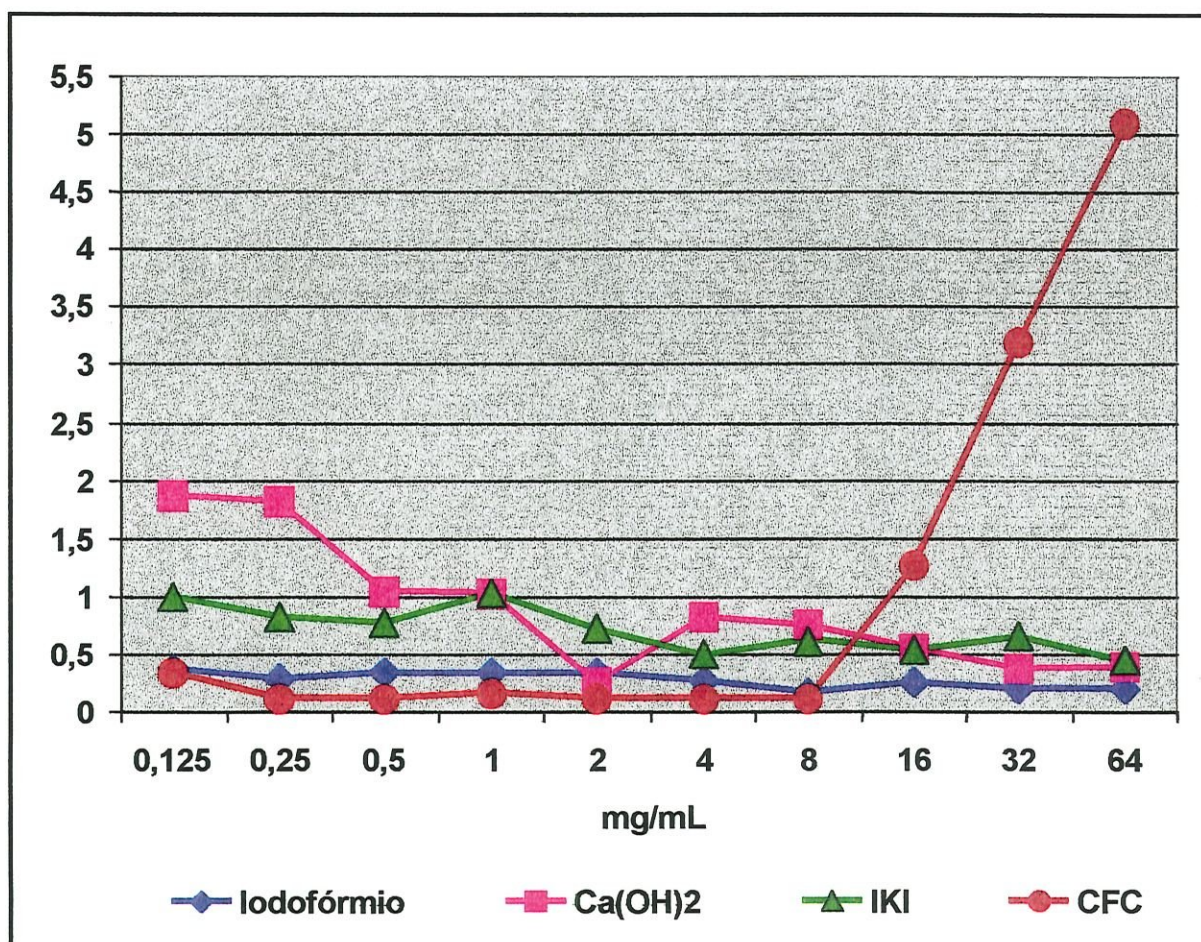


GRÁFICO 5.4. - Médias dos valores encontrados contra o *Bacteroides fragilis*, após a incubação, pela ação de diferentes concentrações dos fármacos, segundo a Escala de MacFarland

O iodofórmio apresentou valores constantes para todas as concentrações, da mais baixa à mais alta. O hidróxido de cálcio, por sua vez, foi tornando-se mais

eficiente à medida que a concentração aumentava, diminuindo os valores da Escala (GRÁF. 5.4.)

TABELA 5.4.- Médias e desvio padrão dos valores encontrados contra o *Bacteroides fragilis*, após a incubação, pela ação de diferentes concentrações dos fármacos, segundo a Escala de MacFarland

Fármaco				
Concentração	Iodofórmio	Ca(OH) ₂	CFC	IKI
(1) 0,125 mg/mL	0,375 (0,28)	1,875 (0,94)	0,35 (0,23)	1 (0,74)
(2) 0,25 mg/mL	0,3 (0,30)	1,825 (0,89)	0,125 (0,22)	0,825 (0,59)
(3) 0,5 mg/mL	0,35 (0,37)	1,05 (0,62)	0,125 (0,22)	0,775 (0,66)
(4) 1 mg/mL	0,35 (0,37)	1,025 (0,57)	0,175 (0,24)	1,025 (0,57)
(5) 2mg/mL	0,35 (0,40)	0,725 (0,47)	0,125 (0,22)	0,725 (0,57)
(6) 4 mg/mL	0,275 (0,38)	0,825 (0,61)	0,125 (0,22)	0,5 (0,36)
(7) 8mg/mL	0,175 (0,24)	0,75 (0,47)	0,225 (0,26)	0,6 (0,42)
(8) 16 mg/mL	0,25 (0,26)	0,55 (0,32)	1,275 (0,57)	0,525 (0,44)
(9) 32 mg/mL	0,2 (0,25)	0,375 (0,39)	3,2 (0,95)	0,65 (0,37)
(10) 64 mg/mL	0,2 (0,25)	0,4 (0,41)	5,1 (0,64)	0,45 (0,39)

O CFC manteve valores diminutos até a concentração de 8mg/mL; a partir daí, esses valores aumentaram progressiva e constantemente. O IKI, de modo geral, apresentou queda nos valores à medida que a concentração aumentava.

Realizou-se a análise estatística dos dados, comparando as medicações numa mesma concentração. Inicialmente foi verificada a distribuição amostral dos dados (ANEXOS 31 a 40) revelando ser normal nos grupos de 4 e 64mg/mL, nos quais procedeu-se a realização do teste t. Nos demais, como se tratavam de amostras independentes com distribuição não-normal, os dados foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis (TAB. 5.4.1. a 5.4.10.).

O iodofórmio, mesmo em altas concentrações, apresentou pouco ou nenhum depósito nos tubos. Para o hidróxido de cálcio a partir da concentração de 2mg/mL; o volume desse depósito foi aumentando juntamente com a elevação das concentrações. Já o CFC apresentou pequeno depósito apenas nas três últimas concentrações, as quais demonstraram perda de efetividade da medicação.

TABELA 5.4.1. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 0,125 mg/mL, sobre o *Bacteroides fragilis*

Fármacos	Significância estatística
Iodo x Ca(OH) ₂	0,1%
Iodo x CFC	Ns
Iodo x IKI	0,1%
Ca(OH) ₂ x CFC	0,1%
Ca(OH) ₂ x IKI	1%
CFC x IKI-	0,1%
Valor de Kruskal-Wallis calculado : 40,2441	
Valor de X ² para 3 graus de liberdade : 40,24	
Probabilidade de H ₀ para esse valor : 0,00%	
Significante ao nível de 1% ($\alpha=0,01$)	

TABELA 5.4.2. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 0,250 mg/mL, sobre o *Bacteroides fragilis*

Fármacos	Significância estatística
Iodo x Ca(OH) ₂	0,1%
Iodo x CFC	5%
Iodo x IKI	0,1%
Ca(OH) ₂ x CFC	0,1%
Ca(OH) ₂ x IKI	0,1%
CFC x IKI-	0,1%

Valor de Kruskal-Wallis calculado : 50,1772
 Valor de X^2 para 3 graus de liberdade : 50,18
 Probabilidade de H_0 para esse valor : 0,00%
 Significante ao nível de 1% ($\alpha=0,01$)

TABELA 5.4.3. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 0,50mg/mL, sobre o *Bacteroides fragilis*

Fármacos	Significância Estatística
Iodo x Ca(OH) ₂	0,1%
Iodo x CFC	5%
Iodo x IKI	1%
Ca(OH) ₂ x CFC	0,1%
Ca(OH) ₂ x IKI	Ns
CFC x IKI	0,1%

Valor de Kruskal-Wallis calculado : 32,7202
 Valor de X^2 para 3 graus de liberdade : 32,72
 Probabilidade de H_0 para esse valor : 0,00%
 Significante ao nível de 1% ($\alpha=0,01$)

TABELA 5.4.4. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 1mg/mL, sobre o *Bacteroides fragilis*

Fármacos	Significância Estatística
Iodo x Ca(OH) ₂	0,1%
Iodo x CFC	Ns
Iodo x IKI	0,1%
Ca(OH) ₂ x CFC	0,1%
Ca(OH) ₂ x IKI	Ns
CFC x IKI	0,1%
Valor de Kruskal-Wallis calculado : 40,7937	
Valor de X^2 para 3 graus de liberdade : 40,79	
Probabilidade de H_0 para esse valor : 0,00%	
Significante ao nível de 1% ($\alpha=0,01$)	

TABELA 5.4.5. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 2mg/mL, sobre o *Bacteroides fragilis*

Fármacos	Significância Estatística
Iodo x Ca(OH) ₂	1%
Iodo x CFC	Ns
Iodo x IKI	1%
Ca(OH) ₂ x CFC	0,1%
Ca(OH) ₂ x IKI	Ns
CFC x IKI	0,1%
Valor de Kruskal-Wallis calculado : 26,2411	
Valor de X^2 para 3 graus de liberdade : 26,24	
Probabilidade de H_0 para esse valor : 0,00%	
Significante ao nível de 1% ($\alpha=0,01$)	

TABELA 5.4.6. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 4mg/mL sobre o *Bacteroides fragilis*

TESTE T						
Fármacos	Valor calculado de t	Graus de liberdade	Média da Amostra		Prob de igualdade	Significância
			1	2		
Iodo x Ca(OH) ₂	3,41	38	0,27	0,82	0,18%	1%
Iodo x CFC	1,53	38	0,27	0,12	13,18%	Ns
Iodo x IKI	1,92	38	0,27	0,50	5,98%	Ns
Ca(OH) ₂ x CFC	4,80	38	0,82	0,12	0,02%	1%
Ca(OH) ₂ x IKI	2,04	38	0,82	0,50	4,56%	5%
CFC x IKI	3,94	38	0,12	0,50	0,06%	1%

TABELA 5.4.7. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 8mg/mL, sobre o *Bacteroides fragilis*

Fármacos	Significância Estatística
Iodo x Ca(OH) ₂	0,1%
Iodo x CFC	Ns
Iodo x IKI	0,1%
Ca(OH) ₂ x CFC	0,1%
Ca(OH) ₂ x IKI	Ns
CFC x IKI	1%

Valor de Kruskal-Wallis calculado : 27,6239

Valor de X^2 para 3 graus de liberdade : 27,62

Probabilidade de H_0 para esse valor : 0,00%

Significante ao nível de 1% ($\alpha=0,01$)

TABELA 5.4.8. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 16mg/mL, sobre o *Bacteroides fragilis*

Fármacos	Significância Estatística
Iodo x Ca(OH) ₂	1%
Iodo x CFC	0,1%
Iodo x IKI	1%
Ca(OH) ₂ x CFC	0,1%
Ca(OH) ₂ x IKI	Ns
CFC x IKI	0,1%

Valor de Kruskal-Wallis calculado : 36,7696
 Valor de X^2 para 3 graus de liberdade : 36,77
 Probabilidade de H_0 para esse valor : 0,00%
 Significante ao nível de 1% ($\alpha=0,01$)

TABELA 5.4.9. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 32mg/mL, sobre o *Bacteroides fragilis*

Fármacos	Significância Estatística
Iodo x Ca(OH) ₂	Ns
Iodo x CFC	0,1%
Iodo x IKI	0,1%
Ca(OH) ₂ x CFC	0,1%
Ca(OH) ₂ x IKI	1%
CFC x IKI	0,1%

Valor de Kruskal-Wallis calculado : 54,4493
 Valor de X^2 para 3 graus de liberdade : 54,45
 Probabilidade de H_0 para esse valor : 0,00%
 Significante ao nível de 1% ($\alpha=0,01$)

TABELA 5.4.10. Análise Estatística da ação dos fármacos, na concentração de 64mg/mL, sobre o *Enterococcus faecalis*

TESTE T						
Fármacos	Valor calculado de t	Graus de liberdade	Média da Amostra		Prob de igualdade	Significância
			1	2		
Iodo x Ca(OH) ₂	1,84	38	0,20	0,40	7,06%	Ns
Iodo x CFC	31,84	38	0,20	5,10	0,00%	1%
Iodo x IKI	2,39	38	0,20	0,45	2,06	5%
Ca(OH) ₂ x CFC	27,50	38	0,40	5,10	0,00%	1%
Ca(OH) ₂ x IKI	0,39	38	0,40	0,45	69,96%	Ns
CFC x IKI	27,65	38	5,10	0,45	0,00%	1%

6. DISCUSSÃO

O tratamento de dentes cujo tecido pulpar está necrosado e a cavidade pulpar, compreendendo o sistema de canais radiculares, está infectada constitui, na atualidade, o grande problema da Endodontia, pelas dúvidas que suscita quanto ao sucesso e ao prognóstico da terapia. Isto porque o sistema de canais radiculares apresenta uma grande variedade de microorganismos, que nele se estabelecem e se organizam de diferentes maneiras.

Quando esses agentes agressores estão localizados na luz dos canais, ou na área mais superficial da porção interna dos túbulos dentinários é possível combatê-los, de maneira eficaz, por meio do preparo químico-cirúrgico, realizado com instrumentos e substâncias químicas.

Porém, hoje em dia sabemos que alguns microorganismos podem resistir a esta etapa, provavelmente contaminando áreas em que o preparo não age – porções mais profundas dos túbulos dentinários e ao redor do periápice -, necessitando a mesma de complementação no que se refere ao processo de descontaminação.

Em vista disso, conhecer os constituintes das infecções de origem endodôntica, seu comportamento e suas implicações, é fundamental para o

planejamento da terapia a ser instituída. Nesse sentido, o trabalho de MOLLER (1966) – que apresentou um protocolo para a coleta dos microorganismos presentes em todos os tecidos bucais, entre eles os canais radiculares - é considerado uma das grandes contribuições à identificação dos elementos contaminantes ali presentes.

Uma vez determinados os agentes causadores da contaminação nesse sistema, os pesquisadores passaram a focar os possíveis mecanismos pelos quais a flora endodôntica se apresentava e se mantinha. A análise do comportamento bacteriano pode demonstrar a existência de inter-relações entre os microorganismos contaminantes alocados em uma determinada região (SUNDQUIST, 1992).

Fatores importantes no estabelecimento e na manutenção da ecologia da flora endodôntica são a presença de oxigênio e a disponibilidade de nutrientes. Quando comparamos lesões novas e lesões já estabelecidas, observamos aumento da quantidade de bactérias anaeróbias e facultativas com a maturação da infecção. As lesões já estabelecidas são pouco oxigenadas e apresentam – devido à área de necrose – aminoácidos e peptídios em grande quantidade, os quais são melhor utilizados como nutrientes pelos microorganismos anaeróbios (FABRICIUS et al., 1982; SUNDQUIST, 1992, 1994; SELTZER & FARBER, 1994; VON KONOW et al., 1986).

A agressão dos microorganismos infectantes sobre a região periapical ocorre em duas etapas (TORNECK, 1969): a primeira deflagra a lesão; e a segunda

dificulta a reparação do hospedeiro. A manutenção desse mecanismo de agressão e resposta leva ao desenvolvimento de lesões periapicais (ALLARD et al., 1979).

A infecção, todavia, não se atém ao interior do canal, podendo as lesões estarem infectadas (RAMACHANDRAN NAIR, 1987, 1990; IWU, 1990; TRONSTAD, 1987, 1990a, 1990b; WAYMAN, 1992), sendo encontrados os agentes contaminantes de duas maneiras distintas: como pequenas colônias no interior da lesão (RAMACHANDRAN NAIR, 1987 IWU, 1990) - o que pode, em função das características bacterianas, favorecer sobremaneira a resposta do organismo -; ou de maneira bastante complexa e organizada, formando verdadeiros biofilmes periapicais.

Esses biofilmes estão presentes em regiões aparentemente sem cimento do periápice, sendo constituídos por bactérias cobertas por material amorfo aderidas a um substrato - orgânico ou inorgânico - gerando a organização dos microorganismos em colônias em função das condições ambientais e da presença de mecanismos de simbiose (TRONSTAD 1990; SIQUEIRA & LOPES, 1998).

A presença dessa infecção extrarradicular pode ser observada em lesões que persistem mesmo após o tratamento endodôntico convencional (RAMACHANDRAN NAIR, 1990; WAYMAN et al., 1992), ou na presença de fístulas que não fecham (WEIGER et al., 1995; TRONSTAD, 1987, 1990b) – as quais podem ser denominadas lesões refratárias. A persistência dos microorganismos no biofilme exige do organismo, uma resposta, que nem sempre é efetiva em decorrência da organização dessa estrutura e dos mecanismos individuais de defesa bacteriana (SELTZER & FARBER, 1994).

