



Universidade Norte do Paraná

CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
MESTRADO EM ODONTOLOGIA

ADRIANA CRISTINA TOZZO

**AVALIAÇÃO DA EFETIVIDADE ANTIMICROBIANA
DE CIMENTOS DE IONÔMERO DE VIDRO
ACRESCIDOS DE PRÓPOLIS**

LONDRINA
2006

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

ADRIANA CRISTINA TOZZO

**AVALIAÇÃO DA EFETIVIDADE ANTIMICROBIANA
DE CIMENTOS DE IONÔMERO DE VIDRO
ACRESCIDOS DE PRÓPOLIS**

Dissertação apresentada à Universidade
Norte do Paraná como parte integrante dos
requisitos para obtenção do título de Mestre
em Odontologia.

Orientadora:

Prof.^a. Dr.^a. Flaviana B. de Andrade Ferreira

Co-orientadora:

Prof.^a. Dr.^a. Linda Wang

LONDRINA
2006

**AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTA TRABALHO,
POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS
DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.**

Dados Internacionais de catalogação-na-publicação
Universidade Norte do Paraná
Biblioteca Central
Setor de Tratamento da Informação

T679a Tozzo, Adriana Cristina
Avaliação da efetividade antimicrobiana de cimento de ionômero de vidro
acrescido de própolis / Adriana Cristina
Tozzo. Londrina : [s.n], 2006.
vii; 71p.

Dissertação (Mestrado). Odontologia. Dentística Preventiva Universidade
Norte do Paraná.
Orientadora: Profª Drª Flaviana Bombarda Ferreira

1- Odontologia - dissertação de mestrado – UNOPAR 2- Dentística
preventiva 3- Cimento de ionômero de vidro 4- Própolis
5- *Streptococcus mutans* I- Ferreira, Flaviana Bombarda de Andrade, orient.
II- Universidade Norte do Paraná.

ADRIANA CRISTINA TOZZO

Filiação	Esdras Tozzo Izildinha Aparecida Antonio Tozzo
Naturalidade	Maringá-PR
Nascimento	29 de Setembro de 1978
2000-2004	Graduação – CESUMAR (Centro de Ensino Superior de Maringá)
2004	Atualização em Odontologia Adesiva Estética – UEM – Maringá - PR
2004-2006	Curso de Pós-Graduação na área de Dentística, nível Mestrado, na Universidade Norte do Paraná – UNOPAR

DEDICO

Primeiramente a **DEUS**, presente nas horas difíceis.

A minha filha Monique

Pelo presente que é tê-la em minha vida, cujo amor infinito me encoraja e enche sempre de esperanças, pelo seu amor incondicional, pelo seu sorriso e o privilégio de ter sido escolhida como sua mãe.

Ao meu **Pai, Esdras Tozzo**, por ter-me dado estímulo e mostrado o valor das coisas, e quantos frutos eu sempre colherei desta profissão tão maravilhosa e principalmente por ter aberto as "portas" para que eu pudesse trabalhar.

Pelo Amor, dedicação, incentivo, otimismo, perseverança, espírito de competitividade, garra, determinação sempre ensinados e principalmente pela confiança inesgotável que sempre depositou em mim.

A aquela que tanto me apoiou nos estudos, na profissão, na vida e que com certeza está ajudando, com suas orações, para que eu vença - minha **Mãe, Izildinha Tozzo**, Obrigada pelo amor sempre dedicado, bondade e valores.

A minha Orientadora **Professora Dr. Flaviana Bombarda de Andrade Ferreira**, constante incentivadora, fonte perene de inspiração. Por toda dedicação nesta caminhada, pela paciência, compreensão, perseverança, determinação, competência, conhecimento incalculável e todo amor dedicado.

À minha mais que amiga **Daniela Dellatorre** que com sua imensa paciência me incentivou sempre a ir mais além, e com seu coração maravilhoso e amizade sincera me fez ver coisas que antes não via, meu eterno muito obrigada!

Aos meus irmãos **Daniela e Eder**, e aos meus cunhados **Fábio e Giovana** pelo companheirismo e confiança nesta caminhada.

A os meus sobrinhos que eu amo de paixão: **Melissa, Luana e Raul**, que com os seus sorrisos alegam a minha vida!

A minha **Tia Vera** e minhas primas **Maria Tereza e Débora** pelo apoio, auxílio nas horas difíceis, dedicação e imenso amor fraternal.

AGRADECIMENTOS

Ao **Corpo Docente do Mestrado**, pela valiosa caminhada juntos e grande amizade, incentivo e dedicação em todos os momentos necessários, sem o que não seria possível realizar este trabalho.

À Prof^a Dr^a **Linda Wang**, pela competente co-orientação deste trabalho e pelo dinamismo, companheirismo e competência, Minha eterna Admiração...

À Prof^a Dr^a **Maria Cristina Marcucci** pelo apoio e por assentir em participar da Comissão Julgadora.

À Prof^a Dr^a **Karen Parron Fernandes** por sua disponibilidade e imensa ajuda.

À Prof^a **Amélia Terrile**, pela valiosa colaboração.

Aos colegas da turma de Mestrado, por tudo que conquistamos juntos e pelo apoio que cada um sempre dedicou.

Às funcionárias do laboratório, **Dione, Elaine, Vera e Donato** pelo esforço dedicado, compreensão e auxílio.

À Prof^a Dr^a **Eliane A. C. Mella** pelo incentivo e amizade.

À Prof^a **Maria Aparecida Sambatti Pieralisi** por sua dedicação para que eu chegasse até aqui, visto que sem sua interferência seria quase impossível.

À **Universidade Norte do Paraná**, UNOPAR, representada pelo Chanceler, Sr. **Marco Antonio Laffranchi**, e pela Reitora, Prof^a **Elisabeth Bueno Laffranchi**;

À **Pró-Reitora de Pesquisa e Pós-Graduação**, representada pelo Prof. Dr. **Aloísio José Antunes**;

Ao **Centro de Ciências Biológicas Saúde**, representada pelo Prof. **Ruy Moreira da Costa Filho**;

À **Coordenadoria do Curso de Odontologia**, representada pelos Profs. Drs. **Luiz Reynaldo de Figueiredo Walter** e **Fernão Hélio Campos Leite Júnior**;

À **Coordenadoria de Pesquisa**, representada pelo Prof. **Hélio Hiroshi Suguimoto**;

À **todos os funcionários da UNOPAR**.

Muito Obrigada

**“Venham até a borda, ele disse. Eles disseram: Nós temos medo.
Venham até a borda, ele insistiu”. Eles foram. Ele os
empurrou... E eles voaram.”**

(Gilherme Apollinaire)

TOZZO, A.C. Avaliação da efetividade antimicrobiana de cimentos de ionômero de vidro acrescidos de própolis. 2006. 71p. Dissertação (Mestrado em Odontologia) Universidade Norte do Paraná, Londrina.

RESUMO

Neste trabalho foi testada a ação antimicrobiana dos cimentos de ionômero de vidro puro ou acrescido de outras substâncias. O objetivo principal foi realizar testes *in vitro* para obter resultados quanto à efetividade antimicrobiana de três marcas comerciais de cimentos de ionômero de vidro acrescidos de própolis frente a microrganismos envolvidos com a doença cárie, *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus casei*. Os cimentos testados foram: Ketac Molar, Fuji IX e Vitremer, acrescidos ou não de extrato etanólico de própolis (EEP) ou amoxicilina (antibiótico). Foram realizadas a macrodiluição em caldo e a difusão em ágar, como testes de suscetibilidade. No método de difusão em ágar, os resultados obtidos pela leitura em milímetros dos halos de inibição, foram avaliados estatisticamente através do teste ANOVA. Na macrodiluição em caldo, a leitura dos tubos foi obtida em espectrofotômetro detectando crescimento ou não crescimento microbiano, obtendo-se a concentração inibitória mínima (CIM). O crescimento subsequente em placas de ágar forneceu a concentração bactericida mínima (CBM) dos cimentos com os antimicrobianos. Observou-se que a difusão em ágar foi mais adequada para o teste com os cimentos. O cimento Vitremer demonstrou maior efeito antimicrobiano e a amoxicilina foi bem mais efetiva que a própolis inseridas nos cimentos. O microrganismo *L. casei* foi mais resistente do que o *S. mutans*.

Palavras-chave: cimento de ionômero de vidro, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus casei*, própolis, antimicrobiano.

TOZZO, A.C. Evaluation of antimicrobial effect of glass ionomer cements with propolis. 2006. 71p. Dissertação (Mestrado em Odontologia) Universidade Norte do Paraná, Londrina.

ABSTRACT

The antimicrobial effect of glass ionomer cement (GIC) was tested with addition of other substances in the samples. The aim of this study was to test three GIC associated with either propolis or amoxicilin against caries pathogens microorganisms, *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus casei*. The GIC brands tested were: Ketac Molar, Fuji IX and Vitremer, with or without 50% ethanolic extract of propolis (EEP) or 25% amoxicilin (antibiotic). Agar diffusion and broth dilution susceptible tests were performed. Under first test, results of inhibition zone readings in milimeters were statistically analyzed by ANOVA. The measure of the microbial growth in the broth dilution tubes was obtained using a spectrophotometer, obtaining minimal inhibitory concentration (MIC), and following growth on agar plates showed minimal bactericidal concentration (MBC) of the cements and the associations. It was observed that agar diffusion test was more effective to test the cements; Vitremer showed greater antimicrobial potential; amoxicilin was more effective than propolis when associated with the cements. *L. casei* was more resistant than *S. mutans*.

Key-words: glass ionomer cement; *mutans* streptococci; *Lactobacillus casei*, propolis, antimicrobial

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 - Matriz metálica para confecção das amostras de CIV, desinfetada previamente.....31
- FIGURA 2 - Caixa plástica esterilizada para armazenamento das amostras dos CIV até a colocação no meio de cultura.....31
- FIGURA 3 - Tubos de diluição com amostras de CIV (base do tubo) com diferentes concentrações do antimicrobiano e inóculo.....32
- FIGURA 4 - Jarra de anaerobiose com vela acesa para remoção do oxigênio e liberação de CO₂, necessário ao cultivo de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus casei*.....33
- FIGURA 5 - Colocação do CIV sobre a camada com o inóculo na metodologia da difusão em ágar.....36
- FIGURA 6 - Tubos indicando ausência ou presença de crescimento microbiano através da turvação do meio de cultura sobre o microrganismo *Streptococcus mutans*.....39
- FIGURA 7 - Placas de ágar BHI demonstrando a CBM obtida para o CIV acrescido de amoxicilina frente a bactéria *Streptococcus mutans*.....40
- FIGURA 8 - Halos inibitórios do crescimento bacteriano de *Streptococcus mutans* produzido pelos CIV acrescidos de extrato de própolis.....43
- FIGURA 9 - Halos inibitórios do crescimento bacteriano de *Streptococcus mutans* produzido pelos CIV acrescidos de amoxicilina.....43

FIGURA 10 - Halos inibitórios (média) dos cimentos de ionômero de vidro (CIV) acrescidos de própolis sobre <i>Streptococcus mutans</i>	44
FIGURA 11 - Halos inibitórios (média) dos cimentos de ionômero de vidro (CIV) acrescidos de amoxicilina sobre <i>Streptococcus mutans</i>	44
FIGURA 12 - Halos inibitórios (média) dos cimentos de ionômero de vidro (CIV) acrescidos de própolis ou amoxicilina sobre <i>Streptococcus mutans</i>	45
FIGURA 13 - Halos inibitórios do crescimento bacteriano de <i>Lactobacillus casei</i> produzido pelos CIV acrescidos ou não de extrato de própolis.....	48
FIGURA 14 - Halos inibitórios do crescimento bacteriano de <i>Lactobacillus casei</i> produzido pelos CIV acrescidos de amoxicilina.....	48
FIGURA 15 - Halos inibitórios (média) dos cimentos de ionômero de vidro (CIV) acrescidos de própolis sobre <i>Lactobacillus casei</i>	49
FIGURA 16 - Halos inibitórios (média) dos cimentos de ionômero de vidro (CIV) acrescidos de amoxicilina sobre <i>Lactobacillus casei</i>	49
FIGURA 17 - Halos inibitórios (média) dos cimentos de ionômero de vidro (CIV) acrescidos de própolis ou amoxicilina sobre <i>Lactobacillus casei</i>	50
FIGURA 18 - Halos inibitórios (média) dos cimentos de ionômero de vidro (CIV) acrescidos de própolis sobre os microrganismos testados: <i>Streptococcus mutans</i> (<i>S. mutans</i>) e <i>Lactobacillus casei</i> (<i>L. casei</i>).....	51
FIGURA 19 - Halos inibitórios (média) dos cimentos de ionômero de vidro (CIV) acrescidos de amoxicilina sobre os microrganismos testados: <i>Streptococcus mutans</i> (<i>S. mutans</i>) e <i>Lactobacillus casei</i> (<i>L. casei</i>).....	52

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Composição dos cimentos de ionômero de vidro testados.....	27
TABELA 2 - Proporções do cimentos de ionômero de vidro de acordo com a recomendação do fabricante	30
TABELA 3 - Concentrações inibitórias mínimas (CIM) em percentual de própolis inserida nos cimentos de ionômero de vidro (CIV) sobre <i>Streptococcus mutans</i> e <i>Lactobacillus casei</i>	37
TABELA 4 - Concentrações inibitórias mínimas (CIM) em percentual de amoxicilina inserida nos cimentos de ionômero de vidro (CIV) sobre <i>Streptococcus mutans</i> e <i>Lactobacillus casei</i>	37
TABELA 5 - Concentrações bactericidas mínimas (CBM) em percentual de própolis inserida nos cimentos de ionômero de vidro (CIV) sobre <i>Streptococcus mutans</i> e <i>Lactobacillus casei</i>	38
TABELA 6 - Concentrações bactericidas mínimas (CBM) em percentual de amoxicilina inserida nos cimentos de ionômero de vidro (CIV) sobre <i>Streptococcus mutans</i> e <i>Lactobacillus casei</i>	38

TABELA 7 - Média dos halos inibitórios em milímetros obtidos com os CIV acrescidos ou não de diferentes concentrações de própolis ou amoxicilina sobre o microrganismo *Streptococcus mutans*.....41

TABELA 8 - Média dos halos inibitórios em milímetros obtidos com os CIV acrescidos ou não de diferentes concentrações de própolis ou amoxicilina sobre o microrganismo *Lactobacillus casei*.....46

TABELA 9 - Valores de absorbância dos tubos de diluição após incubação, concentração inibitória mínima e concentração bactericida mínima dos cimentos de ionômero de vidro adicionados de própolis ou amoxicilina sobre o microrganismo *S. mutans*.....69

TABELA 10 - Valores de absorbância dos tubos de diluição após incubação, concentração inibitória mínima e concentração bactericida mínima dos cimentos de ionômero de vidro adicionados de própolis ou amoxicilina sobre o microrganismo *L. casei*.....70

Tabela 11 – Quantidade em mg/g de cada composto identificado por Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) da própolis bruta estudada.....71

LISTA DE ABREVIATURAS

μL - microlitros

ART – atraumatic restorative treatment (tratamento restaurador atraumático)

BHI - Brain Heart Infusion (Meio de cultura)

