

SUZANA PAULO DE SOUTO GOULART

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE AGENTES
QUELANTES AUXILIARES NA INSTRUMENTAÇÃO DOS CANAIS
RADICULARES

DISSERTAÇÃO APRESENTADA À
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA,
PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
FLORIANOPOLIS - JULHO DE 1980

Suzana Paulo de Souto Goulart

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE AGENTES
QUELANTES AUXILIARES NA INSTRUMENTAÇÃO DOS
CANAIS RADICULARES.

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Santa
Catarina, para a obtenção do
grau de mestre.

Universidade Federal de Santa Catarina
Florianópolis - julho de 1980.

Oferecimento

A meu marido
Maurício

A meus filhos
André e Raquel

Agradecimentos

Ao professor Ilson José Soares, pelo valor de sua competência, pelos seus ensinamentos e orientação geral.

Ao professor Aquilles Amauri Córdova Santos, pela enorme contribuição emprestada, orientando na parte experimental.

Ao professor Nilson Paulo, pela elaboração da análise estatística, pela dedicação e estímulo à nossa carreira universitária.

ÍNDICE

Sumário	p. 1
Summary	p. 2
Introdução	p. 4
Revista Bibliográfica	p. 9
Proposição	p. 18
Material e Métodos	p. 20
Resultados	p. 28
Discussão	p. 43
Conclusões	p. 48
Referências Bibliográficas*	p. 50

SUMÁRIO

No presente trabalho foram realizadas experiências "in vitro" para estudar a atividade antimicrobiana dos seguintes quelantes de uso endodôntico: o EDTA preparado segundo a fórmula de Ostby, o EDTA ULTRA, o EDTA INODON, o RC-PREP e o ENDO-PREPSEM; o paramonoclorofenol canforado (PMCFC) foi utilizado como padrão. A avaliação da atividade antimicrobiana, foi feita pelo método de difusão em agar (Møller).

Para avaliar a atividade antimicrobiana destas substâncias foram utilizadas amostras de microrganismos isolados de canais radiculares humanos (Streptococcus salivarius, Staphylococcus aureus, Lactobacillus sp., Neisseria sp., Candida sp.).

Foi determinada também a relação existente entre "tempo" e "atividade antimicrobiana" em intervalos de 10, 15, 20 e 30 minutos.

Os resultados obtidos permitem concluir que os quelantes comumente utilizados na realização do tratamento endodôntico, tem ação antimicrobiana semelhante à do PMCFC e que esta atividade é "tempo-dependente".

SUMMARY

In the present work the experiences were done "in vitro" to study the anti-microbial activity of the following chelants of endodontic use: the EDTA prepared as Ostby, the EDTA ULTRA, the EDTA-INODON, the RC-PREP and the ENDO-PREPSEM; the paramonoclorofenol camphorated (PMCFC) was used as a pattern. The evaluation of the antimicrobial activity, was done by the method of diffusion in agar (Möller).

To evaluate the antimicrobial activity of these substances were used samples of isolated microorganisms of human radicular canals. (Streptococcus salivarius, Staphylococcus aureus, Lactobacillus sp, Neisseria sp, Candida sp).

It was determined the relation between "time" and "anti-microbial activity" in intervals of 10, 15, 20 and 30 minutes.

The results obtained allowed us to conclude that the chelants commonly used at endodontic treatment, have an antimicrobial action, similar to the PMCFC and its activity is "dependent-time".

I N T R O D U Ç Ã O

INTRODUÇÃO

A presença de microrganismos na cavidade pulpar da maioria dos dentes que necessitam serem tratados endodonticamente justifica por si só o fato da desinfecção ser um dos objetivos fundamentais do tratamento endodôntico.

A incredulidade à clássica afirmação de SACHS* de que "em endodontia o importante não é o que se coloca, e sim o que se retira do canal radicular", levou os endodontistas ao uso indiscriminado de inúmeros desinfectantes altamente lesivos aos tecidos vivos visando alcançar o que GROSSMAN⁽⁰⁸⁾ denomina de "esterilização" do canal radicular.

O uso desses produtos foi durante muito tempo a solução proposta para alcançar essa meta. A ação deletéria da maioria desses desinfectantes aos tecidos periapicais e o aparecimento de inúmeros trabalhos no campo da microbiologia, ligada a endodontia, levou os pesquisadores a cogitar a possibilidade de atingir os mesmos resultados dentro de uma conduta mais biológica.

Com esta intenção AUERBACH⁽⁰¹⁾ em 1953, STEWART⁽²⁸⁾ em 1955, INGLE & ZELDOW⁽¹³⁾ em 1958 entre outros, realizaram exaustivos estudos e concluíram que um correto preparo mecânico, instrumentação com irrigação, é, seguramente um meio eficaz de logarmos o "saneamento", do canal radicular.

Os achados destas pesquisas possibilitaram aos endodontistas reunidos na IIa. Conferência Internacional de Endodontia (1953), concluírem: "a fase mais importante do tratamento endodôntico é constituída pela limpeza mecânica e dilatação do canal radicular". Desde então há uma concordância generalizada de que uma correta instrumentação, complementada pela irrigação, seja um recurso insubstituível, na remoção do material orgânico, inorgânico, de bactérias e outros detritos do interior da cavidade pulpar.

* apud KUTTLER, Y - Endodoncia Prática, 1a. ed., Ed. Alpha, 1961, 303 p. il.

Após aproximadamente 30 anos as palavras de SACHS resultaram em um axioma endodôntico. re

Para executar a instrumentação do canal radicular, há muito tempo, os endodontistas empregam instrumentos desenhados e fabricados com a precípua finalidade de desgastar a dentina.

Desde 1838 quando MAYNARD* idealizou a lima farpada que a história registra como sendo o primeiro instrumento construído para o uso endodôntico, a preocupação dos endodontistas foi sempre fabricar instrumentos de corte. sem

Pelo que nos foi possível consultar na bibliografia ao nosso alcance, não houve iniciativa digna de nota em confeccionar instrumentos que, paralelamente ao corte, efetuassem a remoção do tecido excisado. a

Talvez aí encontremos a explicação para o uso da irrigação como coadjuvante da instrumentação. ão

A irrigação da cavidade pulpar foi relatada pela primeira vez, provavelmente, por WITZEL**, em 1872. pri

GROSSMAN⁽⁰⁸⁾ em 1943 ao introduzir como solução irrigadora uma associação de água oxigenada com soda clorada justificou dizendo que "a reação química provocada pela combinação dos dois compostos, determinava uma efervescência com o aparecimento do oxigênio nascente, que impeliria as partículas dentinárias e/ou resíduos para a parte mais larga do canal".

Usadas desde então as soluções irrigantes, tem contribuído eficazmente para o esvaziamento do canal radicular. ão

Para MAISTO⁽¹⁴⁾ a irrigação, "é um complemento indispensável à preparação cirúrgica", COHEN⁽⁰³⁾ conclui que "a irrigação

* apud COHEN, S. & BURNS, R.C. Endodoncia; los caninos de la pulpa, Buenos Aires, Inter Médica, 1979. 684p.

** apud PUCCI, F.M. & REIG, R. - Conductos radiculares. vol. II, Editorial Médico-Cirúrgico, Buenos Aires, 1945, 196p.

ção durante a instrumentação não só é desejada mas constitui um imperativo".

Em 1976 GROSSMAN⁽⁰⁹⁾ afirmou que "a finalidade principal da irrigação está na remoção de microrganismos e restos orgânicos, assim como raspas de dentina que ficam no canal como resultado da instrumentação".

É compreensível que os produtos escolhidos como irrigantes apresentem determinados requisitos. A solução ideal deveria:

a) Apresentar baixa tensão superficial que possibilitaria maior contato com as paredes da cavidade pulpar⁽¹¹⁾, (23).

b) Possuir ação anti-microbiana que contribuiria para a redução da população bacteriana do interior do canal radicular⁽⁰⁹⁾, (11), (23).

c) Não lesar os tecidos vivos (coto pulpar e tecidos periapicais), porque da integridade desses tecidos depende, em muito, o sucesso do tratamento⁽¹¹⁾, (14), (23).

Por nossa vivência clínica entendemos que seria extremamente valioso que ao lado dessas propriedades as soluções irrigantes exercessem ação desmineralizante sobre a dentina e assim auxiliassem a instrumentação determinando considerável economia de tempo e de instrumental; por isso estamos de acordo com MCCOMB e col. ⁽¹⁵⁾ que sugerem o emprego de quelantes para a irrigação dos canais radiculares.

Usado em endodontia desde 1957, por sugestão de NYGAARD OSTBY⁽²²⁾, o ácido etileno diamino tetracético tem demonstrado ser um produto de extraordinário valor como auxiliar, no preparo mecânico do canal radicular. Em contato com a dentina determina sua desmineralização em halos de tamanho significativo ⁽¹²⁾.

Embora usados como produtos químicos auxiliares do preparo mecânico muito raramente os quelantes tem sido citados como soluções irrigantes.

Nas pesquisas realizadas sobre o uso de quelantes em endodontia e que tomamos conhecimento através das publicações especializadas, foi possível observar, entre outros fatos:

1º) Que os quelantes tem baixa tensão superficial (06)

2º) Que os quelantes não são lesivos aos tecidos vivos (19), (29).

3º) Que os quelantes são excelentes desmineralizantes (12), (22).

4º) Que não há estudos satisfatórios sobre a ação anti-microbiana dos quelantes de uso endodôntico.

Assim, diante destas observações e considerando que os quelantes preenchem dois dos requisitos exigidos para que uma solução possa ser empregada como agente irrigante de uso endodôntico, foi realizado esse estudo para verificar a ação dos quelantes sobre a flora microbiana do canal.

REVISTA BIBLIOGRÁFICA

REVISTA BIBLIOGRÁFICA

A pesquisa bibliográfica realizada foi orientada para os seguintes tópicos:

1. AÇÃO DESMINERALIZANTE DO EDTA

OSTBY⁽²²⁾ (1957) introduziu a aplicação clínica do sal sódico de EDTA em endodontia.

Com o auxílio da luz polarizada, analisou o efeito da ação do sal sódico de EDTA na dentina das paredes do canal radicular, durante 20 a 96 horas. Observou que a zona de desmineralização possuía dimensões proporcionais ao tempo de atuação do elemento em estudo.