Assim, podemos afirmar que o combate a esse tipo de infecção é bastante complexo pois, além de as mesmas existirem em um grande número, há uma enorme variedade de espécies - cujos mecanismos de defesa são distintos. A proposta inicial para o tratamento de tais afecções demandava a administração sistêmica de antibióticos, os resultados obtidos revelaram uma alteração da flora sem contudo eliminar a causa (TRONSTAD, 1990a; SKLAVOUNOS et al., 1986).

Conhecedores do comportamento bacteriano e de suas características, sugeriram-se novas propostas para o tratamento deste tipo de contaminação utilizando medicações com ação mais específica sobre estes agentes, quer de maneira direta, ou - de forma preferencial - criando condições para que o organismo promova a desinfecção e a conseqüente reparação.

Em virtude disso, foi objetivo deste trabalho avaliar se medicações com comprovada ação e eficácia clínica - utilizadas em Endodontia - possuíam atividade antibacteriana *in vitro* através do método da diluição em caldo - variando-se a concentração dos fármacos - sobre quatro bactérias encontradas em canais radiculares em lesões de difícil tratamento.

O método empregado permite que seja estabelecido um contato direto entre a medicação e a contaminação, o que parece ser fundamental para a descontaminação e que nem sempre é obtido durante a terapia, uma vez que a contaminação, como já foi dito, não se limita a luz do canal, o que por isso justifica o emprego e a utilização de medicações intracanaís como agentes complementares na desinfecção deste sistema. A sua vez, a utilização desta metodologia não permite que os resultados sejam projetados de forma plena para a atividade prática,

pois nesta temos a interação com outros fatores, como a tipologia bacteriana, que difere da ora estudada, e a possibilidade de interações com o meio, neste sentido, sabe-se que a dentina e a hidroxiapatita, por exemplo, inativam a ação do hidróxido de cálcio sobre o *E.faecalis* (HAAPASALO et al., 2000).

Ainda deve ser considerado o fato de estarmos utilizando uma cepa bacteriana cujas características são conhecidas, por pertencerem a uma coleção (ATCC), que apresenta comportamento diferente de uma bactéria presente em condições clínicas a qual está muito mais sujeita a interações ambientais e que levam a necessidade de possuírem uma melhor capacidade de adaptação.

Há dois meios principais que são utilizados para avaliar a ação de fármacos sobre microorganismos infectantes *in vitro*: a diluição em caldo e o a difusão em ágar. Este último foi preterido no presente estudo pois apresenta limitações, já que seus resultados dependem de alguns fatores como a composição dos meios de cultura, a presença de enzimas bacterianas que inativem a ação do medicamento, a quantidade de bactérias, a concentração da medicação nos poços, a difusibilidade da droga e o período de incubação das placas (RIBEIRO & SOARES, 1993).

Assim sendo, buscamos uma alternativa a esse método: comparamos os resultados da diluição em caldo ao grau de turbidez padrão presente em uma escala preconizada na literatura – escala de Mac Farland (MOLLER, 1966; GEORGOPOULOU et al., 1993). Essa escala registra, de forma aproximada, a quantidade de CFU (Unidades Formadoras de Colônias) presentes nos tubos após o cultivo.

As bactérias que foram objeto de estudo deste trabalho foram: *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Bacteroides fragilis*. Tais cepas foram escolhidas para esta investigação porque suas características são bastante conhecidas, e a dificuldade de eliminá-las tem preocupado os estudiosos.

O *E.faecalis* é uma bactéria cujo principal sítio não é a cavidade oral, podendo, contudo, ser encontrada em infecções dentoalveolares (VON KONOW et al., 1981). Esse microorganismo tem sido freqüentemente observado no interior de canais radiculares - tanto em culturas puras como em culturas mistas – o que faz com que pesquisas a ele relacionadas sejam de grande importância para a Endodontia (WINKLER & VAN AMERONGEN, 1959; YOSHIDA et al., 1987; ANDO & HOSHINO, 1990; BAUMGARTNER & FAKLER, 1991; SIREN et al., 1997; MOLANDER et al., 1998; PECIULIENE et al., 2000; DAHLÉN et al., 2000). Sua ocorrência é ainda maior em casos que apresentam sinais clínicos de contigüidade entre o meio externo e o meio interno (WEIGER et al., 1995); em lesões apicais de difícil tratamento (ISERMANN & KAMINSKI, 1979; DAHLÉN et al., 1982; BAUMGARTNER & FALKLER, 1991; MOLANDER et al., 1998; PECIULIENE et al. 2000) ou sintomáticas (YOSHIDA et al., 1987); e naqueles quadros em que há indicação de retratamento (PECIULIENE et al. 2000). Dentes que demandam maior número de sessões para serem obturados também parecem apresentar maior incidência dessa espécie bacteriana (SIREN et al., 1997).

Em função do seu mecanismo de ação, ele é considerado patogênico, devido à sua capacidade de adaptação ao sistema de canais radiculares (SIQUEIRA et al., 1988), pois sua presença pode ser verificada não só na luz e nas

paredes do canal como também no interior dos túbulos dentinários (até 2mm). A infecção parece ocorrer de forma rápida (ANDO & HOSHINO, 1990; ØRSTRAVIK & HAAPASALO, 1990; SIQUEIRA et al., 1996) e nesta condição ele pode resistir a longos períodos sem nutrientes (ØRSTRAVIK & HAAPASALO, 1990).

O *S.aureus*, por sua vez, é a bactéria conhecida como o símbolo da revolução dos antibióticos, pois foi o primeiro microorganismo em que se constatou o desenvolvimento de resistência a esses fármacos (MACHADO, 2000). As infecções provocadas por essa bactéria são caracterizadas pela presença de supuração, que tende a formar um abscesso com conteúdo de consistência viscosa e coloração amarelada. Nas infecções pulpares e periapicais, o *S.aureus* é encontrado com certa frequência (WITGOW & SABISTON, 1975; ZELANTE & PIOCHI, 1975; VON KONOW et al., 1981; LABRIOLA et al., 1983; SKLAVOUNUS et al., 1986; WAYMAN et al., 1992; READER et al., 1994; AYHAN et al., 1999), e sua presença pode desenvolver uma inflamação de ordem inespecífica na região periapical (ALLARD et al., 1979). Em espécies isoladas clinicamente, ele é combatido de maneira eficaz por alguns anti-sépticos de uso endodôntico (AYHAN et al., 1999)

O *P.aeruginosa* é um microorganismo também não característico da cavidade oral. Ele é bastante agressivo, sendo que não necessita meios com muitos nutrientes para, sendo-lhe suficiente um meio úmido para sobreviver. Essa bactéria produz um pigmento característico azul, que determina a coloração esverdeada da secreção de regiões por ela contaminadas (MACHADO, 2000). Em Endodontia, ela é mais encontrada em casos de dentes que apresentam lesões expostas ao meio bucal - através de destruição coronária ou pela presença de fístula - tanto em

culturas mistas como culturas puras, determinando frente a inflamação na região periapical (ALLARD et al., 1979) e infecções resistentes (READER, 1988; WAYMAN, 1992; WEIGER et al., 1995).

Já o *B. fragilis* pertence ao grupo dos bacilos gram-negativos - que são os mais encontrados nas infecções endodônticas, especialmente naquelas sintomáticas. Essas bactérias podem ser encontradas em canais radiculares infectados (KANTZ & HENRY, 1974; KEUDELL et al., 1976; ANGLESIO FARINA, 1991; TANNI-ISHI et al., 1994), no interior de lesões periapicais (KANNAGARA et al., 1980; WILLIAMS et al., 1983; HAAPASALO, 1989; WASFY et al., 1992; WAYMAN et al., 1992), e como constituintes do biofilme periapical (SIQUEIRA, 1997).

A virulência desse microorganismo está diretamente ligada à sua endotoxina (DAHLÉN & BERGENHOLTZ, 1980; SVEEN & SKAUG, 1992; MACHADO, 2000) e à presença de polissacarídeos capsulares que são capazes de induzir a formação de abscessos (SELTZER & FARBER, 1994), promovendo infecções periapicais de ordem específica (ALLARD et al., 1979). Quando presente em infecções mistas o *B. fragilis* é capaz de promover a transferência conjugal, que propicia propriedades de resistência a antibióticos - como a tetraciclina e a própria penicilina - a outras espécies de uma mesma colônia (GUINEY & BOUIC, 1990).

Como pode ser visto, essas bactérias são representativas para a avaliação da propriedade antibacteriana em função de alguns aspectos, entre eles a capacidade de adaptação e interação com o meio intra-radicular, e uma resistência, que pode ser inata ou adquirida, aos fármacos usualmente empregados.

As medicações testadas são usualmente empregadas em Endodontia e correspondem a: iodofórmio; hidróxido de cálcio; CFC – que resulta da combinação entre hidróxido de cálcio e dois antibióticos (metronidazol e ciprofloxacina) -; e iodo iodeto de potássio (IKI).

O primeiro grupo estudado foi representado pelo Iodofórmio. Sua ação está ligada à liberação do iodo e também à volatilização do iodofórmio. A ativação desses fenômenos em tecidos vivos é decorrente de fatores como: presença de tecidos orgânicos em desintegração (PUCCI, 1945); ausência de luminosidade; temperatura ideal (MAISTO, 1975; SEMERARO & MAGALHÃES, 1978); ausência de oxigênio; localização em meios alcalinos (MAISTO, 1975). Os canais contaminados normalmente contemplam todos esses fatores e assim oferecem as condições ideais para que o fármaco atue. O iodo liberado age em sinergia com a capacidade de oxidação do iodofórmio, fazendo com que esse medicamento apresente propriedades detergentes, desinfetantes e desodorizantes (PUCCI, 1945).

Este fármaco também tem atividades anestésica (PUCCI, 1945) e higroscópica (WALKHOFF, 1928 *citado por* JUGE, 1959). Caracteristicamente ele é radiopaco, o que possibilita melhor controle de sua difusão e reabsorção (PUCCI, 1945; AYDOS & MILANO, 1984; MANISALI et al., 1989). Isto parece ser importante, uma vez que sua capacidade anti-séptica só está presente enquanto ele está presente, além de não ser considerado irritante, sendo bem tolerado pelos tecidos periapicais (WALKHOFF, 1928 *citado por* JUGE, 1959). Apesar disso, ele demonstra uma citotoxicidade maior em relação ao hidróxido de cálcio (DANIEL, 1988). Há que ressaltar, entretanto, que essa agressividade parece ser importante

para que este fármaco exerça a sua ação de estimulação sobre a resposta inflamatória, bem como para desencadear a resposta imunológica.

Em Endodontia, ele foi empregado como material obturador, com um grande índice de sucesso (CASTAGNOLA & ORLAY, 1956; HONEGGER, 1932 citado por MAISTO, 1975; ENGEL, 1950 citado por MAISTO, 1975; CASTAGNOLA & ORLAY, 1952; ROCCA, 1985), porém em função de ser reabsorvível (PUCCI, 1945; CASTAGNOLA & ORLAY, 1952; JUGE, 1959; MAISTO & EURASQUIM, 1965; MAISTO, 1975; CASTAGNOLA, 1976; GARCIA-GODOY, 1987; MANISALI et al., 1989), sua utilização nestas condições só é recomendada em dentes decíduos (CASTAGNOLA, 1976; GUEDES-PINTO et al., 1981; RIFKIN, 1982 ; GARCIA-GODOY, 1987; HOLAN & FUKS, 1993; WRIGHT et al., 1994). Todavia, como medicação intracanal ele foi bastante difundido por MAISTO (1975), e hoje em dia é por nós utilizado associado ao Carbowax® e seu grau de sucesso nos encoraja a continuar utilizando-o. A justificativa para seu emprego nestas situações seria a propriedade de promover a formação de tecido de granulação, através do estímulo da resposta inflamatória o que contribui para a reparação óssea (PUCCI, 1945; MAISTO & EURASQUIM, 1965; MAISTO, 1975; CASTAGNOLA, 1976). Esta capacidade de estimulação biológica é questionada por alguns autores (AYDOS & MILANO, 1984).

Como limitações, as pastas iodoformadas, apresentam sabor desagradável e a possibilidade de desenvolvimento de reação alérgica ao iodo (CASTAGNOLA, 1976), embora não haja registros dessa intercorrência, além de poder provocar pigmentação nos dentes (GARCIA-GODOY, 1987), o que pode ser facilmente resolvido através da limpeza adequada da câmara pulpar.

No que se refere ao grupo 2, o hidróxido de cálcio é um composto utilizado como medicação intracanal, tanto entre as sessões como por longos períodos de tempo. Esse fármaco é indicado no controle e no tratamento de reabsorções radiculares e perfurações, no tratamento de fraturas transversais, apicigênese e apicificação (HEITHERSAY, 1975; FOREMAN & BARNES, 1990; FAVA & SAUNDERS, 1999), e pode ser utilizado em qualquer tipo de comprometimento pulpar (FAVA & SAUNDERS, 1999).

O principal mecanismo de ação desse medicamento está associado à dissociação de seus componentes, ou seja à liberação de íons cálcio e hidroxila. Os íons hidroxila promovem alcalinidade na área de ação, invertendo o pH do meio inflamado (HEITHERSAY, 1975) além de criar péssimas condições para o crescimento bacteriano (SIQUEIRA & LOPES, 1999). Por sua vez, o cálcio liberado diminui a permeabilidade dos vasos e age na síntese de colágeno (HEITHERSAY, 1975). Essa liberação de íons ainda age como oxidante de radicais livres (SIQUEIRA & LOPES, 1999).

Além disso, o Ca(OH)_2 também leva à lise da membrana celular citoplasmática, desnaturação de proteínas estruturais e lise de DNA, altera a síntese da membrana celular, neutraliza o efeito residual do lipopolissacarídeo, podendo, inclusive, agir sobre características estruturais das bactérias, como forma e motilidade (SIQUEIRA & LOPES, 1999; SAFAVI & NICHOLS, 1994).

Clinicamente, ele é sempre utilizado em associação a um veículo, que pode ser inerte ou ter ação antibacteriana (FOREMAN & BARNES, 1990; SJÖGREN

et al., 1991; FAVA & SAUNDERS, 1999). Possui como grande limitação do medicamento a ocorrência de dor pós-operatória (BYSTROM et al., 1985).

Uma alteração proposta para este fármaco foi a sua associação ao metronidazol e ao ciprofloxacina - antibióticos com ação específica -, proposta por ANTONIAZZI & MARQUES criando a medicação denominada CFC, que corresponde ao terceiro grupo estudado. O Metronidazol é indicado no tratamento de infecções por cepas anaeróbias estritas e é associado ao ciprofloxacina que é uma droga indicada para debelar infecções provocadas por bactéria de difícil tratamento pertencentes ao grupo dos Pseudomonas, Enterobactérias e Estafilococos, e outros microorganismos facultativos e aeróbios.

Pouco se sabe a respeito deste medicamento, como informação a ser considerada, o mesmo parece não alterar o processo de reparo (SCELZA et al., 1999).

O IKI é um composto à base de iodo, e suas propriedades e mecanismo de ação estão a ele ligados. Esse fármaco tem, como um de seus compostos, o iodeto de potássio, cuja função é tornar mais lento o processo de precipitação do iodo, possibilitando-lhe melhor difusibilidade (PUCCI, 1945). Assim, o IKI tem uma ação linfocítica, pois promove a ativação e a proliferação de células de defesa, com conseqüente aumento da velocidade de reparo e da atividade de reabsorção de toxinas, sem alterar a qualidade da resposta inflamatória (LAMERS et al., 1980). Promover a opsonização das células de defesa; além de possuir atividades anti-séptica e tixotrópica (PUCCI, 1945). Sua citotoxicidade é restrita, pois seus componentes agem mais acentuadamente sobre tecidos necróticos, e ele é

comprovadamente menos agressivo que outros agentes anti-sépticos, como o formocresol, o PMCC, a cresatina e o fenol canforado (SPANGBERG et al., 1979).

As avaliações foram realizadas após a incubação, em tubos de ensaio, da bactéria em seu meio específico, em uma quantidade de 0,9mL, sendo acrescidos de 0,1mL de medicação nas diferentes diluições. Como se tratavam de 10 diluições para cada uma das quatro medicações sobre cada uma das bactérias e cada procedimento foi repetido 20 vezes (número este calculado em função de um projeto piloto e cálculos estatísticos), foram utilizados 3200 tubos de ensaio que foram classificados e avaliados.

Estes tubos foram incubados durante um período ideal para as bactérias, que seria 24 horas para *E.faecalis*, *S.aureus* e *P.aeruginosa* e 48 horas para o *B.fragilis*. Os tempos foram escolhidos em função de ser assim esperado um crescimento ideal em um meio de cultura rico e específico como é o BHI e o RCM.