CBM - Concentração Bactericida Mínima

CIM - Concentração Inibitória mínima

CIV - Cimento de ionômero de vidro

CO_2 - dióxido de carbono

EEP - extrato etanólico de própolis

EPM – erro padrão da média

MH - Mueller Hinton (Meio de cultura)

mm - milímetro

p – índice de significância

UFC – unidade formadora de colônias

UFC/mL – unidade formadora de colônias por mililitro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	17
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	19
3 PROPOSIÇÃO.....	26
4 MATERIAL E MÉTODO.....	27
4.1 MATERIAL.....	27
4.1.1. Cimentos de ionômero de vidro.....	27
4.1.2. Extrato etanólico de própolis a 10%.....	28
4.1.3. Amoxicilina.....	28
4.1.4. Meios de cultura.....	28
4.1.5. Microrganismos.....	29
4.2. MÉTODOS.....	29
4.2.1. Obtenção dos corpos-de-prova.....	29
4.2.2. Macrodiluição em caldo.....	32
4.2.2.1. Diluição dos antimicrobianos.....	32
4.2.2.2. Obtenção do inóculo.....	33
4.2.2.3. Obtenção da concentração inibitória mínima(CIM).....	34
4.2.2.4. Obtenção da concentração bactericida mínima(CBM).....	34
4.2.3 DIFUSÃO EM ÁGAR.....	35
4.2.3.1. Obtenção do inóculo.....	35
4.2.3.2. Inserção dos antimicrobianos.....	35
4.2.3.3. Leitura dos halos de inibição.....	36
4.2.3.4. Análise estatística.....	36

5	RESULTADOS.....	37
5.1	MACRODILUIÇÃO EM CALDO.....	37
5.2	DIFUSÃO EM ÁGAR.....	41
5.2.1	- Efeito da adição de própolis ou amoxicilina nos cimentos de ionômero de vidro (CIV) sobre o microrganismo <i>Streptococcus mutans</i>	41
5.2.2	- Efeito da adição de própolis ou amoxicilina nos cimentos de ionômero de vidro (CIV) sobre o microrganismo <i>Lactobacillus casei</i>	46
5.2.3	- Comparação da suscetibilidade bacteriana aos cimentos de ionômero de vidro (CIV) adicionados de própolis ou amoxicilina.....	51
6	DISCUSSÃO.....	53
7	CONCLUSÕES.....	61
8	REFERÊNCIAS.....	62
9	APÊNDICE.....	67

1 - INTRODUÇÃO

Atualmente, o cimento de ionômero de vidro (CIV) tem sido um material muito utilizado na clínica odontológica principalmente nas áreas de Odontopediatria e Dentística devido às boas propriedades apresentadas como adesividade e liberação de flúor. Trata-se de um material restaurador com potencial de inibir a cárie secundária, devido principalmente à sua capacidade de liberar flúor e ao efeito desse elemento sobre o processo de remineralização do esmalte adjacente à restauração (COSTA *et al* 1996).

A preocupação com a ação antimicrobiana de materiais restauradores não é recente porquanto, se puderem interferir na formação de placa bacteriana, contribuirão indiretamente para a prevenção da microinfiltração e diretamente para a prevenção da cárie nas regiões adjacentes à restauração (GARIB *et al.*, 1993).

Bussadori *et al.* (2003) salientaram que os cimentos de ionômero de vidro têm um papel muito importante na clínica odontopediátrica, porque essencialmente, é o material mais indicado na fase de adequação do meio bucal, para ART, e selamento oclusal de molares permanentes e decíduos recém-erupcionados. Essas indicações primordiais devem-se basicamente a duas características inerentes ao material, que é a liberação de fluoretos e o seu poder bactericida e bacteriostático.

É o material de escolha em casos de ART (tratamento restaurador atraumático), onde a remoção da cárie é realizada com instrumentos manuais cortantes, sem utilização de micromotor. (FRENCKEN *et al.*, 1998, TOI; BÖNECKER; CLEATON-JONES, 2003). Desta forma, a permanência dos microrganismos na dentina após o preparo com a técnica de ART é mais freqüente do que com o preparo convencional.

Nos casos de ART as cavidades são restauradas com cimento de ionômero de vidro, onde a liberação constante de flúor gera remineralização e efeito antimicrobiano sobre os microrganismos que não foram removidos neste tipo de preparo. Visto que o ART se trata de uma técnica onde não se remove por completo o tecido cariado, e que o CIV já se apresenta capaz de inibir, ou diminuir o crescimento de bactérias, este trabalho teve como objetivo principal avaliar o efeito da inserção de antimicrobianos na massa do CIV na inibição bacteriana.

Dentre as excelentes propriedades biológicas da própolis, substância presente na colméia de abelhas, destacam-se: atividade antimicrobiana, antiviral, antifúngica, antiprotozoária, citotóxica (em culturas de células tumorais), regeneradora de tecidos, anestésica, hepatoprotetora e desintoxicante, imunomodulatória, imunogênica, preventiva de úlceras estomacais, anticárie e protetora contra irradiação, entre outras (MARCUCCI, 1995).

Devido à própolis possuir um efeito antimicrobiano comprovado, surgiu a idéia de acrescentá-la aos CIV (PINHEIRO *et al.*, 2003), para então potencializar sua ação.

Diante do exposto, este trabalho avaliou a ação antimicrobiana de duas marcas de cimentos de ionômero de vidro indicados para ART (Ketac Molar e Fuji IX) e mais uma marca muito utilizada de CIV foto ativado (Vitremer) como controle, sobre microrganismos de referência envolvidos com a cárie dental: *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) e *Lactobacillus casei* (*L. casei*). As metodologias selecionadas, difusão em ágar e macrodiluição em caldo, que são de referência para esse tipo de teste, testaram o desempenho destes cimentos e substâncias, comparando-se seus resultados e verificando o melhor efeito.

2 – REVISÃO DE LITERATURA

De acordo com Garib *et al.* (1993), a utilização do cimento de ionômero de vidro tem se tornado freqüente, principalmente em dentes decíduos e permanentes jovens, provavelmente porque este material possui uma ação potencialmente preventiva na medida em que libera flúor por um longo período de tempo e adere quimicamente ao esmalte e à dentina.

Em 1972, Wilson; Kent desenvolveram o cimento de ionômero de vidro com o objetivo de conseguir um material que associasse as qualidades benéficas de liberação de flúor do cimento de silicato com a biocompatibilidade e adesão do cimento de poliacrilato de zinco, conseguindo deste novo material propriedades como adesão às estruturas dentais e liberação de flúor, podendo ele ser utilizado como material restaurador, cimentante, como base e forramento e ainda como núcleo de preenchimento (SERRA; RODRIGUES, 1998, ANDRADE *et al.*, 1996). De acordo com Dijken *et al.* (1997), o flúor liberado do cimento de ionômero de vidro interfere no metabolismo das bactérias, consistindo em grande importância clínica para os materiais restauradores.

Alguns estudos clínicos associaram a menor ocorrência de cáries secundárias adjacentes às restaurações de cimento de ionômero de vidro e, não somente a este efeito, mas também à redução de níveis de *S. mutans* na placa das margens de tais restaurações, quando comparadas com as restaurações de amálgama e resina (WEERHEIJM *et al.*, 1999, KREULEN *et al.*, 1997). A liberação de flúor dos cimentos ionoméricos ocorre com maior intensidade nas primeiras 24 a 48 horas e permanece em menor concentração por longos períodos (WANG *et al.*, 2004).

De acordo com Lima *et al.* (1992) e Navarro; Palma (1994), as principais vantagens no uso dos cimentos ionoméricos são as suas propriedades de adesividade, liberação de flúor, coeficiente de expansão térmica e biocompatibilidade pulpar.

Souza Costa *et al.* (2003), avaliaram através do cultivo de células “in vitro” o efeito da citotoxicidade de cinco marcas comerciais de cimentos de ionômero de vidro (Vitrebond, Vitremer, Fuji II, Fuji IX e Ketac Molar), comparando com uma marca comercial de resina (Z-100). Constataram que os grupos de CIV apresentaram menor citotoxicidade, enquanto que a resina apresentou um efeito citotóxico aumentado. Os

CIV modificados por resina ficaram em uma condição intermediária quanto à compatibilidade biológica.

A preocupação com a ação antimicrobiana de materiais restauradores não é recente porquanto, se puderem interferir na formação de placa bacteriana, contribuirão indiretamente para a prevenção da microinfiltração e diretamente para a prevenção da cárie nas regiões adjacentes à restauração. A placa formada ao redor de restaurações de amálgama e resina composta possui um potencial cariogênico maior que a placa formada ao redor de restaurações de cimento de ionômero de vidro (GARIB *et al*, 1993).

O cimento de ionômero de vidro tem sido utilizado como um material restaurador com potencial de inibir a cárie secundária, devido principalmente à sua capacidade de liberar flúor e ao efeito desse sobre o processo de remineralização do esmalte adjacente às restaurações (COSTA *et al*, 1996).

Segundo Carvalho *et al.* (1990), a alta taxa de liberação nas primeiras 24 horas se deve à presa lenta do ionômero, que desloca elementos ionicamente ativos (incluindo o flúor) nas primeiras etapas da geleificação; também Wang *et al.* (2004) constataram que o cimento de ionômero de vidro liberou flúor sob o mesmo padrão, apresentando maior liberação inicial e decrescendo ao longo do tempo.

De acordo com Rodrigues *et al.* (1994), o flúor liberado pelo cimento de ionômero de vidro poderia agir não só na resistência da estrutura dental, mas também controlando o crescimento de *S. mutans*, e até diminuindo o acúmulo de placa. A presença de flúor nos cimentos de ionômero de vidro empregados como selante poderia trazer benefícios, mesmo considerando-se que sua retenção é temporária, por exemplo, durante a fase de erupção de primeiros molares permanentes em pacientes com alta atividade de cárie (MANTON; MESSER, 1995).

Os cimentos ionoméricos representam importante opção de material restaurador em Odontologia e sua adesão à estrutura dental, diminuindo a infiltração marginal, somada à liberação de flúor, inibindo o metabolismo de microrganismos acidogênicos e favorecendo a remineralização dental, podendo diminuir a ocorrência de cárie secundária (PEDRINI *et al.*, 2001).

O cimento de ionômero de vidro tem sido utilizado para o tratamento restaurador atraumático (ART) que se trata de um método de remoção da cárie dental

com mínima invasão, sem utilização de motor, apenas com instrumentais cortantes manuais. É uma técnica utilizada principalmente em regiões onde há baixa infraestrutura econômica. (FRENCKEN *et al.*, 1998, TOI; BÖNECKER; CLEATON-JONES, 2003).

De acordo com Cordeiro *et al.* (2001), a escolha do cimento ionomérico para técnica do ART, eleito para esse fim, deve-se às propriedades mecânicas melhoradas, técnica simplificada e menor sensibilidade à contaminação pela saliva. Fundamentada nas necessidades mais urgentes do tratamento odontológico, as pesquisas com ART continuam, com o propósito de preservar o órgão dentário, evitando as extrações dentais.

Weerheijm *et al.* (1999) e Kreulen *et al.* (1997) desenvolveram trabalhos cultivando os microrganismos presentes em cavidades cariosas *in vivo*, antes e depois de restaurações com CIV, com remoção apenas do tecido amolecido. Inicialmente, compararam cavidades preenchidas com CIV ou uma resina. Encontraram na segunda coleta, após 7 meses, 90% de microrganismos viáveis sob as restaurações. Em 1997 publicaram trabalho da comparação de CIV com amálgama, utilizando a mesma metodologia, coletando microrganismos das cavidades cariosas antes da restauração e após 6 meses desta. A dentina para ambos os grupos tornou-se escurecida e mais dura. Houve uma redução significativamente maior nos dentes selados com CIV dos números de *S. mutans* e *Lactobacilus* sp. Posteriormente, foi estendido o tempo da permanência das restaurações de CIV e amálgama por 2 anos. Encontraram então, iguais números de microrganismos viáveis, para ambos os grupos restauradores, considerando que a remoção completa da dentina cariada é ainda o melhor tratamento, independentemente do material restaurador utilizado (WEERHEIJM *et al.*, 1999).

Vários estudos têm sido feito com o intuito de melhorar as propriedades deste material tão utilizado atualmente na Odontologia.

Sanders *et al.* (2002) inseriram clorexidina na massa de CIV modificado por resina e avaliaram propriedades físicas e microbiológicas, comparando com controle. Os resultados indicaram que a adição de clorexidina não prejudicou as propriedades físicas avaliadas (dureza, resistência à tração diametral e erosão) e, possibilitou uma boa diminuição de *S. mutans* quando comparado com o CIV sem adição do antimicrobiano.

Já Osinaga *et al.* (2003) adicionaram sulfato de zinco aos CIV (convencional e modificado por resina). A solubilidade aumentou, entretanto permaneceu dentro do

limite ISO 7489 e a resistência à fratura não foi afetada. A adição de sulfato de zinco aos CIV diminuiu os microrganismos em cultura e melhorou a liberação de flúor, sem alterar suas propriedades físicas.

Pinheiro; Simionato; Oda em 2003 avaliaram a efetividade antimicrobiana de CIV acrescido de própolis ou antibióticos sobre *S. mutans*, utilizando cimentos recém-espatulados ou armazenados em água por 48 horas. Observaram, pela metodologia da difusão em ágar, que o CIV com acréscimo de antibiótico mostrou maiores halos de inibição bacteriana do que o mesmo acrescido de própolis.

A própolis é uma substância natural produzida por abelhas para proteger e vedar a colméia. A sua composição varia de acordo com o local de onde é coletada e da flora regional utilizada. Durante muito tempo, a própolis vem sendo estudada por suas propriedades antibacteriana, antifúngica, antiviral, antiprotozoária, citotóxica para células tumorais, antiinflamatória, regeneradora de tecidos, osteogênica, anestésica, imunomodulatória, etc. (MARCUCCI, 1995), sendo um produto natural, de baixo custo e fácil acesso. Vem sendo aplicada na odontologia devido às comprovações de regeneração óssea (STOJKO *et al.*, 1978), formação de pontes dentinárias em capeamentos pulpares (SCHELLER *et al.*, 1978, BRETZ *et al.*, 1998), estimulante da cicatrização de gengivites, aftas (SILVEIRA *et al.*, 1988) e alvéolos, efeito antiplaca, anticárie (IKENO; IKENO; MIYAZAWA, 1991), e efeito antimicrobiano em canais radiculares contaminados (FERREIRA *et al.*, 2004), indicando o seu uso nas áreas de Dentística, Estomatologia, Periodontia, Cirurgia Oral, Endodontia e principalmente Cariologia (MANARA *et al.* 1999).

