

# AÇÃO ANTIMICROBIANA DE CIMENTOS DE IONÔMERO DE VIDRO RESTAURADORES \*

## ANTIBACTERIAL EFFECTS OF RESTORATIVE GLASS IONOMER CEMENTS

Tânia Mara GARIB \*\*

Odila Pereira da Silva ROSA \*\*\*

Regina Stela Stilac ROCHA \*\*\*

### RESUMO

Investigou-se, através do método de difusão em ágar, a atividade antimicrobiana dos cimentos de ionômero de vidro restauradores Ceram fil, Chelon-FIL, Chelon-SILVER, Shofu GlasIonomer e Vidrion R, sobre o *Streptococcus mutans* GS-5, e as concentrações de flúor por eles liberadas no ágar. Constatou-se que todos os cimentos frescos e após a presa, exceto o Ceram fil após a presa, inibem o crescimento bacteriano e em ambos os estados liberam concentrações de flúor compatíveis com aquelas consideradas antibacterianas para o *S. mutans*. Em ordem decrescente, mais flúor foi liberado pelo Vidrion R, seguido pelo Chelon-FIL, Shofu GlasIonomer, Chelon-SILVER e Ceram fil, não havendo correspondência entre o tamanho dos halos de inibição e as concentrações de flúor liberadas.

### UNITERMOS

Agentes antibacterianos; Materiais odontológicos; Flúor; Ionômero de vidro, atividade antimicrobiana.

\* Parte da Dissertação de Mestrado do Curso de Pós-Graduação em Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Bauru-USP.

\*\* Aluna do Curso de Pós-Graduação em Odontopediatria, ao nível de Mestrado da Faculdade de Odontologia de Bauru-USP.

\*\*\* Professora Doutora da disciplina de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Odontologia de Bauru-USP.

## INTRODUÇÃO

A preocupação com a ação antimicrobiana de materiais restauradores não é recente<sup>22</sup> 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<sup>4,13,20</sup>. Estudos demonstram que 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<sup>4,13,20,21</sup>.

Ainda que na prática odontológica seja prevalente a realização de restaurações de amálgama e de resina composta, devido as boas propriedades físicas destes materiais, a utilização de cimento de ionômero de vidro tem se tornado freqüente, principalmente em dentes decíduos e permanentes jovens, provavelmente porque este material, embora não apresente as propriedades físicas ideais, possui uma ação potencialmente preventiva na medida em que libera flúor por um longo período de tempo e adere quimicamente ao esmalte e dentina<sup>25</sup>. Quanto à liberação de flúor, a maioria das pesquisas que investigam esta propriedade dos cimentos de ionômero de vidro a relaciona com a ação química do flúor, ou seja, seu papel no processo de desmineralização e remineralização que ocorre tanto na superfície dentária como na interface dente/material restaurador.

Tais estudos, todavia, também revelam que as concentrações de flúor liberadas nos estágios iniciais após a colocação da restauração são suficientes para produzir um efeito antimicrobiano<sup>8,9</sup>. Assim, ainda que a ação antimicrobiana dos cimentos de ionômero de vidro não esteja perfeitamente elucidada é provável que este material exerça ação preventiva também devido ao seu poder antimicrobiano. Neste sentido, o propósito desta pesquisa foi verificar a ação dos cimentos de ionômero de vidro sobre o *Streptococcus mutans* GS-5, representante dos microrganismos associados à cárie dentária, e também as concentrações de flúor liberadas por eles e se elas são compatíveis com aquelas consideradas inibidoras do crescimento bacteriano.

## MATERIAL E MÉTODOS

O efeito antimicrobiano de cinco cimentos de ionômero de vidro restauradores, Ceram fil (DFL), Chelon-FIL (ESPE-GMBH), Chelon-SILVER (ESPE-GMBH), Shofu GlasIonomer (SHOFU) e Vidrion R (SSWHITE), frescos e após a presa contra *S. mutans* GS-5 foi verificado utilizando-se o teste de difusão em ágar, que permite observar a ação dos materiais sobre o crescimento do microrganismo. Como controle utilizou-se o Dycal fórmula avançada II (CAULK-DENTISPLY).

Para a obtenção do inóculo, uma alçada de cultura de *S. mutans* mantida em caldo infusão de cérebro e coração (BHI-DIFCO) foi semeada, em estrias, em placa de ágar BHI (DIFCO) enriquecido com 5% de sangue de carneiro. Após incubação por 24 h a 37°C em anaerobiose, em jarra GasPak (BBL), o crescimento foi raspado e transferido para um tubo com 4 ml de solução fisiológica estéril, até a obtenção de uma turvação semelhante ao tubo nº5 da escala de McFarland<sup>15</sup>.