No presente experimento, e para efeito de comparação, utilizamos, para o teste inicial, a concentração padrão de $1,5 \times 10^6$ de bactérias. Segundo MÖLLER, os valores de bactérias encontrados clinicamente variam de 10^2 a 10^7 , o que permitiria a extrapolação dos resultados ora encontrados. Entretanto, a quantidade de medicação normalmente inserida nos canais radiculares é muito maior - 10 a 100 vezes - que a concentração máxima aqui utilizada, qual seja, 64mg/mL. Assim, se as medicações estudadas apresentarem ação sobre estes microrganismos, também deverá ser avaliada a possibilidade de extrapolar estes resultados para a clínica.

A análise dos resultados foi realizada de acordo com a espécie bacteriana e a ação das diferentes medicações sobre cada uma delas; também

foram estabelecidas comparações quanto à eficiência dos fármacos e entre as diferentes concentrações de uma mesma droga. Os resultados obtidos permitem-nos discutir alguns aspectos.

Quando avaliamos a ação dos diferentes fármacos sobre o *E.faecalis* pudemos observar que, em linhas gerais, o aumento da concentração de medicação melhorou sua eficiência (TAB. 5.1. e GRAF. 5.1.). Comparando a eficácia dos diferentes medicamentos sobre esse microorganismo constatamos que o CFC apresentou melhor desempenho, seguido pelo IKI, pelo iodofórmio e pelo hidróxido de cálcio. A ação do hidróxido de cálcio esteve próxima àquela do IKI e, em concentrações mais altas, foi bastante semelhante ao desempenho do CFC e do IKI, não apresentando contudo diferenças estatisticamente significativas.

A análise da eficácia das diferentes concentrações de cada droga sobre o *E.faecalis* (ANEXOS 41 a 48) apontou, para o iodofórmio, diminuição progressiva à medida que a concentração aumentava; entre as duas primeiras amostras houve uma ligeira queda, que se tornou mais acentuada na concentração 0,5mg/mL, permanecendo estável, sem alterações significativas, até os 32mg/mL, concentração em que observamos uma potencialização de sua ação. O hidróxido de cálcio, no entanto, pouco se alterou inicialmente, com aumento de ação bastante significativo a partir da terceira amostra, entre a qual e a concentração de 16 mg/mL manteve-se constante; a partir dessa concentração seu desempenho ação aumentou significativamente, com ainda melhores resultados nas duas concentrações imediatamente superiores. O desempenho do CFC pouco diferiu entre as várias concentrações, mantendo certa constância. Finalmente, a ação antibacteriana do IKI aumentou significativamente entre a primeira e a segunda

concentrações, mantendo um comportamento semelhante até os 2mg/mL, quando ocorreu novo aumento que foi mantido até as concentrações mais altas.

Entretanto, na comparação com outros estudos já realizados, sabemos, por exemplo, que o metronidazol – componente do CFC - não age de maneira adequada sobre esta espécie bacteriana (DAHLÉN et al., 2000), a qual também é resistente a outros antibióticos. Estudos *in vitro* demonstram que o metronidazol só é melhor que a solução aquosa de hidróxido de cálcio (SIQUEIRA & UZEDA, 1997), tendo ação inferior á Clorexidina e ao hidróxido de cálcio associado ao PMCC. Um outro dado que pode ser verificado é a sua ineficácia sobre as bactérias facultativas (LEWIS et al., 1998). Como ele é utilizado de forma associada, sabemos que com o Ciprofloxacina, sabe-se que essa associação pode ou não ser eficaz no combate a cepas isoladas de lesões cariosas e de canais radiculares entre eles o endodonto (SATO et al., 1993; HOSHINO et al., 1996).

A ação do IKI, a sua vez, acompanha os dados da literatura que demonstram sua real ação sobre este microorganismo (LARDINOIS & VREVEN, 1990; ORSTRAVIK & HAAPASALO, 1990). Já no que se refere ao Iodofórmio, sabemos que a sua ação é realmente baixa para este tipo de estudo (WRIGHT et al., 1994).

A avaliação da atividade do hidróxido de cálcio sobre o *E.faecalis*, nos permite verificar que avaliações *in vitro*, valendo-se do teste da difusão em ágar não demonstram qualquer atividade por parte deste medicamento (STEVENS & GROSSMAN, 1983; BARBOSA et al., 1997; SIQUEIRA & UZEDA, 1998) por motivos já anteriormente discutidos. Todavia quando empregado o método da diluição em

caldo, pôde ser demonstrada a ação do medicamento e com isso estão de acordo os resultados estabelecidos neste estudo (GEORGIOPOLOU et al., 1983; KONTAKIOTIS et al., 1995).

Quando da tentativa de elaborar avaliações mais clínicas, foram utilizados cilindros de dentina que eram contaminados para verificar sua ação, sendo possível afirmar que o mesmo possui pouca ação sobre esta espécie bacteriana (HAAPASALO & ØRSTRAVIK, 1987; ØRSTRAVIK & HAAPASALO, 1990; SIQUEIRA & UZEDA, 1996), o que comprova as avaliações realizadas in vivo (SJÖGREN et al., 1991).

Na busca por justificativas que pudessem explicar este fato, duas são as possíveis hipóteses: a primeira refere-se ao tipo de contaminação estabelecida em que a mesma ocorre de maneira rápida e não se restringe a luz do canal radicular mas entra em profundidade, na intimidade dos túbulos dentinários (HAAPASALO & ØRSTRAVIK, 1987; ØRSTRAVIK & HAAPASALO, 1990); e uma outra mais recente, denota a inativação da ação antibacteriana do hidróxido de cálcio sobre o *E.faecalis* quando da presença de dentina e de hidroxiapatita e mesmo a inativação parcial do IKI, o que demonstra uma interação do meio com essa resposta (HAAPASALO et al., 2000). Este fato também pode vir a comprometer o comportamento clínico de uma medicação como o CFC.

Ainda para o *E.faecalis*, no que se refere ao comportamento das diferentes medicações nas mesmas concentrações, pudemos observar que, em 0,125mg/mL (TAB. 5.1.1.), a mais eficiente foi o CFC, seguido pelo IKI - com diferenças estatisticamente significativas -; depois vieram o iodofórmio e o hidróxido

de cálcio - sem diferenças significativas entre si. Na segunda amostra – concentração 0,25mg/mL -, todas as drogas apresentaram diferenças entre si, com ligeira aproximação entre o IKI e o CFC (TAB. 5.1.2.) - tendência esta que se concretizou em 0,5mg/mL (TAB. 5.1.3.). O comportamento dos quatro fármacos na concentração de 1mg/mL foi distinto, seguindo o padrão de maior eficiência pelo CFC e menor desempenho pelo hidróxido de cálcio (TAB. 5.1.3.), tendência que foi mantida nas amostras seguintes (2 e 4mg/mL – TAB. 5.1.4. e 5.1.5.). A partir da concentração de 8mg/mL, o iodofórmio e o hidróxido de cálcio não apresentaram diferenças, e o IKI e o CFC mantiveram-se bastante eficazes, não apresentando diferenças entre seus valores (TAB. 5.1.6.). A partir desse instante, o iodofórmio foi o único a ter comportamento inferior àquele dos demais (TAB. 5.1.7., 5.1.8., 5.1.9. e 5.1.10.).

Também os resultados encontrados para o *S.aureus* apontaram tendência de melhoria no desempenho das drogas à medida que suas concentrações aumentavam como pode ser visto na TAB. 5.2. e no GRAF. 5.2.. Comparando as medicações, o CFC foi o mais eficiente, seguido pelo iodofórmio e pelo hidróxido de cálcio, estes sem grandes diferenças entre si. Por sua vez, a ação do IKI sobre essa bactéria foi fraca, apresentando os valores mais altos para todas as concentrações nas diferentes comparações.

A análise da eficácia das diferentes concentrações de cada droga sobre o *S.aureus* (ANEXOS 49 a 56) demonstrou, para o iodofórmio, discreto aumento de ação da primeira à quarta amostra. A partir de 2mg/mL, houve aumento significativo da atividade desse fármaco, condição que permaneceu praticamente constante até a última amostra – concentração de 64mg/mL. Já o hidróxido de cálcio apresentou,

inicialmente, desempenho bastante irregular; que foi melhorando progressivamente até 1mg/mL. Nessa concentração houve aumento da atividade do fármaco, que se manteve constante nas amostras seguintes, até a maior das concentrações testadas. O CFC teve ação regular em todas as concentrações, da inicial à final, sem apresentar diferenças significativas entre elas, o que também ocorreu com o IKI, em especial nas primeiras amostras; na concentração de 4mg/mL sua eficácia sofreu queda mais significativa, que aumentou na penúltima amostra.

A melhor ação do CFC verificada neste experimento deve ser avaliada com cuidado, pois sabe-se que o metronidazol não age sobre o *S.aureus* (LEWIS et al., 1988) e que o próprio hidróxido de cálcio associado ao PMCC é mais eficaz que este (SIQUEIRA & UZEDA, 1997). Ainda, o Ca(OH)_2 quando veiculado em uma substância inerte não tem ação sobre esta espécie bacteriana em qualquer avaliação empregada, seja *in vivo* (READER et al., 1994) ou *in vitro* (BARBOSA et al., 1997; SIQUEIRA & UZEDA, 1997; SIQUEIRA et al., 1997; PETTINI et al., 1998).

A respeito dos compostos iodados pode-se afirmar que as pastas iodoformadas são eficazes contra bactérias deste grupo (CASTAGNOLA & ORLAY, 1952) e mesmo que o Iodofórmio melhora o desempenho das medicações a base de hidróxido de cálcio (SIQUEIRA et al., 1997) e, ainda, que o IKI possui ação antibacteriana *in vitro* (LARDINOIS & VREVEN, 1990), quando utilizando o método da diluição em caldo, o que contradiz com o ora exposto. No que se refere a este fato, uma das explicações possíveis reside no fato de ter sido utilizada a medicação neste experimento muito diluída.

Quanto ao comportamento das diferentes medicações nas mesmas concentrações, observamos que, nas três primeiras amostras, não houve diferenças entre o iodofórmio e o hidróxido de cálcio, ambos com ação inferior à do CFC e superior à do IKI (TAB. 5.2.1., 5.2.2. e 5.2.3.). Na concentração de 1mg/mL (TAB. 5.2.4.) houve ligeiro distanciamento entre o hidróxido de cálcio e o iodofórmio, com maior ação para este último, o que tornou-se ainda mais nítido nas amostras 5, 6 e 7 (2, 4 e 8mg/mL, respectivamente – TAB. 5.2.5., 5.2.6. e 5.2.7.), nas quais todos os fármacos apresentaram desempenho distinto. Em 16mg/mL (TAB. 5.2.8.), o iodofórmio e o hidróxido de cálcio voltaram a ter comportamento semelhante e, a partir desse ponto, o hidróxido de cálcio passou a aproximar-se do CFC, o que foi confirmado nos 64mg/mL (TAB. 5.2.9. e 5.2.10.).

Estes resultados devem ser verificados também com muita parcimônia pois sabemos que atualmente há uma grande preocupação em hospitais relacionada à presença desse microorganismo, devido à resistência que manifesta, em alguns casos, a qualquer antibiótico conhecido (SKLAVOUNOS et al., 1986; LABRIOLA et al., 1983).

No presente estudo, o *P.aeruginosa* foi a bactéria que apresentou maior crescimento. O CFC apresentou melhor ação, seguido pelo iodofórmio e pelo hidróxido de cálcio, estes com comportamento semelhante: eficazes em altas concentrações. Já o IKI não teve qualquer efeito sobre essa bactéria. (TAB. 5.3. e GRAF. 5.3.).

O desempenho das medicações contra este microorganismo, de acordo com o aumento da concentração, pode ser verificado nos ANEXOS 57 a 64. O

iodofórmio, nas primeiras amostras, foi pouco eficiente sobre esse microorganismo, mas sua ação antimicrobiana aumentou expressivamente na concentração de 0,5mg/mL, condição em que se manteve até os 8mg/mL. Em 16mg/mL houve nova queda do crescimento bacteriano, o que se manteve até a maior concentração estudada. O hidróxido de cálcio, por sua vez, mostrou ação constante e fraca, que só foi alterada de forma significativa a partir das concentrações de 16 e 32mg/mL; essa ação manteve-se constante até 64mg/mL, concentração que apresentou efeito igual ao do iodofórmio. Os resultados obtidos com as diferentes concentrações de CFC demonstraram aumento da atividade antibacteriana apenas entre as duas últimas - 32 e 64mg/mL -, apesar de todas apresentarem atividade antibacteriana. Na outra ponta ficou o IKI, com comportamento constante e bastante fraco para o *P.aeruginosa*, comportamento que não se alterou em função da concentração.

Da mesma forma, se utilizamos medicações com ação específica sobre um dos microorganismos a serem testados, seus resultados devem ser avaliados de forma cautelosa, para não serem tendenciosos, pois o Ciprofloxacina é praticamente específico sobre as Enterobactérias, onde se encaixa o *P.aeruginosa*. Sabemos que a maioria dos antibióticos provoca alterações na sua forma o que leva a diminuição na liberação de sua endotoxina, tornando-o menos agressivo, sem contudo ser eliminado de forma eficaz (HORII et al., 1999). Uma das características do *P.aeruginosa*, é a resistência aos antibióticos, que pode ser inata ou adquirida. Devido a esta característica, RANTA et al. (1988), acreditam que a eficácia de ação destas drogas antimicrobianas sobre a flora endodôntica pode favorecer o crescimento deste microorganismo. Este mesmo autor nos leva a crer que o hidróxido de cálcio clinicamente é eficaz no combate a essa bactéria. Por outro

lado, análises *in vitro* demonstram uma baixa ação deste medicamento (BARBOSA et al., 1997) como também foi aqui comprovado.

No que se refere ao Iodofórmio, a literatura não apresenta qualquer relato sobre sua ação, sendo possível verificar, segundo a presente investigação, que ele inibe o crescimento deste microorganismo. Há no entanto um ponto de discórdia no que se refere ao IKI, onde neste estudo ele pareceu não ter ação e outros estudos demonstram atividade específica deste medicamento (LARDINOIOS & VREVEN, 1990), o que pode mais uma vez ser explicado pela utilização deste muito diluído neste experimento.

Quanto à ação dos diferentes fármacos nas mesmas concentrações, observamos uma distância muito grande entre o CFC e os demais. No início, o iodofórmio, o hidróxido de cálcio e o IKI tiveram comportamento bastante semelhante, demonstrando ação muito fraca contra essa espécie bacteriana (TAB. 5.3.1., 5.3.2. e 5.3.3.). A partir da quarta amostra estudada (1mg/mL), o IKI manteve sua baixa eficiência mas distanciou-se das outras duas drogas (TAB. 5.3.4.). Também a partir dessa concentração, o iodofórmio passou a melhorar sua atividade, melhora esta que se acentuou na sétima concentração (TAB. 5.3.5., 5.3.6. e 5.3.7.), aproximando-o do comportamento do CFC. As duas concentrações mais altas confirmaram essa tendência: a ação do iodofórmio e do hidróxido de cálcio aumentou, mas manteve-se àquela do CFC e superior ao desempenho do IKI (TAB. 5.3.8., 5.3.9. e 5.3.10.).

É interessante destacar que o *P.aeruginosa*, quando há crescimento, apresenta uma película superficial sobrenadante de pigmentação esverdeada que,

após agitação, toma conta de toda a solução. Isso pôde ser verificado em todas as concentrações de IKI, nas duas primeiras amostras de iodofórmio e nas sete menores concentrações de hidróxido de cálcio. Também ocorreram depósitos de medicação nas amostras de iodofórmio de concentrações superiores a 8mg/mL, o que não foi aconteceu com o hidróxido de cálcio.

A única bactéria estritamente anaeróbia utilizada no presente estudo demonstrou comportamento distinto das demais (TAB. 5.4. e GRAF. 5.4.). Em primeiro lugar, as quatro medicações apresentaram eficiência bastante semelhante ao longo de todo o experimento, apesar de algumas diferenças estatisticamente significativas em algumas concentrações.

O iodofórmio manteve ação constante em todas as concentrações avaliadas, e foi o fármaco mais eficiente na eliminação desta cepa bacteriana. O hidróxido de cálcio apresentou, de início, um desempenho razoável, que diminuiu acentuadamente já na terceira amostra, a partir da qual manteve essa condição. O IKI também se manteve constante durante toda a avaliação, e teve atuação contra a cepa avaliada. O CFC apresentou comportamento distinto daquele dos demais pois, ao mesmo tempo em que demonstrou uma boa atividade antibacteriana da primeira para a segunda concentração, condição mantida até os 8mg/mL, piorou significativamente a partir de então. Assim, para eliminar a possibilidade de erro de avaliação, alíquotas do interior dos tubos que continham essa droga nas concentrações de 16, 32 e 64mg/mL foram repicadas de forma integral, ou seja, todos os vinte tubos de cada uma dessas três últimas concentrações foram novamente inoculados, e todos demonstraram crescimento. Essa intercorrência deve ser analisada posteriormente, com maior atenção, para melhor esclarecer os

motivos que a deflagraram. Esses dados podem ser avaliados estatisticamente nos ANEXOS 65 a 72.