Ikeno *et al.* (1991) testaram o efeito da própolis em cáries de ratos, na inibição de bactérias (*Streptococcus sobrinus* (*S. sobrinus*), *S. mutans* e *Streptococcus cricetus* (*S. cricetus*)), na atividade da glicosiltransferase (Gtase) e na síntese de glucano insolúvel produzidos pelos microrganismos em cultura. A atividade antimicrobiana foi verificada por meio da técnica da difusão em ágar após 48 horas de incubação anaeróbia. A inibição da formação de glucano foi demonstrada pela não aderência das bactérias às paredes de tubos incubados inclinados. A inibição da Gtase foi observada pela medida da quantidade de frutose liberada após incubação da GTase obtida das culturas, com sacarose, extrato etanólico de própolis (EEP) e outros reagentes. Os ratos foram divididos em cinco grupos com adição de 1% na água de beber de: 1- etanol (controle); 2- EEP (1 mg/mL); 3- etanol, para ratos inoculados com *S. sobrinus*; 4- EEP

(1 mg/mL) ao mesmo tempo da inoculação com *S. sobrinus*; e 5- EEP (1 mg/mL) após a inoculação com *S. sobrinus*. Todos os ratos beberam água *ad libitum* por 48 dias. Os pesquisadores obtiveram os seguintes resultados: o extrato etanólico de própolis, obtido de quatro diferentes regiões, inibiu o crescimento bacteriano, com halos de 5,5 a 7,5 mm. O EEP inibiu efetivamente a síntese de glucano e inibiu a enzima Gtase em 40% para *S. sobrinus* e *S. cricetus*, e em 60% para *S. mutans*. A cárie dental na administração de EEP a 1% na água de beber nos grupos inoculados com a bactéria (grupos 4 e 5), foi reduzida em 56,2% e 62,2%, respectivamente. Não foram observados efeitos tóxicos da própolis no crescimento dos ratos, havendo aumento de peso de forma normal.

Verificou-se a ação do não crescimento da microbiota cariogênica, especialmente sobre estreptococos do grupo *mutans*, que está fortemente associado com o início do processo da doença cárie. Contudo, ainda existe a necessidade de desenvolver novas e melhores pesquisas aprofundadas quanto a sua composição química, veículos, a terapêutica e as respectivas inter-relações (OTA; VALENTE, 1998).

Ferreira *et al.* (2000) avaliaram a capacidade antimicrobiana do extrato etanólico de própolis a 10%, por meio dos métodos de microdiluição e macrodiluição, verificando grande ação sobre microrganismos anaeróbios; e também Ferreira *et al.* (2004), testaram o efeito da própolis *in vivo* em dentes de cães, verificando a diminuição do número de microrganismos intracanáis.

Koo *et al.* (2002), verificaram a atuação da própolis sobre os microrganismos do grupo *mutans* em relação à inibição da aderência e verificaram que a própolis inibiu todos os microrganismos testados. A aderência celular e a formação de glucanos foram totalmente inibidas pela concentração final de própolis.

Vargas *et al.* (2004) testaram o extrato de própolis a 5% nas bactérias Gram-positivas *Staphylococcus* sp. *Streptococcus* sp. e *Nocardia asteroides* e nas Gram-negativas *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Proteus mirabilis* e *Pseudomonas aeruginosa*. Constataram que a própolis inibiu 67% do crescimento das bactérias testadas; sendo 92,6% dos isolados Gram-positivos e 42,5% dos Gram-negativos.

Al-Shaher *et al.* (2004) testaram a citotoxicidade *in vitro* da própolis e hidróxido de cálcio sobre cultura de células de fibroblastos pulpares e do ligamento periodontal. Constataram que a própolis possui um efeito altamente biocompatível comparado com o efeito do hidróxido de cálcio, uma vez que foi utilizada uma

concentração bem menor de própolis em relação aquela do hidróxido de cálcio, apresentando excelentes resultados.

Lotufo *et al.* (2004) comprovaram que a solução de própolis em propilenoglicol e a mesma isoladamente são biocompatíveis *in vitro*, e, portanto não afetam nem impedem o crescimento e a viabilidade de células dos fibroblastos da mucosa bucal humana.

O maior problema com a própolis é que sua composição varia com a flora da região, sendo influenciada pela forma como é coletada e pelos métodos de extração. Dessa forma, existe a necessidade de se desenvolver investigações mais aprofundadas quanto à sua composição química, sua atividade terapêutica e a interrelação composição química – atividade terapêutica (MANARA *et al.*, 1999).

Os estudos realizados com a própolis relatam quase sempre a sua origem, de que região do país foi coletada ou de qual tipo de flora as abelhas extraem os compostos resinosos para fabricá-la. Como os trabalhos com esta substância são relativamente recentes em Odontologia, é necessário salientar que as pesquisas sejam realizadas com o conhecimento químico da substância. Para isto, é recomendado que as amostras de própolis sejam padronizadas e tipificadas quimicamente (MARCUCCI, 2000).

O problema da resistência microbiana é crescente e a perspectiva de uso de drogas antimicrobianas no futuro é incerta (LOW *et al.*, 2002). O uso de antibióticos necessita de cuidados especiais, indicações e cautela, pois pode gerar resistência bacteriana, especialmente na infância onde crianças se encontram em uma fase crítica de desenvolvimento e crescimento. Hong *et al.* (2005) estudando mais de 600 crianças que fizeram uso de amoxicilina no primeiro ano de vida, observaram manchas semelhantes às de fluorose nos incisivos superiores, obtendo correlação estatística significativa. Portanto, devem ser tomadas atitudes que possam reduzir este problema como, por exemplo, controlar o uso de antibióticos, podendo aumentar a utilização de antimicrobianos de origem natural, que se trata de uma alternativa sadia, eficaz e de custo reduzido.

A idéia de acrescentar própolis aos CIV surgiu pelo efeito antimicrobiano comprovado desta substância sobre vários microrganismos, especialmente sobre *S. mutans*, o principal microrganismo envolvido com a cárie. Além de *S. mutans*, que é o iniciador do processo carioso (LÖESCHE, 1986), também é interessante testar o efeito

antimicrobiano destas substâncias sobre *Lactobacillus*, um gênero bacteriano bastante encontrado em cavidades cariosas (JORGE, 1998).

3 – PROPOSIÇÃO

Esta pesquisa teve como objetivo avaliar *in vitro* a efetividade antimicrobiana de três marcas de cimentos de ionômero de vidro (Ketac Molar, Fuji IX e Vitremer), acrescidos de extrato de própolis ou amoxicilina, frente às cepas microbianas padrão de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) e *Lactobacillus casei* (ATCC 393), por meio das metodologias de difusão em ágar e macrodiluição em caldo.

Desta forma foi possível avaliar as hipóteses nulas de que:

- não há diferença na efetividade dos cimentos de ionômero de vidro sobre os microrganismos testados,
- não há diferença na efetividade dos cimentos de ionômero de vidro com o acréscimo de outras substâncias antimicrobianas, tais como o extrato etanólico de própolis e amoxicilina e
- não há diferença da metodologia utilizada, nos resultados obtidos.

4 - MATERIAIS E MÉTODOS

4.1-MATERIAL

4.1.1-CIMENTOS DE IONÔMERO DE VIDRO

Os cimentos de ionômero de vidro testados, de acordo com a Tabela 1, foram:

Tabela 1 – Composição dos cimentos de ionômero de vidro testados

Cimentos	Indicação	Composição
Fuji IX (GC America)	indicado para ART	Pó: vidro de GC aluminossilicato, ácido poliacrílico Líquido: ácido poliacrílico, ácido polibásico
Ketac Molar (3M ESPE)	indicado para ART	Pó: vidro de fluorossilicato – 3M ESPE cálcio-alumínio-lanthan, copolímero, pigmentos Líquido: ácido acrílico, copolímero de ácido maléico, ácido tartárico, ácido benzóico
Vitremer (3M ESPE)	modificado por resina	Pó: vidro de fluor – 3M ESPE alumínio – silicato, persulfato de potássio, ácido ascórbico Líquido: copolímero de ácido policarboxílico 50%, 20% de HEMA, água, 13% de copolímero de ácido carboxílico

4.1.2 - EXTRATO ETANÓLICO DE PRÓPOLIS A 50%

O extrato etanólico de própolis foi obtido a partir de 50 gramas de própolis bruta (sólida). A própolis e o etanol (volume de 250 mL) foram acondicionados em um extrator Soxhlet durante 8 horas. Após este tempo, o extrato foi resfriado e a cera foi retirada por filtração a frio, lavando-se o filtrado com etanol gelado. O filtrado foi concentrado em um evaporador rotativo obtendo-se, portanto, o extrato mole ou o extrato etanólico seco de própolis (EEP). O procedimento de extração foi realizado na Universidade Bandeirante de São Paulo – UNIBAN - São Paulo, sendo gentilmente cedida pela Professora Doutora Maria Cristina Marcucci Ribeiro. A própolis foi classificada como BRP1 (MARCUCCI, 2000). A concentração de própolis empregada nos testes foi de 50% (p/v).

4.1.3 - AMOXICILINA

Este antibiótico encontra-se disponibilizado em pó para o comércio. Em balão volumétrico foi adicionada água destilada esterilizada com amoxicilina P.A. em pó, obtendo-se, portanto uma solução na concentração de 25% (p/v).

4.1.4 - MEIOS DE CULTURA

Foi utilizada a forma líquida (caldo) para os repiques e testes de diluição. A forma de ágar (sólida) foi usada para o cultivo em placas e para a metodologia da difusão.

Todos os meios foram preparados conforme a indicação do fabricante, sendo esterilizados em autoclave a 121° C por 15 minutos, dispersos cuidadosamente em câmara asséptica e conservados em geladeira.

Os meios utilizados foram:

- Brain Heart Infusion (Difco);
- Mueller Hinton Agar (Difco) e
- Bacto Agar (BD).

4.1.5 - MICRORGANISMOS

Foram obtidas duas cepas bacterianas de referência, liofilizadas e catalogadas com um número de registro da American Type Culture Collection (ATCC), provenientes da Fundação Tropical de Pesquisas André Tosello – Campinas – SP:

-*Streptococcus Mutans* - ATCC 25175

-*Lactobacillus Casei* - ATCC 393

Com pipetas Pasteur foram transferidos 0,5 mL de caldo BHI para as ampolas contendo as cepas para a reconstituição. Em tubos Pyrex, foram colocados 4 mL de caldo e realizados repiques sucessivos para crescimento destes microrganismos. Após a transferência para o caldo, os tubos foram incubados em jarra de anaerobiose com vela acesa e seu crescimento foi detectado através da turvação do caldo.

Foram feitos estoques das cepas em caldo com glicerol (Synth, Diadema - SP) e congelados. Quando necessário, os estoques foram descongelados e reativados para utilização nos testes.

Foi verificada a morfologia das colônias em placas de Petri, seguida pela confirmação da morfologia celular pelo método da coloração de Gram. Ambos os procedimentos foram realizados para confirmação da pureza das cepas.

4.2 - MÉTODOS

4.2.1 – OBTENÇÃO DOS CORPOS-DE-PROVA

O peso de pó e do líquido foi padronizado para todos os materiais, medidos em balança analítica de precisão, respeitando a proporção pó/líquido indicada pelo fabricante.

Para a manipulação, foram utilizadas placas de vidro e espátulas de plástico, de forma asséptica, por um único operador. Os CIVs foram manipulados nas proporções de acordo com a Tabela 2.

Tabela 2 – Proporções dos cimentos de ionômero de vidro de acordo com a recomendação do fabricante

Cimentos	Peso	Proporção do fabricante (g/g)
Ketac Molar	0,1300 g de pó	2,9/1
	0,045 g de líquido	
Fuji IX	0,1290 g de pó	3,6/1
	0,0360 g de líquido	
Vitremer	0,1250 g de pó	2,5/1
	0,050 g de líquido	

Foram confeccionadas amostras de cada cimento com quatro diferentes concentrações dos antimicrobianos, inseridos no momento da espatulação. Foram realizados estudos-piloto onde se observou que um acréscimo de até 15 μ L das soluções antimicrobianas (extrato etanólico de própolis a 50% e solução aquosa de amoxicilina a 25%), não causou alteração no tempo de presa dos CIV, para o tamanho da amostra deste. Foram então determinados quatro volumes dos antimicrobianos a serem inseridos na massa dos CIV: 8, 10, 12 e 15 μ L, que corresponderam a concentrações aproximadas de 1, 1,3, 1,5 e 2% respectivamente.

As amostras foram confeccionadas em forma de disco em matriz metálica com cinco mm de diâmetro por 2mm de altura (Figura 1). Imediatamente após a espatulação, os espécimes foram inseridos na matriz previamente vaselinada com pincel “microbrush” (KG Sorensen, São Paulo, SP), cobertos por tira de poliéster e pressionados entre duas lâminas de vidro transparente para delimitar a espessura do espécime, através da pressão digital. Para o cimento Vitremer, foi realizada a fotoativação por 40 segundos em cada uma das

faces, com auxílio de fotopolimerizador Optilight Plus $500\text{mW}/\text{cm}^2$ (Gnatus, Ribeirão Preto – SP). Em seguida, foram aguardados 15 minutos para serem removidos da matriz e armazenados em uma caixa plástica esterilizada (Figura 2). Foi também realizado estudo-piloto verificando a atividade inócua da vaselina sobre os microrganismos, uma vez que este material era utilizado na matriz metálica para confecção dos corpos-de-prova, possibilitando a remoção destes após a presa.

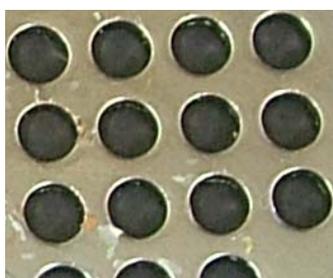


Figura 1 – Matriz metálica para confecção das amostras de CIV, desinfetada previamente.

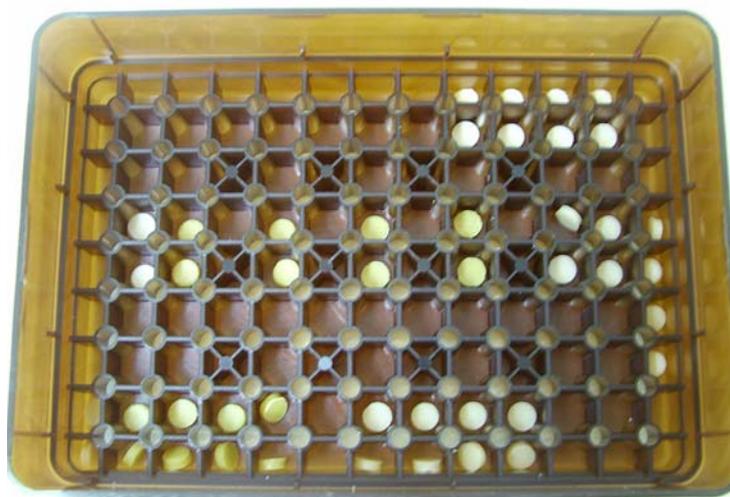


Figura 2 – Caixa plástica esterilizada para armazenamento das amostras dos CIV até a colocação no meio de cultura.

4.2.2 - MACRODILUIÇÃO EM CALDO

4.2.2.1 - Diluição dos antimicrobianos

Na macrodiluição, foram utilizados tubos Pyrex de 13X100 mm, de tampa rosqueável, com 4mL de caldo BHI, dentro dos quais foi colocada uma amostra do CIV isolado ou adicionado com os antimicrobianos, própolis ou amoxicilina, em diferentes concentrações.

Em seguida, foram inseridos mais dois mL de caldo BHI em cada tubo com o inóculo bacteriano. O valor da concentração do inóculo e do antimicrobiano, foi previamente calculado para o total de quatro mL (Figura 3).

