

ACÇÃO ANTIMICROBIANA *IN VITRO* DE DOIS SISTEMAS DE REMOÇÃO QUÍMICA DA CÁRIE SOBRE *Streptococcus mutans* E *Lactobacillus acidophilus*

Guilherme Luiz Lima Pacheco¹, Silvana Soléo Ferreira dos Santos², Antonio Olavo Cardoso Jorge², Sandra Kalil Bussadori³, Sabrina Fróes Faria Campos¹, Marcos Augusto do Rego⁴

¹UNITAU, Programa de Pós-graduação em Odontologia (Mestrado), Subárea Dentística

²UNITAU, Instituto Básico Biociências

³UNIMES, Universidade Metropolitana de Santos

⁴UNITAU e UNIVAP, Curso de Odontologia, Rua José Pereira dos Santos, 233, Urbanova, São José dos Campos, SP, marcosreg@uol.com.br

Resumo- A remoção química da cárie constitui-se alternativa para tratamento desta doença de maneira conservadora e atraumática. O objetivo deste trabalho foi avaliar a ação antimicrobiana *in vitro* de dois sistemas de remoção química de dentina cariada sobre cepas de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus acidophilus*. Avaliou-se a ação antimicrobiana analisando-se a concentração bactericida mínima dos sistemas Dentisolv® e Papacárie® frente a oito cepas de *S. mutans* e duas de *L. acidophilus*, utilizando-se técnica de diluição em caldo. O Dentisolv® apresentou concentração bactericida mínima de 5% para *S. mutans* GS5 e para as cepas de *L. acidophilus* ATCC 1465 e ATCC 5049 e de 10% para cinco cepas de *S. mutans* e para as cepas de *L. acidophilus*. O sistema de remoção química da cárie Papacárie® não apresentou efeito bactericida nas concentrações testadas.

Palavras-chave: cárie dentária, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus*, dentina cariada

Área do Conhecimento: IV - Ciências da Saúde

Introdução

A procura de novas alternativas para o preparo cavitário tornou-se uma exigência na dentística restauradora, procurando-se preservar o máximo de estrutura dental sadia, removendo apenas tecido com comprometimento irreversível [1]. Apesar dos avanços da odontologia, grande parcela da população apresenta aversão aos procedimentos odontológicos, sejam de controle da dor, sejam os preparos cavitários e remoção de tecido cariado, principalmente quando são utilizados instrumentos rotatórios. Métodos de remoção de cárie menos invasivos que o uso de brocas, vem sendo desenvolvidos, buscando-se preservar estrutura dentária e promover menor incômodo ao paciente, tais como laser, ultra-som, abrasão a ar e remoção química da cárie [1, 2].

A remoção químico-mecânica da cárie caracteriza-se pela capacidade de dissolução de matéria orgânica, a partir da ação de produtos químicos sobre dentina cariada, resultando na dissolução do tecido amolecido [3]. Estudos sobre remoção química da cárie surgiram à partir da utilização do hipoclorito de sódio na endodontia, o qual auxilia na dissolução da dentina, removendo componentes orgânicos.

Devido as vantagens da remoção químico-mecânica da cárie, em 1998 foi introduzido no mercado o sistema Carisolv®, visando manter ao máximo a estrutura dental de modo atraumático e indolor. Este sistema apresenta hipoclorito de sódio na sua composição e um gel contendo aminoácidos (lisina, glicina, leucina e ácido glutâmico), metilcelulose que confere viscosidade e eritrosina. Os aminoácidos possibilitam redução do potencial tóxico do hipoclorito de sódio, aumentando suas concentrações e resultando em maior velocidade na dissolução do tecido cariado [4]. Esse material é indicado para cárie radicular, cárie coronária com lesões acessíveis, cárie recorrente, cáries próximas da polpa dental, em pacientes que tenham como contra-indicações o uso de anestesia e pacientes que tenham medo de tratamento dentário. Lesões de cárie nas quais utilizou-se o sistema Carisolv®, apresentaram significativa redução microbiana, comprovando assim o efeito antimicrobiano do produto [5].

Além disso, vem sendo desenvolvido um novo sistema de remoção químico-mecânico da cárie, denominado Papacárie®. O produto é um biomaterial com papaína, que apresenta ação bacteriostática e antiinflamatória, e cloramina, um composto contendo cloro e amônia, com

propriedades bactericidas e desinfetantes. O Papacárie® é apresentado na forma de um gel contendo em sua composição papaína 10% e cloramina T 0,5%.