Placas de Petri contendo 20 ml de ágar Müeller Hinton (MH-DIFCO) enriquecido com 5% de sangue de carneiro foram preparadas para o teste com os cimentos frescos e com 26ml para o teste com os cimentos após a presa. Previamente a cada experimento as placas de ágar MH-sangue foram colocadas em estufa a 37°C para a eliminação de excesso de umidade.

Em condições assépticas, as placas foram semeadas com uma zaragatoa estéril, após ter sido mergulhada na suspensão de *S. mutans* e comprimida contra as paredes do tubo para remoção do excesso<sup>6</sup>. Em seguida foram mantidas em estufa a 37°C por um período de 3 a 5 minutos para secar<sup>2</sup>. Obedecendo uma disposição espacial previamente estabelecida e utilizando um furador metálico estéril, seis cavidades de 6 mm de diâmetro foram feitas no ágar<sup>23</sup>.

Nos experimentos com cimentos frescos, estes foram preparados obedecendo as recomendações dos fabricantes quanto à proporção pó/líquido e tempo de mistura e inseridos nas cavidades, empregando instrumental e materiais esterilizados, exceto os

cimentos. Após quinze minutos em temperatura ambiente<sup>2</sup>, para a difusão dos componentes dos cimentos antes do início do crescimento bacteriano, as placas foram incubadas em jarra com vela (microaerofilia), a 37°C, por 48h. Os testes foram feitos em decuplicata.

Com os cimentos após a presa foram seguidos os passos descritos, com a diferença de que, após o preparo, os mesmos foram inseridos em matrizes de plástico de 6mm de diâmetro por 3mm de altura e pressionados entre duas tiras de poliéster. Findo o tempo de presa os cimentos foram removidos das matrizes e colocados nas cavidades preparadas nas placas semeadas. Os testes foram feitos em sextuplicata.

Após o período de incubação, os halos de inibição do crescimento do *S. mutans* formados ao redor dos cimentos foram medidos com o auxílio de uma régua milimetrada. Foram realizadas duas medidas perpendiculares entre si de cada halo e a média entre elas representou o tamanho do halo de inibição. Tendo como referência o tamanho médio do halo de inibição formado ao redor de cada cimento, repetiu-se o teste de difusão em ágar em seis novas placas, sendo três com cimentos frescos e três com cimentos após a presa, para avaliar a liberação de flúor.

Após a incubação, quatro blocos de ágar de 3mm de diâmetro e altura de 1,92mm (placas com cimentos frescos) e altura de 3,16mm (placas com cimentos após a presa), cortados com furador metálico, foram removidos da região adjacente ao cimento (próximo ao cimento), da área limite do halo médio de inibição (no limite do halo) e da área além do limite (fora do halo)<sup>6</sup>. Estas regiões foram previamente demarcadas, considerando-se o tamanho médio dos halos de inibição, com dispositivos circulares confeccionados com tira de aço inoxidável de 4mm de largura e diâmetros variando entre 6 e 23mm.

Os blocos de ágar de cada localização foram colocados em um tubo de ensaio contendo 2,5ml de água deionizada. Após aquecimento a 100°C para fundir o ágar, o conteúdo foi transferido para um frasco plástico e o volume completado para 10ml através da adição de água deionizada e 1ml de solução ajustadora de força iônica T<sub>3</sub>(TISAB III-ANALION). A concentração de íons flúor foi obtida mediante leitura potenciométrica, utilizando-se um eletrodo específico para flúor e outro

de referência (ORION) acoplados a um analisador de íons (PROCYON). Antes da leitura, o aparelho foi calibrado com soluções padrão de fluoreto de sódio com 1 e 10 mgF/l (ppm) em TISAB III. A concentração de flúor presente em cada amostra foi quantificada em temperatura ambiente e sob agitação magnética. Na avaliação estatística dos resultados foram utilizados a análise de variância e o teste t de Student, ambos ao nível de 5% de rejeição.

## RESULTADOS

Todos os cimentos quando testados frescos e, exceto o Ceram fil após a presa, produziram inibição do crescimento bacteriano, demonstrado pela presença de halos de inibição conforme apresentado na Tabela I.

TABELA I - médias e desvios-padrão dos halos de inibição produzidos pelos cimentos de ionômero de vidro frescos e após a presa sobre o *S. mutans*.

CIMENTOS	HALOS DE INIBIÇÃO (CM)	
	frescos*	após a presa
Shofu	1,82 (0,2)	2,17 (0,3)
Ceram fil	1,45 (0,2)	mínimo
Chelon-SILVER	1,42 (0,2)	1,28 (0,3)
Chelon-FIL	1,80 (0,3)	2,25 (0,2)
Vidrión R	1,60 (0,2)	1,56 (0,2)
controle (Dycal II)	1,37 (0,1)	1,48 (0,1)

\* Testes feitos em decuplicata.  
\*\* Testes feitos em sextuplicata.