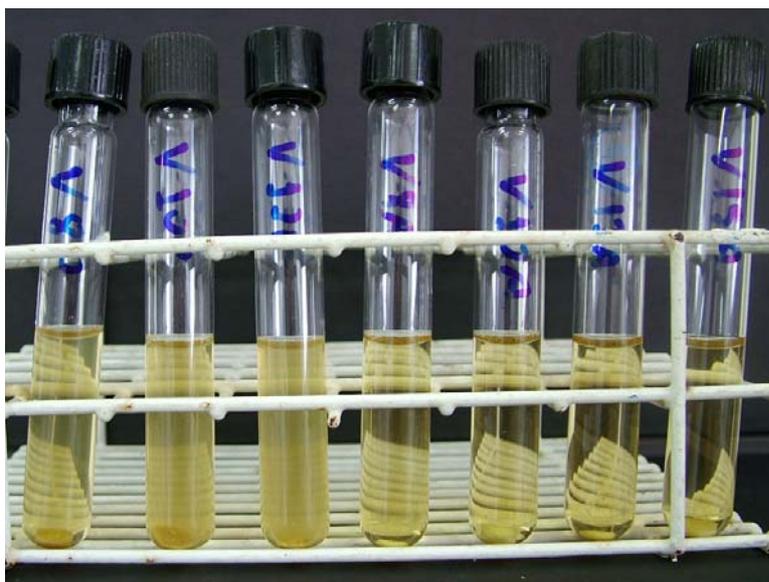


Figura 3 – Tubos de diluição com amostras de CIV (base do tubo) com diferentes concentrações do antimicrobiano e inóculo.

Após a inserção das amostras e inóculo nos tubos, os mesmos foram incubados em jarra de anaerobiose com chama de vela para geração de CO₂ necessário ao crescimento das bactérias citadas (Figura 4). Após 48 horas a 37° C, os tubos foram retirados da jarra para verificar o crescimento microbiano através da turvação do meio de cultura.



Figura 4 – Jarra de anaerobiose com vela acesa para remoção do oxigênio e liberação de CO₂, necessário ao cultivo de *S. mutans* e *L. casei*.

4.2.2.2 - Obtenção do Inóculo

O inóculo foi obtido através de repiques realizados diariamente. O crescimento bacteriano foi obtido na fase exponencial, no período de 24 horas no caldo BHI em anaerobiose a 37° C. A absorbância do inóculo foi lida em espectrofotômetro, no comprimento de onda de luz visível de 540 nm, para verificar a condição de turvação. Através da proporção com a escala de MacFarland, foi calculada a quantidade de unidades formadoras de colônia (UFCs) por mL contida nos tubos. Assim, o inóculo foi diluído em

caldo BHI, para que, após inserido nos tubos de diluição, estes ficassem com a concentração de 5×10^5 UFC/mL.

4.2.2.3 - Obtenção da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Os tubos foram agitados (Agitador de tubos AP 56 Phoenix, Araraquara – SP) e as absorvâncias dos tubos de diluição lidas em espectrofotômetro 20 Genesys (Spectronic Instruments, EUA). As leituras dos resultados foram feitas pela condição da turvação dos tubos e pelos valores após leitura, que determinou a CIM de cada amostra dos antimicrobianos e suas associações. A CIM significa a menor quantidade do antimicrobiano capaz de produzir uma inibição completa do crescimento visível.

4.2.2.4. Obtenção da Concentração Bactericida Mínima (CBM)

Após a leitura dos tubos no espectrofotômetro e verificadas suas absorvâncias, foram transferidos 25 μ L dos tubos para placas de Petri de 15X60 mm, contendo 5 mL de ágar BHI, espalhados com alças de Drigalski. As placas foram incubadas nas jarras por mais 24 horas a 37° C. Após este período, foi possível observar a CBM, ou seja, a menor concentração das associações (EEP ou Amoxicilina aos CIV), que resultaram em não crescimento microbiano.

4.2.3 - DIFUSÃO EM ÁGAR

4.2.3.1 - Obtenção do inóculo

O inóculo foi obtido por meio de crescimentos sucessivos em caldo. Foi utilizado o meio de cultura ágar Mueller-Hinton e BHI (Brain Heart Infusion) ágar (Difco, EUA) para a difusão. Os meios preparados foram esterilizados em autoclave a 121° C por 15 minutos e mantidos em estufa a 37°C durante 24 horas para teste de esterilidade. Placas de Petri de 130 mm de diâmetro foram preenchidas com uma camada de 10 mL de ágar Mueller-Hinton como base.

Para a obtenção do inóculo, os microrganismos foram inoculados em solução salina esterilizada e a suspensão ajustada por meio de leitura em espectrofotômetro, a uma turvação equivalente ao padrão 0,5 da escala de Mc Farland.

Quinhentos microlitros desta suspensão foram inoculados em frascos contendo 50 mL de ágar BHI a 46° C, portanto, ainda na forma líquida, homogeneizados e então dispensados nas placas previamente preparadas com o ágar Mueller-Hinton, obtendo o volume final de 20 mL. Foi utilizado o microrganismo disperso no ágar ainda líquido com o objetivo de uniformizar o crescimento do mesmo na placa. Após o endurecimento da camada superior, foram colocados os antimicrobianos (CIV) na sua superfície. O procedimento foi feito em triplicata.

4.2.3.2 - Inserção dos antimicrobianos

Após o preparo de todas as placas com a camada dupla com o inóculo, foram inseridos 3 corpos de prova em cada placa, registrando-se suas respectivas concentrações e composição (Figura 5). Após 2 horas para difusão do antimicrobiano, as placas foram incubadas em jarra de anaerobiose com vela acesa, em estufa a 37°C durante 24 horas.

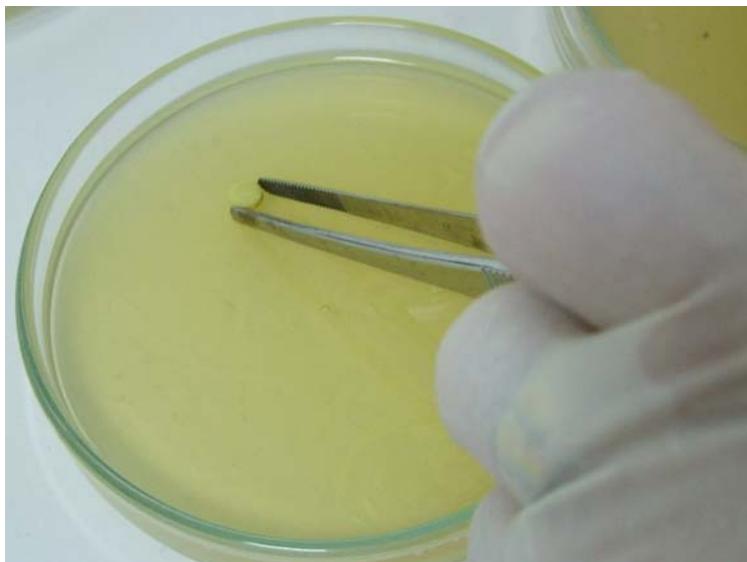


Figura 5 – Colocação do CIV sobre a camada com o inóculo na metodologia da difusão em ágar.

4.2.3.3 - Leitura dos halos de inibição

Após este período, foi realizada a leitura dos halos formados em milímetros, sempre por um único operador.

4.2.3.4 – Análise estatística

Os dados foram expressos como média dos halos inibitórios em milímetros \pm erro-padrão da média (EPM). A análise estatística dos dados foi realizada através do programa PRISM 4.0 (Graph Pad, USA), com os seguintes testes:

- análise de variância (ANOVA a um critério) seguido do teste de Bonferroni, assumindo-se $p < 0,05$ e
- teste t de Student não-pareado, assumindo-se $p < 0,05$.

5 – RESULTADOS

5.1 – MACRODILUIÇÃO EM CALDO

Nas tabelas 3 e 4 são apresentados os resultados das concentrações inibitórias mínimas (CIM) dos cimentos de ionômero de vidro (CIV) acrescidos de própolis ou amoxicilina, testados pelo método da macrodiluição em caldo sobre os microrganismos *S. mutans* e *L. casei*.

Tabela 3 – Concentrações inibitórias mínimas (CIM) em percentual de própolis inserida nos cimentos de ionômero de vidro (CIV) sobre *S. mutans* e *L. casei*.

	Fuji IX	Ketac Molar	Vitremer
<i>S. mutans</i>	0*	0	0
<i>L. casei</i>	0	0	0

* 0 – zero, indica que nenhuma das concentrações de própolis utilizadas nos CIV foi capaz de produzir inibição do microrganismo nesta metodologia.

Tabela 4 – Concentrações inibitórias mínimas (CIM) em percentual de amoxicilina inserida nos cimentos de ionômero de vidro (CIV) sobre *S. mutans* e *L. casei*.

	Fuji IX	Ketac Molar	Vitremer
<i>S. mutans</i>	1,3% (10 μ L)	1% (8 μ L)	1% (8 μ L)
<i>L. casei</i>	1% (8 μ L)	1% (8 μ L)	1% (8 μ L)

Nas tabelas 5 e 6 são apresentados os resultados das concentrações bactericidas mínimas (CBM) dos cimentos de ionômero de vidro (CIV) acrescidos de própolis ou amoxicilina, testados pelo método da macrodiluição em caldo sobre os microrganismos *S. mutans* e *L. casei*.

Tabela 5 – Concentrações bactericidas mínimas (CBM) em percentual de própolis inserida nos cimentos de ionômero de vidro (CIV) sobre *S. mutans* e *L. casei*.

	Fuji IX	Ketac Molar	Vitremer
<i>S. mutans</i>	0	0	0
<i>L. casei</i>	0	0	0

Tabela 6 – Concentrações bactericidas mínimas (CBM) em percentual de amoxicilina inserida nos cimentos de ionômero de vidro (CIV) sobre *S. mutans* e *L. casei*.

	Fuji IX	Ketac Molar	Vitremer
<i>S. mutans</i>	2% (15 µL)	1,5% (12 µL)	2% (15 µL)
<i>L. casei</i>	0	0	0

A figura 6 mostra exemplo de uma série dos tubos de diluição com amostras de um CIV acrescido de um antimicrobiano nas quatro diferentes concentrações sobre o microrganismo testado.



Figura 6 – Vista de uma série de tubos indicando ausência ou presença de crescimento microbiano através da turvação do meio de cultura, após incubação em jarra de anaerobiose com chama de vela a 37°C por 48 horas, com amostras do CIV Fuji IX acrescido de amoxicilina em quatro diferentes concentrações (8, 10, 12 e 15 μ L da solução-mãe de amoxicilina a 25% na massa do CIV) sobre o microrganismo *S.mutans*.

As concentrações bactericidas mínimas (CBM) dos CIV testados foram obtidas por meio do crescimento das colônias nas placas de ágar BHI (15 x 60 mm). Foi destinada uma placa para cada valor de concentração e estas apresentaram presença ou ausência de crescimento. Neste estudo, não houve situações intermediárias, que proporcionassem contagem de colônias. Em duas concentrações imediatamente seguintes houve total inibição ou crescimento em abundância (Figura 7).

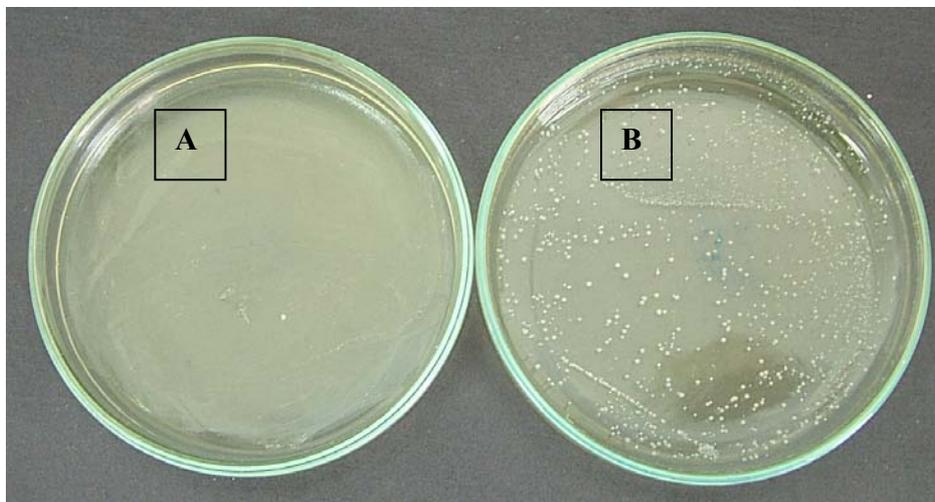


Figura 7 – Placas de ágar BHI demonstrando a placa correspondente à CBM obtida para CIV acrescido de amoxicilina frente à bactéria *Streptococcus mutans*, após incubação em jarra de anaerobiose com chama de vela a 37°C por 48 horas. Em A, observa-se ausência de crescimento e em B, presença de crescimento.

5.2 – DIFUSÃO EM ÁGAR

5.2.1 - Efeito da adição de própolis ou amoxicilina nos cimentos de ionômero de vidro (CIV) sobre o microrganismo *S. mutans*

A inibição bacteriana proporcionada pelos três diferentes cimentos acrescidos ou não do extrato etanólico de própolis a 50% ou amoxicilina a 25% sobre o microrganismo *S. mutans*, obtida pela metodologia da difusão em ágar, está expressa na tabela 7 e nas figuras 8 a 12. Os valores das tabelas são as médias dos valores obtidos nos experimentos realizados em triplicata.

Tabela 7 – Média dos halos inibitórios em milímetros (mm) obtidos com os CIV acrescidos ou não de diferentes concentrações de própolis ou amoxicilina sobre o microrganismo *S. mutans*.

	Fuji IX	Ketac Molar	Vitremer	Solução de própolis	Solução de Amoxicilina
Cimento puro	0	0	8	0	55
concentração de própolis					
1,0%	4	12	20		
1,3%	3	0	6		
1,5%	7	0	23		
2,0%	9	0	19		
concentração de amoxicilina					
1,0%	25	28	38		
1,3%	17	26	41		
1,5%	34	22	49		
2,0%	32	38	53		

As figuras 8 e 9 apresentam o aspecto das placas com o meio de cultura Miller-Hinton e BHI, e crescimento bacteriano, demonstrando formação, ou não, de halos inibitórios conforme o CIV testado e a concentração do antimicrobiano, adicionado nestes cimentos.

Os halos produzidos na metodologia da difusão em ágar, para o microrganismo *S. mutans* mostraram que os cimentos, acrescidos de própolis ou amoxicilina, tiveram diferenças entre si. O cimento Vitremer foi estatisticamente mais efetivo contra esta bactéria do que os demais, Fuji IX e Ketac Molar (ANOVA a um critério, $p < 0,05$ seguido por Bonferroni), como demonstrado nas figuras 10 e 11.

Os halos produzidos na metodologia da difusão em ágar, para o microrganismo *S. mutans*, mostraram que os cimentos, acrescidos de própolis ou amoxicilina, tiveram diferenças entre si. Através do teste *t* de Student não pareado ($p < 0,05$), os cimentos acrescidos de própolis produziram halos significativamente menores do que os CIV adicionados de amoxicilina, conforme figura 12.