WEINREB & MEIER⁽³⁰⁾ (1965) investigaram a ação do EDTA, EDTAC e ácido sulfúrico durante o alargamento do canal radicular, quando usados isoladamente e em combinação com o preparo mecânico em 160 dentes humanos, anteriores, hígidos, extraídos. O trabalho mecânico foi executado com lima tipo Kerr nº 2. Concluíram que as soluções quando usadas isoladamente apresentaram um menor rendimento que quando associadas ao preparo mecânico. O EDTA e o EDTAC foram de 4 a 5 vezes mais eficientes na desmineralização da dentina, do que o ácido sulfúrico.

HOLLAND & COL.⁽¹²⁾ (1973) compararam os efeitos de quatro produtos à base de EDTA, nas paredes dentinárias dos canais de dentes unirradiculares recentemente extraídos.

Os produtos testados foram o ENDO-PREP, o EDTA ultra-Duradent, EDTAC, e um sal sódico de EDTA.

Os resultados alcançados permitiram aos autores concluir:
a) Existem diferenças na velocidade de quelação, entre os produtos estudados.

b) O ENDO-PREP e o EDTA ultra Duradent apresentaram a mais baixa ação quelante. O EDTAC e o sal sódico de EDTA, mostraram resultados semelhantes.

c) A renovação constante dos produtos à base de EDTA, no interior do canal, permite a obtenção de maior halo de descalcificação.

FRASER⁽⁰⁴⁾ (1974) avaliou "in vitro" o efeito desmineralizante, em diferentes níveis, de tres agentes quelantes usados em endodontia: Decal, Largal Ultra e RC-Prep.

A conclusão foi que embora a dentina radicular cervical e média fosse amolecida na profundidade limitada pelos agentes quelantes; a dentina apical não foi.

Embora a diferença entre os três agentes fosse significativa no terço médio, com Largal Ultra sendo mais efetiva que Decal ou RC-Prep, não foi significativa no terço cervical.

SEIDBERG & COL.⁽²⁶⁾ (1974) investigaram o efeito químico de uma solução de EDTA com pH8,3, na dentina de dentes extraídos, através de um método gravimétrico.

As coroas foram cortadas na junção amelo-dentinária e as raízes trituradas e pulverizadas.

Os autores informaram que 73% dos componentes inorgânicos da dentina pulverizada podia ser quelada e concluíram que o EDTA tem efeito auto-limitante na quelação do material inorgânico da dentina e que em pH alcalino o efeito do EDTA é ótimo.

2. COMPATIBILIDADE BIOLÓGICA DO EDTA

TORNECK⁽²⁹⁾ (1961) implantou no tecido conjuntivo subcutâneo de rato, tubos de polietileno contendo diversas soluções, entre elas o EDTAC.

Após períodos, de 48 e 96 horas os tecidos foram excisados e preparados para exame.

A análise histológica evidenciou boa tolerância a esta

substância, traduzida por pequena reação inflamatória e proliferação fibroblástica.

PATTERSON⁽²⁴⁾ (1963) observou clinicamente 200 pacientes tratados endodônticamente quando o EDTA a 10% foi usado como irrigante para facilitar a preparação biomecânica. Concluiu que: a) o EDTA é eficaz no amolecimento da dentina; b) o EDTA tem propriedades antimicrobianas definidas; c) o EDTA é irritante em grau moderado.

NERY & COL.⁽¹⁹⁾ (1974) analisaram a resposta inflamatória do coto pulpar e tecidos periapicais de dentes de cães frente às seguintes substâncias: soro fisiológico, água destilada, água de cal, água oxigenada a 10 volumes, tergentol, líquido de Dakin, soda clorada, EDTA, EDTAC, EDTA-ultra e endo-prep que permaneceram no interior do canal durante 48 horas.

A análise histológica foi realizada dois dias após a aplicação das substâncias e mostrou que dentre as substâncias testadas, as menos irritantes foram por ordem: soro fisiológico, água destilada, água de cal, EDTA, EDTAC e EDTA-ultra.

3. AÇÃO ANTIMICROBIANA DO EDTA

KOTULA & BORDACOVA⁽³⁴⁾ (1969) estudando "in vitro" e "in vivo" verificaram que a atividade antibacteriana do EDTA depende tanto da concentração como do valor do pH.

Testaram o sal dissódico de EDTA nas concentrações de : 0,5; 1,0; 2,0; 5,0; 10,0%, em flora bacteriana mista retirada de canais radiculares de pacientes, em culturas puras de Micrococcus, Fusobacterium, Streptococcus viridans e Pneumococcus.

Cada solução foi aplicada com pH em diferentes valores : 5,0; 7,0; 9,0.

Os autores examinaram:

a) em que concentrações a atuação antibacteriana do sal dissódico do EDTA se faz sentir;

b) a ação antimicrobiana do sal dissódico em variados valores de pH.

Concluíram que:

a) as soluções mais eficazes tinham um pH de valor 4,5 e 5,0, quando a ação quelante pode ser somada com a ácida.

b) uma inibição do crescimento bacteriano "in vitro" só se realiza numa concentração de 10%.

c) "in vivo" nesta concentração a contagem de bactérias no canal radicular é consideravelmente reduzido.

McCOMB⁽¹⁵⁾ (1975) examinou ao microscópio eletrônico canais endodônticamente tratados para demonstrar os efeitos de diferentes técnicas de instrumentação, diferentes soluções irrigantes e vários tratamentos químicos usados depois da instrumentação.

Alguns dos irrigantes comumente usados na prática endodôntica, entre eles o hipoclorito de sódio e o peróxido de hidrogênio, não foram mais efetivos que a água na remoção dos detritos.

O uso do EDTA e do REDTA como um irrigante ou como tratamento químico produziram a melhor limpeza das paredes do canal.

Os melhores resultados foram observados com o uso do REDTA selado no canal por 24 horas.

GOLDBERG⁽⁰⁶⁾ (1977) analisou o efeito do EDTAC sobre as paredes dentinárias do canal radicular de seis dentes recentemente extraídos.

Gotejou o EDTAC sobre as paredes dentinárias durante 15 minutos, usando uma pipeta.

Com o auxílio de uma esponja absorvente removeu o excesso e fez nova aplicação da solução por mais 15 minutos.

O autor concluiu que o EDTAC ajudou na limpeza e desinfecção das paredes dentinárias pela eliminação da camada superficial de raspas de dentina e materiais desprendidos durante a instrumentação; que facilita a ação de drogas pelo aumento de diâmetro dos túbulos dentinários, aumentando a permeabilidade den

tinária; que a dentina oferece condições para fornecer maior adesão para o material obturador.

KAUFMAN e COL.⁽³²⁾ (1977) realizaram um trabalho onde compararam as propriedades do Salvizol com as do EDTA, uma vez que esta última tem sido usada no preparo químico-mecânico do canal radicular.

Para isso, fizeram um estudo "in vitro" com microscopia eletrônica de varredura.

No estudo "in vivo" foram utilizados 2 incisivos centrais superiores, com extrações indicadas por motivos protéticos. A sequência do tratamento endodôntico foi a mesma nos dois dentes com idêntico acesso coronário, remoção da polpa com extirpa-nervos nº 2 e preparo químico-mecânico, com limas Hedstroem de nº 15 a 40, cada dente recebendo substâncias diferentes, ou seja, EDTAC em partes iguais de água destilada estéril e Salvizol diluído em água destilada a 1:10.

No estudo "in vitro" foram empregados 6 dentes recém-extraídos, divididos em grupos de 3 para cada solução, os quais foram submetidos ao mesmo processo de tratamento endodôntico. Os dentes, tanto do estudo "in vivo" como os do "in vitro", foram seccionados longitudinalmente e examinados nos seus terços coronários, médio e apical, ao microscópio eletrônico de varredura.

Os resultados, em ambos os estudos mostraram a capacidade do Salvizol de dissolver a matriz orgânica da dentina, a de apresentar largo espectro de atividade bactericida, pH neutro, potencial de limpeza e compatibilidade biológica. Um fato marcante observado no estudo comparado das duas substâncias, foi o de permanecerem restos de tecidos necróticos contendo microrganismos semelhantes a bacilos, nos terços apicais de canais irrigados com EDTAC, ao contrário daqueles feitos com Salvizol que não apresentam restos necróticos na mesma região.

4. AÇÃO ANTIMICROBIANA DO PARAMONOCLOROFENOL CANFORADO

HARRISON & MADONIA⁽¹⁰⁾ (1970) tinham como objetivo determinar a concentração do paramonoclorofenol para um efeito antimicrobiano.

crobiano ideal.

Selecionaram dez espécies de microrganismos entre eles os Streptococcus salivarius, Staphylococcus aureus, Neisseria e Candida albicans.

Foram feitas 3 séries de diluição em tubo, cada uma com uma variação muito pequena. O teste de diluição de tubos consistiu em uma série de diluição de 1% de paramonoclorofenol, inicialmente envolvendo uma larga faixa de concentrações subseqüentemente estreitadas para uma faixa mais baixa até a determinação do ponto final, chegando o mais próximo possível de 1×10^{-4} , Gm de paramonoclorofenol por ml. Cada série de teste subsequente, portanto, confirmava a série precedente.

O ponto final para cada teste de microrganismo era baseado na menor concentração de paramonoclorofenol inibindo esse microrganismo (isto é, a menor concentração bactericida ou fungicida).

Quatro décimos de mililitros de cultura de microrganismo foi inoculada em cada tubo de diluição.

Os resultados destes estudos indicam que o paramonoclorofenol é um agente antimicrobiano extremamente potente e bastante eficaz em concentrações baixas.

A vantagem primária da baixa concentração do paramonoclorofenol é a redução em sua potencialidade tóxica.

GALLEGOS & COL. (05) (1978) testaram através do método de diluição em caldo as seguintes substâncias: paramonoclorofenol canforado da S.S. White; paramonoclorofenol canforado na concentração de 2,7:7,5 e paramonoclorofenol com Furacin na proporção de 10g : 28 ml. As amostras bacterianas utilizadas foram: Pseudomonas aeruginosa, Streptococcus faecalis, Streptococcus Mutans e Streptococcus sanguis, obtidas a partir de materiais patológicos de origem bucal.