Sendo a etiologia da cárie dentária bacteriana, seu tratamento deve basear-se na remoção, ou pelo menos na diminuição significativa, das bactérias das lesões. Assim, espera-se que os produtos químicos utilizados para remoção química de tecido cariado, apresentem efeito antimicrobiano. Parece oportuno, analisar o efeito anti-bacteriano de produtos utilizados para remoção química da cárie. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a ação antimicrobiana *in vitro* de dois sistemas de remoção química de dentina cariada, Dentisolv® e Papacárie® sobre cepas de *S. mutans* e *L. acidophilus*.

Materiais e Métodos

Para a realização do presente estudo foram utilizadas 8 cepas bacterianas de *S. mutans* e 2 cepas de *L. acidophilus*, pertencentes ao Laboratório de Microbiologia/UNITAU. As cepas de *S. mutans* foram reativadas em caldo infusão de cérebro e coração (BHI, Difco), incubadas a 37° C/ 24 h em tensão de 5% de CO₂. A seguir, foram semeadas com alça de platina pela técnica do esgotamento em agar Mitis Salivarius (Difco) e foram incubadas a 37° C/ 24 h em 5% de CO₂. A partir de colônias isoladas, foram obtidas suspensões bacterianas em solução salina (NaCl 0,85%) esterilizada, padronizadas pelo tubo 1 da escala MacFarland. As cepas de *L. acidophilus* foram reativadas em caldo Lactobacilli (Difco) incubados a 37° C/ 24 h em 5% de CO₂. Após crescimento, foram realizadas diluições seriadas de 10⁻¹ a 10⁻⁶, as quais foram semeadas em ágar Lactobacilli (Difco) pela técnica de *pour plate*, novamente incubados a 37° C/ 24 h em tensão de 5% de CO₂. A partir de colônias isoladas, foi

obtida suspensão em solução salina (NaCl 0,85%) esterilizada, padronizada pelo tubo 1 da escala Mc Farland.

Para observação do efeito antibacteriano *in vitro* dos sistemas Dentsolv® (Fórmula & Ação) e Papacárie® (Fórmula & Ação), foi utilizada técnica de diluição em caldo. Para isto, foram preparados tubos contendo concentrações de 10, 5, 2,5, 1.25, 0.625, 0.312, 0.156, 0.078 e 0.039% dos dois produtos, em caldo BHI obtendo-se diluições a base de 2 de cada produto para cada cepa de microrganismos. A seguir, em cada tubo contendo 1 mL de caldo BHI e 1 mL das respectivas diluições foram acrescentados 0,05 mL das suspensões bacterianas previamente obtidas. Os tubos foram incubados a 37° C/ 24 h em tensão de 5% de CO₂. Após 24 horas, alíquotas de 0,1 ml de cada diluição foram semeadas em placas contendo ágar BHI para obtenção da concentração bactericida mínima, considerada como a placa em que não ocorreu crescimento bacteriano. Foram analisadas 8 cepas de *S. mutans* e 2 de *L. acidophilus* para cada produto.

Resultados

A avaliação da Concentração Bactericida Mínima (CBM) para os dois sistemas de remoção química da cárie, encontram-se expressos nos Quadros 1 e 2. A Concentração Bactericida Mínima foi considerada a menor diluição em que não houve crescimento nas placas. Pode-se observar no Quadro 1, que o Dentisolv® apresentou CBM 5% para a cepa de *S. mutans* GS5 e para as cepas de *L. acidophilus* ATCC 1465 e ATCC 5049. Apresentou Concentração Bactericida Mínima de 10% para as cepas CCUT 8d, CCUT 6a, CCUT 47^a e CCUT 45a de *S. mutans*. O sistema de remoção química da cárie Papacárie® não apresentou efeito bactericida nas concentrações testadas (Quadro 2).

Quadro 1 – Efeitos de diferentes concentrações do produto Dentsolv®, utilizado na remoção química de cárie, para cepas de *S. mutans* e *L. acidophilus* (ATCC 1465 e ATC 5049)

Amostras	Controle Positivo	Controle Negativo	Concentrações (%) do Dentsolv®								
			10	5	2,5	1,25	0,625	0,312	0,156	0,078	0,039
<i>S. mutans</i> GS5	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. mutans</i> CCUT8d	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. mutans</i> CCUT6a	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. mutans</i> CCUT47a	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. mutans</i> CCUT11b	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. mutans</i> CCUT35c	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. mutans</i> CCUT45a	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. mutans</i> CCUT49c	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+

<i>L. acidophilus</i> 1465	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>L. acidophilus</i> 5049	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+

+: Crescimento do microrganismo; - : ausência de crescimento do microrganismo; ATCC: American Type Culture Collection; CCUT: Coleção de Culturas da Universidade de Taubaté.