Figura 8 – Halos inibitórios do crescimento bacteriano de *S.mutans* produzido pelos CIV acrescidos de extrato de própolis, após incubação em jarra de anaerobiose com chama de vela a 37°C por 48 horas.



Figura 9 – Halos inibitórios do crescimento bacteriano de *S.mutans* produzido pelos CIV acrescidos de amoxicilina, após incubação em jarra de anaerobiose com chama de vela a 37°C por 48 horas.

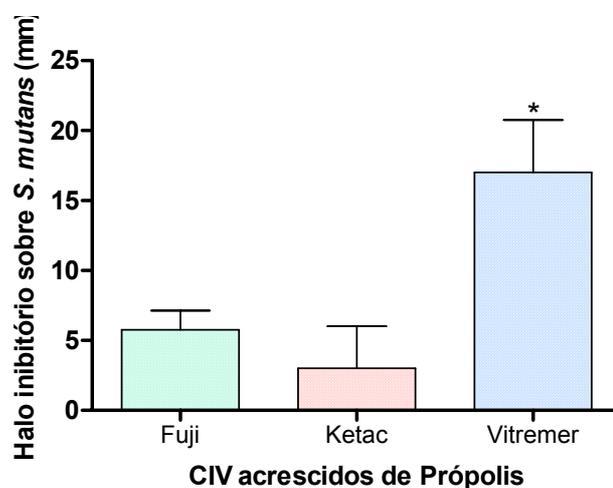


Figura 10 – Halos inibitórios (média) dos cimentos de ionômero de vidro (CIV) acrescidos de própolis (nas concentrações de 1 a 2%) sobre *S. mutans*. As barras representam os erros padrões das médias, * estatisticamente diferente de Fuji IX e Ketac Molar, ANOVA a um critério, $p < 0,05$, seguido por Bonferroni.

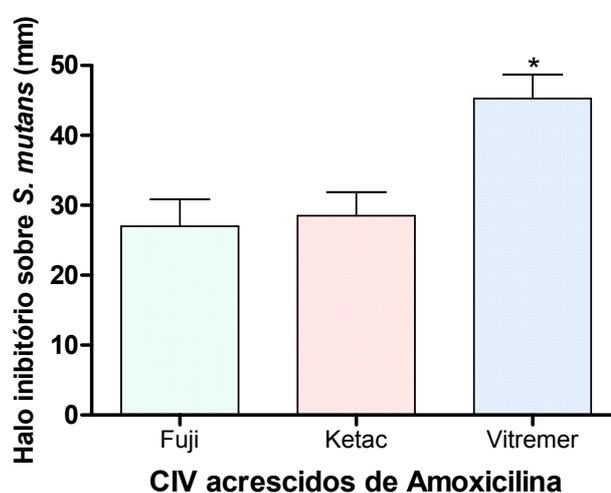


Figura 11 – Halos inibitórios (média) dos cimentos de ionômero de vidro (CIV) acrescidos de amoxicilina (nas concentrações de 1 a 2%) sobre *S. mutans*. As barras representam os erros padrões das médias, * estatisticamente diferente de Fuji IX e Ketac Molar, ANOVA a um critério, $p < 0,05$, seguido por Bonferroni.

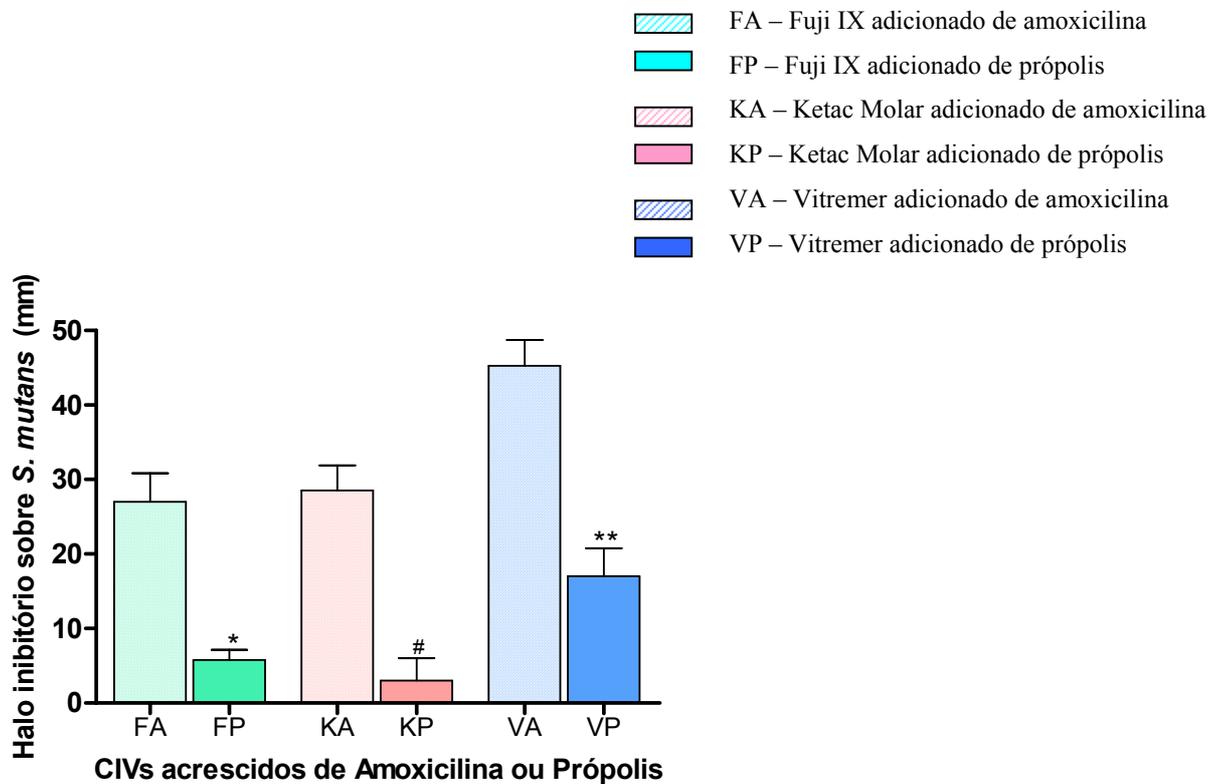


Figura 12 – Halos inibitórios (média) dos cimentos de ionômero de vidro (CIV) acrescidos de própolis ou amoxicilina (nas concentrações de 1 a 2%) sobre *S. mutans*. As barras representam os erros padrões das médias.

* estatisticamente diferente de FA

estatisticamente diferente de KA

** estatisticamente diferente de VA

(teste t de Student, não pareado, $p < 0,05$)

5.2.2 - Efeito da adição de própolis ou amoxicilina nos cimentos de ionômero de vidro (CIV) sobre o microrganismo *L. casei*

A inibição bacteriana proporcionada pelos três diferentes cimentos acrescidos ou não do estrato etanólico de própolis a 50% ou amoxicilina a 25% sobre o microrganismo *L. casei*, obtida pela metodologia da difusão em ágar, está expressa na tabela 8 e nas figuras 13 a 17. Os valores das tabelas são as médias dos valores obtidos nos experimentos realizados em triplicata.

Tabela 8 – Média dos halos inibitórios em milímetros obtidos com os CIV acrescidos ou não de diferentes concentrações de própolis ou amoxicilina sobre o microrganismo *L. casei*.

	Fuji IX	Ketac Molar	Vitremer	Solução de própolis	Solução de amoxicilina
Cimento puro	0	0	0		
concentração de própolis				0	56
1,0%	0	0	0		
1,3%	0	4	0		
1,5%	0	0	2		
2,0%	0	0	3		
concentração de amoxicilina					
1,0%	15	10	22		
1,3%	16	13	29		
1,5%	19	16	34		
2,0%	22	19	47		

As figuras 13 e 14 apresentam o aspecto das placas com o meio de cultura Miller-Hinton e BHI, e crescimento bacteriano, demonstrando formação, ou não, de halos inibitórios conforme o CIV testado e a concentração do antimicrobiano adicionado nestes cimentos.

Os halos produzidos na metodologia da difusão em ágar, para o microrganismo *L. casei* mostraram que os cimentos acrescidos de própolis não tiveram diferenças entre si (ANOVA a um critério, $p < 0,05$ seguido por Bonferroni), como demonstrado na figura 15.

Os halos produzidos na metodologia da difusão em ágar, para o microrganismo *L. casei*, mostraram que os cimentos, acrescidos de amoxicilina, tiveram diferenças entre si. O cimento Vitremer foi estatisticamente mais efetivo contra esta bactéria do que os demais, Fuji IX e Ketac Molar (ANOVA a um critério, $p < 0,05$ seguido por Bonferroni), como demonstrado na figura 16.

Os halos produzidos na metodologia da difusão em ágar, para o microrganismo *L. casei*, mostraram que os cimentos, acrescidos de própolis ou amoxicilina, tiveram diferenças entre si. Através do teste *t* de Student não pareado ($p < 0,05$), os cimentos acrescidos de própolis produziram halos significativamente menores do que os CIV adicionados de amoxicilina, conforme figura 17.

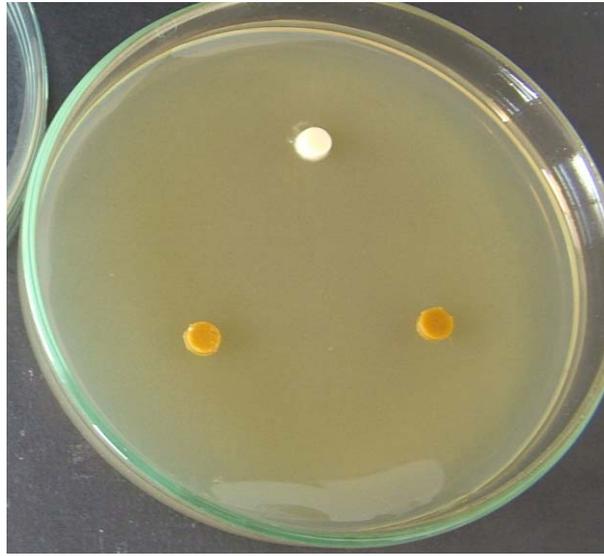


Figura 13 – Halos inibitórios do crescimento bacteriano de *L.casei* produzido pelos CIV acrescidos ou não de extrato de própolis, após incubação em jarra de anaerobiose com chama de vela a 37°C por 48 horas.

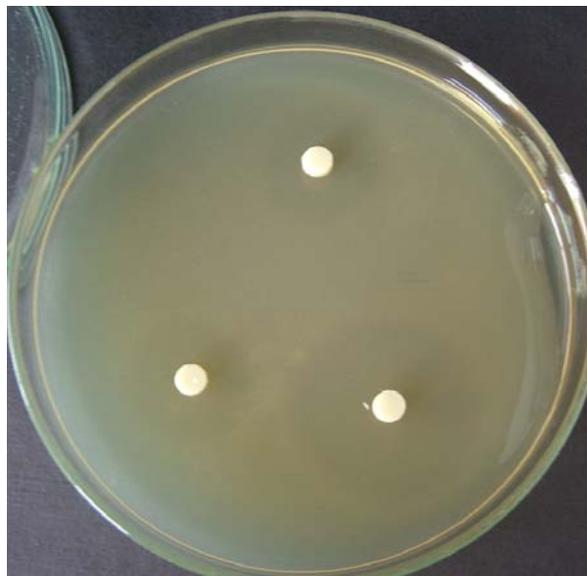


Figura 14 – Halos inibitórios do crescimento bacteriano de *L.casei* produzido pelos CIV acrescidos de amoxicilina, após incubação em jarra de anaerobiose com chama de vela a 37°C por 48 horas.

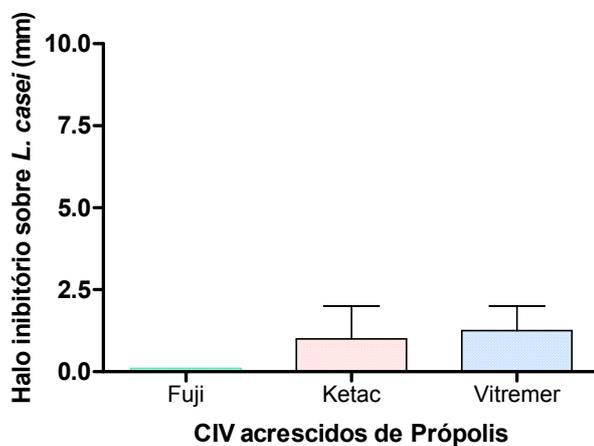


Figura 15 – Halos inibitórios (média) dos cimentos de ionômero de vidro (CIV) acrescidos de própolis (nas concentrações de 1 a 2%) sobre *L. casei*. As barras representam os erros padrões das médias, não havendo diferença estatística entre os cimentos, ANOVA a um critério, $p < 0,05$, seguido por Bonferroni.

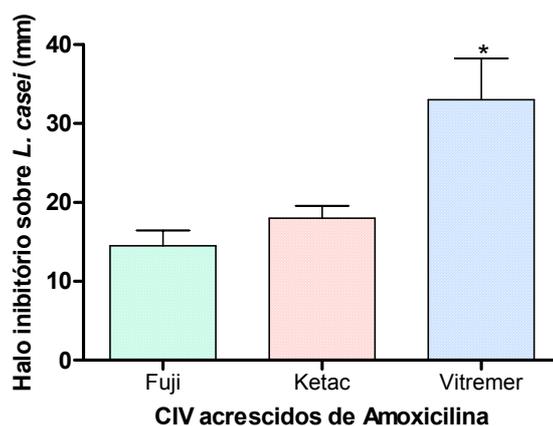


Figura 16 – Halos inibitórios (média) dos cimentos de ionômero de vidro (CIV) acrescidos de amoxicilina (nas concentrações de 1 a 2%) sobre *L. casei*. As barras representam os erros padrões das médias, * estatisticamente diferente de Fuji IX e Ketac Molar, ANOVA a um critério, $p < 0,05$, seguido por Bonferroni.