O meio de cultura usado foi o de "Mueller Hinton Broth", distribuído em quantidade de 2,5 ml por tubo. A diluição das substâncias medicamentosas foi realizada neste meio, na razão de 1:2, a partir da concentração de 4 ul/ml até 0,03 ul/ml.

Foi adicionado à cada tubo 0,01 ml de inóculo bacteriano.

Os tubos foram então incubados por um período de 24 e 48 horas .

A leitura dos resultados foi realizada por observação do crescimento em tubos, através da turvação. Cada um dos conteúdos dos tubos foi semeado em meio de agar-sangue, incubando-se a seguir pelos mesmos períodos do teste.

A leitura do crescimento ou de sua ausência indicava efetivamente a ação bactericida da substância medicamentosa.

Os autores concluíram que:

1. Os efeitos bacteriostáticos do paramonoclorófenol canforado na proporção de 3,5:6,5, do paramonoclorófenol canforado 2,5:7,5 e do Furacín-paramonoclorófenol, são iguais.

2. A ação bactericida do paramonoclorófenol canforado , 2,5:7,5 e do Furacín-paramonoclorófenol, são iguais.

3. A ação bactericida do paramonoclorófenol canforado 3,5:6,5 é mais eficaz que o paramonoclorófenol canforado 2,5:7,5 e do Furacín-paramonoclorófenol.

SOUZA & COL. ⁽²⁷⁾ (1978) testaram o poder antimicrobiano do tricresol formalina, paramonoclorófenol, paramonoclorófenol canforado, paramonoclorófenol associado ao Furacín, creosoto de faia, engenol e cresatina, frente a um coquetel de microrganismos colhidos de canais infectados de dentes humanos. Desenvolveram o teste em duas etapas: na primeira, os microrganismos semeados em agar sangue, contido em tubos de ensaio. ficaram sujeitos a ação de 0,2 ml de cada medicamento, aplicado num penço de algodão, colocado aproximadamente a 20 mm da superfície do meio de cultura.

Após incubação por 48 horas, o material da superfície do meio de cultura foi colhido e semeado em novo meio de cultura líquido glicosado.

A análise dos resultados obtidos demonstrou que apenas o tricresol formalina e o paramonoclorófenol tiveram ação bactericida sobre os microrganismos semeados.

Na segunda fase, discos de papel contendo 0,02 ml de cada droga foram colocados na superfície de meios de cultura de agar sangue, semeados com o mesmo coquetel de bactérias da experimentação anterior.

Após a incubação por 48 horas, o halo de inibição de

o crescimento bacteriano das substâncias testadas decresceu na seguinte ordem: tricresol formalina, paramonoclorofenol, paramonoclorofenol associado ao Furacin, paramonoclorofenol canforado, creosoto de faia, engenol e cresatina.

Os autores concluíram que:

O paramonoclorofenol apresenta eficaz ação antimicrobiana, tanto por contato, quanto à distância.

O paramonoclorofenol canforado apresenta eficaz ação antimicrobiana apenas por contato.

P R O P O S I Ç Ã O

PROPOSIÇÃO

O estudo sobre irrigação dos canais radiculares permite concluir que seria oportuno que as soluções irrigantes apresentassem ação desmineralizante, além das outras propriedades consideradas ideais (compatibilidade biológica, baixa tensão superficial e efetiva ação antimicrobiana); sem dúvida isto facilitaria extraordinariamente a instrumentação dos canais radiculares.

Considerando que as soluções quelantes de uso endodôntico, por apresentarem compatibilidade biológica, baixa tensão superficial e efetiva ação descalcificante são soluções irrigantes em potencial, foi realizado este trabalho com o objetivo de avaliar os seguintes pontos:

1. A ação antimicrobiana "in vitro" de diversos produtos descalcificantes, de uso na rotina endodôntica, sobre cinco tipos de microrganismos comumente encontrados na cavidade pulpar de dentes expostos ao meio bucal.

2. Eventuais diferenças na ação "in vitro" dos cinco produtos testados sobre os microrganismos isolados.

3. Eventual influência do tempo de contato, entre a solução e os microrganismos, na ação dos quelantes de uso endodôntico, sobre os microrganismos selecionados.

M A T E R I A L E M É T O D O S

MATERIAL E MÉTODOS

1. MATERIAL

1.1. AGENTES EMPREGADOS

Os agentes testados no presente trabalho estão relacionados na tabela 1.

1.2. MICROORGANISMOS UTILIZADOS

As amostras bacterianas utilizadas foram as seguintes:

Streptococcus salivarius

Staphylococcus aureus

Lactobacillus sp

Neisseria sp

Candida sp

1.3. MEIOS DE CULTURA

Os meios de cultura utilizados foram:

Fluid Thiogluconate Medium (DIFCO)

BHI (Brain Heart Infusion, B.B.L.)

Placas de Petri com Brucella - Agar (DIFCO)

Placas de Petri com Mueller - Hinton (DIFCO)

Indol - Nitrato (DIFCO)

Sabouraud (DIFCO)

Agar citrato (Simmons, DIFCO)

1.4. VEÍCULOS PARA OS AGENTES EMPREGADOS

Discos de papel de filtro com 2,0 mm de espessura e aproximadamente 5,0 mm de diâmetro.

1.5. ESTUFA

Estufa FANEN, mod. 002 2, nº 37.346, LTDA S. PAULO.

TABELA 1 - Distribuição dos produtos usados segundo a marca comercial, a composição, o fabricante e apresentação.

AGENTES EMPREGADOS

MARCA COMERCIAL	COMPOSIÇÃO	FABRICANTE	APRESENTAÇÃO
(Fórmula de Ostby)	-sal dissódico de EDTA 17,0 g -água destilada 100,0 ml -hidróxido de sódio a 5/N 9,25 g	(*)	LÍQUIDO
EDTA ULTRA	-ácido etileno diamino tétracético	DURADENT	LÍQUIDO
EDTA INODON	-ácido etileno diamino tétracético	INDUSTRIAL ODONTOLÓGICA LTDA	LÍQUIDO
RC-PREP	-ácido etileno diamino tétracético (15%) -peróxido de uréia (10%)	PREMIER	PASTA
ENDO-PREPSEM	-ácido etileno diamino tétracético (15%) -peróxido de uréia (10%) -lauril sulfato de sódio (0,3%) -diadermina aromatizada (37,7%) -carbowax (37%) -peróxido de hidrogênio	ENDODENT	CREME E LÍQUIDO
P.MONO CLORO FENOL CANFO RADO	-paramonoclorofenol -cânfora	SS WHITE	LÍQUIDO

(*) Elaborado na disciplina de HISTOLOGIA da Universidade Federal de Santa Catarina.

1.6. OUTROS MATERIAIS

Para execução desta fase do experimento foram utilizados diversos instrumentos, equipamentos e materiais que por serem costumeiramente usados em microbiologia, é dispensável mencioná-los.

2. MÉTODOS

A esterilização de todo instrumental e material utilizado foi feita em autoclave a 123°C e 2 at, durante 20 minutos.

2.1. COLHEITA DO MATERIAL

As amostras bacterianas foram isoladas de canais radiculares infectados.

A colheita do material foi realizada de acordo com GROSSMAN⁽⁰⁹⁾.

Estando o dente isolado com o dique de borracha, com movimento de vaivém, e com auxílio de uma pinça, foi inserido no canal um cone de papel absorvente, permanecendo aí por um minuto a fim de absorver a maior quantidade possível de exsudato e de microrganismos ao longo da parede do canal.

Após esse tempo, a ponta absorvente foi removida com uma pinça e inoculada em tubo 18X180 mm contendo 20,0 ml de tioglicolato (DIFCO). Apenas uma ponta foi semeada por canal radicular, para evitar riscos de contaminação. Para cada dente usou-se um tubo de cultura, não importando o número de canais existentes. Esse foi então incubado por 48 horas a 37°C. Para verificar a ocorrência do crescimento bacteriano, observou-se o tubo de cultura de encontro a um fundo branco. O turvamento indicava crescimento de microrganismos.

2.2. ISOLAMENTO

A partir do crescimento nos tubos, com o auxílio de uma alça foram inoculados em placas de Petri com Brucella - Agar e incubados em jarras de CO₂ durante 48 horas a 37°C.

2.3. IDENTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS

As amostras de cocos Gram positivos foram identificadas segundo o esquema proposto por OLIVEIRA⁽²¹⁾.

As amostras caracterizadas como pertencentes a família Micrococaceae foram submetidas a prova da coagulase e da DNase de acordo com as indicações de Blazevic⁽⁰²⁾.

As amostras de bastonetes Gram positivos foram identificadas pelas provas da catalase, da redução do nitrato e pela morfologia celular. A primeira era realizada em lâmina esca-
vada, onde eram colocadas duas gotas da cultura na qual era misturada uma gota de peróxido de hidrogênio. A segunda era realizada no meio de Indol-Nitrato. Ambas as provas foram realizadas segundo Blazevic⁽⁰²⁾. As amostras de bastonetes Gram positivas, não esporuladas, catalase e nitrato negativas, foram identificadas como Lactobacillus sp.

As amostras de leveduras, isoladas dos canais radiculares, foram identificadas com base na morfologia colonial no meio de Sabouraud e pela coloração de Gram. As células ovais oriundas de colônia circular, lisa, butirosa e inteira que tomaram a coloração do cristal violeta foram identificadas como pertencentes ao gênero Candida.

As amostras de diplococos Gram negativos oxidase positivas e que não cresceram no meio de Simmons, foram caracterizadas como pertencentes ao gênero Neisseria.

2.4. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

2.4.1. Método de Difusão em Agar

O método utilizado para a avaliação da ação antimicrobiana dos quelantes foi o proposto por Möller⁽¹⁶⁾.

Estando identificadas as amostras microbianas essas eram cultivadas inicialmente em BHI. Em seguida, com o auxílio de uma pipeta, 0,1 ml da cultura do BHI era transferido para placas de Petri, contendo o meio de Mueller-Hinton, e dis-

tribuídas uniformemente sobre a superfície com um bastão de vidro dobrado em L. Dando continuidade as placas eram colocadas na estufa, durante 10 minutos, para evaporar o excesso. Discos de papel de filtro foram utilizados como veículos para conduzir o agente estudado (quelantes e antisséptico). Os discos foram embebidos nos quelantes e o excesso foi removido, pela colocação dos mesmos em placa de Petri inclinada, contendo papel de filtro, por um período de 10 segundos. Então, os discos foram colocados na superfície das placas com o meio de cultura usado e estas semeadas com as amostras microbianas. As placas foram deixadas na temperatura ambiente por 2 a 3 horas, na posição normal, e em seguida incubadas (de maneira invertida) na estufa a 37°C durante 48 horas. Após esse tempo, as placas foram retiradas na mesma posição em que se encontravam e observadas as zonas de inibição de crescimento.