A análise da literatura demonstra realmente que este microorganismo é muito bem combatido, clinicamente, pelo hidróxido de cálcio como está sendo demonstrado neste estudo (HAAPASALO, 1989; STUART et al., 1991). Todavia, avaliações in vitro denotam uma eficácia limitada de sua ação (SIQUEIRA et al., 1996b, PETTINI et al., 1998).

Como características, o *B. fragilis* possui uma alta resistência a uma série de antibióticos, entre eles a penicilina, a tetraciclina e os macrolídeos sendo bem combatido pelo metronidazol e pela clindamicina (KANNAGARA et al., 1980; YAMAMOTO et al., 1989, MACHADO, 2000). Sua resistência aos antibióticos é maior do que aquela apresentada pelos *Bacteroides pigmentados de negro* (YAMAMOTO et al., 1989), o que pode ser comprovado clinicamente (SKLAVOUNOS et al., 1986). O IKI, por outro lado, mesmo utilizado bastante diluído, como neste estudo, demonstrou ação antibacteriana confirmando os dados da literatura (LARDINOIS & VREVEN, 1990).

A ação do Iodofórmio pode ser justificada por alguns fatores tais como a ausência de depósito no fundo dos tubos, o que denota uma maior liberação de iodo que quando em condições anaeróbias (PUCCI, 1945; MAISTO, 1975). No que se refere à presença de depósitos de fármacos nos tubos, o iodofórmio praticamente não apresentou essa ocorrência, mesmo em altas concentrações. Já a partir da concentração de 2mg/mL, foi possível observar tais depósitos nos tubos que continham CFC e hidróxido de cálcio.

Quanto à ação das diferentes medicações nas mesmas concentrações, as primeiras amostras apontaram maior eficácia para o CFC e o iodofórmio, ligeiramente superiores ao desempenho do hidróxido de cálcio e do IKI (TAB. 5.4.1., 5.4.2. e 5.4.3.). O comportamento dos fármacos demonstrou aproximação entre o CFC e o iodofórmio e entre o hidróxido de cálcio e o IKI, formando dois blocos nas amostras 4, 5, 6 e 7 (1,2, 4 e 8mg/mL, respectivamente – TAB. 5.4.4., 5.4.5., 5.4.6. e 5.4.7.). Desse ponto em diante, o iodofórmio, o IKI e o hidróxido de cálcio apresentaram resultados semelhantes, e foram progressivamente distanciando-se do CFC, cuja ação ficou comprometida de forma significativa. (TAB. 5.4.8., 5.4.9. e 5.4.10.)

Os resultados encontrados no presente trabalho para o iodofórmio são inovadores, pois acreditava-se que sua ação antibacteriana fosse muito fraca ou mesmo inexistente (AYDOS & MILANO, 1984). Essa constatação é ainda mais interessante quando consideramos sua ação sobre o *B.fragilis*, único microorganismo anaeróbio por nós estudado; com relação a essa bactéria, o iodofórmio demonstrou ação efetiva mesmo em baixas concentrações. Isso vem de acordo com o relato da literatura que demonstra a presença de restos necróticos, a ausência de luz e de oxigênio – típicos de um conduto infectado - estimulando a liberação de iodo no iodofórmio. Um de seus possíveis mecanismos de ação diz respeito a sua capacidade de se ligar ao lipopolissacarídeo da membrana bacteriana ativando a resposta ou mesmo inativando a sua ação (FERNANDES, 1997).

Por sua vez, e dentro das condições de realização deste experimento, o hidróxido de cálcio também apresentou ação antibacteriana contra os microorganismos analisados. Todavia, esses achados não condizem com a

realidade clínica. Sabe-se, atualmente, que a utilização de hidróxido de cálcio como medicação intracanal não promove a eliminação de infecções originadas por microorganismos como o *Enterococcus faecalis* e o *Actinomyces israelii*. Essa diferença entre a realidade clínica e os resultados experimentais pode ser atribuída à baixa difusibilidade do Ca(OH)_2 – que pode ser comprovada por seu comportamento bastante limitado quando são utilizadas avaliações de ação antimicrobiana pelo método da difusão em ágar. (o ganho desta propriedade só é possível com a associação do Ca(OH)_2 a um componente volátil como o PMCC) -, ou à sua ineficácia quando da presença de dentina ou somente de hidroxiapatita - o que foi recentemente descoberto (HAAPASALO et al., 2000).

Os resultados de nossa investigação indicaram menor eficiência antimicrobiana para o IKI, mas sua aplicação clínica demonstra ação distinta. Assim, há que se considerar que, neste experimento, as concentrações de IKI utilizadas eram muito baixas quando comparadas às clínicas pois este reconhecidamente possui boa atividade antibacteriana (WALTIMO et al., 1999, LARDINOIS & VREVEN, 1990), podendo este ser utilizado em associação inclusive a outros medicamentos como uma medicação preliminar (MOLANDER et al., 1996). Em associações com a dentina e hidroxiapatita, sua ação também é diminuída (HAAPASALO et al., 2000).

Já o CFC apresentou os melhores resultados, mas sua indicação clínica é limitada em decorrência da ação de seus componentes. Como se sabe, esse fármaco é constituído por dois antibióticos e um anti-séptico. A utilização de antibióticos é, por vezes, inconveniente, pois eles podem deflagrar reações alérgicas; promover a seleção bacteriana - com o desenvolvimento de infecções

oportunistas por bactérias resistentes à droga ou por fungos -; ou ser ineficazes contra colônias bacterianas. Outro aspecto a destacar sobre o CFC é a sua baixa eficiência contra o *B. fragilis*. Em função de metade de sua composição ser hidróxido de cálcio, sua ação pode estar comprometida em função da interação com o meio.

Uma das justificativas pelas quais o resultado difere dos demais refere-se a utilização de uma metodologia em que estabelecemos um contato direto entre a medicação e a contaminação. Portanto um preparo químico-cirúrgico, que permita, além da descontaminação da luz do canal, um aumento da permeabilidade dentinária e o conseqüente acesso da substância química e da medicação a essas áreas em que a contaminação possa vir a sobreviver, devendo-se levar em conta a possibilidade de realizar o extravasamento de medicação para o interior da lesão, o que possibilitaria um contato mais íntimo entre esta e a contaminação

Parece lícito ressaltar a necessidade de utilização, além do uso de medicações que ajam à distância, e não apenas localmente, devendo elas possuir uma boa difusibilidade, e também baixa tensão superficial para que possam penetrar ou mesmo que sua ação por meio de gases a distância ocorra complementando assim a descontaminação. Na presença de lesões contaminadas em que se suspeita da presença dos biofilmes, pelas características clínicas já relatadas que os mesmos apresentam, é por nós recomendado, para estabelecer o contato entre a medicação e a bactéria, o extravasamento de material para o interior da lesão e assim seja possível a promoção de descontaminação.

Os resultados aqui obtidos também apontam que a concentração do fármaco tem grande relevância para o sucesso da terapia. Desta forma, parece lícito

afirmar que, nas medicações sólidas, deve-se colocar o máximo de pó quando for incorporar a veículos sendo possível manter a concentração adotada. Ainda que a concentração utilizada seja muito mais baixa que a clínica, podemos imaginar o quanto de medicação entra realmente em contato com a bactéria e realmente age de forma efetiva; e também, o fato da medicação ao atingir a porção apical ser diluída pela presença do exsudato, diminuindo de forma significativa sua concentração.

Com relação à aplicabilidade clínica, o medicamento – por nós estudados – que apresenta maior praticidade é o IKI, que se apresenta sob a forma de um líquido viscoso. Por outro lado, as medicações à base de hidróxido de cálcio e o iodofórmio são difíceis de manipular, e sua inserção no canal é um procedimento muito trabalhoso, ademais, elas são medicações sólidas, o que parece comprometer sua difusão. A adoção de um veículo apropriado atenua esse problema; justifica-se dessa forma a utilização do iodofórmio associado a um veículo inerte (DANIEL et al., 1999).

A indicação de fármacos como medicação intracanal deve levar em conta a sua atividade anti-séptica, mas a grande variedade e a acentuada capacidade de adaptação dos microorganismos presentes nessa região limitam tal atividade. Assim, são mais indicados os agentes quimioterápicos, que não somente ajam de forma direta sobre a contaminação ali existente, mas que também criem condições ou mesmo estimulem o reparo por parte do organismo.

Novas pesquisas devem ser conduzidas no sentido de elucidar os mecanismos que interagem na clínica e que possam somar aos conhecimentos já

adquiridos de propriedades anti-sépticas das medicações e mesmo de contaminação dos canais radiculares que possam justificar a necessidade de utilização destas medicações e para que possa ser escolhida a melhor delas com base em dados práticos e não mais por um método empírico, sem fundamento, como são introduzidos e retirados fármacos e associações do mercado.

7. CONCLUSÕES

A análise e discussão dos resultados obtidos no presente trabalho permitiram-nos concluir, em função das condições propostas e apresentadas:

1. As diferentes concentrações dos diferentes fármacos avaliados são fatores fundamentais para se promover a eliminação das bactérias.
2. Todos os medicamentos apresentaram ação antibacteriana contra todas as espécies estudadas, com exceção do IKI sobre o *Pseudomonas aeruginosa*;

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the antimicrobial action of four drugs used as intracanal medicaments: iodoform, calcium hydroxide, CFC – 25% ciprofloxacin, 25% metronidazole and 50% calcium hydroxide - and iodine potassium iodide – 2% iodine and 4% potassium iodine - (IKI) all in glycerin, over four bacterial species: *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacteroides fragilis*. All medicaments were used in ten concentrations, i.e. 0,125, 0, 25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 16, 32 and 64 mg/ml. In a test tube, an association of bacteria and culture medium (0,9ml) in a known concentration – MacFarland's scale 0,5 ($1,5 \times 10^6$ CFU) – and completed with 0,1ml of the drug. This procedure was repeated 20 times for each drug concentration in a total of 3200 (4 bacteria X 4 medications X 10 concentrations) test tubes, plus 320 control tubes, 160 with no medication and other 160 only with medium (no bacteria or drug). After the incubation period (24 hours, except for *Bacteroides fragilis* that was 48 hours), bacterial growth was analyzed according to MacFarland's scale by comparison of the turbidity according to known values. If a group of tubes has shown more than half with no growth, than this tubes were incubated again, in a solid medium, to ensure that there wasn't really any growth. For *E.faecalis*, the CFC has had the best performance, followed by IKI, calcium hydroxide and iodoform. The *S.aureus*, CFC kept the best results, and the iodoform and calcium hydroxide has had lower action with similar results, closer to

CFC in higher concentrations; IKI seems to have no action over this species. *P.aeruginosa* was the most resistant bacteria, also the CFC was the best, followed by calcium hydroxide and iodoform and IKI, which hasn't shown action over *P.aeruginosa*. Finally, the anaerobic bacteria, *B.fragilis* has shown different results; iodoform was the best drug, followed by the other three, with very similar action. In higher concentrations, CFC seems to have no action over this bacterial kind. It's been noticed that in higher concentrations used in this study, results tends to be similar for all evaluation groups, thus it can be said that there is a relationship between drug action and concentration. These results have shown antibacterial action of iodoform, which was noticed not to have this property. This is sure important to justify some clinical findings .By the way, an important factor that should be analyzed in the indication of an intracanal medication is its interaction with other factors such as the place were bacteria is located and the possible presence of components that inactivate this antibacterial action.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS *

1. ABBOTT, P.V. Medicaments: Aids to success in endodontics. Part 1. A review of the literature. **Aust Dent J**, v.36, n.5, p. 438-449, Oct. 1990.
2. ALACAM, T.; ÖMÜRLÜ, H.; ÖZKUL, A., et al. Citotoxicity Versus Antibacterial Activity of Some Antiseptics In Vitro. **J Nihon Univ Sch Dent**, v.35, n.1, p. 22-27, Mar. 1993.
3. ALLARD, U.; NORD, C-E.; SJÖBERG, L., et al. Experimental infections with *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sanguis*, *pseudomonas aeruginosa*, and *Bacteroides fragilis* in the jaws of dogs. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 48, n. 5, p. 454-462, Nov. 1979.
4. ANDO, N.; HOSHINO, E. Pant obligate anaerobes invading the deep layers of root canal dentine. **Int Endod J**, v.23, n.1, p. 20-27, Jan. 1990.

* De acordo com a NBR-6023: Referências Bibliográficas, de 1989, da Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT, e abreviatura dos títulos de periódicos em conformidade com a base de dados Medline.

5. ANGLESIO FARINA, G.; CRUPI, V.M.; FONTANINI, P.G., et al. Batteri anerobi nelle infezioni orali di origine dentale. **Minerva Stomatol**, v. 40, n. 1-2, p. 71-75, gen./feb. 1991.
6. AYDOS, J.H.; MILANO, N.F. Revisão Bibliográfica sobre o uso do Iodofórmio em Endodontia. **Rev Fac Odontol Porto Alegre**, v.26, p. 43-51, mar. 1984.
7. AYHAN, H.; SULTAN, N.; CIRAK, M., et al. Antimicrobial effects of various endodontic irrigants on selected microorganisms **Int Endod J**, v.32, n.2 , p. 99-102, Mar. 1999.
8. BARBOSA, C.A.M.; GONÇALVES, R.B.; SIQUEIRA JR.; J.F., et al. Evaluation of the Antibacterial Activities of Calcium Hydroxide, Chlorexidine, and Camphorated Paramonochlorophenol as Intracanal Medicament. A Clinical and Laboratory Study. **J Endod**, v.23, n.5, p. 297-300, May. 1997.
9. BARNETT, F.; AXELROD, P.; TRONSTAD, L., et al. Ciprofloxacin Treatment of Periapical Pseudomona aeruginosa infection. **Endod Dent Traumatol**, v.4, n.4, p. 132-137, Aug.1988.
10. BAUMGARTNER, J.C.& FALKLER,W.A. Bacteria in the Apical 5mm of Infected Root Canals. **J Endod**, v.17, n.8, p. 380-383, Aug. 1991.
11. BYSTRÖM, A.; CLAESSION, R.; SUNDQUIST, G. The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. **Endod Dent Traumatol**, v.1, n.5, p. 170-175, Oct.1985.

12. CASTAGNOLA, L. The use of iodoform paste (Walkhoff method) in modern endodontic therapy. **Quintessence Int**, v.7, n.4, p. 19-23, Apr.1976.
13. CASTAGNOLA, L.; ORLAY, H.G. Treatment of Gangrene of the pulp by the Walkhoff method. **Br Dent J**, v.93, n.9, p. 93-102, Aug. 1952.
14. CHONG, B.S.; PITTFORD, T.R. The role of intracanal medication in root canal treatment. **Int Endod J**, v.25, n.2, p. 97-106, Mar. 1992.
15. DAHLÉN, G.; BERGENHOLTZ, G. Endotoxic Activity in Teeth with Necrotic Pulp. **J Dent Res**, v.59, n.6, p. 1033-1040, June. 1980.
16. DAHLÉN, G.; FABRICIUS, L.; HEYDEN, G., et al. Apical periodontitis induced by selected bacterial strains in root canals of immunized and nonimmunized monkeys. **Scand J Dent Res**, v.90, n.3, p. 207-216, June. 1982.
17. DAHLÉN, G.; SAMUELSSON, W.; MOLANDER, A., et al. Identification and antimicrobial susceptibility of enterococci isolated from the root canal. **Oral Microbiol Immunol**, v.15, n.5, p. 309-312, Oct. 2000.
18. DANIEL, R.L.D.P. **Análise Comparativa in vitro do Iodofórmio e do Hidróxido de Cálcio Empregando-se dois Diferentes Veículos**. São Paulo, 1998. 200p. Tese (Mestrado em Endodontia) – Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.
19. DANIEL, R.L.D.P.; JAEGER, M.M.M.; MACHADO, M.E.L. Emprego do iodofórmio em Endodontia – revisão da literatura. **RPG**, v.6, n.2, p. 175-179, abr./jun. 1999.

20. FABRICIUS, L.; DAHLÉN, G.; OHMAN, A.E., et al. Predominant indigenous oral bacteria isolated from infected root canals after varied times of closure. **Scand J Dent Res**, v.90, n.2, p. 134-144, Apr.1982.
21. FAVA, L.R.G; SAUNDERS, W.P. Calcium hydroxide pastes: classification and clinical conditions. **Int Endod J**, v. 32, n.4, p. 257-282, Aug. 1999.
22. FERNANDES, K.P.S. **Avaliação da Interação entre a Endotoxina Bacteriana e o Iodofórmio**. São Paulo, 1997. 210 p. Tese (Mestrado em Endodontia) – Faculdade de Odontologia da Universidade Camilo Castelo Branco.
23. FOREMAN, P.C.; BARNES, F. A review of calcium hydroxide. **Int Endod J**, v.23, n.6, p. 283-297, Nov. 1990.
24. GARCIA-GODOY, F. Evaluation of an iodoform paste in root canal therapy for infected primary teeth. **ASDC J Dent Child**, v.54, n.1, p. 30-34, Jan./Feb. 1987.
25. 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**, v.9, n.6, p. 249-253, Dec.1993.
26. GUEDES-PINTO, A.; PAIVA, J.G.; BOZZOLA, J.R. Tratamento endodôntico de dentes decíduos com polpa mortificada. **Rev APCD**, v.35, n.3, p. 240-245, maio/jun. 1981.