Quadro 2 – Efeitos de diferentes concentrações do produto Papacarie®, utilizado na remoção química de cárie, para cepas de *S. mutans* e *L. acidophilus* (ATCC 1465 e ATCC 5049)

Amostras	Controle Positivo	Controle Negativo	Concentrações (%) do Papacarie®								
			10	5	2,5	1,25	0,625	0,312	0,156	0,078	0,039
<i>S. mutans</i> GS5	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. mutans</i> CCUT8d	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. mutans</i> CCUT6a	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. mutans</i> CCUT47a	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. mutans</i> CCUT 11b	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. mutans</i> CCUT 35c	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. mutans</i> CCUT 45a	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. mutans</i> CCUT 49c	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>L. acidophilus</i> 1465	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>L. acidophilus</i> 5049	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+: Crescimento do microrganismos; - : ausência de crescimento do microrganismo; ATCC: American Type Culture Collection; CCUT: Coleção de Culturas da Universidade de Taubaté.

Discussão

Estudos visando o desenvolvimento de técnicas conservadoras de remoção de tecido cariado e o aperfeiçoamento dos materiais restauradores tem propiciado maior preservação da estrutura dentária. A abordagem menos invasiva do tratamento das lesões de cárie em dentina tem demonstrado inúmeras vantagens em relação ao tratamento restaurador tradicional, por preservar tecido dentário sadio e por utilizar técnicas mais confortáveis para o paciente. Métodos menos invasivos que o tradicional uso de instrumentos cortantes rotatórios estão sendo desenvolvidos, tais como uso de irradiação laser, ultra-som, abrasão com jatos de ar e remoção química da cárie. Observando esses fatos, a remoção química de cárie pode ser considerada como uma boa alternativa de tratamento, pois é um método conservador, silencioso e que geralmente não requer anestesia [3,6].

O princípio básico da remoção química da cárie consiste na aplicação de agentes químicos específicos que promovam o amolecimento seletivo da dentina degradada durante o processo de cárie, seguido de uma leve escavação, usando instrumentos manuais, restando ao final do tratamento dentina sadia. Segundo Fusayama (1979) [7] a dentina cariada apresenta duas camadas; uma mais externa, denominada dentina infectada que apresenta tecido irreversivelmente desmineralizado e não remineralizável, que deve ser removida; e, uma camada mais interna, chamada dentina afetada, pouco

desmineralizada, que pode ser preservada pois é passível de remineralização.

Uma característica importante nos sistemas de remoção química da cárie dentária é seu efeito bactericida. No presente trabalho observou-se efeito bactericida do sistema Dentisolv® nas concentrações de 5% para uma cepa de *S. mutans* e duas de *L. acidophilus*. Na concentração de 10%, o produto apresentou efeito bactericida para 5 cepas de *S. mutans* e duas de *L. acidophilus*. O efeito bactericida observado deve ter ocorrido pela ação do hipoclorito de sódio a 0,5% presente no produto, pois o mesmo apresenta comprovado efeito antimicrobiano. Segundo Ericson, Zimmerman e Raber (1999) [4], os aminoácidos (ácido glutâmico, leucina e lisina) presentes no Carisolv®, produto similar ao Dentisolv® produzido no Brasil, possibilitam redução do potencial tóxico do hipoclorito de sódio, aumentando suas concentrações e resultando em maior velocidade na dissolução do tecido cariado.

Segundo Ericson (1998) [8] a utilização do hipoclorito em forma de gel limita, devido à viscosidade do mesmo, a penetração do produto em profundidade e aumenta sua ação no local em que foi colocado, aumentando a efetividade do Carisolv®. Os demais produtos constituintes presentes no Dentisolv® como aminácidos, assim como o veículo (caboxi-metil-celulose) não apresentaram, possivelmente, efeitos sobre as cepas de microrganismos testados. Apesar disso, novos estudos testando os componentes separadamente e em diferentes combinações poderiam oferecer resultados interessantes.

Segundo Baysan, Whiley e Lynch (2000) [5], lesões de cárie que foram tratadas com Carisolv®, apresentaram significativa redução microbiana, o que comprovou efeito antimicrobiano do produto.