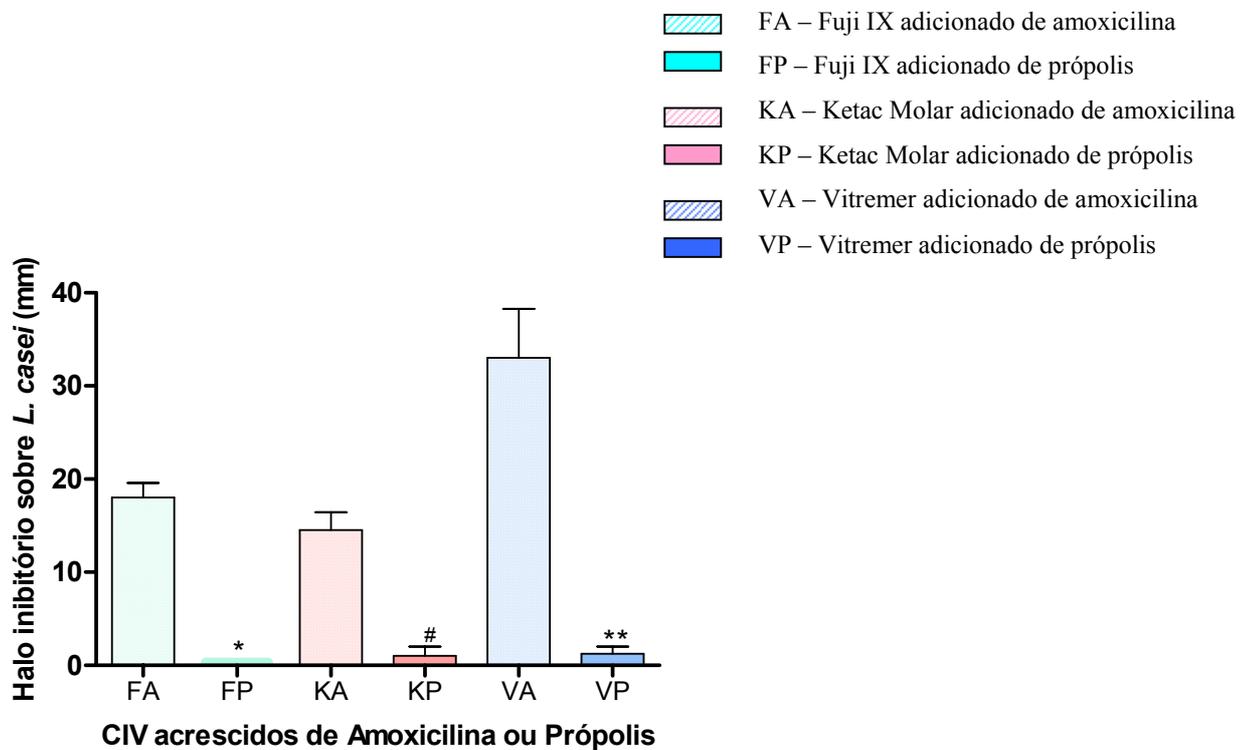


Figura 17 – Halos inibitórios (média) dos cimentos de ionômero de vidro (CIV) acrescidos de própolis ou amoxicilina (nas concentrações de 1 a 2%) sobre *L. casei*. As barras representam os erros padrões das médias.

* estatisticamente diferente de FA

estatisticamente diferente de KA

** estatisticamente diferente de VA

(teste t de Student, não pareado, $p < 0,05$)

5.2.3 – Comparação da suscetibilidade bacteriana aos cimentos de ionômero de vidro (CIV) adicionados de própolis ou amoxicilina

Na metodologia da difusão em ágar, os halos produzidos pelos três cimentos, acrescidos de própolis ou amoxicilina, mostraram que os microrganismos tiveram diferenças entre si. Através do teste *t* de Student não pareado ($p < 0,05$), o microrganismo *L. casei* foi significativamente mais resistente (menor taxa de inibição) do que *S. mutans*, conforme figura 18 e 19.

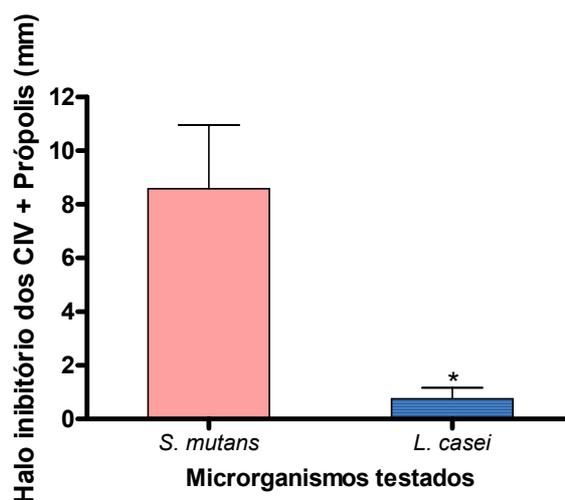


Figura 18 – Halos inibitórios (média) dos cimentos de ionômero de vidro (CIV) acrescidos de própolis sobre os microrganismos testados: *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) e *Lactobacillus casei* (*L. casei*). As barras representam os erros padrões das médias, * estatisticamente diferente de *S. mutans*, teste *t* de Student, não pareado, $p < 0,05$.

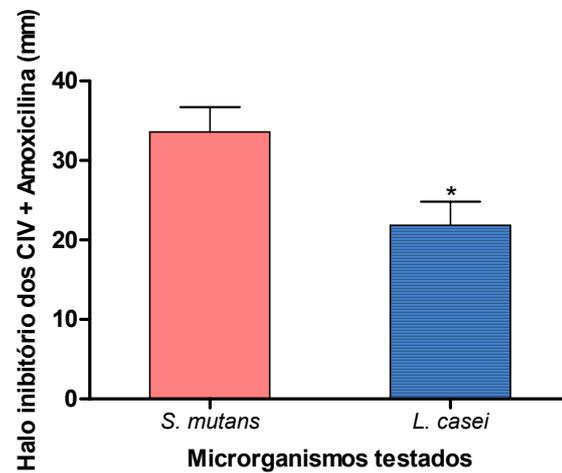


Figura 19 – Halos inibitórios (média) dos cimentos de ionômero de vidro (CIV) acrescidos de amoxicilina sobre os microrganismos testados: *S. mutans* e *L. casei*. As barras representam os erros padrões das médias, * estatisticamente diferente de *S. mutans*, teste **t** de Student, não pareado, $p < 0,05$.

6 - DISCUSSÃO

A utilização de diferentes metodologias para avaliar a atividade de um antimicrobiano dificulta a comparação dos resultados obtidos. Tendo isso em vista, o presente estudo utilizou os métodos da diluição do antimicrobiano em meio de cultura líquido e da difusão do antimicrobiano em ágar, com o objetivo de verificar qual deles propiciaria melhor análise do tipo de amostra proposta. A primeira técnica permite obter um resultado preciso da concentração que inibe um microrganismo de forma bactericida e bacteriostática, consumindo bastante tempo e trabalho (FINEGOLD; BARON, 1986), adequada para testes com número reduzido de antimicrobianos e cepas.

O método de difusão em ágar (método de Kirby-Bauer) não é recomendado para microrganismos anaeróbios devido às complexidades e variações advindas do crescimento lento e variado destes. Entretanto, é extensamente usado para microrganismos aeróbios e facultativos, mas só é viável quando são testados discos de antibióticos com gradientes de difusão semelhantes, possibilitando que as drogas sejam comparadas (FERREIRA, 1999). Mas, mesmo nos testes em que se utilizam antibióticos, é pobre a correlação entre o tamanho dos halos e os resultados da concentração inibitória mínima dos testes de diluição (KONEMAN et al., 1997).

O método de referência para avaliar a atividade antibacteriana, especialmente anaeróbios, proposto pelo *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS), EUA, hoje renomeado CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) é o da diluição do antimicrobiano em ágar (www.nccls.org). Entretanto, esta técnica seria inviável neste caso, uma vez que o antimicrobiano aqui testado se encontra no estado sólido e seria impossível dissolvê-lo no meio de cultura sólido (ágar). Assim, foi possível testar apenas as duas metodologias descritas acima.

Os microrganismos testados – *S. mutans* e *L. casei* - estão presentes em altos números na placa cariogênica, uma vez que são selecionados neste micro-ambiente. Na placa cariogênica ocorre a formação de ácidos pelas próprias bactérias, de forma que as acidúricas – aquelas capazes de sobreviver em meio ácido – se sobressaem (LOESCHE, 1986). Por sua associação com a cárie dentária, a escolha para utilização neste estudo recaiu sobre ambas as espécies.

As principais vantagens clínicas no uso dos cimentos ionoméricos são as suas propriedades de adesividade, liberação de flúor, coeficiente de expansão térmica e biocompatibilidade pulpar (LIMA *et al.*, 1992, NAVARRO; PALMA, 1994). Representam importante opção de material restaurador, com selamento marginal adequado, diminuindo a infiltração, somada à liberação de flúor, que inibe o metabolismo de microrganismos acidogênicos e favorece a remineralização dental, diminuindo a ocorrência de cárie secundária (PEDRINI *et al.*, 2001). Com um pH mais baixo, aumenta a ação antimicrobiana do flúor, que pode afetar o crescimento bacteriano local, por diferentes mecanismos (COSTA *et al.*, 1996).

Quando comparadas com as restaurações de amálgama e resina, os cimentos de ionômero de vidro promovem redução de níveis de *S. mutans* na placa das margens de tais restaurações (WEERHEIJM *et al.*, 1999, KREULEN *et al.*, 1997). A liberação de flúor dos cimentos ionoméricos ocorre com maior intensidade nas primeiras 24 a 48 horas e permanece em menor concentração por longos períodos (WANG *et al.*, 2004). Segundo Carvalho *et al.* (1990), a alta taxa de liberação nas primeiras 24 horas se deve à presa lenta do ionômero, que desloca elementos ionicamente ativos (incluindo o flúor) nas primeiras etapas da geleificação.

Weerheijm *et al.* (1999) e Kreulen *et al.* (1997) cultivando os microrganismos presentes em cavidades cariosas *in vivo*, observaram após remoção apenas do tecido amolecido, antes e depois de restaurações, que, aos 7 meses, haviam microrganismos viáveis sob as restaurações. No entanto, houve uma redução significativamente maior de *S. mutans* e *Lactobacillus* sp. nos dentes selados com CIV. No controle das restaurações de CIV e amálgama após 2 anos, encontraram iguais números de microrganismos viáveis, para ambos os grupos restauradores. O amálgama também possui expansão com o tempo e possivelmente, igualou seus efeitos aos do CIV.

Porém, o fato de restarem microrganismos ainda viáveis nestes estudos, gera a tentativa de se melhorar ainda mais a adesividade, efeito antimicrobiano e demais propriedades desses materiais restauradores. Estes fatores podem aumentar a durabilidade das restaurações, principalmente em ART, onde, pelas condições adversas, possivelmente haverá maior número de microrganismos no fundo da cavidade preparada.

A restauração do elemento dentário através da técnica do ART pode fazer com que dentes condenados à extração em locais sem recursos sejam preservados (CEFALY *et al.*, 2005).

Diante disso, alguns estudos, assim como o presente, buscam melhorar as propriedades de materiais restauradores, especialmente dos CIV. Sanders *et al.* (2002) inseriram clorexidina na massa de CIV modificado por resina e a adição de clorexidina não prejudicou suas propriedades físicas, possibilitando a diminuição de *S. mutans*. Osinaga *et al.* (2003) adicionaram sulfato de zinco aos CIV (convencional e modificado por resina), o que diminuiu os microrganismos em cultura e melhorou a liberação de flúor, sem alterar suas propriedades físicas. Pinheiro; Simionato; Oda (2003) avaliaram a efetividade antimicrobiana de CIV acrescido de própolis ou antibióticos sobre *S. mutans*, observando que o CIV com acréscimo de antibiótico mostrou maiores halos de inibição bacteriana do que com própolis. Dessa forma, as tentativas existem e devem ser melhor investigadas.

Na presente pesquisa, o antibiótico amoxicilina acrescido aos CIV foi introduzido como um padrão de comparação pelo seu efeito antimicrobiano já bem conhecido (LOW *et al.*, 2002).

A inserção do extrato etanólico de própolis na massa dos CIV foi sugerido primeiramente por Pinheiro; Simionato; Oda (2003), com resultados não animadores, de tal forma que foi despertado o interesse para o teste com outra metodologia (diluição em caldo), outro microrganismo (*L. casei*) e diferentes concentrações de própolis.

A utilização de uma amostra de própolis tipificada (MARCUCCI, 2000) é fundamental para que se conheça os efeitos desta substância testada, através de seus componentes. Uma amostra padronizada também viabiliza que novos experimentos sejam realizados e reproduzidos, obtendo-se resultados cada vez mais confiáveis e de maior aplicabilidade clínica.

Estudos *in vitro* chamam a atenção para a própolis por ser uma substância capaz de, ao mesmo tempo, eliminar microrganismos (KEDZIA, 1990, IKENO; IKENO; MIYAZAWA, 1991, FERREIRA *et al.*, 2000, KOO *et al.*, 2002, VARGAS *et al.*, 2004) e não agredir os tecidos vivos (SILVEIRA *et al.*, 1988, AL-SHAHER *et al.*, 2004) com efeito antiinflamatório, diferentemente de outros antimicrobianos utilizados em Odontologia.

Já foram comprovadas por meio de vasta literatura, as propriedades da própolis como antibacteriana, antifúngica, antiviral, antiprotzoária, citotóxica para células tumorais, antiinflamatória, regeneradora de tecidos, osteogênica, anestésica e imunomodulatória (MARCUCCI, 1995), regeneração óssea (STOJKO *et al.*, 1978), formação de pontes dentinárias em capeamentos pulpares (SCHELLER *et al.*, 1978, BRETZ *et al.*, 1998), estimulante da cicatrização de gengivites e aftas (SILVEIRA *et al.*, 1988), efeito antiplaca, anticárie (IKENO; IKENO; MIYAZAWA, 1991), efeito antimicrobiano em canais radiculares contaminados (FERREIRA *et al.*, 2004) e atuação sobre os microrganismos do grupo *mutans* em relação à inibição do crescimento em cultura, inibição da aderência celular e a formação de glucanos (KOO *et al.*, 2002).

Com relação à biocompatibilidade, os estudos de Al-Shaher *et al.* (2004) e Lotufo *et al.* (2004) deram subsídios, por meio de cultura de células - fibroblastos de polpa, periodonto e mucosa oral - para que a própolis demonstrasse manutenção da viabilidade celular. No primeiro trabalho, inclusive, a comparação é feita com hidróxido de cálcio, uma substância largamente utilizada em capeamentos pulpares, com reconhecida biocompatibilidade e, a própolis demonstrou efeito 10 vezes mais protetor e menos citotóxico.

O desafio maior talvez seja como padronizar e utilizar a própolis, seus veículos, dosagens e formas de aplicação.

Os microrganismos testados no presente estudo mostraram diferentes suscetibilidades entre si. *S. mutans* foi bem mais suscetível do que *L. casei*, de forma estatisticamente significativa. Pode-se realizar testes de suscetibilidade microbiana com *S. mutans* apenas, por ser o microrganismo de maior virulência na etiologia da cárie dentária, no entanto, este tem demonstrado menos resistência aos antimicrobianos. As atenções devem se voltar também aos *Lactobacillus* sp., uma vez que também são relacionados com o processo carioso e são menos sensíveis nos testes *in vitro*, como aqui demonstrado e também observado por Imazato *et al.* (2002). Estes autores avaliaram o efeito antimicrobiano de diversos adesivos pela macrodiluição em caldo, obtendo concentrações inibitórias e bactericidas mínimas (CIM e CBM). Observaram que todos os isolados de *L. casei* mostraram CBMs maiores que as demais bactérias, *S.*

mutans e *Actinomyces viscosus*, esta última bastante relacionada com cáries radiculares (JORGE, 1998). Imazato *et al.* (2002) detectaram ainda que *A. viscosus* foi inibido e eliminado com as menores concentrações de todos os produtos testados, ou seja, foi a mais sensível das três espécies.

Os CIV testados neste estudo foram dois indicados para ART, possuindo maior densidade (Fuji IX e Ketac Molar) e um cimento de ionômero de vidro modificado por resina (Vitremer), inicialmente inserido como uma referência, por ser um cimento bastante utilizado e pesquisado.