27. GUINEY , D.G.; BOUIC, K. Detection of Conjugal tran-sfer Systems in Oral, Black-Pigmented Bacteroides spp. **J Bacteriol**, v.172, n.1, p. 495-497. Jan. 1990.
28. HAAPASALO, M.; ØRSTRAVIK, D. In vitro Infection and Desinfection of Dentinal Tubules. **J Dent Res**, v.66, n.8, p. 1375-1379, Aug. 1987.
29. HAAPASALO, M. Bacteroides spp. In dental root canal infection. **Endod Dent Traumatol**, v.5, n.1, p. 1-10, Feb.1989.
30. HAAPASALO, H.K.; SIRÉN, E.K.; WALTIMO, T.M.T., et al. Inactivation of local root canal medicaments by dentine: an in vitro study. **Int Endod J**, v.33, n.2, p. 126-131. Mar. 2000.
31. HEITHERSAY, G.S. Calcium hydroxide in the Treatment of Pulpless Teeth with associated pathology. **J Br Endod Soc**, v.8, n. 2, p. 74-93, Feb. 1975.
32. HOLAN, G.; FUKS, A.B. A Comparison of pulpectomies using ZOE and KRI paste in primary molars: a retrospective study. **Pediatr Dent**, v.15, n.6, p. 403-407. Nov./Dec. 1993.
33. HORII, T.; ICHIYAMA, S. OTA, M., et al. Relationship between morphological changes and endotoxin released induced by carbapenems in Pseudomonas aeruginosa. **J Med Microbiol**, v.48, n.3, p. 309-315, Mar. 1999.
34. HOSHINO, E.; KURIHARA-ANDO, N.; SATO, I., et al. In vitro antibacterial suscetibility of bacteria taken from infected root dentine to a mixture of

- ciprofloxacin, metronidazole and minocycline. **Int Endod J**, v.29, n.2, p. 125-130, Mar. 1996.
35. ISERMANN, G.T.; KAMINSKI, E.J. Pulpal response to bacteria in the dog. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.48,n.4, p. 353-357, Oct. 1979.
 36. IWU,C.; MACFALANE, T.W.; MACKENZIE, D., et al. The microbiology of periapical granulomas. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.69,n.4, p. 502-505, Apr. 1990.
 37. JUGE, H. Resorbable pastes for root canal fillings. **Int Dent J**, v.9, n.4, p. 461-476, Dec. 1959.
 38. KANNANGARA, D.W.; THADEPALLI, H.; McQUIRTER, J.L. Bacteriology and treatment of dental infections. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.50, n.2, p. 103-109, Aug. 1980.
 39. KANTZ, W.E.; HENRY, C.A. Isolation and Classification of Anaerobic bacteria from intact pulp chambers of non-vital teeth in man. **Arch Oral Biol**, v. 19, n.1, p. 91-96. Jan. 1974.
 40. KEUDELL, K.; CONTE, M.; FUJIMOTO, L., et al. Microorganisms isolated from pulp chambers. **J Endod**, v.2, n.5, p. 146-148, May. 1976.
 41. 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**, v.28, n.6, p. 285-289, Nov. 1995.

42. LABRIOLA, J.D.; MASCARO, J.; ALPERT, B. The Microbiologic Flora of Orofacial Abscesses. **J Oral Maxilofac Surg**, v.41, n.11, p. 711-714. Nov. 1983.
43. LAMERS, A.C.; VANMULLEM, P.J.; SIMON, M. Tissue reactions to sodium hypochlorite and iodine potassium iodide under clinical conditions in monkey teeth. **J Endod**, v.6, n.8, p. 788-792, Oct. 1980.
44. LARDINOIS, M.L.; VREVEN, J. Évaluation in vitro de l'activité antibactérienne de médicaments à usage endodontique. **Rev Fr Endod**, v.9, n.2, p. 31-39, juin. 1990.
45. LEWIS, M.A.O.; MACFARLANE, T.W.; MCGOWAN, D.A. Reliability of sensitivity testing of primary culture of acute dentoalveolar abscess. **Oral Microbiol Immunol**, v.3 n.4, p. 177-180, Dec. 1988.
46. MACHADO, M.E.L. **Endoatlas** [online]. São Paulo. Brazil. Nov. 2000. Cap.3. Histofisiologia e Histopatologia de Polpa e Periápice. Available from world wide web; <http://www.endoatlas.com.br>. ISBN
47. MAISTO, O.A.; ERAUSQUIN, J. Reacción de los tejidos periapicales del molar de la rata a las pastas de obturación, reabsorbibles. **Rev Assoc Odontol Argent**, v. 53, n.1, p. 12-20, ene. 1965.
48. MAISTO, O.A. **Endodoncia**. 3 ed. Buenos Aires: Mundi, 1975. p. 217-289
49. MANISALI, Y.; YÜCEL, T.; ERİSEN, R.. Overfiling of the root – a case report. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.68, n.6, p.773-775, Dec. 1989.

50. MOLANDER, A.; REIT, C.; DÁHLEN, G., et al. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. **Int Endod J**, v.31, n.1, p. 1-7, Jan. 1998.
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**, v.15, n.5 , p. 205-209, Oct.1999.
52. MÖLLER, A.J.R. Microbiological Examination of Root canals and Periapical Tissues of Human Teeth. **Odontol Tidskr**, v.74, (Spec. Issue), p. 1-380. 1966.
53. OHARA, P.; TORABINEJAD, M.; KETTERING, J.D. Antibacterial Effects of various Endodontic Medicaments on Selected Anaerobic Bacteria. **J Endod**, v.19, n.10, p. 498-500, Oct. 1993.
54. ØRSTRAVIK, D.; HAAPASALO, M. Desinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. **Endod Dent Traumatol**, v.6, n.4, p. 142-149, Aug.1990.
55. PECIULIENE, V.; BALCIUNIENE, I.; ERIKSEN, H.M., et al. Isolation of *Enterococcus faecalis* in Previously Root-filled Canals in a Lithuanian Population. **J Endod**, v.26, n.10, p. 593-595., Oct. 2000.
56. PETTINI, F. ; MASTROMARCO, P.; PETTINI, P. L'attività antibatterica di alcuni medicinali endodontici. **Minerva Stomatol**, v. 47, n.7/8, p. 309-314. giugl./ago. 1998.

57. PUCCI, F.M. **Conductos radiculares: anatomia, patologia Y terapia.** Montevideo: Medico Quirurgica, 1945. v.2, p. 344-375.
58. RAMACHANDRAN NAIR, P.N.. Light and Electron Microscopic Studies of Root Canal Flora and Periapical lesions. **J Endod**, v.13, n. 1, p. 29-39, Jan. 1987.
59. RAMACHANDRAN NAIR, P.N.; SJÖGREN, U.; KREY, G., 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**, v.16, n.12, p. 580-588, Dec. 1990.
60. RANTA, K.; HAAPASALO, M.; RANTA, H. Monoinfection of root canal with *Pseudomonas aeruginosa*. **Endod Dent Traumatol**. v.4, n.6, p. 269-272. Dec. 1988.
61. READER, C.; BONIFACE, M.; BUJANDA-WAGNER, S. Refractive endodontic lesion Associated with *Staphylococci aureus*. **J Endod**, v.20, n.12, p. 607-609, Dec. 1994.
62. RIBEIRO, M.C.; SOARES, M.M.S.R. Antibiograma. In: RIBEIRO, M.C.; SOARES, M.M.S.R. **Microbiologia Prática. Roteiro e Manual. Bactérias e Fungos**. 1^a. ed. São Paulo. Rio de Janeiro. Belo Horizonte. Livraria Atheneu Editora. 1993. p.69-80.
63. RIFKIN, A. The root canal treatmt of abscessed primary teeth-a three to four year follow-up. **ASDC J Dent Ch**, v.49, n.6, p. 428-431, Nov./Dec, 1982.

64. ROCCA, J.P.; DUPRES, J.P.; DELUZAIN, G. ., et al. Thérapeutique des complications de la gangrène pulpaire: évaluation clinique d'une pâte de Walkhoff modifiée utilisée en technique monocône. **Chir Dent Fr**, v.55, n.306, p. 97-99, Sept. 1985.
65. ROCHA, M.M.N.P.; MOREIRA, J.L.B.; MENEZES, D.B., et al. Estudo bacteriológico de lesões periapicais. **Rev Fac Odontol USP**, v.12, n.3, p. 215-223. jul./set. 1998.
66. SAFAVI, K.E.; DOWDEN, W.E.; INTROCASO, J.H., et al. Comparison of Antimicrobial Effects of calcium hydroxide and Iodine –Potassium Iodide. **J Endod**, v.11, n.10, p. 454-456, Oct. 1985.
67. SAFAVI, K.E.; NICHOLS, F.C. Alteration of biological properties of bacterial lipopolysaccharide by calcium hydroxide treatment. **J Endod**, v.20, n.3, p. 127-129, Mar. 1994.
68. SATO, T.; HOSHINO, E.; UEMATSU, H., et al. In vitro antimicrobial susceptibility to combinations of drugs of bacteria from carious and endodontic lesions of human deciduous teeth. **Oral Microbiol Immunol**, v.8, n.3, p. 172-176, June. 1993.
69. SCELZA, M.F.Z.; ANTONIAZZI, J.H.; LUZ, J.G., et al. Compatibilidade biológica de alguns medicamentos intracanaais quando implantados em mandíbulas de ratos. **RPG**, v.6, n.2, p. 118-126, abr./jun. 1999.
70. SELTZER, S.; FARBER, P.A. Microbiologic factors in endodontology. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.78, n.5, p. 634-645, Nov. 1994.

71. SEMERARO, D.; MAGALHÃES, T.R. Iodofórmio – Um Medicamento Poderoso. v.44, n.446, p.445-447, July. 1978.
72. SIQUEIRA JR., J.F.; UZEDA, M.; FONSECA, M.E.F. A Scanning Electron Microscopic Evaluation of In Vitro Dentinal Tubules Penetration by Selected Anaerobic Bacteria. **J Endod**, v.22, n.6, p. 308-310, June. 1996a.
73. SIQUEIRA JR., J.F.; LOPES, H.P.; UZEDA, M. Atividade antibacteriana de medicamentos endodônticos sobre bactérias anaeróbias estritas. **Revista APCD**, v.50, n.4, p. 326-331, jul./ago. 1996b.
74. 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**, v.22, n.12, p. 674-676, Dec. 1996.
75. SIQUEIRA JR., J.F. Lesões Periapicais podem ser infectadas? Visão Crítica do Problema. **RBO** , v.54, n.1, p. 43-46. jan./fev.1997.
76. SIQUEIRA JR., J.F.; UZEDA, M. Intracanal medicaments: Evaluation of the Antibacterial Effects of Chlorexidine, Metronidazole, and Calcium Hydroxide Associated with Three Vehicles. **J Endod**, v.23, n.3, p. 167-169, Mar. 1997.
77. SIQUEIRA JR., J.F.; LOPES, H.P.; MAGALHÃES, F.A.C., et al. Atividade antibacteriana da pasta de hidróxido de cálcio/paramonoclorofenol canforado/glicerina contendo diferentes proporções de iodofórmio sobre bactérias anaeróbias estritas e facultativas. **Rev Paul Odontol**, v. 19, n.2, p. 17-21, mar./abr. 1997.

78. SIQUEIRA JR., J.F.; UZEDA, M. Influence of Different Vehicles on the Antibacterial Effects of Calcium Hydroxide. **J Endod**, v.24, n.10, p. 663-665, Oct. 1998.
79. SIQUEIRA JR. J.F.; LOPES, H.P. Biofilme perirradicular: estrutura, implicação no insucesso endodôntico e estratégias de tratamento. **Rev Paul Odontol**, v. 20, n.6, p. 4-8, nov./dez. 1998.
80. SIQUEIRA JR., J.F.; MAGALHÃES, F.A.C.; LIMA, K.C., et al. Pathogenicity of facultative and obligate anaerobic bacteria in monoculture and combined with either *Prevotella intermedia* ou *Prevotella nigrescens*. **Oral Microbiol Immunol**, v.13, n. 6, p. 368-372, Dec. 1998.
81. SIQUEIRA JR. J.F.; LOPES, H.P. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. **Int Endod J**, v.32, n.5, p. 361-369, Sept. 1999.
82. SIREN, E.K.; HAAPASALO, M.P.P.; RANTA, K., et al. Microbiological findings and clinical treatment procedures in endodontic procedures in endodontic cases selected for microbiological investigation. **Int Endod J**, v.30, n.2, p. 91-95, Mar. 1997.
83. SJÖGREN, U.; FIGDOR, D.; SPÅNGBERG, L., et al. The antimicrobial effect of calcium hydroxide as a short-term intracanal dressing. **Int Endod J**, v.24, n.3, p. 119-125, May. 1991.

84. SKLAVOUNOS, A.; LEGAKIS, N.J.; IOANNIDOU, H., et al. Anaerobic bacteria in dentoalveolar abscesses. **Int J Oral Maxillofac Surg.** v.15, n.3, P. 288-291, June. 1986.
85. SPÅNGBERG, L.; RUTBERG, M.; RYDINGE, E. Biologic Effects of Endodontic Antimicrobial Agents. **J Endod**, v.5, n.6, p. 166-175, June. 1979.
86. STEVENS, R.H.; GROSSMAN, L.I. Evaluation of the Antimicrobial Potential of Calcium Hydroxide as an Intracanal medicament. **J Endod**, v.9, n.9, p. 372-374, Sept. 1983.
87. STUART, K.G.; MILLER, C.H.; BROWN JR.; C.E., et al. The comparative antimicrobial effect of calcium hydroxide. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.72,n.1, p. 101-104, July. 1991.
88. SUNDQUIST, G. Ecology of the Root Canal Flora. **J Endod**, v.18, n.9, p. 427-430, Sept. 1992.
89. SUNDQUIST, G. Taxonomy, ecology, and pathogenicity of the root canal flora. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.78,n.4, p. 522-530, Oct. 1994.
90. SVEEN, K.; SKAUG, N. Comparative mitogenicity and polyclonal B cell activation capacity of eight oral or nonoral bacterial lipopolysaccharides in cultures of spleen cells from athymic (nu/nu-BALB/C) and thymic (BALB/c) mice. **Oral Microbiol Immunol**, v.7, n.2, p. 71-77, Apr. 1992.

91. TANI-ISHI, N.; WANG, C.-Y.; TANNER, A., et al. Changes in root canal microbiota during the development of rat periapical lesions. **Oral Microbiol Immunol**, v.9, n.3, p. 129-135, June. 1994.
92. TORNECK, C.D. The role of microorganisms in Endodontic Disease. **Alpha Omegon**, v.62, n.2, p.180-186, Dec. 1969.
93. TRONSTAD, L.; BARNETT, F.; RISO, K., et al. Extraradicular endodontic infections. **Endod Dent Traumatol**, v.3, n.2, p. 86-90, Apr. 1987.
94. TRONSTAD, L.; BARNETT, F.; CERVONE, F. Periapical bacteria plaque refractory to endodontic treatment. **Endod Dent Traumatol**, v.6, n.2, p. 73-77, Apr.1990a.
95. TRONSTAD, L.; KRESHTOOL, D.; BARNETT, F. Microbiological monitoring and results of treatment of extraradicular endodontic infection. **Endod Dent Traumatol**, v.6, n.6, p. 129-136, Dec.1990b.
96. VOJINOVIC, O.; SRNIĆ, E. Induction of Apical Formation by the use of Calcium hydroxide and iodoform-Chlumsky Paste in the Endodontic Treatment of Immature teeth. **J Br Endod Soc**, v.8, n. 1, p.16-22, Jan. 1975.
97. VON KONOW, L.; NORD, C.E.; NORDENRAM, A. Anaerobic bacteria in dentoalveolar infections. **Int J Oral Surg**, v.10, n.5, p. 313-322. Apr. 1981.
98. WALTIMO, T.M.T.; ØRSTRAVIK, D.; SIRÉN, E.K., et al. In vitro susceptibility of *Candida albicans* to four disinfectants and their combinations. **Int Endod J**, v.32, n.6, p. 421-429, Nov. 1999.