Na figura 1 está representado o método usado para as medidas dos halos.

Cada halo foi medido com régua milimetrada em dois sentidos (d_1 e d_2), e o valor calculado segundo a fórmula.

$$\frac{(d_1 - t_1) + (d_2 - t_2)}{4}$$

onde d_1 e d_2 são os diâmetros da zona de inibição e t_1 e t_2 os diâmetros do disco de prova.

Para efeito de comparação da atividade antimicrobiana dos quelantes foi utilizado o paramonoclorofenol canforado.

2.4.2. Influência do Tempo de Atividade Antimicrobiana

Para a avaliação da ação antimicrobiana em função do tempo, foi utilizado o seguinte esquema experimental:

a) O disco de papel de filtro foi embebido no agente quelante;

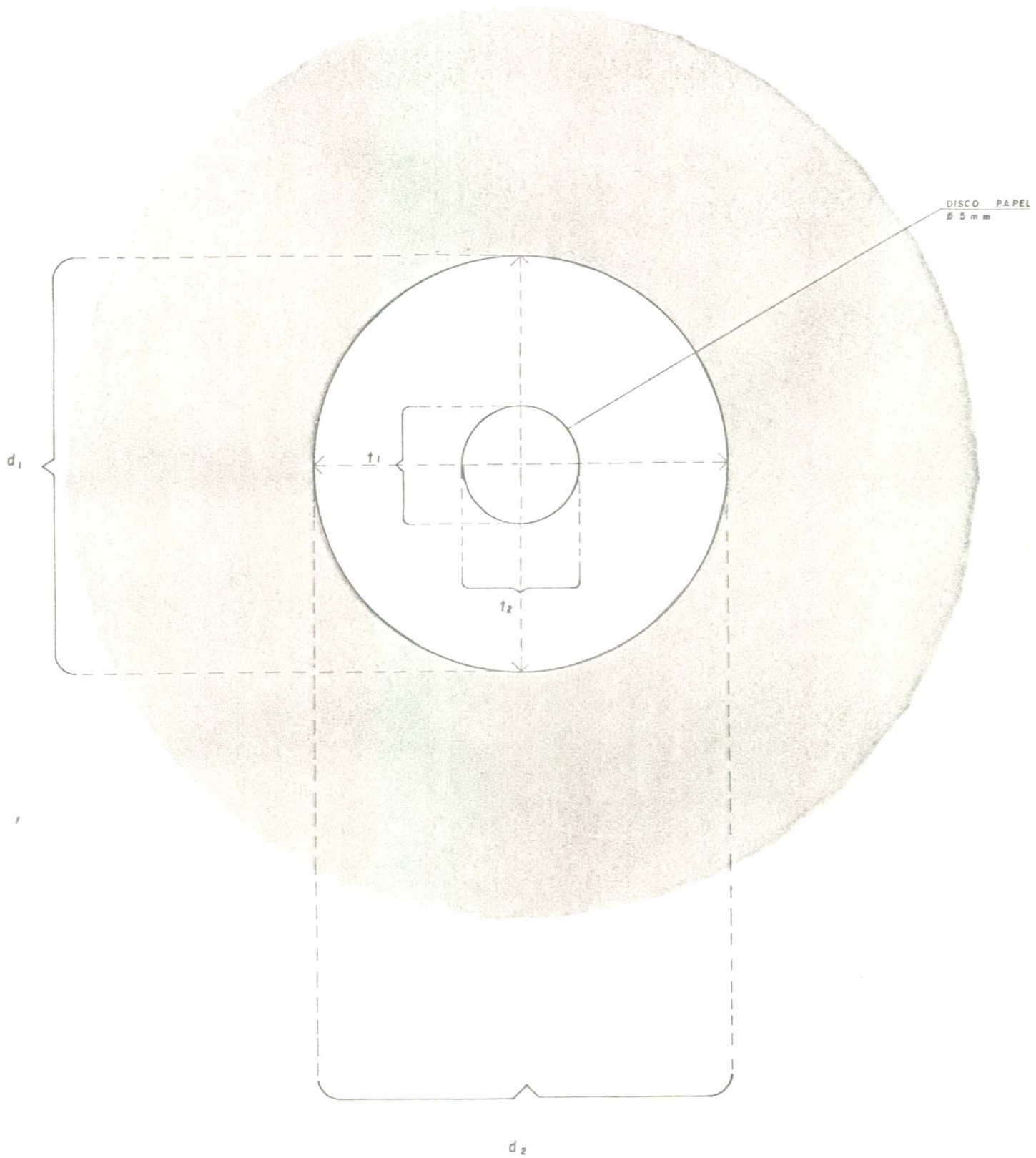


FIGURA 4: REPRESENTAÇÃO DO MÉTODO PARA
MEDIDA DO HALO DE INIBIÇÃO

b) O excesso do agente foi removido com papel de filtro colocado numa placa de Petri;

c) Após a retirada do excesso, o disco foi embebido com a cultura a ser testada e o excesso foi retirado como descrito anteriormente. Os discos foram então deixados em placas de Petri e o tempo marcado, em intervalos de 10, 15, 20 e 30 minutos. Portanto, para cada tempo foi preparado um disco de prova. Decorridos os tempos estipulados, os discos foram inoculados em tubos contendo tioglicolato e incubados a 37°C. Após 48 horas de incubação era realizada a leitura anotando-se como o crescimento positivo (+) aqueles que apresentavam turvação.

R E S U L T A D O S

RESULTADOS

1. RESULTADOS EXPERIMENTAIS

Os resultados da avaliação da atividade antimicrobiana dos diversos agentes quelantes utilizados no presente trabalho, estão indicados nas tabelas 2, 3, 4, 5, 6 e 7.

No teste de atividade antimicrobiana os discos contendo os quelantes que foram colocados em placas de Mueller-Hinton, inoculadas com o Streptococcus salivarius, a média dos halos de inibição mostrou que não houve crescimento numa área de diâmetro igual ou inferior a 2,19 mm. O menor halo (2,19 mm) foi propiciado pelo RC-PREP e o maior (2,75 mm) pelo EDTA da fórmula de Ostby; entre os dois extremos foram encontrados, do maior para o menor, os halos do EDTA ULTRA, do EDTA INODON, do ENDO-PREPSEM e do PMCFC.

Quando os materiais testados foram colocados em presença do Staphylococcus aureus o maior halo de inibição foi originado pelo PMCFC (9,21 mm) e o menor pelo ENDO-PREPSEM e RC-PREP (4,0 mm); entre os extremos pela ordem crescente foram encontrados os halos determinados pelo EDTA da fórmula de Ostby, o EDTA INODON e o EDTA ULTRA.

Em relação a amostra de Candida sp os compostos em estudo mostraram alguma semelhança, no que diz respeito a atividade inibidora; assim o disco com o EDTA INODON foi o que determinou o menor halo de inibição (1,50 mm); progressivamente foram encontrados os halos do EDTA ULTRA (2,25 mm), do PMCFC, do EDTA da fórmula de Ostby, do ENDO-PREPSEM e do RC-PREP, todos com a mesma dimensão (2,50 mm).

Quando os quelantes testados foram empregados em meios com Lactobacillus sp, a medida dos halos de inibição mostrou a seguinte progressão: ENDO-PREPSEM e EDTA ULTRA (2,37 mm), EDTA INODON (2,50 mm), RC-PREP (2,75 mm), EDTA da fórmula de Ostby e o PMCFC (3,00 mm).

Colocados em meio de cultura inoculado com a Neisseria sp, os desmineralizantes de uso endodôntico testados neste experimen

to, determinaram halos de inibição variáveis entre 1,50 mm (ENDO-PREPSEM) e 3,25 mm (EDTA da fórmula de Ostby). Entre os extremos foi possível medir halos de 2,00 mm (EDTA INODON), 2,50 mm (RC-PREP e PMCFC) e 3,00 mm (EDTA ULTRA).

Quando foi avaliada a atividade antimicrobiana dos compostos testados nos períodos de 10, 15, 20 e 30 minutos, para a amostra de Streptococcus salivarius foi verificado que o EDTA da fórmula de Ostby e o EDTA ULTRA não inibiram o crescimento deste microrganismo, o RC-PREP e o ENDO-PREPSEM inibiram o crescimento somente nos períodos de 20 e 30 minutos; o EDTA INODON promoveu efeito inibidor em todos os períodos.

No teste com a amostra de Staphylococcus aureus o EDTA da fórmula de Ostby, o RC-PREP e o ENDO-PREPSEM não promoveram inibição em nenhum dos períodos; o EDTA ULTRA mostrou ter atividade inibidora nos tempos de 20 e 30 minutos. O EDTA INODON mostrou-se eficaz inibindo o crescimento nos quatro momentos estudados.

Todos os desmineralizantes estudados inibiram completamente o crescimento da Candida sp desde os 10 até os 30 minutos, exceção feita ao EDTA ULTRA que permitiu o desenvolvimento deste microrganismo a partir do 10º minuto.

Enquanto o EDTA INODON e o ENDO-PREPSEM inibiram nas quatro oportunidades, o crescimento do Lactobacillus sp, o EDTA da fórmula de Ostby foi totalmente ineficiente; o EDTA ULTRA e o RC-PREP promoveram inibição nas duas observações mais demoradas.

No teste de avaliação da amostra de Neisseria sp, os resultados obtidos mostraram que o EDTA INODON, o RC-PREP e o ENDO-PREPSEM tiveram ação inibidora, nos quatro tempos, o EDTA ULTRA apresentou a mesma atividade dos produtos anteriores nos períodos de 15, 20 e 30 minutos e não mostrou qualquer inibição ao 10º minuto; quando o EDTA da fórmula de Ostby foi utilizado não houve inibição.