Cefaly *et al.* (2005) avaliaram o comportamento de duas marcas de cimentos de ionômero de vidro após 6 meses de realização da técnica do ART em cavidades de duas ou mais faces. Um deles era Ketac Molar, um CIV de alta densidade, indicado para ART e o outro era Fuji VIII, um CIV modificado por resina. A taxa de sucesso das restaurações foi de 96,6% e 100% para os dois cimentos respectivamente, ou seja, não houve diferença de desempenho entre eles, e ambos corresponderam às necessidades clínicas no prazo avaliado. CIVs de alta densidade foram especificamente desenvolvidos para ART, uma vez que estas restaurações podem permanecer por longos tempos e a alta densidade da massa propicia resistência à mastigação. Também os cimentos modificados por resina foram desenvolvidos a partir dos CIV convencionais, com melhores propriedades mecânicas. Cefaly *et al.* (2005) mostraram que há uma perspectiva promissora da técnica do ART com os dois tipos de cimentos, de maior densidade e modificado por resina.

No presente estudo, o Vitremer, que é modificado por resina, foi o que mostrou maior efetividade antimicrobiana. Este fato pode estar relacionado com a maior densidade dos outros dois cimentos que são específicos para ART, ou seja, possuem maior densidade e, dessa forma menor potencial de solubilidade. Se Ketac Molar e Fuji IX possuem menor solubilidade, pode se esperar que os antimicrobianos própolis e amoxicilina inseridos em sua massa sejam menos liberados, gerando menor inibição bacteriana. Desta forma, é necessária a realização de testes de solubilidade para estes cimentos, para se confirmar esta hipótese.

Loyola-Rodriguez *et al.* (1994) observaram que o cimento Vitremer apresentou melhor atividade antibacteriana, ficando em segundo lugar quanto à capacidade antimicrobiana com outros CIV, de base ou restauração, sobre *S. mutans* e *S. sobrinus*.

Costa *et al.* (1996) avaliando alguns CIV convencionais e modificados por resina observaram que somente o Vitremer reduziu significativamente a produção de ácidos pelos microrganismos nas primeiras 24 horas e houve o menor acúmulo de carboidratos sobre sua superfície, ou seja, foi o que exibiu melhor atividade antimicrobiana, mesmo sendo o segundo na liberação de flúor.

Herrera *et al.* (2000) por meio da difusão em ágar, compararam o efeito antibacteriano de adesivos resinosos, CIVs convencionais, CIVs modificados por resina e um compômero. Obtiveram as melhores inibições sobre microrganismos de cavidades cariosas com os cimentos Vitremer e Vitrebond, mas os autores preferem não especular a respeito de quais as causas ou quais os compostos que seriam responsáveis por este efeito. A presente pesquisa corrobora as três últimas citadas, quanto aos melhores resultados do cimento Vitremer.

Botelho (2003) avaliou o efeito antimicrobiano pela difusão em ágar do cimento Fuji IX, indicado para ART, acrescido de diferentes antimicrobianos, entre eles a clorexidina, sobre os gêneros *Streptococcus*, *Lactobacillus* e *Actinomyces*. Encontrou que o cimento puro não foi capaz de promover inibição, também observado neste trabalho. Este autor abrasionou o espécime após determinado tempo e observou que a inibição bacteriana aumentava, promovendo a liberação do antimicrobiano da massa. Com relação aos microrganismos, ponderou que não houve grandes diferenças entre os gêneros, apesar do lactobacilo ser conhecidamente mais resistente. Observou ainda que *S. mutans* e *Streptococcus salivarius* são mais sensíveis à clorexidina que os demais microrganismos orais.

No presente estudo, o desempenho antimicrobiano destes cimentos foi prejudicado ainda na metodologia da macrodiluição em caldo, onde os cimentos puros ou acrescidos de própolis não foram capazes de inibir ou eliminar nenhuma das duas bactérias. Com amoxicilina os cimentos apenas inibiram as bactérias, mas o efeito bactericida com amoxicilina aconteceu apenas sobre *S. mutans*, reiterando a diferença de suscetibilidade entre as duas espécies. Nesta metodologia, não houve diferenças entre os três cimentos. Yli-Urpo; Närhi; Söderling (2003) utilizaram também as duas metodologias – a difusão em ágar e macrodiluição em caldo – e compararam dois CIVs sobre *S. mutans* e *Candida albicans* (*C. albicans*). Observaram que, pela difusão em ágar, os CIV inibiram *S. mutans*, mas não *C. albicans*. Com a diluição em caldo não houve inibição de nenhuma das cepas. Os autores sugeriram que no teste em meio de

cultura líquido, provavelmente a concentração de fluor oriunda dos cimentos não atingiu um nível capaz de inibir os microrganismos, por causa do efeito de diluição do próprio caldo de cultura (YLI-URPO; NÄRHI; SÖDERLING, 2003). Um outro fator que também pode facilitar o maior crescimento bacteriano – consequentemente menor inibição - é o fato de na cultura em caldo haver maior disponibilidade de nutrientes.

Ribeiro; Ericson (1991) avaliaram também pelas duas metodologias o efeito antimicrobiano de dois CIV (um para base e outro para restauração) acrescidos de clorexidina sobre *S. mutans* e *L. casei*. Não encontraram diferença na suscetibilidade entre as duas bactérias. Entretanto, observaram que os cimentos sem o acréscimo de clorexidina produziram halos inibitórios na difusão em ágar, mas não tiveram efeito na diluição em caldo, corroborando os resultados deste trabalho quanto à diferença das técnicas. Ponderam, assim como Yli-Urpo; Närhi; Söderling (2003), que o antimicrobiano liberado se dilui totalmente no caldo e ainda, que um cimento toma presa mais completamente nesta situação, ficando com menor solubilidade (RIBEIRO; ERICSON, 1991).

Também o tamanho de nossos espécimes pode ter influenciado para que na diluição em caldo, os resultados antimicrobianos fossem inexpressivos. A questão da padronização, lote e gasto de material contribuíram para esta situação.

Há de se considerar que os testes *in vitro* favorecem sobremaneira o crescimento bacteriano em relação ao efeito do antimicrobiano. *In vivo*, os microrganismos encontram outras dificuldades para sua sobrevivência e estes materiais podem ter melhor desempenho, a começar pela atividade erosiva da amostra pela mastigação, que poderá liberar mais do antimicrobiano inserido em sua massa (RIBEIRO; ERICSON, 1991).

Na difusão em ágar, os CIVs acrescidos de própolis puderam inibir *S. mutans*, porém, isto não ocorreu para *L. casei*. Considerando que a maior concentração de própolis na massa dos CIV foi de apenas 2%, é possível sugerir novos testes com concentrações aumentadas para que os microrganismos mais resistentes possam ser também atingidos. Estudos das propriedades físico-mecânicas também são recomendadas, no que tange à dureza, resistência à tração e fratura, rugosidade, solubilidade, entre outros, uma vez que a literatura indica biocompatibilidade excelente da própolis, o que permite a inserção desta substância em um preparo cavitário profundo ou até em exposição pulpar.

O problema da resistência microbiana é crescente e a perspectiva de uso de drogas antimicrobianas no futuro é incerta (VARGAS *et al.*, 2004). Novas classes de antibióticos estão predispostas à resistência bacteriana, com cada vez mais microrganismos mutantes, devido ao mau uso deste tipo de medicamento (LOW *et al.*, 2002). O uso indiscriminado na infância também pode gerar resistência, além de ser uma fase crítica de desenvolvimento e crescimento.

Hong *et al.* (2005) também relataram que manchas semelhantes às de fluorose foram observadas nos incisivos superiores de crianças, relacionadas ao uso de amoxicilina no primeiro ano de vida. Este pode ser mais um fator negativo ao uso freqüente do antibiótico, interferindo com a formação dentária.

O dever do dentista, enquanto profissional da saúde consciente desta problemática, é limitar ao máximo a prescrição de antibióticos, para que sejam ministrados nos casos realmente necessários, podendo o fármaco desempenhar seu papel de forma eficiente. Deve-se, portanto, considerar o uso racional dos antibióticos, para minimizar a disseminação da resistência bacteriana, em caráter de saúde pública.

Neste trabalho, foi utilizada amoxicilina apenas como parâmetro, e, apesar do grande potencial antimicrobiano sobre os microrganismos cariogênicos, em hipótese alguma é recomendada a sua inserção nos CIV, para restaurações rotineiras. Pode-se aumentar a utilização de antimicrobianos de origem natural, como a própolis, no arsenal de materiais odontológicos, submetidos às pesquisas adequadas para o bom uso, se tratando de uma alternativa sadia, eficaz e de custo reduzido.

7 – CONCLUSÃO

De acordo com as condições do presente estudo, foi possível concluir que:

1 – Pelo método da macrodiluição em caldo, os cimentos de ionômero de vidro testados não foram capazes de inibir (CIM) ou matar (CBM) ambas as cepas bacterianas, sozinhos ou acrescidos de própolis. Com o acréscimo de amoxicilina, os cimentos inibiram as bactérias (CIM), no entanto, mostraram efeito bactericida (CBM) apenas sobre *S. mutans*.

2 – Empregando-se o método da difusão em ágar, o cimento Vitremer foi mais efetivo que o Fuji IX e o Ketac Molar, sobre o microrganismo *S. mutans*. Os cimentos isolados não produziram inibição e os acrescidos de própolis produziram halos menores do que os adicionados de amoxicilina.

3 – Pelo método da difusão em ágar, o cimento Vitremer foi mais efetivo que o Fuji IX e o Ketac Molar, sobre o microrganismo *L. casei*, quando acrescido de amoxicilina. Os cimentos isolados não produziram inibição. Os cimentos acrescidos de própolis não diferiram entre si e produziram halos bem menores do que os adicionados de amoxicilina.

4 – A suscetibilidade do microrganismo *Streptococcus mutans* foi bem superior àquela do *Lactobacillus casei* em ambas as metodologias, para os três cimentos testados e também frente ao acréscimo de própolis ou de amoxicilina na massa destes cimentos.

8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL SHAHER, A.; WALLACE, J.; AGARWAL, S.; BRETZ, W.; BAUGH, D. Effect of propolis on human fibroblasts from the pulp and periodontal ligament. *J.Endod.* v. 30, n. 5, p. 359-61, 2004.

ANDRADE, M.F; MORONI, J.R; CANDIDO, MSM; LOFFREDO, LCM. Efeito da aplicação de flúor sobre a dureza superficial dos cimentos de ionômero de vidro. *Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.*, v.50, n.2, p.193-6, mar./abr. 1996.

BRETZ, W.A.; CHIEGO, D.J.; MARCUCCI, M.C.; CUNHA, I.; CUSTÓDIO, A.; SCHNEIDER, L.G. Preliminary report on the effects of propolis on wound healing in the dental pulp. *Z. Naturforsch.*, v.53, p. 1045-1048, 1998.

BOTELHO, M. G. Inhibitory effects on selected oral bacteria of antibacterial agents incorporated in a glass ionomer cement. *Caries Res.* 37:108-114. 2003.

BUSSADORI,S.K; GUEDES-PINTO,A.C. Materiais dentários em Odontopediatria. *Odontopediatria.* p.623-47.Santos,2003.

CARVALHO, R.M.; NAVARRO, M.F.L; ALBUQUERQUE, M.V.P; PINHEIRO, C.E. Padrão de liberação de flúor de cimentos odontológicos. *Rev. Gaúcha Odontol*, v. 38, n. 5, p. 346-348, set./out. 1990.

CEFALY, D.F.G.; BARATA, T.J.E.; TAPETY, C.M.C.; BRESCIANI, E.; NAVARRO, M.F.L. Clinical evaluation of multisurface ART restorations. *J Appl Oral Sci*, v. 13, n.1, p. 15-9, 2005.

COSTA, B.; ROSA, O.P.S; ROCHA, R.S.S; TAGA, E.M. Atividade antimicrobiana de cimentos de ionômero de vidro restauradores convencionais e modificados com resina “in vitro”. *Rev. Fac. Odontol. Bauru*, v. 4, n. 1/2, p. 25-31, jan-jun. 1996.

DIJKEN, J.W.W; KALFAS, S; LITRA, V.; OLIVEBY, A. Fluoride and *mutans streptococci* levels in plaque on aged restorations of resin composite. *Caries Res*, v.31, p.379-383, 1997.

FERREIRA, F.B.A. Estudo in vitro do efeito antimicrobiano do extrato etanólico de própolis e de outros medicamentos usados em endodontia sobre microrganismos anaeróbios Bauru, 1999.140p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Bauru. USP.

FERREIRA, F.B.A., GOMES, B.P.F.A., RABANG, H.R.C., MARCUCCI, M.C., LAURIS, J.R.P., SOUZA-FILHO, F.J. Antimicrobial evaluation of endodontic treatment in dog's

teeth. In: general session of the international association of dental research, Honolulu, E.U.A., 2004. IADR Abstract, J. Dent. Res., v. 83, [periódico em CD-Rom] 2004.

FERREIRA, F.B.A.; TORRES, S.A.; ROSA, O.P.S.; FERREIRA, C.M.; GARCIA, R.B.; MARCUCCI, M.C. Antimicrobial effect of propolis and other substances against anaerobic bacteria. In: general session of the international association of dental research, Washington D.C., E.U.A., 2000. IADR Abstract, J. Dent. Res., v. 79, Issue, 2000, p. 572, 3431.

FERREIRA, R.C.V.; VALENTE, P.H.M.; BARBOSA, A.D. Atividade Antibacteriana da Própolis. LECTA-USP, Bragança,Paulista,v.14,n.2,p.65-93 jul./dez.1996.

FRENCKEN, J.E; MAKONI, F; SITHOLE, W.D.; HACKENITZ, E. Three-year survival of one-surface ART restorative and glass-ionomer sealants in a school oral program in Zimbabwe. Caries Res., v.32, n.2, p.119-26, 1998.

FINEGOLD, S.M.; BARON, E.J. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 7 ed. St. Louis, Mosby, 1986. Cap. 13, p.173-201.

GARIB, T.M.; ROSA, O.P.S.; ROCHA, R.S.S. Ação antimicrobiana de cimentos de ionômero de vidro restauradores.Rev. Fac. Odontol. Bauru, v. 1, n. 1/4, p. 1-5, jan-dez. 1993.

HERRERA, M; CASTILHO, A; BRAVO, M; LIÉBANA, J; CARRIÓN, P. Antibacterial activity of resin adhesives,glass ionomer and resin-modified glass ionomer cements and a compomer in contact with dentin caries samples. Operative Dentistry. V 25,p.265-269. 2000.

HONG, L.; LEVY, S.M.; WARREN, J.J.; DAWSON, D.V.; BERGUS, G.R.; WEFEL, M.A. Association of amoxicillin use during early childhood with developmental tooth enamel defects. Arch Pediatr Adolesc Med. 159:943-48.2005.

IKENO, K.; IKENO, T.; MIYAZAWA, C. Effects of propolis on dental caries in rats. Caries Res., v.25, p.347-51, 1991.

IMAZATO, S.; KURAMOTO, A.; KANEKO, T.; EBISU, S.; RUSSELL, R.R.B. Comparison of antibacterial activity of simplified adhesive systems. Am J Dent , v.15, p.356-60, 2002.