99. WALTON, R.E. Intracanal medicaments. **Dent Clin North Am**, v.28, n.4, p. 783-796. Oct. 1984.
100. WASFY, M.O.; MACMAHON, K.T.; MINAH, G.E., et al. Microbiological evaluation of periapical infections in Egypt. **Oral Microbiol Immunol**, v.7, n.2, p. 100-105, Apr., 1992.
101. WAYMAN, B.E.; MURATA, S.M.; ALMEIDA, R.J., et al. A Bacteriological and Histological Evaluation of 58 Periapical Lesions. **J Endod**, v.18, n.4, p. 152-155, Apr. 1992
102. WEIGER, R.; MANNCKE, B.; WERNER, H., et al. Microbial flora of sinus tracts and root canals of non-vital teeth. **Endod Dent Traumatol**, v.11, n. 1, p. 15-19, Jan.1995.
103. WILLIMAS, B.L.; MCCANN, G.F.; SCHOENKECHT, F.D. Bacteriology of Dental Abscess of Endodontic Origin. **J Clin Microbiol**, v.18, , n.4, p. 770-774, Oct. 1983.
104. WINKLER, K.C.; VAN AMERONGEN, J. Bacteriologic results From 4,000 Root canals Cultures. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.12, n.7, p.857-875, July. 1959.
105. WITGOW, W.C.; SABISTON, C.B. Microorganisms from pulpal chambers of intact teeth with necrotic pulps. **J Endod**, v.1, n.5, p. 168-171, May. 1975.
106. WRIGHT, K.J.; BARBOSA, S.V.; ARAKI, K., et al. In vitro antimicrobial and cytotoxicity effects of Kri1 paste and zinc oxide-eugenol used in primary tooth pulpectomies. **Pediatr Dent**, v.16, n.2, p. 102-106, Mar./Apr. 1994.

107. YAMAMOTO, JK.; FUKUSHIMA,H.; TSUCHIYA, H., et al. Antimicrobial Suscetibilities of Eubacterium, Peptostreptococcus, and Bacteroides Isolated from Root Canals of teeth with Periapical Pathosis. **J Endod**, v.15, n.3, p. 112-116, Mar. 1989.
108. YOSHIDA, M.; FUKUSHIMA,H.; YAMAMOTO, K. ., et al. Correlation between Clinical Symptoms and Microorganisms Isolated from Root Canals of Teeth with Periapical Pathosis. **J Endod**, v.13, n.1, p. 24-28, Jan. 1987.
109. 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 USP**, v.13, n.2, p. 277-285, jul./ago. 1975.

ANEXOS

ANEXO 1

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 0,125mg/ml sobre o *Enterococcus faecalis*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	0,00	5,00	15,00	43,75	27,50	7,50	1,25

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	5,17	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	27,060%	<i>é normal</i>

ANEXO 2

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 0,250mg/ml sobre o *Enterococcus faecalis*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	0,00	8,75	21,25	33,75	31,25	5,00	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	5,47	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	24,270%	<i>é normal</i>

ANEXO 3

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 0,50mg/ml sobre o *Enterococcus faecalis*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	0,00	0,00	37,50	42,50	11,25	7,50	1,25

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	20,63	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	0,0400%	<i>não é normal</i>

ANEXO 4

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 1mg/ml sobre o *Enterococcus faecalis*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	0,00	8,75	7,50	65,00	10,00	6,25	2,50'

B. Cálculo do Qui

quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	37,87	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	0,0000%	<i>não é normal</i>

ANEXO 5

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 2mg/ml sobre o *Enterococcus faecalis*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	0,00	0,00	37,50	28,75	28,75	0,00	5,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	22,08	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	0,0200%	<i>não é normal</i>

ANEXO 6

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 4mg/ml sobre o *Enterococcus faecalis*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	1,25	5,00	21,25	42,50	18,75	11,25	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	8,12	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	8,7100%	<i>é normal</i>

ANEXO 7

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 8mg/ml sobre o *Enterococcus faecalis*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	0,00	5,00	31,25	35,00	26,25	0,00	2,50

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	8,26	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	0,7000%	<i>é normal</i>

ANEXO 8

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 16mg/ml sobre o *Enterococcus faecalis*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	0,00	0,00	37,50	38,75	13,75	8,75	1,25

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	19,33	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	0,0700%	<i>não é normal</i>

ANEXO 9

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 32mg/ml sobre o *Enterococcus faecalis*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	0,00	2,50	13,75	55,00	22,50	5,00	1,25

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	11,94	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	1,7800%	<i>não é normal</i>

ANEXO 10

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 64mg/ml sobre o *Enterococcus faecalis*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	0,00	5,00	30,00	33,75	22,50	7,50	1,25

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	3,30	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	50,880%	<i>é normal</i>

ANEXO 11

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 0.125mg/ml sobre o *Staphylococcus aureus*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	2,50	7,50	17,50	31,25	32,50	8,75	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	9,47	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	5,0400%	<i>é normal</i>

ANEXO 12

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 0.250mg/ml sobre o *Staphylococcus aureus*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	1,25	2,50	31,25	47,50	6,25	10,00	1,25

B. Cálculo do Qui

quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	22,30	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	24,270%	<i>não é normal</i>

ANEXO 13

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 0,50mg/ml sobre o *Staphylococcus aureus*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	0,00	10,00	12,50	46,25	26,25	5,00	0,00

B. Cálculo do Qui

quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	10,79	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	2,9000%	<i>não é normal</i>

ANEXO 14

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 1mg/ml sobre o *Staphylococcus aureus*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	1,25	6,25	17,50	41,25	31,25	2,50	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	5,65	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	22,720%	<i>é normal</i>

ANEXO 15

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 2mg/ml sobre o *Staphylococcus aureus*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	1,25	5,00	21,25	51,25	8,75	12,50	0,00

B. Cálculo do Qui

quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	22,82	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	0,0100%	<i>não é normal</i>

ANEXO 16

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 4mg/ml sobre o *Staphylococcus aureus*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	1,25	5,00	21,25	42,50	18,75	11,25	0,00

B. Cálculo do Qui

quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	8,12	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	8,7100%	<i>é normal</i>

ANEXO 17

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 8mg/ml sobre o *Staphylococcus aureus*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	0,00	6,25	23,75	38,75	23,75	7,50	0,00

B. Cálculo do Qui

quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	1,00	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	90,9800%	<i>é normal</i>

ANEXO 18

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 16mg/ml sobre o *Staphylococcus aureus*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	0,00	0,00	22,50	53,75	16,25	6,25	1,25

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	13,08	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	1,0900	<i>não é normal</i>

ANEXO 19

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 32mg/ml sobre o *Staphylococcus aureus*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	0,00	6,25	12,50	51,25	22,50	7,50	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	9,96	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	4,1100%	<i>não é normal</i>

ANEXO 20

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 64mg/ml sobre o *Staphylococcus aureus*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	1,25	8,75	18,75	31,25	37,50	0,00	2,50

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	17,89	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0	0,1300%	<i>não é normal</i>

ANEXO 21

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 0,125mg/ml sobre o *Pseudomonas aeruginosa*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	2,50	2,50	17,50	53,75	22,50	0,00	1,25

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	13,75	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	0,8100%	<i>Não é normal</i>

ANEXO 22

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 0,250mg/ml sobre o *Pseudomonas aeruginosa*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	1,25	3,75	30,00	42,50	8,75	13,75	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	24,84	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	0,0100%	<i>não é normal</i>

ANEXO 23

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 0.50mg/ml sobre o *Pseudomonas aeruginosa*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	5,00	3,75	11,25	56,25	12,50	11,25	0,00

B. Cálculo do Qui

quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	26,14	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	0,0000%	<i>não é normal</i>

ANEXO 24

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 1mg/ml sobre o *Pseudomonas aeruginosa*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	2,50	0,00	2,50	73,75	15,00	3,75	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	57,60	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	0,0000%	<i>não é normal</i>

ANEXO 25

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 2mg/ml sobre o *Pseudomonas aeruginosa*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	1,25	1,25	7,50	62,50	23,75	2,50	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	29,10	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	0,0000%	<i>não é normal</i>

ANEXO 26

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 4mg/ml sobre o *Pseudomonas aeruginosa*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	0,00	1,25	8,75	60,00	26,25	1,25	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	26,55	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	0,0000%	<i>não é normal</i>

ANEXO 27

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 8mg/ml sobre o *Pseudomonas aeruginosa*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	1,25	0,00	31,25	48,75	13,75	3,75	1,25

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	14,44	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	0,6000%	<i>não é normal</i>

ANEXO 28

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 16mg/ml sobre o *Pseudomonas aeruginosa*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	1,25	8,75	15,00	38,75	30,00	5,00	1,25

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	7,03	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	13,440%	<i>é normal</i>

ANEXO 29

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 32mg/ml sobre o *Pseudomonas aeruginosa*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	1,25	6,25	12,50	58,75	16,25	3,75	1,25

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	17,82	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	0,1300%	<i>não é normal</i>

ANEXO 30

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 64mg/ml sobre o *Pseudomonas aeruginosa*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M - 3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	1,25	0,00	3,75	85,00	8,75	0,00	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	88,96	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	0,0000%	<i>não é normal</i>

ANEXO 31

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 0,125mg/ml sobre o *Bacteroides fragilis*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	1,25	5,00	28,75	48,75	1,25	15,00	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	41,68	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	0,0000%	<i>não é normal</i>

ANEXO 32

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 0,250mg/ml sobre o *Bacteroides fragilis*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	0,00	3,75	30,00	48,75	7,50	10,00	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	19,31	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	0,0700%	<i>não é normal</i>

ANEXO 33

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 0.50mg/ml sobre o *Bacteroides fragilis*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	0,00	7,50	25,00	46,25	10,00	11,25	0,00

B. Cálculo do Qui

quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	16,53	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	0,2400%	<i>não é normal</i>

ANEXO 34

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 1mg/ml sobre o *Bacteroides fragilis*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	0,00	2,50	23,75	51,25	12,50	10,00	0,00

B. Cálculo do Qui

quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	14,38	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	0,6200%	<i>não é normal</i>

ANEXO 35

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 2mg/ml sobre o *Bacteroides fragilis*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	0,00	8,75	31,25	25,00	26,25	5,00	3,75

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	9,89	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	4,2300%	<i>não é normal</i>

ANEXO 36

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 4mg/ml sobre o *Bacteroides fragilis*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	0,00	3,75	30,00	40,00	18,75	3,75	3,75

B. Cálculo do Qui

quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	3,63	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	45,9000%	<i>é normal</i>

ANEXO 37

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 8mg/ml sobre o *Bacteroides fragilis*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	0,00	10,00	21,25	23,75	43,75	0,00	1,25

B. Cálculo do Qui

quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	32,00	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	0,0000%	<i>não é normal</i>

ANEXO 38

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 16mg/ml sobre o *Bacteroides fragilis*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	0,00	3,75	37,50	21,25	28,75	8,75	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	19,46	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	0,0600%	<i>não é normal</i>

ANEXO 39

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 32mg/ml sobre o *Bacteroides fragilis*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	0,00	5,00	15,00	40,00	38,75	0,00	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	17,68	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	0,1400%	<i>não é normal</i>

ANEXO 40

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes drogas na concentração de 64mg/ml sobre o *Bacteroides fragilis*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M - 3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	3,75	0,00	20,00	47,50	22,50	6,25	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	7,83	<i>Distribuição amostral testada é</i>
Probabilidade de H_0 :	9,7900%	<i>normal</i>

ANEXO 41

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes concentrações de iodofórmio frente ao *Enterococcus faecalis*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

Intervalos de classe:	M -3s	M -2s	M -1s	Med.	M +3s	M +2s	M +1s
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	1,00	4,50	23,50	37,50	24,00	9,50	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	3,43	
Probabilidade de H ₀ :	48,890	<i>Distribuição amostral testada</i>
	%	<i>é normal</i>

ANEXO 42

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Fonte de variação	Soma dos Quadrados	GL	Quadr. Médios	(F)	Prob (H ₀)
Entre colunas	108,50	9	12,06	16,85	0,00%
Resíduo	135,95	190	0,71		
Variação total	244,45	199			

Valor crítico de Tukey para 5%: 0,84

Significância Estatística da comparação da ação das diferentes concentrações do iodofórmio sobre o *Enterococcus faecalis*

Concentrações (em mg/mL)	Significância Estatística
• 0,125 X 0,25	5%
• 0,25 X 0,5	Ns
• 0,5 X 1,0	Ns
• 1,0 X 2,0	Ns
• 2,0 X 4,0	Ns
• 4,0 X 8,0	Ns
• 8,0 X 16,0	Ns
• 16,0 X 32,0	Ns
• 32,0 X 64,0	Ns

ANEXO 43

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes concentrações de hidróxido de cálcio frente ao *Enterococcus faecalis*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	1,00	1,50	34,50	30,50	22,50	8,50	1,50

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	11,31	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	2,330%	<i>Não é normal</i>

ANEXO 44

Análise Estatística da ação das diferentes concentrações do hidróxido de cálcio sobre o *Enterococcus faecalis* pelo teste de Kruskal-Wallis

<u>Concentrações (em mg/mL)</u>	<u>Significância Estatística</u>
• 0,125 X 0,25	Ns
• 0,25 X 0,5	0,1%
• 0,5 X 1,0	Ns
• 1,0 X 2,0	Ns
• 2,0 X 4,0	Ns
• 4,0 X 8,0	Ns
• 8,0 X 16,0	0,1%
• 16,0 X 32,0	5%
• 32,0 X 64,0	Ns

Valor de Kruskal-Wallis calculado : 135,7371

Valor de X^2 para 3 graus de liberdade : 135,74

Probabilidade de H_0 para esse valor : 0,00%

Significante ao nível de 1% ($\alpha=0,01$)

ANEXO 45

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes concentrações de CFC frente ao *Enterococcus faecalis*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Frequência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	0,00	0,00	54,00	8,50	32,00	2,50	3,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	70,87	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	0,000%	<i>Não é normal</i>

ANEXO 46

Análise Estatística da ação das diferentes concentrações do CFC sobre o *Enterococcus faecalis* pelo teste de Kruskal-Wallis

<u>Concentrações (em mg/mL)</u>	<u>Significância Estatística</u>
• 0,125 X 0,25	Ns
• 0,25 X 0,5	Ns
• 0,5 X 1,0	Ns
• 1,0 X 2,0	Ns
• 2,0 X 4,0	Ns
• 4,0 X 8,0	5%
• 8,0 X 16,0	Ns
• 16,0 X 32,0	5%
• 32,0 X 64,0	Ns

Valor de Kruskal-Wallis calculado : 14,5845

Valor de X^2 para 3 graus de liberdade : 14,58

Probabilidade de H_0 para esse valor : 10,30%

Não significativa ($\alpha > 0,05$)

ANEXO 47

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes concentrações de IKI frente ao *Enterococcus faecalis*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	0,00	3,50	31,50	41,50	12,50	11,00	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	14,40	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	0,610%	<i>Não é normal</i>

ANEXO 48

Análise Estatística da ação das diferentes concentrações do IKI sobre o *Enterococcus faecalis* pelo teste de Kruskal-Wallis

<u>Concentrações (em mg/mL)</u>	<u>Significância Estatística</u>
• 0,125 X 0,25	1%
• 0,25 X 0,5	Ns
• 0,5 X 1,0	Ns
• 1,0 X 2,0	1%
• 2,0 X 4,0	Ns
• 4,0 X 8,0	Ns
• 8,0 X 16,0	Ns
• 16,0 X 32,0	Ns
• 32,0 X 64,0	Ns

Valor de Kruskal-Wallis calculado : 97,0993

Valor de X^2 para 3 graus de liberdade : 97,10

Probabilidade de H_0 para esse valor : 0,00%

Significante ao nível de 1% ($\alpha=0,01$)

ANEXO 49

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes concentrações de iodofórmio frente ao *Staphylococcus aureus*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

Intervalos de classe:	M -3s	M -2s	M -1s	Med.	M +3s	M +2s	M +1s
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	0,50	5,00	23,50	37,00	28,50	4,00	1,50

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	1,39	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	84,660%	<i>é normal</i>

ANEXO 50

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Fonte de variação	Soma dos Quadrados	GL	Quadr. Médios	(F)	Prob (H_0)
Entre colunas	101,60	9	11,29	35,84	0,00%
Resíduo	59,85	190	0,31		
Variação total	161,45	199			

Valor crítico de Tukey para 5%: 0,55

Significância Estatística da comparação da ação das diferentes concentrações do iodofórmio sobre o *Staphylococcus aureus*

Concentrações (em mg/mL)	Significância Estatística
• 0,125 X 0,25	5%
• 0,25 X 0,5	Ns
• 0,5 X 1,0	5%
• 1,0 X 2,0	5%
• 2,0 X 4,0	Ns
• 4,0 X 8,0	Ns
• 8,0 X 16,0	Ns
• 16,0 X 32,0	Ns
• 32,0 X 64,0	Ns

ANEXO 51

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes concentrações de hidróxido de cálcio frente ao *Staphylococcus aureus*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

Intervalos de classe:	M -3s	M -2s	M -1s	Med.	M +3s	M +2s	M +1s
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	0,00	6,50	26,50	36,50	25,00	4,50	1,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	0,91	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H ₀ :	92,350%	<i>é normal</i>

ANEXO 52

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Fonte de variação	Soma dos Quadrados	GL	Quadr. Médios	(F)	Prob (H ₀)
Entre colunas	212,69	9	23,63	40,56	0,00%
Resíduo	110,71	190	0,58		
Variação total	323,40	199			