O sistema de remoção química da cárie Papacárie® não apresentou efeitos bactericidas sobre os microrganismos testados. Analisando-se seus constituintes, parece possível afirmar que o gel de carboxi-metil-celulose não deve apresentar efeito antimicrobiano. Por outro lado, esperava-se efeito bacteriostático e possivelmente bactericida para a papaína, o que não foi verificado pela metodologia utilizada no presente trabalho. Esperava-se também, efeito antimicrobiano da cloramina T, o que não ocorreu nos resultados deste estudo. Na metodologia utilizada nesse estudo, pretendia-se inicialmente avaliar também a concentração inibitória dos produtos frente às cepas de microrganismos testados, avaliando-se a turvação do meio de cultura acrescido do produto (Concentração Inibitória Mínima, CIM). Como o Papacárie® apresenta cor verde e viscosidade acentuada, tornou-se difícil avaliar a turvação e portanto os dados de inibição não foram considerados, avaliando-se apenas a concentração bactericida por meio de semeadura em meio de cultura sólido.

Os sistemas de remoção química da cárie foram desenvolvidos com a finalidade de remover a lesão, mantendo o máximo possível de estrutura dentária de modo atraumático e indolor. Segundo Igarashi, Hashimoto e Tomani (1999) [9], o gel Carisolv® não altera a dureza da dentina sadia e da camada interna de dentina cariada, amolece por outro lado a dentina cariada externa, a qual pode ser facilmente removida com instrumentos manuais. O procedimento de remoção químico-mecânica da cárie é indicado para cárie radicular, cárie coronária com lesões acessíveis, cárie recorrentes e cárie próxima à polpa dentária.

Embora o sistema Papacárie® não tenha apresentado efeitos bactericidas no presente trabalho, o que seria desejável, durante a aplicação clínica do sistema, a remoção mecânica da dentina infectada que é facilitada pelo produto, deverá diminuir conseqüentemente a quantidade de bactérias presentes na lesão. Vantagens apresentadas pelo sistema Papacárie® quando comparado com o Carisolv® são preço mais acessível e a não necessidade de aquisição de instrumentos específicos para a utilização do sistema. Novos estudos sobre os efeitos antimicrobianos dos sistemas de remoção químico-mecânicos de lesões de cárie devem ser

realizados, inclusive avaliando-se outras bactérias e utilizando-se novas metodologias.

Conclusão

Avaliando-se os resultados do presente trabalho, parece-nos lícito concluir que o sistema de remoção química da cárie Dentisolv®, apresentou concentração bactericida mínima de 5% para uma cepa de *Streptococcus mutans* e para duas cepas de *Lactobacillus acidophilus*. Apresentou também concentração bactericida 10% para outras quatro cepas de *Streptococcus mutans*. O sistema de remoção química da cárie Papacárie®, não apresentou efeito bactericida para os microrganismos testados.

Referências

- [1] DUARDO, C. P. *et al.* Recursos alternativos para o preparo cavitário: abrasão a ar, laser e instrumentos sônicos. In: CONCEIÇÃO, E. N. **Dentística: saúde e estética**. cap. 22, p. 323-33, 2000.
- [2] BANERJEE, A.; KIDD, E. A. M.; WATSON, T. F. In vitro evaluation of five alternative methods of carious dentine excavation. **Caries Res**, v.34, n. 2, p.144-50, 2000.
- [3] PORTO, C.L.A.; BANDEIRA, M.F.C.L.; POZZOBON, R.T. *Carisolv®*: nova alternativa de tratamento da dentina cariada – relato de caso clínico. **JBC: J Bras Clin Estet Odontol**, v.5, n.25, p.69-73, 2001.
- [4] ERICSON, D.; ZIMMERMAN, M.; RABER, H. Clinical evaluation of efficacy and safety of a new method for chemomechanical removal of caries. **Caries Res**, v.33, n.3, p.171-250, 1999.
- [5] BAYSAN, A.; WHILEY, R.; LYNCH, E. Antimicrobial assessment of Carisolv® on primary root caries ex-vivo. **J Dent Res**, v.79, n.5, p.1296, abstract 58, 2000.
- [6] ANUSAVICE, K.J.; KINCHELOE, J.E. Comparison of pain associated with mechanical and chemomechanical removal of caries. **J Dent Res**, v.66, n.11, p.1680-3, 1987.
- [7] FUSAYAMA, T. Two layers of carious dentin: diagnosis and treatment. **Oper Dent**, v.4, n.2, p.63-70, 1979.
- [8] ERICSON, D. *In vitro* efficacy of a new gel for chemomechanical caries removal. **J Dent Res**, v.77, n.5, p.1252, 1998.
- [9] IGARASHI, I.; HASHIMOTO, K.; TOMANI, K. Softening of carious dentine by Carisolv™ gel. **Carisolv® – Book of Abstracts** Dept. of Clinical Research, Medi Team, p. 23, abstract 16, 1999.
- [10] MASSLER, M. Pulpal reactions to dental caries. **Int Dent J**, v.17, p.441-60, 1967.