TABELA 2 - Ação antimicrobiana do paramonoclorofenol canforado e de diversas preparações do ácido etileno diamino te tra acético avaliada pela medida (em mm) dos halos de inibição.

AGENTE AMOSTRA	FÓRMULA DE OSTBY	EDTA ULTRA	EDTA INODON	RC-PREP	ENDO PREPSEM	PMCFC
<u>Streptococcus</u> <u>salivarius</u>	2,75	2,38	2,31	2,19	2,25	2,20
<u>Staphylococcus</u> <u>aureus</u>	4,50	5,00	5,00	4,00	4,00	9,21
<u>Lactobacillus</u> sp	3,00	2,37	2,50	2,75	2,37	3,00
<u>Neisseria</u> sp	2,50	3,00	2,00	2,50	1,50	2,50
<u>Candida</u> sp	2,50	2,25	1,50	2,50	2,50	2,50

TABELA 3 - Influência do tempo (em minutos) na ação antimicrobiana de diversas preparações do ácido etileno diamino tetra acético em amostra de Streptococcus salivarius.

AGENTE \ TEMPO	TEMPO			
	10	15	20	30
Fórmula de Ostby	+	+	+	+
EDTA ULTRA	+	+	+	+
EDTA INODON	-	-	-	-
RC-PREP	+	+	-	-
ENDO-PREPSEM	+	+	-	-

Obs: + não houve inibição no período observado.
 - houve inibição no período observado.

TABELA 4 - Influência do tempo (em minutos) na ação antimicrobiana de diversas preparações do ácido etileno diamino tetra acético em amostra de Staphylococcus aureus.

AGENTE	TEMPO			
	10	15	20	30
Fórmula de Ostby	+	+	+	+
EDTA ULTRA	+	+	-	-
EDTA INODON	-	-	-	-
RC-PREP	+	+	+	+
ENDO-PREPSEM	+	+	+	+

Obs: + não houve inibição no período observado.
 - houve inibição no período observado.

TABELA 5 - Influência do tempo (em minutos) na ação antimicrobiana de diversas preparações do ácido etileno diamino tetra acético em amostra de Candida sp.

TEMPO \ AGENTE	10	15	20	30
Fórmula de Ostby	-	-	-	-
EDTA ULTRA	+	+	+	+
EDTA INODON	-	-	-	-
RC-PREP	-	-	-	-
ENDO-PREPSEM	-	-	-	-

Obs: + não houve inibição no período observado.

- houve inibição no período observado.

TABELA 6 - Influência do tempo (em minutos) na ação antimicrobiana de diversas preparações do ácido etileno diamino tetra acético em amostra de Lactobacillus sp.

AGENTE \ TEMPO	10	15	20	30
Fórmula de Ostby	+	+	+	+
EDTA ULTRA	+	+	-	-
EDTA INODON	-	-	-	-
RC-PREP	+	+	-	-
ENDO-PREPSEM	-	-	-	-

Obs: + não houve inibição no período observado.
 - houve inibição no período observado.

TABELA 7 - Influência do tempo (em minutos) na ação antimicrobiana de diversas preparações do ácido etileno diamino tetra acético em amostra de Neisseria sp.

AGENTE \ TEMPO	10	15	20	30
Fórmula de Ostby	+	+	+	+
EDTA ULTRA	+	-	-	-
EDTA INODON	-	-	-	-
RC-PREP	-	-	-	-
ENDO-PREPSEM	-	-	-	-

Obs: + não houve inibição no período observado.
 - houve inibição no período observado.



Figura 2: Halo de inibição produzido pelo EDTA elaborado segundo a fórmula de Ostby.

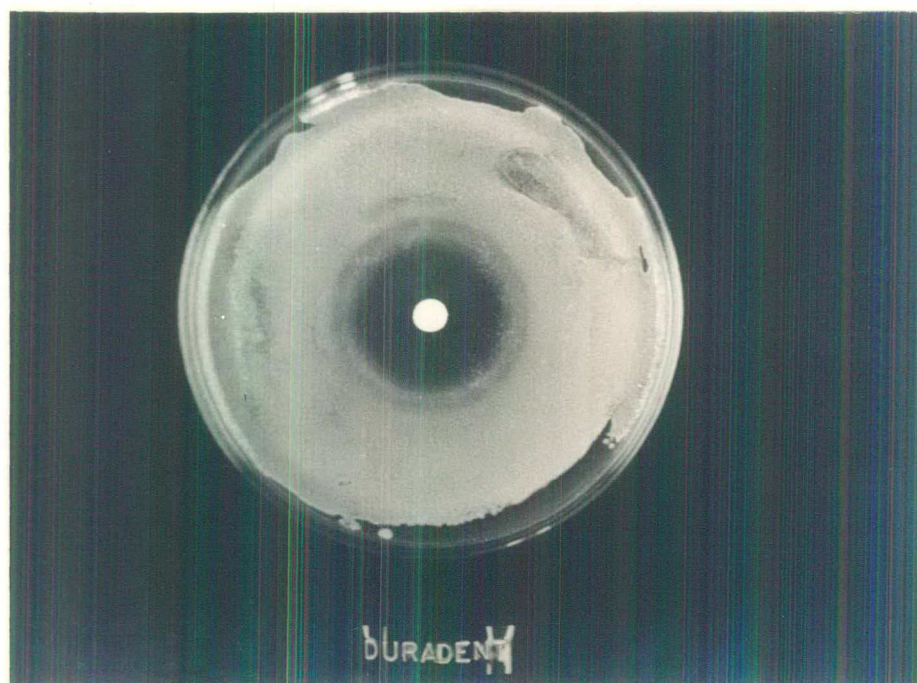


Figura 3: Halo de inibição produzido pelo EDTA ULTRA.

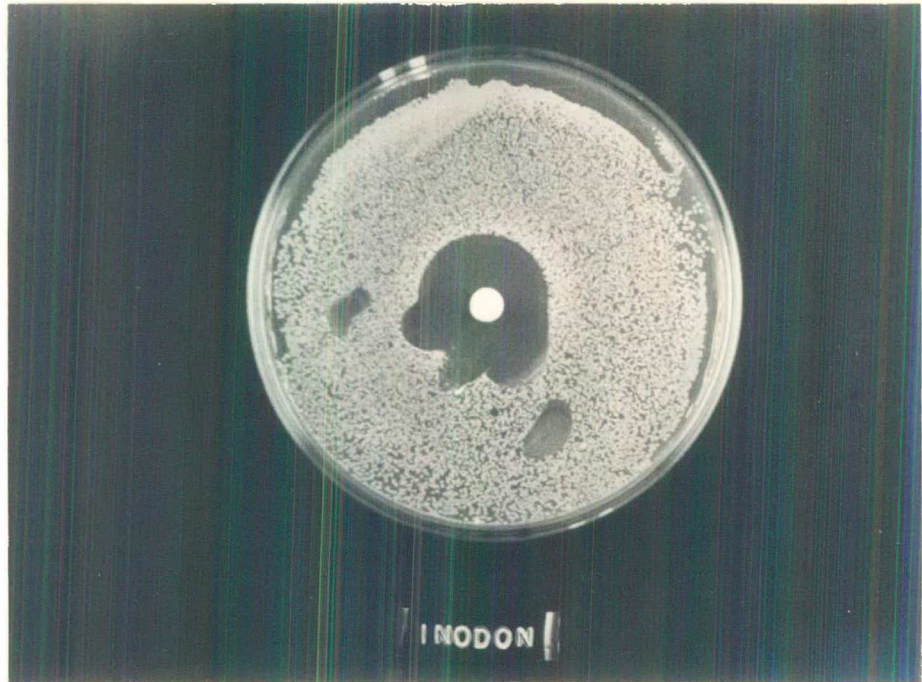


Figura 4: Halo de inibição produzido pelo EDTA INODON



Figura 5: Halo de inibição produzido pelo RC-PREP.



Figura 6: Halo de inibição produzido pelo ENDO PREPSEM.

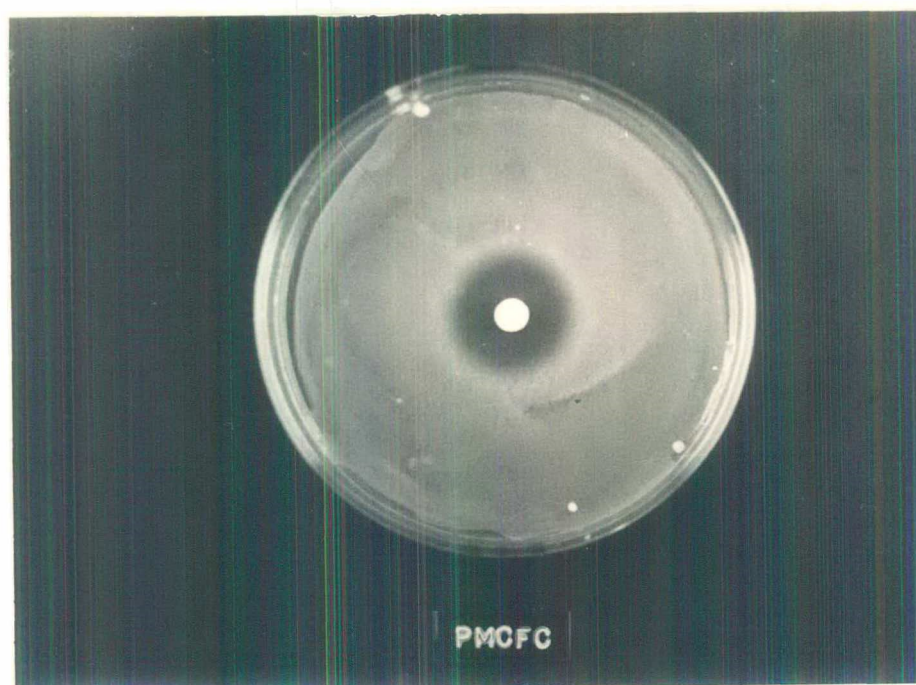


Figura 7: Halo de inibição produzido pelo PMCFC.

2. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foram consideradas as seguintes experiências com as amostras:

1º) Halo de inibição, usando PMCFC (padrão) X microrganismos.

2º) Halo de inibição, usando cinco agentes (Fórmula de Ostby, EDTA ULTRA, EDTA INODON, RC-PREP, ENDO-PREPSEM) X microrganismos.