Valor crítico de Tukey para 5%: 0,76

Significância Estatística da comparação da ação das diferentes
concentrações do hidróxido de cálcio sobre o *Staphylococcus aureus*

Concentrações (em mg/mL)	Significância Estatística
• 0,125 X 0,25	5%
• 0,25 X 0,5	Ns
• 0,5 X 1,0	5%
• 1,0 X 2,0	5%
• 2,0 X 4,0	Ns
• 4,0 X 8,0	Ns
• 8,0 X 16,0	5%
• 16,0 X 32,0	Ns
• 32,0 X 64,0	Ns

ANEXO 53

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes concentrações de CFC frente ao *Staphylococcus aureus*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	0,00	7,00	32,00	29,50	21,00	9,50	1,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	9,23	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	5,5600%	<i>é normal</i>

ANEXO 54

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Fonte de variação	Soma dos Quadrados	GL	Quadr. Médios	(F)	Prob (H_0)
Entre colunas	2,32	9	0,26	4,06	0,02%
Resíduo	12,08	190	0,06		
Variação total	14,40	199			

Valor crítico de Tukey para 5%: 0,24

Significância Estatística da comparação da ação das diferentes concentrações do CFC sobre o *Staphylococcus aureus*

Concentrações (em mg/mL)	Significância Estatística
• 0,125 X 0,25	Ns
• 0,25 X 0,5	Ns
• 0,5 X 1,0	Ns
• 1,0 X 2,0	Ns
• 2,0 X 4,0	Ns
• 4,0 X 8,0	Ns
• 8,0 X 16,0	Ns
• 16,0 X 32,0	Ns
• 32,0 X 64,0	Ns

ANEXO 55

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes concentrações
de IKI frente ao *Staphylococcus aureus*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	2,00	5,50	28,00	37,50	17,50	9,50	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	5,71	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H ₀ :	22,190%	<i>é normal</i>

ANEXO 56

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

<u>Fonte de variação</u>	<u>Soma dos Quadrados</u>	<u>GL</u>	<u>Quadr. Médios</u>	<u>(F)</u>	<u>Prob (H₀)</u>
Entre colunas	202,95	9	22,55	25,10	0,00%
Resíduo	170,69	190	0,90		
Variação total	373,64	199			

Valor crítico de Tukey para 5%: 0,95

Significância Estatística da comparação da ação das diferentes
concentrações do IKI sobre o *Staphylococcus aureus*

<u>Concentrações (em mg/mL)</u>	<u>Significância Estatística</u>
• 0,125 X 0,25	Ns
• 0,25 X 0,5	Ns
• 0,5 X 1,0	Ns
• 1,0 X 2,0	Ns
• 2,0 X 4,0	Ns
• 4,0 X 8,0	Ns
• 8,0 X 16,0	Ns
• 16,0 X 32,0	5%
• 32,0 X 64,0	Ns

ANEXO 57

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes concentrações
de iodofórmio frente ao *Pseudomonas aeruginosa*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	4,00	1,50	18,50	45,00	28,50	2,00	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	7,72	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H ₀ :	10,240%	<i>é normal</i>

ANEXO 58

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

<u>Fonte de variação</u>	<u>Soma dos Quadrados</u>	<u>GL</u>	<u>Quadr. Médios</u>	<u>(F)</u>	<u>Prob (H₀)</u>
Entre colunas	805,02	9	89,45	39,74	0,00%
Resíduo	427,69	190	2,25		
Variação total	1232,70	199			

Valor crítico de Tukey para 5%: 1,50

Significância Estatística da comparação da ação das diferentes concentrações do iodofórmio sobre o *Pseudomonas aeruginosa*

<u>Concentrações (em mg/mL)</u>	<u>Significância Estatística</u>
• 0,125 X 0,25	Ns
• 0,25 X 0,5	5%
• 0,5 X 1,0	Ns
• 1,0 X 2,0	Ns
• 2,0 X 4,0	Ns
• 4,0 X 8,0	5%
• 8,0 X 16,0	Ns
• 16,0 X 32,0	Ns
• 32,0 X 64,0	Ns

ANEXO 61

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes concentrações de CFC frente ao *Pseudomonas aeruginosa*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	0,00	2,50	38,00	21,00	35,50	2,00	1,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	25,79	Distribuição amostral testada
Probabilidade de H_0 :	0,000%	Não é normal

ANEXO 62

Análise Estatística da ação das diferentes concentrações do CFC sobre o *Pseudomonas aeruginosa* pelo teste de Kruskal-Wallis

<u>Concentrações (em mg/mL)</u>	<u>Significância Estatística</u>
• 0,125 X 0,25	Ns
• 0,25 X 0,5	Ns
• 0,5 X 1,0	Ns
• 1,0 X 2,0	Ns
• 2,0 X 4,0	Ns
• 4,0 X 8,0	5%
• 8,0 X 16,0	Ns
• 16,0 X 32,0	5%
• 32,0 X 64,0	Ns

Valor de Kruskal-Wallis calculado : 14,5845

Valor de X^2 para 3 graus de liberdade : 14,58

Probabilidade de H_0 para esse valor : 10,30%

Não significativa ($\alpha > 0,05$)

ANEXO 63

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes concentrações de IKI frente ao *Pseudomonas aeruginosa*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	2,50	1,50	8,00	49,00	38,00	0,00	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	29,01	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	0,000%	<i>Não é normal</i>

ANEXO 64

Análise Estatística da ação das diferentes concentrações do IKI sobre o *Pseudomonas aeruginosa* pelo teste de Kruskal-Wallis

<u>Concentrações (em mg/mL)</u>	<u>Significância Estatística</u>
• 0,125 X 0,25	1%
• 0,25 X 0,5	Ns
• 0,5 X 1,0	Ns
• 1,0 X 2,0	1%
• 2,0 X 4,0	Ns
• 4,0 X 8,0	Ns
• 8,0 X 16,0	Ns
• 16,0 X 32,0	Ns
• 32,0 X 64,0	Ns

Valor de Kruskal-Wallis calculado : 97,0993

Valor de X^2 para 3 graus de liberdade : 97,10

Probabilidade de H_0 para esse valor : 0,00%

Significante ao nível de 1% ($\alpha=0,01$)

ANEXO 65

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes concentrações de iodofórmio frente ao *Bacteroides fragilis*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	0,00	0,00	51,50	17,50	24,00	7,50	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	48,47	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	0,000%	<i>Não é normal</i>

ANEXO 66

Análise Estatística da ação das diferentes concentrações do iodofórmio sobre o *Bacteroides fragilis* pelo teste de Kruskal-Wallis

<u>Concentrações (em mg/mL)</u>	<u>Significância Estatística</u>
• 0,125 X 0,25	Ns
• 0,25 X 0,5	Ns
• 0,5 X 1,0	Ns
• 1,0 X 2,0	Ns
• 2,0 X 4,0	Ns
• 4,0 X 8,0	Ns
• 8,0 X 16,0	Ns
• 16,0 X 32,0	Ns
• 32,0 X 64,0	Ns

Valor de Kruskal-Wallis calculado : 12,1671

Valor de X^2 para 3 graus de liberdade : 12,17

Probabilidade de H_0 para esse valor : 20,41%

Não significativo ($\alpha > 0,05$)

ANEXO 67

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes concentrações de hidróxido de cálcio frente ao *Bacteroides fragilis*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	0,50	3,00	28,50	48,50	7,00	12,50	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	25,25	<u>Distribuição amostral testada</u>
Probabilidade de H_0 :	0,000%	<u>Não é normal</u>

ANEXO 68

Análise Estatística da ação das diferentes concentrações do hidróxido de cálcio sobre o *Bacteroides fragilis* pelo teste de Kruskal-Wallis

<u>Concentrações (em mg/mL)</u>	<u>Significância Estatística</u>
• 0,125 X 0,25	Ns
• 0,25 X 0,5	1%
• 0,5 X 1,0	Ns
• 1,0 X 2,0	Ns
• 2,0 X 4,0	Ns
• 4,0 X 8,0	Ns
• 8,0 X 16,0	Ns
• 16,0 X 32,0	Ns
• 32,0 X 64,0	Ns

Valor de Kruskal-Wallis calculado : 74,3506

Valor de X^2 para 3 graus de liberdade : 74,35

Probabilidade de H_0 para esse valor : 0,00%

Significante ao nível de 1% ($\alpha=0,01$)

ANEXO 69

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes concentrações de CFC frente ao *Bacteroides fragilis*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M -3s</u>	<u>M -2s</u>	<u>M -1s</u>	<u>Med.</u>	<u>M +3s</u>	<u>M +2s</u>	<u>M +1s</u>
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	3,50	1,50	13,50	52,00	18,00	11,00	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	18,62	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H_0 :	0,090%	<i>Não é normal</i>

ANEXO 70

Análise Estatística da ação das diferentes concentrações do CFC sobre o *Bacteroides fragilis* pelo teste de Kruskal-Wallis

<u>Concentrações (em mg/mL)</u>	<u>Significância Estatística</u>
• 0,125 X 0,25	0,1%
• 0,25 X 0,5	Ns
• 0,5 X 1,0	Ns
• 1,0 X 2,0	Ns
• 2,0 X 4,0	Ns
• 4,0 X 8,0	Ns
• 8,0 X 16,0	0,1%
• 16,0 X 32,0	5%
• 32,0 X 64,0	5%

Valor de Kruskal-Wallis calculado : 148,3944

Valor de X^2 para 3 graus de liberdade : 148,39

Probabilidade de H_0 para esse valor : 0,00%

Significante ao nível de 1% ($\alpha=0,01$)

ANEXO 71

Análise da distribuição amostral dos dados das diferentes concentrações de IKI frente ao *Bacteroides fragilis*

Teste de aderência a curva normal: valores originais

A. Freqüência por intervalos de classe

Intervalos de classe:	M -3s	M -2s	M -1s	Med.	M +3s	M +2s	M +1s
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	0,00	5,50	28,00	36,00	21,50	9,00	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade:	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado:	3,68	<i>Distribuição amostral testada</i>
Probabilidade de H ₀ :	45,120%	<i>é normal</i>

ANEXO 72

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Fonte de variação	Soma dos Quadrados	GL	Quadr. Médios	(F)	Prob (H ₀)
Entre colunas	7,43	9	0,83	2,89	0,35%
Resíduo	54,29	190	0,29		
Variação total	61,72	199			

Valor crítico de Tukey para 5%: 0,54

Significância Estatística da comparação da ação das diferentes concentrações do IKI sobre o *Bacteroides fragilis*

Concentrações (em mg/mL)	Significância Estatística
• 0,125 X 0,25	Ns
• 0,25 X 0,5	Ns
• 0,5 X 1,0	Ns
• 1,0 X 2,0	Ns
• 2,0 X 4,0	Ns
• 4,0 X 8,0	Ns
• 8,0 X 16,0	Ns
• 16,0 X 32,0	Ns
• 32,0 X 64,0	Ns

APÊNDICE

APÊNDICE 1

TABELA Ap.1 - valores encontrados, segundo a escala de MacFarland, para a ação do iodofórmio sobre o *Enterococcus faecalis*, variando a concentração

Tubo nº	Concentração de medicação (em mg/mL)									
	0,125	0,250	0,50	1,0	2,0	4,0	8,0	16,0	32,0	64,0
1	1	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0	0
2	1	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0	0
3	2	1	0,5	0,5	0,5	1	0,5	0,5	0,5	0
4	2	1	0,5	0,5	0,5	1	0,5	0,5	0,5	0
5	2	1	0,5	0,5	0,5	1	0,5	0,5	0,5	0,5
6	2	1	0,5	1	1	1	0,5	0,5	0,5	0,5
7	2	1	0,5	1	1	1	1	1	0,5	0,5
8	3	2	1	1	1	1	1	1	0,5	0,5
9	4	2	1	1	1	1	1	1	0,5	0,5
10	4	2	1	1	1	2	1	1	0,5	0,5
11	4	2	1	1	1	2	1	1	0,5	0,5
12	4	2	1	1	1	2	1	1	0,5	0,5
13	4	3	2	1	1	2	2	1	0,5	0,5
14	4	3	2	1	2	2	2	2	1	0,5
15	4	3	2	2	2	2	2	2	1	1
16	4	3	2	2	2	3	2	2	1	1
17	4	3	2	2	2	3	2	2	1	1
18	4	4	3	2	3	3	2	2	1	1
19	5	4	3	3	3	3	2	2	1	1
20	5	4	3	3	3	3	3	2	1	1
média	3,25	2,15	1,375	1,275	1,375	1,75	1,3	1,2	0,625	0,55

APÊNDICE 2

TABELA Ap.2 - valores encontrados, segundo a escala de MacFarland, para a ação do hidróxido de cálcio sobre o *Enterococcus faecalis*, variando a concentração

Tubo nº	Concentração de medicação (em mg/mL)									
	0,125	0,250	0,50	1,0	2,0	4,0	8,0	16,0	32,0	64,0
1	1	2	1	1	1	0	0,5	0	0	0
2	1	2	1	1	1	0,5	0,5	0	0	0
3	2	2	1	1	1	0,5	0,5	0	0	0
4	2	2	1	1	1	1	0,5	0	0	0
5	3	2	1	1	1	1	1	0	0	0
6	3	2	1	1	1	1	1	0	0	0
7	3	2	1	1	1	1	1	0	0	0
8	3	2	1	2	1	1	1	0	0	0
9	3	2	1	2	1	1	1	0,5	0	0
10	3	3	1	2	1	2	1	0,5	0	0
11	3	3	2	2	2	2	2	0,5	0	0
12	4	3	2	2	2	2	2	0,5	0	0
13	4	3	2	2	2	2	2	0,5	0	0
14	4	3	2	2	2	2	2	1	0	0
15	4	3	2	3	2	2	2	1	0	0
16	5	3	2	3	2	2	2	1	0	0
17	5	3	3	3	2	3	2	1	0	0
18	5	3	3	3	2	3	2	1	0	0,5
19	5	3	3	4	2	3	2	1	0,5	0,5
20	6	4	4	4	4	3	3	2	2	1
média	3,45	2,6	1,75	2,05	1,6	1,65	1,45	0,525	0,125	0,1

TABELA Ap.3 - valores encontrados, segundo a escala de MacFarland, para a ação do CFC sobre o *Enterococcus faecalis*, variando a concentração

Tubo nº	Concentração de medicação (em mg/mL)									
	0,125	0,250	0,50	1,0	2,0	4,0	8,0	16,0	32,0	64,0
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0	0
11	0	0	0	0	0	0	0,5	0,5	0	0
12	0	0	0	0	0	0	0,5	0,5	0	0
13	0	0,5	0	0,5	0	0	0,5	0,5	0	0,5
14	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0	0,5	0,5	0	0,5
15	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0	0,5	0,5	0	0,5
16	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0	0,5	0,5	0,5	0,5
17	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0	0,5	0,5	0,5	0,5
18	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
19	0,5	1	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	1	1	0,5
20	1	1	0,5	0,5	0,5	0,5	1	1	1	0,5
média	0,2	0,25	0,175	0,2	0,175	0,075	0,275	0,35	0,175	0,2

APÊNDICE 4

TABELA Ap.4 - valores encontrados, segundo a escala de MacFarland, para a ação do IKI sobre o *Enterococcus faecalis*, variando a concentração

Tubo nº	Concentração de medicação (em mg/mL)									
	0,125	0,250	0,50	1,0	2,0	4,0	8,0	16,0	32,0	64,0
1	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0
2	1	0,5	0,5	0,5	0	0	0	0	0	0
3	1	0,5	0,5	0,5	0	0	0	0	0	0
4	1	0,5	0,5	0,5	0	0	0	0	0	0
5	1	0,5	0,5	0,5	0	0,5	0	0	0	0
6	2	0,5	0,5	0,5	0	0,5	0	0	0	0
7	2	0,5	0,5	0,5	0	0,5	0	0	0	0
8	2	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0	0	0
9	2	1	1	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0	0
10	2	1	1	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0	0
11	2	1	1	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0	0
12	2	1	1	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0
13	2	2	1	1	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
14	3	2	1	1	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
15	3	2	1	1	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
16	3	2	1	1	0,5	1	0,5	0,5	0,5	0,5
17	3	2	2	1	0,5	1	1	0,5	0,5	0,5
18	3	2	2	2	1	1	1	1	0,5	0,5
19	3	2	2	2	1	1	1	1	1	0,5
20	3	2	2	2	1	1	1	1	1	0,5
média	2,1	1,2	0,975	0,825	0,4	0,525	0,425	0,375	0,275	0,2

APÊNDICE 5

TABELA Ap.5 - valores encontrados, segundo a escala de MacFarland, para a ação do iodofórmio sobre o *Staphylococcus aureus*, variando a concentração