JORGE, A.O.C. Testes microbiológicos de atividade de cárie. In Microbiologia Bucal. 2.ed. São Paulo, Santos Editora, 1998. Cap. 5, p.66-75.

KEDZIA, A. Sensitivity of anaerobic bacteria to the ethanol extract of propolis. Phytothérapie, v.6, p.4-6,1990.

- KONEMAN, E.W. et al. The anaerobic bacteria. In: _____ Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 5.ed. Philadelphia, Lippincott, 1997. Cap. 14, p.709-84.
- KOO, H; CURY, J.A; ROSALEN, P.L.; AMBROSANO, G.M.; IKEGAKI, M.; PARK, Y.K. Effect of a mouthrinse containing selected propolis on 3-day dental plaque accumulation and polysaccharide formation. *Caries Res*, v. 36, p.445-8, 2002.
- KREULEN, C.M.; SOET, J.J.; WEERHEIJM, K.L.; van AMEROGEN, W.E. *In vivo* cariostatic effect of resin modified glass-ionomer cement and amalgam on dentine. *Caries Res.*, v. 31, n. 5, p. 384-9, 1997.
- LIMA, I.M.; MOLDES, V.L.; FICHIMAN, D.M. Preparo cavitário em túnel. *Rev. Paul. Odontol*, v. 14, n. 5, p. 18-23, set-out. 1992.
- LÖESCHE, W.J. The identification of bacteria associated with periodontal disease and dental caries by enzymatic activity methods. *Oral Microbiol. Immunol.*, v.1, p.65-7, 1986.
- LOTUFO, M.A.; BIRMAN, E.G.; MARQUES, M.M.; ROSALEN, P.L.; CURY, J.A.; KOO, H., IKEGAKI, M.; BOWEN, W.H. Análise da citotoxicidade in vitro da solução de própolis em propilenoglicol. 21^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica, Águas de Lindóia – SP, 2004.
- LOW, D.E. The era of antimicrobial resistance – implications for the clinical laboratory. *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, v. 8, Suppl. 3, p. 9-20, 2002.
- LOYOLA- RODRIGUES, J.P.; GARCIA-GODOY, F.; LINDQUIST, R. Growth inhibition of glass ionomer cements on *mutans* streptococci. *Pediatr Dent*, v. 16, n. 5, p. 346-349, Oct. 1994.
- MANARA, L.R.B; ANCONI, S.I; GROMATZKY, A; CONDE, M. C; BRETZ, W.A; Utilização da própolis em odontologia. *Rev. Fac. Odont. Bauru*, v. 7, n. 3/4, p.15-20, 1999.
- MANTON, D.J.; MESSER, L.B. Pit and fissure sealants: another major cornerstone in preventive dentistry. *Aust Dent J*, v. 40, n. 1, p. 22-29, Feb. 1995.
- MARCUCCI, M.C. Processo de identificação de tipagens da própolis brasileira. Inst. Nacional da Propriedade Industrial, INPI, RJ, 2000.
- MARCUCCI, M.C. Propolis: chemical composition, biological properties, and therapeutic activity. *Apidologie*, v.26, p.83-99, 1995.

NAVARRO, M.F.L.; PALMA, R.G. O que é preciso saber a respeito de ionômero de vidro? Inovações: vantagens e desvantagens. Artes Médicas Editora, p.61-74, 1994.

OSINAGA, P.W.; GRANDE, R.H.; BALLESTER, R.Y.; SIMIONATO, M.R.; DELGADO ROCHA, C.R.; MUENCH, A. Zinc sulfate addition to glass-ionomer-based cements: influence of physical and antibacterial properties, zinc and fluoride release. Dent. Mater., v. 19, n.3, p. 212-7, May 2003.

OTA, C.; VALENTE, P.H.M; UNTERKIRCHER, C.S; SHIMIZU, M. T. Atividade da própolis sobre as bactérias isoladas da cavidade bucal. Lecta-USF, v. 16, n. 1, p. 73-7, 1998.

PEDRINI, D.; GAETTI-JARDIM JR, E.; MORI, G.G. Influência da aplicação de flúor sobre a rugosidade superficial do ionômero de vidro Vitremer e adesão microbiana a este material. Pesqui. Odontol. Bras., v. 15, n. 1, p. 70-6, 2001.

PINHEIRO, S.L.; SIMIONATO, M.R.L.; ODA, M. Atividade antimicrobiana *in vitro* dos cimentos de ionômeros de vidro associados a própolis ou antibióticos. Rev. APCD, v. 57, n. 3, p. 215-9, 2003.

RIBEIRO, J.; ERICSON, D. *In vitro* antibacterial effect of chlorhexidine added to glass-ionomer cements. Scand J Dent Res, 99:533-40. April.1991.

SANDERS, B.J.; GREGORY, R.L.; MOORE, K.; AVERY, D.R. Antibacterial and physical properties of resin modified glass-ionomers combined with chlorhexidine. J. Oral Rehabil., v. 29, n.6, p. 553-8, Jun 2002.

SCHELLER, S.; ILEWICZ, L.; LUCIAK, M.; SKROBIDURSKA, D.; STOJKO, A. ; MATUGA, W. Biological properties and clinical application of propolis IX. Experimental observation on the influence of ethanol extract of propolis (EEP) on dental pulp regeneration. *Arzneim-Forsch./Drug. Res.*, v.28, p.289-91, 1978.

SILVEIRA, G.M.; GODOY, A.G.; TORRIENTE, R.O.; ORTIZ, M.C.P.; CUÉLLAR, M.A.F. Estudio preliminar sobre los efectos del propolan en el tratamiento de la gingivitis crónica y de las úlceras bucales. Rev. Cubana Estomatol., v.25, n.3, p.36-44, Sep./Dic. 1988.

SOUZA COSTA, C.A.; HEBLING, J.; GARCIA-GODOY, F; HANKS, C.T. *In vitro* cytotoxicity of five glass-ionomer cements. *Biomaterials*. 24(21):3853-8.2003.

STOJKO, A.; SCHELLER, S.; SZWARNOWIECKA, I.; TUSTANOWSKI, J.; OSTACH, H.; OBUSZKO, Z. Biological properties and clinical application of propolis. VIII. Experimental observation on the influence of ethanol extract of propolis (EEP) on the regeneration of bone tissue. *Arzneim.- Forsch./ Drug Res.*, v.28, n.1, p.35-7, 1978.

TOI, C.S.; BÖNECKER, M.; CLEATON-JONES, P.E. Mutans streptococci strains prevalence before and after cavity preparation during atraumatic restorative treatment. *Oral Microbiol. Immunol.*, v. 18, n. 3, p. 160-4, 2003.

VARGAS, A.C.; LOGUERCIO, A.P; WITT, N.M; COSTA, M.M; SÁ E SILVA, M; VIANA, L.R. Atividade antimicrobiana *in vitro* de extrato alcóolico de própolis. *Ciênc.Rural*, v. 34, n. 1, p.159-63, 2004.

WANG, L; BUZALAF, M.A.R; ATTA, M.T. Effect of one-bottle adhesive systems on the fluoride release of a resin-modified glass ionomer. *J. Appl. Oral Sci*, v. 12, n. 1, p. 12-17, Jan-Mar. 2004.

WEERHEIJM, K.L.; KREULEN ,C.M.; SOET, J.J.; GROEN, H.J.; van AMEROGEN, W.E. Bacterial counts in carious dentine under restorations: 2-year *in vivo* effects. *Caries Res.*, v. 33, n. 2, p. 130-4, 1999.

WILSON, A.D; KENT, B.E. A new translucent cement for dentistry: the glass ionomer cement. *Br Dent J*, v.132, n.4, p.133-135, Feb.1972.

WOISKY, R.G.; GIEBSBRECHT, A.M., SALATINO, A. Atividade antibacteriana de uma formulação preparada a partir de própolis de *Apis Mellifera L.* *Rev. Farm. Bioq. Univ. S. Paulo*, vol 30, n1, p.19-21 jan/jun,1994.

National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Disponível na Internet. www.nccls.org. 16 mar. 2006

YLI-URPO, H; NÄRHI, T; SÖDERLING, E. Antimicrobial effects of glass ionomer cements containing bioactive glass(S53P4) on oral micro-organisms *in vitro*. *Acta Odontol Scand.* 61:241-46, 2003.

9 – APÊNDICE

9.1 - Preparo dos meios de cultura

Foram utilizados os meios ágar Miller-Hinton, ágar BHI (brain heart infusion) e caldo BHI.

9.1.1 - Fórmula aproximada para litro de ágar Mueller-Hinton para 1 litro de meio de cultura (Difco, Becton Dickinson, France S.A. – França):

extrato de carne2.0g

digerido pancreático de caseína17,5g

amido.....17,5g

agar.....17,5g

Ph final 7,0

9.1.2 - Fórmula aproximada para litro de ágar BHI para 1 litro de meio de cultura (Difco, Becton Dickinson, France S.A. – França):

infusão de cérebro de boi.....200.0g

infusão de coração de boi.....250.0g

peptona de proteose.....10.0g

dextrose.....2.0g

cloreto de sódio.....5.0g

fosfato dissódico.....2.5g

ágar.....15,0g

Ph final 7,0

9.1.3 - Fórmula aproximada para litro de caldo BHI para 1 litro de meio de cultura (Difco, Becton Dickinson, France S.A. – França):

infusão de cérebro de boi.....200.0g

infusão de coração de boi.....250.0g

peptona de proteose.....10.0g

dextrose.....2.0g

cloreto de sódio.....5.0g

fosfato dissódico.....2.5g

Ph final 7,0

9.2 – Resultados da macrodiluição em caldo para o microrganismo *S. mutans*

Tabela 9 – Valores de absorvância dos tubos de diluição após incubação, concentração inibitória mínima e concentração bactericida mínima dos cimentos de ionômero de vidro adicionados de própolis ou amoxicilina sobre o microrganismo *S. mutans*.

Cimentos	Valor de absorvância	CIM	CBM
Fuji IX	1,143	+	+
Fuji IX + 8A	0,976	+	+
Fuji IX + 10A	0,038	-	+
Fuji IX + 12A	0,037	-	+
Fuji IX + 15A	0,036	-	-
Fuji IX + 8P	0,993	+	+
Fuji IX + 10P	1,087	+	+
Fuji IX + 12P	0,845	+	+
Fuji IX + 15P	0,806	+	+
Ketac Molar	0,720	+	+
Ketac + 8 ^a	0,030	-	+
Ketac + 10 ^a	0,034	-	+
Ketac + 12 ^a	0,015	-	-
Ketac + 15 ^a	0	-	-
Ketac + 8P	0,960	+	+
Ketac + 10P	0,710	+	+
Ketac + 12P	0,850	+	+
Ketac + 15P	0,690	+	+
Vitremer	0,456	+	+
Vitremer + 8A	0,090	-	+
Vitremer + 10A	0,025	-	+
Vitremer + 12A	0,036	-	+
Vitremer + 15A	0,057	-	-
Vitremer + 8P	0,436	+	+
Vitremer + 10P	0,634	+	+
Vitremer + 12P	0,585	+	+
Vitremer + 15P	0,461	+	+
Própolis	0,522	+	+
Amoxicilina	0	-	-

* O sinal positivo indica presença de crescimento e o negativo ausência de crescimento.

**A letra A significa o acréscimo de amoxicilina e a letra P, o acréscimo de própolis.

***Os números 8, 10, 12 e 15 antes das letras A e P indicam em microlitros quanto foi adicionado de própolis ou amoxicilina nos cimentos testados.

9.3 – Resultados da macrodiluição em caldo para o microrganismo *L. casei*

Tabela 10 – Valores de absorvância dos tubos de diluição após incubação, concentração inibitória mínima e concentração bactericida mínima dos cimentos de ionômero de vidro adicionados de própolis ou amoxicilina sobre o microrganismo *L. casei*.

Cimentos	Valor de absorvância	CIM	CBM
Controle +	0,761	+	+
Ketac Molar	1.146	+	+
Ketac + 8A	1.043	+	+
Ketac + 10A	1.190	+	+
Ketac + 12A	0,525	+	+
Ketac + 15A	1.079	+	+
Ketac + 8P	0,093	-	+
Ketac + 10P	0,114	-	+
Ketac + 12P	0,014	-	+
Ketac + 15P	0,033	-	+
Fuji IX	0,868	+	+
Fuji IX + 8A	0,802	+	+
Fuji IX + 10A	0,848	+	+
Fuji IX + 12A	0,767	+	+
Fuji IX + 15A	0,717	+	+
Fuji IX + 8P	0,072	-	+
Fuji IX + 10P	0,086	-	+
Fuji IX + 12P	0,020	-	+
Fuji IX + 15P	0	-	+
Vitremer	0,480	+	+
Vitremer + 8A	0,591	+	+
Vitremer + 10A	0,443	+	+
Vitremer + 12A	0,393	+	+
Vitremer + 15A	0,610	+	+
Vitremer + 8P	0,021	-	+
Vitremer + 10P	0,005	-	+
Vitremer + 12P	0	-	+
Vitremer + 15P	0	-	+
Própolis	0,390	+	+
Amoxicilina	0	-	-

* O sinal positivo indica presença de crescimento e o negativo ausência de crescimento.

**A letra A significa o acréscimo de amoxicilina e a letra P, o acréscimo de própolis.

***Os números 8, 10, 12 e 15 antes das letras A e P indicam em microlitros quanto foi adicionado de própolis ou amoxicilina nos cimentos testados.

Tabela 11 – Quantidade em mg/g de cada composto identificado por Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) da própolis bruta estudada.

No.	Composto	Amostra BRP1
1	Ácido 2,2-dimetil-8-prenil-2H-1-benzopirran-6-propenóico	12,61
2	Ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico (ARTEPILLIN C®)	29,50
3	Ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico* (derivado 1)	0,94
4	Ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico* (derivado 2)	2,52
5	Ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico* (derivado 3)	1,21
6	Ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico* (derivado 4)	0,98
7	Ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico* (derivado 5)	1,34
8	Ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico* (derivado 6)	1,37
9	Ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico* (derivado 7)	6,37
10	Ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico* (derivado 8)	3,55
11	Ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico* (derivado 9)	0,41
12	Ácido 3-prenil-4-hidroxicinâmico	6,51
13	Ácido cafeico	1,70
14	Ácido cafeoilquínico 1**	2,58
15	Ácido cafeoilquínico 1**	1,05
16	Ácido cafeoilquínico 1**	10,16
17	Ácido cafeoilquínico 1**	16,34
18	Ácido cafeoilquínico 1**	0,83
19	Ácido cinâmico*** (derivado 1)	9,33
20	Ácido cinâmico*** (derivado 1)	2,35
21	Ácido cinâmico*** (derivado 1)	65,05
22	Ácido p-cumárico	14,56
23	Canferide	21,88
24	Canferol	2,51
25	Pinobanksina	33,21
	Total (em mg/g de própolis bruta)	254,57
	Total (%) (m/m)	25,46

* Mesmo espectro UV do ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico, com diferentes tempos de retenção. Expresso em ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico.

** Mesmo espectro UV do ácido cafeico, com diferentes tempos de retenção. Expresso em ácido cafeico.

*** Mesmo espectro UV do ácido cinâmico, com diferentes tempos de retenção. Expresso em ácido cinâmico.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)