3º) Agente inibidor X Tempo X microrganismos.

A tabela 8 é uma síntese das tabelas anteriores (3, 4, 5, 6 e 7), e, servirá para os cálculos analíticos.

Usando-se testes não paramétricos, com base nos dados amostrais, serão feitas as seguintes verificações de hipóteses:

A - QUANTO ÀS DETERMINAÇÕES CONSTANTES DA TABELA 2

1. Para cada tipo de microrganismos existe diferença significativa quanto ao agente empregado;

2. Existe diferença significativa entre o uso do PMCFC e cada agente, considerando cada microrganismo isoladamente;

3. Existe diferença significativa entre os diversos microrganismos e a ação do PMCFC e dos demais agentes empregados.

B - QUANTO ÀS DETERMINAÇÕES CONSTANTES DA TABELA 8

1. Para cada tipo de microrganismo existe diferença significativa quanto ao agente empregado e o tempo de inibição;

2. Existe diferença significativa entre os diversos microrganismos sob a ação dos diversos agentes, quanto ao tempo de inibição;

O nível de significância empregado em todas as determinações será de 0,05 (5%).

TABELA 8 - Agente inibidor X tempo X microrganismo.

AGENTE TEMPO (min)	Fórmula de Ostby				EDTA ULTRA				EDTA INODON				RC-PREP				ENDO PREPSEM			
	10	15	20	30	10	15	20	30	10	15	20	30	10	15	20	30	10	15	20	30
<u>Streptococcus salivarius</u>	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-
<u>Staphylococcus aureus</u>	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<u>Lactobacillus sp</u>	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
<u>Neisseria sp</u>	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<u>Candida sp</u>	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Obs: + não houve inibição no período observado.

- houve inibição no período observado.

A hipótese a ser testada será sempre a hipótese nula (H_0), ou seja a de não haver diferença significativa entre os valores apresentados. Caso a hipótese nula (H_0) seja aceita, conclui-se que no nível de significância adotado (5%), não há diferença significativa entre as variáveis, sendo que as diferenças apresentadas nas tabelas experimentais, seriam causadas por eventuais erros de amostragem, e, provavelmente na realidade não há as diferenças apontadas nas experiências.

No caso de rejeição do H_0 , tudo indica uma diferença significativa entre as variáveis, e, os dados amostrais apresentam um quadro que reflete a realidade.

O teste empregado será o do qui-quadrado, com a correção de Yates nos casos julgados necessários, tendo em vista o pequeno número de dados, ou visando a correção de continuidade.

D I S C U S S Ã O

DISCUSSÃO

O tratamento dos canais radiculares deve ser realizado quando existe indicação clínica. O objetivo do mesmo é quase sempre a obtenção da "esterilização" da cavidade pulpar. Esta "esterilização" é obtida através da remoção de restos de tecido pulpar, detritos, bactérias e seus produtos da cavidade pulpar.

Muito importante, nesta fase, é o emprego de soluções irrigadoras, que entre outras propriedades deve apresentar eficaz ação antimicrobiana, pois os microrganismos são a principal fonte de irritação da polpa dentária (31).

Contudo, quando os canais a serem tratados não apresentam condições adequadas para instrumentação, devido ao pequeno diâmetro do conduto, é necessário recorrer a soluções desmineralizantes para facilitar o alargamento do canal. Estas soluções, como foi salientado na introdução deste trabalho devem apresentar, além da ação desmineralizante, compatibilidade biológica, baixa tensão superficial e ação antimicrobiana.

Entre as soluções utilizadas em endodontia com esta finalidade estão aquelas compostas ou preparadas a base de ácido etileno diamino tetra-acético (EDTA).

A comprovada ação desmineralizante (04), (12), (22), (24), (26), (30) aliada à boa compatibilidade biológica (19), (24), (29) seria interessante juntar a ação antimicrobiana do EDTA (06), (15), (24), (32), (34) pouco estudada em literatura.

O estudo, "in vitro", da ação antimicrobiana do EDTA foi realizado, no presente trabalho com microrganismos isolados de canais radiculares humanos. Os microrganismos foram selecionados em face de serem encontrados com frequência nos canais radiculares humanos infectados (13), (17), (20).

O paramonoclorofenol canforado (PMCF) foi utilizado como padrão tendo em vista que é um agente antimicrobiano extremamente potente a ser eficaz em concentrações baixas (10), (05), embora outros autores (27) tenham concluído que o mesmo apresente a

ção antimicrobiana apenas por contato.

Todas as amostras testadas se mostraram sensíveis a ação do PMCFC e as preparações do EDTA. A sensibilidade foi avaliada através da medida dos halos de inibição (Tabela 2). A análise dos resultados permitiu concluir não haver diferença estatisticamente significativa ao nível de 5,0% entre a ação do PMCFC e a ação das diversas preparações do quelante. Em outras palavras isto quer dizer que o EDTA tem um poder microbicida com parável ao do PMCFC nas condições experimentais.

A ação antimicrobiana do EDTA, embora conhecida, não foi ainda plenamente explicada. Sabe-se, por exemplo, que nos microrganismos gram negativos o EDTA tem a propriedade de destruir a camada de lipopolissacarídeo (LPS) que corresponde a endotoxina bacterina. Isto pode ser demonstrado pela obtenção de protoplastos de bactérias gram negativas, em meio isotônico, através da utilização de EDTA e lisozime. Entretanto, para as bactérias gram positivas ainda não existe uma explicação razoável. Contudo pode-se especular a respeito. As bactérias gram positivas apresentam na sua parede celular os chamados ácidos teicônicos cuja finalidade biológica é a atração de ions divalentes para a proximidade da superfície bacteriana⁽³³⁾. Esta atração está relacionada com a ionização das condições ambientais. O EDTA poderia exercer sua ação antimicrobiana retirando do meio ambiente os ions divalentes como o Ca^{++} , por exemplo, criando condições desfavoráveis ao metabolismo bacteriano.

Para avaliar a possibilidade de utilização das diversas preparações comerciais como agentes antimicrobianos durante o preparo mecânico do canal radicular, seria condição "sine qua non" que os mesmos exercessem a sua ação microbicida no tempo clínico ideal (15 a 30 minutos).

Pela análise experimental do tempo de ação (Tabela 8) verifica-se que apenas um produto (EDTA INODON) foi capaz de inibir todas as amostras testadas, mesmo no tempo mínimo de 10 minutos. As outras preparações apresentaram um comportamento variado em relação as amostras testadas.

Considerando apenas as preparações líquidas (Ostby, EDTA ULTRA e EDTA INODON), era de se esperar que as mesmas apresentassem o mesmo tipo de resultado. Contudo isto não ocorreu. Qual seria ou quais seriam as diferenças entre estas preparações responsáveis ou responsáveis por estes resultados diferentes? Dois aspectos podem ser discutidos: a concentração do sal dissódico e o pH da solução, uma vez que Kotula & Bordacova⁽³⁴⁾ verificaram que a atividade antibacteriana do EDTA depende da concentração como do valor do pH. Para esses autores a concentração tem que ser superior a 10%. Entretanto a discussão destes tópicos fica prejudicada uma vez que não há informação do fabricante a respeito destes itens. Contudo, a concentração do sal na fórmula de Ostby é de 17% e a mesma se mostrou eficaz contra a amostra de Candida sp. Em trabalhos futuros seria interessante verificar a relação da atividade antimicrobiana do EDTA com a concentração do sal e o pH da solução.

Em relação aos produtos cremosos (RC-PREP e ENDO-PREPSEM) e que apresentam em sua composição o peróxido de uréia, era lícito supor que apresentassem uma atividade antimicrobiana mais eficiente do que os outros produtos testados. Todavia isto não aconteceu e sugere que a presença do peróxido de uréia nestes compostos tem pouco significado.

Foi salientado anteriormente que apenas o EDTA INODON apresentou um comportamento uniforme na ação microbicida ou seja inibiu o crescimento de todas as amostras estudadas. As outras fórmulas do quelante apresentaram um comportamento variado em relação as amostras testadas. Esta variação permite fazer uma analogia com os antibióticos. Em alguns casos as amostras são sensíveis a todos os antibióticos em outras não. Para o sucesso do tratamento é necessário que a amostra seja sensível ao antibiótico que vai ser administrado. No caso do tratamento endodôntico equivale dizer que a preparação a ser utilizada deve exercer ação antimicrobiana contra o(s) microrganismo(s) contido(s) no canal.

Assim, ainda considerando a tabela 8, em caso de canais radiculares infectados pela Candida sp qualquer fórmula pode ser utilizada, exceção feita a do EDTA ULTRA. Analisando ainda sob este aspecto apenas o EDTA INODON teria utilidade no pre

paro mecânico de um canal radicular infectado por Staphylococcus aureus.

A avaliação da atividade antibacteriana de diversas preparações do ácido etileno diamino tetra-acético pela utilização de amostras de Streptococcus salivarius, Staphylococcus aureus, Lactobacillus sp, Neisseria sp e Candida sp veio comprovar a ação antimicrobiana do EDTA⁽¹⁵⁾, ⁽²⁴⁾, ⁽³⁴⁾.

Considerando que:

- a) apenas o EDTA INODON foi capaz de exercer ação contra todas as amostras testadas (bactérias gram positivas, bactérias gram negativas e leveduras).
- b) a ação antimicrobiana do EDTA INODON é rápida (10 minutos).
- c) o EDTA INODON é líquido e apresenta todas as propriedades desejáveis de uma solução irrigadora.

podemos admitir que este preparado poderia ser utilizado, no preparo mecânico dos canais radiculares, com dupla finalidade: desmineralizante e antimicrobiana.

Para determinar o real significado clínico dos resultados que encontramos no presente trabalho, parece-nos oportuno e necessário a continuidade deste estudo "in vivo".

C O N C L U S Õ E S

CONCLUSÕES

A análise dos resultados obtidos, nas condições deste trabalho, permitiu concluir:

1. Os agentes descalcificantes (Fórmula de Ostby, EDTA ULTRA, EDTA INODON, RC-PREP, ENDO-PREPSEM), utilizados na rotina endodôntica, possuem ação antimicrobiana equivalente à do PMCFC.