Tubo nº	Concentração de medicação (em mg/mL)									
	0,125	0,250	0,50	1,0	2,0	4,0	8,0	16,0	32,0	64,0
1	1	1	1	1	0	0	0,5	0	0	0
2	1	1	1	2	0	0	0,5	0	0	0
3	1	1	1	2	0	0,5	0,5	0	0	0
4	1	1	1	2	0	0,5	0,5	0	0,5	0
5	2	1	1	2	0,5	0,5	0,5	0	0,5	0
6	2	1	1	2	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
7	2	1	2	2	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
8	2	1	2	2	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
9	2	2	2	2	0,5	1	0,5	0,5	0,5	0,5
10	2	2	2	3	0,5	1	0,5	0,5	0,5	0,5
11	2	2	2	3	0,5	1	0,5	0,5	1	0,5
12	2	2	2	3	1	1	0,5	0,5	1	0,5
13	3	2	2	3	1	1	1	0,5	1	0,5
14	3	2	2	3	1	1	1	0,5	1	0,5
15	3	2	2	3	1	1	1	1	1	1
16	3	2	2	3	1	1	1	1	1	1
17	3	2	3	3	1	1	1	1	1	1
18	3	2	3	3	1	1	1	1	1	1
19	3	2	3	3	2	1	2	2	1	1
20	4	2	3	3	2	1	2	2	1	1
média	2,25	1,6	1,9	2,5	0,725	0,75	0,8	0,625	0,675	0,525

APÊNDICE 6

TABELA Ap.6 - valores encontrados, segundo a escala de MacFarland, para a ação do hidróxido de cálcio sobre o *Staphylococcus aureus*, variando a concentração

Tubo nº	Concentração de medicação (em mg/mL)									
	0,125	0,250	0,50	1,0	2,0	4,0	8,0	16,0	32,0	64,0
1	3	0,5	1	2	0,5	0,5	1	0	0	0
2	3	0,5	1	2	0,5	1	1	0	0	0
3	3	0,5	1	2	0,5	1	1	0	0	0
4	3	0,5	1	2	1	1	1	0	0	0
5	3	0,5	2	2	1	1	1	0	0	0
6	3	0,5	2	2	1	1	1	0	0	0
7	3	0,5	2	3	1	2	1	0	0	0
8	3	0,5	2	3	1	2	2	0,5	0,5	0
9	3	1	2	3	2	2	2	0,5	0,5	0
10	4	1	2	3	2	2	2	0,5	0,5	0
11	4	1	2	3	2	3	2	0,5	0,5	0,5
12	4	1	3	3	2	3	2	0,5	0,5	0,5
13	4	2	3	3	2	3	2	0,5	0,5	0,5
14	4	2	3	4	2	3	2	0,5	0,5	0,5
15	4	2	3	4	2	3	2	1	0,5	0,5
16	4	3	3	4	3	3	2	1	1	0,5
17	4	3	3	4	3	3	2	1	1	0,5
18	4	3	3	4	3	3	2	1	1	0,5
19	4	3	3	4	3	3	2	1	1	0,5
20	4	4	3	4	3	3	2	4	1	0,5
média	3,55	1,5	2,25	3,05	1,775	2,175	1,65	0,625	0,45	0,25

TABELA Ap.7 - valores encontrados, segundo a escala de MacFarland, para a ação do CFC sobre o *Staphylococcus aureus*, variando a concentração

Tubo nº	Concentração de medicação (em mg/mL)									
	0,125	0,250	0,50	1,0	2,0	4,0	8,0	16,0	32,0	64,0
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	0,5	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0
9	0,5	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0,5	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0
11	0,5	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0
12	0,5	0,5	0,5	0,5	0	0	0	0	0	0
13	0,5	0,5	0,5	0,5	0	0	0	0	0	0
14	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0	0	0	0	0
15	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0	0,5	0	0	0
16	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0	0	0
17	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0	0,5
18	1	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
19	1	1	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
20	1	1	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
média	0,4	0,375	0,225	0,225	0,175	0,125	0,15	0,1	0,075	0,1

TABELA Ap.8 - valores encontrados, segundo a escala de MacFarland, para a ação do IKI sobre o *Staphylococcus aureus*, variando a concentração

Tubo nº	Concentração de medicação (em mg/mL)									
	0,125	0,250	0,50	1,0	2,0	4,0	8,0	16,0	32,0	64,0
1	2	2	3	2	2	2	3	3	1	0,5
2	2	3	3	3	3	3	3	3	1	1
3	3	3	3	3	4	3	3	3	1	1
4	3	4	3	3	4	3	3	3	1	1
5	4	4	4	3	4	3	3	3	1	1
6	4	4	4	4	4	3	4	3	2	1
7	4	4	4	4	4	3	4	4	2	1
8	4	4	4	4	4	4	4	4	2	1
9	4	5	5	4	4	4	4	4	2	2
10	5	5	5	4	4	4	4	4	2	2
11	5	5	5	4	5	4	4	4	2	2
12	5	5	5	5	5	4	4	4	2	2
13	5	5	5	5	5	4	4	4	2	2
14	5	5	5	5	5	4	4	4	2	2
15	5	5	5	5	5	5	4	4	3	2
16	6	5	5	5	5	5	4	4	3	2
17	6	6	6	5	5	5	5	4	3	2
18	6	6	6	5	6	5	5	5	3	2
19	6	6	6	6	6	5	5	5	3	3
20	6	6	6	6	6	5	5	5	3	3
média	4,5	4,6	4,6	4,25	4,5	3,9	3,95	3,85	2,05	1,675

TABELA Ap.16 - valores encontrados, segundo a escala de MacFarland, para a ação do IKI sobre o *Bacteroides fragilis*, variando a concentração

Tubo nº	Concentração de medicação (em mg/mL)									
	0,125	0,250	0,50	1,0	2,0	4,0	8,0	16,0	32,0	64,0
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0,5	0	0	0	0	0	0
3	0	0,5	0	0,5	0	0	0	0	0	0
4	0,5	0,5	0	0,5	0	0	0	0	0,5	0
5	0,5	0,5	0	0,5	0,5	0	0	0	0,5	0
6	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0	0,5	0
7	0,5	0,5	0,5	1	0,5	0,5	0,5	0	0,5	0
8	0,5	0,5	0,5	1	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
9	0,5	0,5	0,5	1	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
10	1	0,5	0,5	1	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
11	1	0,5	1	1	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
12	1	1	1	1	1	0,5	1	0,5	1	0,5
13	1	1	1	1	1	0,5	1	1	1	0,5
14	1	1	1	1	1	0,5	1	1	1	0,5
15	2	1	1	1	1	0,5	1	1	1	0,5
16	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
17	2	1	1	2	1	1	1	1	1	1
18	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1
19	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1
20	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1
média	1	0,825	0,775	1,025	0,725	0,5	1,1	0,525	0,65	0,45

TABELA Ap.15 - valores encontrados, segundo a escala de MacFarland, para a ação do CFC sobre o *Bacteroides fragilis*, variando a concentração

Tubo nº	Concentração de medicação (em mg/mL)									
	0,125	0,250	0,50	1,0	2,0	4,0	8,0	16,0	32,0	64,0
1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	4
2	0	0	0	0	0	0	0	1	2	5
3	0	0	0	0	0	0	0	0,5	2	5
4	0	0	0	0	0	0	0	1	2	5
5	0	0	0	0	0	0	0	1	2	5
6	0	0	0	0	0	0	0	1	3	5
7	0,5	0	0	0	0	0	0	2	3	5
8	0,5	0	0	0	0	0	0	2	3	5
9	0,5	0	0	0	0	0	0	2	4	5
10	0,5	0	0	0	0	0	0	1	4	6
11	0,5	0	0	0	0	0	0	2	4	5
12	0,5	0	0	0	0	0	0,5	2	4	4
13	0,5	0	0	0	0	0	0,5	1	4	5
14	0,5	0	0	0,5	0	0	0,5	2	4	6
15	0,5	0	0	0,5	0	0	0,5	1	3	5
16	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	1	4	6
17	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	1	4	6
18	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	2	4	5
19	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	3	4
20	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	4	6
média	0,35	0,125	0,125	0,175	0,125	0,125	0,225	1,275	3,2	5,1

TABELA Ap.14 - valores encontrados, segundo a escala de MacFarland, para a ação do hidróxido de cálcio sobre o *Bacteroides fragilis*, variando a concentração

Tubo nº	Concentração de medicação (em mg/mL)									
	0,125	0,250	0,50	1,0	2,0	4,0	8,0	16,0	32,0	64,0
1	0	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0,5	0,5	0,5	0,5	0	0	0	0	0	0
3	1	0,5	0,5	0,5	0	0	0	0	0	0
4	1	1	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0	0
5	1	1	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0	0
6	1	1	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0	0
7	1	1	0,5	1	0,5	0,5	0,5	0,5	0	0
8	2	2	1	1	0,5	0,5	0,5	0,5	0	0
9	2	2	1	1	0,5	0,5	0,5	0,5	0	0
10	2	2	1	1	0,5	0,5	1	0,5	0,5	0,5
11	2	2	1	1	1	1	1	0,5	0,5	0,5
12	2	2	1	1	1	1	1	0,5	0,5	0,5
13	2	2	1	1	1	1	1	0,5	0,5	0,5
14	2	2	1	1	1	1	1	0,5	0,5	0,5
15	3	2	1	1	1	1	1	0,5	0,5	0,5
16	3	3	2	1	1	1	1	1	0,5	1
17	3	3	2	2	1	1	1	1	1	1
18	3	3	2	2	1	2	1	1	1	1
19	3	3	2	2	1	2	1	1	1	1
20	3	3	2	2	2	2	2	1	1	1
média	1,875	1,825	1,05	1,025	0,725	0,825	0,75	0,55	0,375	0,4

TABELA Ap.13 - valores encontrados, segundo a escala de MacFarland, para a ação do iodofórmio sobre o *Bacteroides fragilis*, variando a concentração

Tubo nº	Concentração de medicação (em mg/mL)									
	0,125	0,250	0,50	1,0	2,0	4,0	8,0	16,0	32,0	64,0
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0,5	0,5	0,5	0,5	0	0	0	0	0	0
11	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0	0	0,5	0	0
12	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0	0	0,5	0	0
13	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0	0,5	0,5	0,5
14	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
15	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
16	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
17	0,5	0,5	0,5	0,5	1	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
18	0,5	0,5	1	1	1	1	0,5	0,5	0,5	0,5
19	0,5	0,5	1	1	1	1	0,5	0,5	0,5	0,5
20	1	1	1	1	1	1	0,5	0,5	0,5	0,5
média	0,375	0,3	0,35	0,35	0,35	0,275	0,175	0,25	0,2	0,2

TABELA Ap.12 - valores encontrados, segundo a escala de MacFarland, para a ação do IKI sobre o *Pseudomonas aeruginosa*, variando a concentração

Tubo nº	Concentração de medicação (em mg/mL)									
	0,125	0,250	0,50	1,0	2,0	4,0	8,0	16,0	32,0	64,0
1	5	5	4	6	3	6	4	4	4	0
2	5	6	5	6	6	6	6	6	5	3
3	6	6	5	6	6	6	6	6	5	5
4	6	6	6	6	6	6	6	6	5	6
5	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
7	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
8	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
9	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
10	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
11	6	6	6	7	6	6	6	7	6	6
12	6	6	6	7	6	6	6	7	6	6
13	6	6	6	7	6	7	6	7	6	6
14	7	7	7	7	7	7	7	7	7	6
15	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
16	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
17	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
18	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
19	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
20	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
média	6,25	6,3	6,15	6,5	6,2	6,4	6,25	6,4	6,1	5,8

APÊNDICE 11

TABELA Ap.11 - valores encontrados, segundo a escala de MacFarland, para a ação do CFC sobre o *Pseudomonas aeruginosa*, variando a concentração

Tubo nº	Concentração de medicação (em mg/mL)									
	0,125	0,250	0,50	1,0	2,0	4,0	8,0	16,0	32,0	64,0
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0,5	0	0,5	0	0	0
7	0	0	0,5	0	0,5	0	0,5	0,5	0	0
8	0,5	0	0,5	0	0,5	0	0,5	0,5	0,5	0
9	0,5	0	0,5	0	0,5	0	0,5	0,5	0,5	0
10	0,5	0	0,5	0	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0
11	0,5	0	0,5	0	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0
12	0,5	0	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0
13	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0
14	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
15	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
16	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
17	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
18	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
19	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
20	1	1	0,5	1	0,5	0,5	1	1	1	0,5
média	0,35	0,225	0,35	0,25	0,375	0,275	0,4	0,375	0,35	0,175

TABELA Ap.9 - valores encontrados, segundo a escala de MacFarland, para a ação do iodofórmio sobre o *Pseudomonas aeruginosa*, variando a concentração

Tubo nº	Concentração de medicação (em mg/mL)									
	0,125	0,250	0,50	1,0	2,0	4,0	8,0	16,0	32,0	64,0
1	4	5	0	0	0	0	0	0	0	0
2	4	5	0	0,5	3	0,5	0	0	0	0,5
3	5	5	0	2	4	3	0	0	0,5	0,5
4	5	6	0	2	4	4	0	0	0,5	0,5
5	5	6	2	5	4	4	0	0	0,5	0,5
6	5	6	2	5	5	5	0	0	0,5	0,5
7	5	6	3	6	6	6	0	0,5	0,5	0,5
8	5	6	3	6	6	6	0,5	1	1	0,5
9	5	6	5	6	6	6	0,5	1	1	1
10	6	6	5	6	6	6	0,5	2	1	1
11	6	6	5	6	6	6	0,5	2	1	1
12	6	6	6	6	6	6	0,5	2	1	1
13	6	6	6	6	6	6	0,5	2	2	1
14	6	6	6	6	6	6	2	2	2	1
15	6	6	6	6	6	6	2	2	2	1
16	6	6	6	6	6	6	2	3	2	1
17	6	6	6	6	6	6	3	3	2	1
18	6	7	6	7	6	6	3	3	3	1
19	6	7	6	7	7	6	3	3	3	1
20	7	7	7	7	7	7	4	4	4	1
média	5,5	6	4	5,075	5,3	5,075	1,1	1,525	1,375	0,775

TABELA Ap.10 - valores encontrados, segundo a escala de MacFarland, para a ação do hidróxido de cálcio sobre o *Pseudomonas aeruginosa*, variando a concentração

Tubo nº	Concentração de medicação (em mg/mL)									
	0,125	0,250	0,50	1,0	2,0	4,0	8,0	16,0	32,0	64,0
1	6	6	5	5	5	5	5	4	0,5	0
2	6	6	5	5	5	5	5	5	0,5	0,5
3	6	6	5	6	5	5	5	5	0,5	0,5
4	6	6	5	6	6	5	5	5	0,5	0,5
5	6	6	5	6	6	5	5	5	0,5	0,5
6	6	6	6	6	6	6	5	5	0,5	0,5
7	6	6	6	6	6	6	5	5	0,5	0,5
8	6	6	6	6	6	6	6	5	0,5	0,5
9	6	6	6	6	6	6	6	5	0,5	0,5
10	6	6	6	6	6	6	6	5	1	0,5
11	6	6	6	6	6	6	6	5	1	0,5
12	6	6	6	6	6	6	6	5	1	0,5
13	6	6	6	6	6	6	6	5	1	1
14	6	6	6	6	6	6	6	6	1	1
15	6	6	6	6	6	6	6	6	1	1
16	6	6	6	6	6	6	6	6	1	1
17	6	6	6	6	6	6	6	6	1	1
18	6	6	6	6	6	6	6	6	1	1
19	6	6	6	6	6	6	6	6	1	1
20	6	6	6	6	6	6	6	6	2	2
média	6	6	5,75	5,9	5,85	5,75	5,65	5,3	0,825	0,725

Autorizo a reprodução escrita e eletrônica desta dissertação

RAUL CAPP PALLOTTA

São Paulo, 24 DE AGOSTO DE 2001.

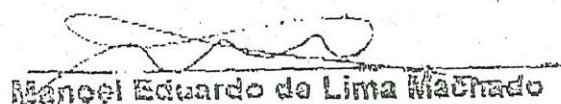
A/c: Comitê de Ética do Centro do Pós-Graduação
em Odontologia da Universidade Camilo Castelo Branco

SOLICITAÇÃO DE DISPENSA DO COMITÊ DE ÉTICA

Venho, por meio desta, solicitar a dispensa do comitê de ética no que se refere à dissertação de mestrado por mim realizada sob orientação do Prof. Dr. Manoel Eduardo de Lima Machado intitulada "Avaliação In Vitro da Atividade Antibacteriana de Quatro Medicamentos de Uso Endodôntico, Pelo Método da Diluição em Caldo", haja vista que a mesma não utilizará seres humanos na sua execução. A mesma foi executada no Laboratório de Microbiologia da Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUCCAMP), onde foram utilizadas bactérias de coleção, a saber : *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212); *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538); *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853); e *Bacteroides fragilis* (ATCC 25285) e Fármacos: Iodofórmio, Hidróxido de Cálcio, o IKI, que é uma associação do iodo como o iodeto de potássio veiculado em glicerina e o CFC, que é uma associação de Ciprofloxacina, metronidazol e hidróxido de cálcio.

Campinas, 31 de maio de 2001


Rui Capp Pelletta


Manoel Eduardo de Lima Machado