2. Para cada tipo de microrganismo testado, não existe diferença significativa quanto à ação do agente empregado.

3. As diferenças existentes na ação do PMCFC e de quaisquer dos agentes experimentais não é significativa, considerando cada microrganismo isoladamente.

4. A atividade antimicrobiana dos agentes testados é "tempo-dependente".

REFERÊNCIAS

BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. AUERBACH, M. B. Antibiotics and instrumentation in endodontics. N. Y. Dent. J., 19:225, may , 1953.
02. BLAZEVIC, Donna J. & EDERER, Grace M. Principles of biochemical testes in diagnostic microbiology. Toronto, Ed. Awiley Biomedical Publication John Wiley & Sons. 1975.
03. COHEN, S. & BURNS, R. C. Endodencia; los caminos de la pulpa. Buenos Aires, Inter Médica, 1979. 684p. il.
04. FRASER, J. G. Chelating agents: their softening effect on root canal dentin. Oral Surg., 37(5):803-11, May, 1974.
05. GALLEGOS, C. G. et alii. Estudo comparativo da ação de medicamentos à base de P-monoclorofenol utilizados topicamente no tratamento de canal radicular de dentes despolpados e infectados. Estudo bactericida e bacteriostático. Rev. Bras. Odont., (5):9-16, Set./,Out., 1978.
06. GOLDBERG, F. & ABRAMOVICH, A. Analysis of the effect of EDTAC on the dentinal walls of the root canal. J. End. , 3(3):101-5, March, 1977.
07. GROSSMAN, Louis & MEIMAN, Benjamin. Solution of pulp tissue by chemical agents. J.A.D.A., 28(2):223-25, fev.,1941.
08. GROSSMAN, Louis I. Irrigation of root canals. J.A.D.A. , 30(23):1915-17, dec., 1943.
09. _____ . Endodontia prática. 8ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1976. 424p. il.
10. HARRISON, John W. & MADONIA, John V. Antimicrobial effectiveness of parachlorophenol. Oral Surg., 30(2):267-75, Aug., 1970..

11. HIZATUGU, R. & VALDRIGHI, L. Endodontia; considerações biológicas e aplicação clínica. São Paulo, Ed. Aloisi , 1974. 317p. il.
12. HOLLAND, R. et alii. Efeitos de diferentes preparados à base de EDTA na dentina dos canais radiculares. Rev. Fac. Odont. Araçatuba, 2:127-32, 1973.
13. INGLE & ZELDOW. An evaluation of mechanical instrumentation and negative culture in endodontic therapy. J.A.D.A., 57(4):471-76, out., 1958.
14. MAISTO, O.A. Endodoncia. 3ed. Buenos Aires, Ed. Mundi , 1978. 407p. il.
15. McCOMB, Doroth & SMITH, Dannis. A preliminary scanning electron microscopic study of root canals after endodontic procedures. J. End., 1(7):238-42, july, 1975.
16. MÖLLER, Ake J. R. Microbiological examination of root canals and periapical tissues of human teeth. Göteborg, Ed. Elanders Boktryckeri Aktiebolag, 1966. 380p. il.
17. NAIDORF, Irving J. Clinical microbiology in endodontics . Dent. Clin. North Am., 18(2):329-44, Apr., 1974.
18. NAUMOVICH, D. B. Surface tension and pH of drugs in root canal therapy. Oral Surg., 16(8):965-68, Aug., 1963.
19. NERY, M. J. et alii. Reação do coto pulpar e tecidos periapicais de dentes de cães a algumas substâncias empregadas no preparo biomecânico dos canais radiculares. Rev. Fac. Odont. Araçatuba, 3(2):245-54, 1974.
20. NOLTE, William A. Microbiologia odontológica. México, Interamericana, 1971. 342p. il.

21. OLIVEIRA, Cesar Martins de. Isolamento e caracterização de streptococcus de placa dental. Tese. Rio de Janeiro, 1974.
22. OSTBY, Nygaard B. Chelation in root canal therapy; Ethylene diamine tetra-acetic acid for cleansing and widening of root canals. Odontol. Tidskr., 65:3-11, 1957.
23. PAIVA, J. G. & ALVARES, S. Endodontia. 2ed. São Paulo, Atheneu, 1979. 335p. il.
24. PATTERSON, S.E. In vivo and in vitro studies of the effect of the disodium salt of ethylenediamine tetracetate on human dentine and its endodontic implications. Oral Surg., 16:83, jan., 1963.
25. PUCCI, F. M. & REIG, R. Conductos radiculares. v.II. Buenos Aires, Ed. Médico Cirúrgico, 1945. 196p. il.
26. SEIDBERG, B. H. et alli. An avaluation of EDTA in endodontics. Oral Surg., 37(4):609-20, Apr., 1974.
27. SOUZA, V. de et alii. Emprego de medicamentos no interior dos canais radiculares. Ação tōpica e ã distância de algumas drogas. ARS Cyrandi Odont., 5(6):4-15, Set., 1978.
28. STEWART, George. The importance of chemomechanical preparation of infected root canal. Oral Surg., 8:993, Aug., 1955.
29. TORNECK, Calvin D. Reaction of hamster tissue to drugs used in sterilization of the root canal. Oral Surg., 14(6):730-47, June, 1961.
30. WEINREB, Max M. & MEIER, E. The relative efficiency of EDTA, sulfuric acid, and mechanical instrumentation in the enlargement of root canals. Oral Surg., 19(2):247-52, Feb., 1965.

31. WHITE, Edward. Aspectos microbiológicos de endodontia. p. 518-31. In: INGLE, J. I. & BEVERIDGE, E. E. Endodontia. 2ed. Rio de Janeiro, Interamericana, 1979. 745p. il.
32. KAUFMAN, A. Y. et alii. New chemotherapeutic agent for root canal treatment. Oral Surg., 46(2):283-95, Aug., 1978.
33. KNOX, K. W. & WICKEN, A. J. Immunological properties of teichoic acids. Bacteriol. Rev., 37:215-57, 1973.
34. KOTULA, R. et alii. The effect ethylenediamine-tetraacetic acid on the oral microflora. Dentsch Stomat., 19:575-81, Aug., 1969.
35. KUTTLER, Y. Endodoncia práctica. 1ed. México, Ed. Alpha, 1961. 303p. il.

ANEXO

NOTAÇÕES EMPREGADAS

χ^2 - Qui-quadrado

χ_C^2 - Qui-quadrado Calculado

χ_T^2 - Qui-quadrado Tabulado

G.L. Graus de liberdade da Amostra

o - Frequência Observada na Amostra

ϵ - Frequência Teórica

DETERMINAÇÕES GRUPO A

TABELA 2.1.a - Amostra de Streptococcus salivarius X Agentes

VALORES	FÓRMULA DE OSTBY	EDTA ULTRA	EDTA INODON	RC-PREP	ENDO PREPSEM
o	2,75	2,38	2,31	2,19	2,25
ε	2,38	2,38	2,38	2,38	2,38

$$\chi^2 = \frac{\sum \{(o - \epsilon)^2 - 0,5\}^2}{\epsilon}$$

$$\chi^2 = \frac{0,13^2}{2,38} + \frac{0,43^2}{2,38} + \frac{0,37^2}{2,38} + \frac{0,50^2}{2,38} + \frac{0,31^2}{2,38}$$

$$\chi^2 = 0,29$$

Graus de Liberdade GL = 4

$$\chi_T^2 = 9,488$$

$$\chi_C^2 = 0,29$$

$$\chi_T^2 > \chi_C^2$$

Ho É ACEITA

Isto é, não há diferença significativa entre as frequências observadas e as esperadas.

TABELA 2.1.b - Amostra de Staphylococcus aureus X Agentes.

VALORES	FÓRMULA DE OSTBY	EDTA ULTRA	EDTA INODON	RC-PREP	ENDO PREPSEM
o	4,50	5,00	5,00	4,00	4,00
ε	4,50	4,50	4,50	4,50	4,50

$$GL = 4 \quad \chi^2_C = 0,06$$

$$\chi^2_T = 9,488$$

$$\chi^2_T > \chi^2_C$$

Ho É ACEITA

TABELA 2.1.c - Amostra de Candida sp X Agentes.

VALORES	FÓRMULA DE OSTBY	EDTA ULTRA	EDTA INODON	RC-PREP	ENDO PREPSEM
o	2,50	2,25	1,50	2,50	2,50
ε	2,25	2,25	2,25	2,25	2,25

$$GL = 4 \quad \chi^2_C = 0,22$$

$$\chi^2_T = 9,488$$

$$\chi^2_T > \chi^2_C$$

Ho É ACEITA

TABELA 2.1.d - Amostra de Lactobacillus sp X Agentes.

VALORES	FÓRMULA DE OSTBY	EDTA ULTRA	EDTA INODON	RC-PREP	ENDO PREPSEM
o	3,00	2,37	2,50	2,75	2,37
ε	2,60	2,60	2,60	2,60	2,60

$$GL = 4 \quad \chi^2_C = 0,176$$

$$\chi^2_T = 9,488$$

$$\chi^2_T > \chi^2_C$$

Ho É ACEITA

TABELA 2.1.e - Amostra de Neisseria sp X Agentes

VALORES	FÓRMULA DE OSTBY	EDTA ULTRA	EDTA INODON	RC-PREP	ENDO PREPSEM
o	3,25	3,00	2,00	2,50	1,50
ε	2,45	2,45	2,45	2,45	2,45

$$GL = 4 \quad \chi^2_C = 0,08$$

$$\chi^2_T = 9,488$$

$$\chi^2_T > \chi^2_C$$

Ho É ACEITA

TABELA 2.2.a - Streptococcus salivarius (PMCFC X F6ormula de Ostby)

VALORES	PMCFC	F6ORMULA DE OSTBY
o	2,20	2,75
ε	2,48	2,48

$$GL = 1 \quad \chi_C^2 = 0,06$$

$$\chi_T^2 = 3,841$$

$$\chi_T^2 > \chi_C^2$$

Ho É ACEITA

TABELA 2.2.b - Staphylococcus aureus (PMCFC X F6ormula de Ostby)

VALORES	PMCFC	F6ORMULA DE OSTBY
o	9,21	4,50
ε	6,86	6,86

$$GL = 1 \quad \chi_C^2 = 1,62$$

$$\chi_T^2 = 3,841$$

Ho É ACEITA

TABELA 2.2.c - Candida sp (PMCFC X F6ormula de Ostby)

VALORES	PMCFC	F6ORMULA DE OSTBY
o	2,50	2,50
ε	2,50	2,50

$$GL = 1$$

$$\chi^2_C = 0$$

$$\chi^2_T = 3,841$$

Ho 6 ACEITA

TABELA 2.2.d - Lactobacillus sp (PMCFC X F6ormula de Ostby)

VALORES	PMCFC	F6ORMULA DE OSTBY
o	3,00	3,00
ε	3,00	3,00

$$GL = 1$$

$$\chi^2_C = 0$$

$$\chi^2_T = 3,841$$

Ho 6 ACEITA

TABELA 2.2.e - Neisseria sp (PMCFC X Fôrmla de Ostby)

VALORES	PMCFC	FÔRMULA DE OSTBY
o	2,50	3,25
ε	2,88	2,88

$$GL = 1 \quad \chi^2_C = 0,10$$

$$\chi^2_T = 3,841$$

Ho É ACEITA

TABELA 2.2.f - Streptococcus salivarius (PMCFC X Fôrmla de Ostby)

VALORES	PMCFC	FÔRMULA DE OSTBY
o	2,20	2,31
ε	2,26	2,26

$$GL = 1 \quad \chi^2_C = 0,003$$

$$\chi^2_T = 3,841$$

Ho É ACEITA

OBSERVAÇÃO: Os resultados calculados até o momento permi

tem induzir que nos diversos outros casos de comparação, os resultados a serem obtidos irão confirmar a hipótese nula, indicando não haver diferenças significativas entre a ação do PMCF e de cada agente, para cada um dos demais microrganismos, o que poderá ser confirmado pelos testes globais aplicados a seguir.

TABELA 2.3.a - Microrganismos X Ação do Padrão e dos Agentes Experimentais.

AMOSTRA	FÓRMULA DE OSTBY	EDTA ULTRA	EDTA INODON	RC-PREP	ENDO PREPSEM	PMCF	TOTAIS
1	2,75(2,56)	2,38(2,40)	2,31(2,13)	2,19(2,22)	2,25(1,98)	2,20(3,10)	14,3(0,16)
2	4,50(5,60)	5,00(5,25)	5,00(4,66)	4,00(4,87)	4,00(4,34)	9,21(6,79)	31,7(0,35)
3	2,50(2,40)	2,25(2,25)	1,50(2,00)	2,50(2,09)	2,50(1,86)	2,50(2,91)	13,8(0,15)
4	3,00(2,56)	2,37(2,40)	2,50(2,13)	2,75(2,22)	2,37(1,98)	3,00(3,10)	14,4(0,16)
5	3,25(2,88)	3,00(2,70)	2,00(2,39)	2,50(2,50)	1,50(2,23)	2,50(3,50)	15,8(0,18)
TOTAIS	16,0	15,0	13,3	13,9	12,4	19,4	90 (1,00)

O Qui-quadrado calculado para tabelas de dupla entrada nos dá:

$$\chi^2_C = 3,135$$

$$GL = (C - 1) (L - 1) = 20$$

$$\chi^2_T = 31,41$$

$$\chi^2_T > \chi^2_C$$

Ho É ACEITA

Logo as diferenças não são significativas

Obs: 1 - Streptococcus salivarius

2 - Staphylococcus aureus

3 - Candida sp

4 - Lactobacillus sp

5 - Neisseria sp

DETERMINAÇÕES DO GRUPO B

TABELA 8.1.a - Streptococcus salivarius

VARIAÇÃO C/ TEMPO	FÓRMULA DE OSTBY	EDTA ULTRA	EDTA INODON	RC-PREP	ENDO PREPSEM	TOTAIS
INIBIU	0 (1,6)	0 (1,6)	4 (1,6)	2 (1,6)	2(1,6)	8 (0,4)
NÃO INIBIU	4 (2,4)	4 (2,4)	0 (2,4)	2 (2,4)	2(2,4)	12(0,6)
TOTAIS	4	4	4	4	4	20(1,0)

$$\chi^2_C = 10,48$$

$$GL = (C - 1) (L - 1) = 4$$

$$\chi^2_T = 9,488$$

$$\chi^2_C > \chi^2_T$$

Ho É REJEITADA

Logo as diferenças são significativas no nível adotado.

TABELA 8.1.b - Staphylococcus aureus

VARIAÇÃO C/ TEMPO	FÓRMULA DE OSTBY	EDTA ULTRA	EDTA INODON	RC-PREP	ENDO PREPSEM	TOTAIS
INIBIU	0 (1,2)	2 (1,2)	4 (1,2)	0 (1,2)	0(1,2)	6 (0,3)
NÃO INIBIU	4 (2,8)	2 (2,8)	0 (2,8)	4 (2,8)	4(2,8)	14 (0,9)
TOTAIS	4	4	4	4	4	20 (1,0)

$$GL = 4 \quad \chi^2_C = 15,22$$

$$\chi^2_T = 9,488$$

Ho. É REJEITADA

Os resultados são significativos.

TABELA 8.1.c - Candida sp

VARIAÇÃO C/ TEMPO	FÓRMULA DE OSTBY	EDTA ULTRA	EDTA INODON	RC-PREP	ENDO PREPSEM	TOTAIS
INIBIU	4 (3,2)	0 (3,2)	4 (3,2)	4 (3,2)	4 (3,2)	16 (0,8)
NÃO INIBIU	0 (0,8)	4 (0,8)	0 (0,8)	0 (0,8)	0 (0,8)	4 (0,2)
TOTAIS	4	4	4	4	4	20 (1,0)

$$GL = 4$$

$$\chi^2_C = 20,0$$

$$\chi^2_T = 9,488$$

Ho É REJEITADA

As diferenças são significativas.

TABELA 8.1.d - Lactobacillus sp

VARIAÇÃO C/ TEMPO	FÓRMULA DE OSTBY	EDTA ULTRA	EDTA INODON	RC-PREP	ENDO PREPSEM	TOTAIS
INIBIU	0,24	2 (2,4)	4 (2,4)	2 (2,4)	4 (2,4)	12 (0,6)
NÃO INIBIU	4 (1,6)	2 (1,6)	0 (1,6)	2 (1,6)	0 (1,6)	8 (0,4)
TOTAIS	4	4	4	4	4	20 (1,0)

$$GL = 4$$

$$\chi^2_C = 10,58$$

$$\chi^2_T = 9,488$$

As diferenças são significativas no nível adotado.

Ho É REJEITADA

TABELA 8.1.e - Neisseria sp.

VARIAÇÃO C/ TEMPO	FÓRMULA DE OSTBY	EDTA ULTRA	EDTA INODON	RC-PREP	ENDO PREPSEM	TOTAIS
INIBIU	0 (3)	3 (3)	4 (3)	4 (3)	4 (3)	15(0,75)
NÃO INIBIU	4 (1)	1 (1)	0 (1)	0 (1)	0 (1)	5(0,25)
TOTAIS	4	4	4	4	4	20(1,0)

$$GL = 4 \quad \chi^2_{C} = 15,90$$

$$\chi^2_{T} = 9,488$$

Ho É REJEITADA

As diferenças são significativas.

TABELA 8.1.f - Agente X Tempo de inibição.

AGENTE TEMPO (min.)	FÓRMULA DE OSTBY	EDTA ULTRA	EDTA INODON	RC-PREP	ENDO PREPSEM	TOTAIS
10	1 (0,72)	0 (1,26)	5 (3,6)	1 (1,98)	3 (2,52)	10 (0,18)
15	1 (0,88)	1 (1,54)	5 (4,4)	2 (2,42)	3 (3,08)	12 (0,22)
20	1 (1,20)	3 (2,10)	5 (6,0)	4 (3,30)	4 (4,30)	17 (0,30)
30	1 (1,20)	3 (2,10)	5 (6,0)	4 (3,30)	4 (4,30)	17 (0,30)
TOTAIS	4	7	20	11	14	56

O Qui-Quadrado calculado nos dá:

$$\chi_C^2 = 4,23$$

$$GL = (C - 1) (L - 1) = 12$$

$$\chi_T^2 = 21,026$$

$$\chi_T^2 > \chi_C^2$$

Ho É ACEITA

As diferenças não são significativas no nível adotado.

CONCLUSÕES DA ANÁLISE ESTATÍSTICA

1. Conforme as conclusões chegadas pelos cálculos contidos de 2.1.a até 2.1.e inclusive, verifica-se não haver diferença significativa entre o microrganismo a ser atacado e o agente empregado; as diferenças apresentadas nas amostras não podem ser extendidas à população. Isto representa que os cinco microrganismos (Streptococcus salivarius, Staphylococcus aureus, Lactobacillus sp., Neisseria sp., Candida sp.) atacados pelos agentes (Fórmula de Ostby, EDTA ULTRA, EDTA INODON, RC-PREP, ENDO-PREPSEM e PMCFC), comportam-se de maneira semelhante considerando grandes grupos (Universo), nada indicando resultados diferenciados.
2. De 2.2.a a 2.2.f incluindo a "observação", verifica-se também não haver diferença na ação do PMCFC (padrão) e qualquer dos demais agentes empregados (Fórmula de Ostby, EDTA ULTRA, EDTA INODON, RC-PREP, ENDO-PREPSEM e PMCFC). As diferenças apresentadas nos resultados, não podem ser extendidas à população.
3. A confirmação do item acima encontra-se na tabela 2.3.a que é global.
4. Em todos os casos examinados e constantes da tabela 8, verifica-se haver diferença significativa entre o agente empregado (Fórmula de Ostby, EDTA ULTRA, EDTA INODON, RC-PREP, ENDO-PREPSEM) e o tempo de inibição (10, 15, 20 e 30 minutos); o que representa que os dados amostrais refletem provavelmente a realidade nas condições da experiência para todos os casos populacionais.
5. A tabela 8.1.f deste grupo, leva pela sua análise à demonstração de que não há diferença significativa entre a variação do tempo (10, 15, 20 e 30 minutos) com o tipo de agente empregado (Fórmula de Ostby, EDTA ULTRA, EDTA INODON, RC-PREP e ENDO-PREPSEM); isto é, existe independência entre essas variáveis: agente e tempo de inibição.