Quanto à liberação de flúor, todos os cimentos frescos e após a presa liberaram altas concentrações de flúor e os resultados verificados nas três regiões, com base no halo médio de inibição são expressos em µg/ml (ppm) na Tabela II para os cimentos frescos e na Tabela III para os cimentos após a presa.

TABELA II - concentrações médias (ppm) e desvios-padrão do flúor liberado no ágar por cimentos de ionômero de vidro frescos\*, nas três regiões do halo médio de inibição do crescimento do *S. mutans*.

CIMENTOS	FLÚOR LIBERADO (PPM)			
	próximo ao cimento	no limite do halo	fora do halo	total
Shofu (1,82)**	242,00 (49,5)	118,00 (41,9)	55,33 (17,0)	415,33
Ceram fil (1,45)	36,00 (11,1)	28,67 (12,0)	19,33 (7,0)	84,00
Ch-SILVER (1,42)	112,06 (62,0)	72,00 (55,7)	36,00 (20,0)	220,06
Ch-FIL (1,80)	333,33 (50,1)	136,00 (34,0)	41,33 (7,5)	510,66
Vidrión R (1,60)	366,67 (83,3)	186,00 (81,6)	53,33 (21,6)	606,00

\* Teste realizado em triplicata.  
\*\* Tamanho dos halos de inibição (cm).

TABELA III - concentrações médias (ppm) e desvios-padrão de flúor liberado no ágar por cimentos de ionômero de vidro após a presa\*, nas três regiões do halo médio de inibição do crescimento de *S. mutans*.

CIMENTOS	FLÚOR LIBERADO (ppm)			total
	próximo ao cimento	no limite do halo	fora do halo	
Shofu (2,17)**	139,49 (72,1)	54,76 (36,3)	37,00 (18,1)	235,25
Ceram fil (mínimo)	17,02 (7,4)	-	13,69 (5,0)	-
Ch-SILVER (1,28)	55,87 (29,6)	37,74 (13,6)	24,05 (5,2)	117,66
Ch-FIL (2,25)	310,80 (19,2)	56,98 (9,4)	42,55 (8,5)	410,33
Vidrión R (1,56)	362,60 (66,9)	251,60 (71,4)	72,15 (27,9)	686,35

\* Teste realizado em triplicata  
 \*\* Tamanho dos halos de inibição (cm).

Quando comparado o flúor liberado por mm<sup>3</sup> de cimento de ionômero de vidro fresco e após a presa, os cimentos frescos liberaram concentrações mais altas que os após a presa, como demonstrado na Tabela IV. Após a comparação, pelo teste t de Student, verificaram-se diferenças significantes apenas nos cimentos Shofu GlasIonomer (t= 3,60 e t<sub>crit</sub> = 2,78) e Chelon-FIL (t= 4,91 e t<sub>crit</sub> = 2,78).

TABELA IV - Comparação entre o flúor liberado por mm<sup>3</sup> de cimento de ionômero de vidro quando testado fresco (F) e após a presa (AP).

ciment tos	próximo ao cimento		no limite do halo		fora do halo		total	
	F	AP	F	AP	F	AP	F	AP
Shofu	4,46	1,56	2,17	0,61	1,02	0,41	7,65	2,58
Ceram FIL	0,66	0,19	0,53	-	0,36	0,15	1,55	-
Ch- SILVER	2,08	0,63	1,33	0,42	0,66	0,27	4,07	1,32
Ch-FIL	6,14	3,48	2,51	0,54	0,76	0,48	9,41	4,60
Vidrión R	6,76	4,06	3,43	2,81	0,98	0,81	11,17	7,68

## DISCUSSÃO

Uma revisão da literatura revela que o teste de difusão em ágar é o método mais frequentemente usado para avaliar a atividade antimicrobiana dos materiais odontológicos<sup>22</sup>. Trata-se de uma prova essencialmente qualitativa e tecnicamente simples, que pode fornecer resultados razoavelmente exatos e precisos, desde que se atente cuidadosamente para todos os detalhes em sua realização. No presente estudo procurou-se padronizar todas as variáveis passíveis de controle.

A inibição do crescimento do *S. mutans* produzida pelos cimentos em ágar (Tabela I) sugere que todos eles possuem agentes antimicrobianos que se difundem no

meio, o que pode ser uma vantagem "in vivo", na medida em que são capazes de espalhar-se para o ambiente bucal e também penetrar nos túbulos dentinários.

De todos os cimentos aqui testados, apenas o Shofu GlasIonomer teve sua atividade antibacteriana analisada por SCHERER et al.<sup>18</sup>, que também observaram atividade inibitória deste cimento sobre o *S. mutans*. A inibição do *S. mutans*, entretanto, também foi vista por outros autores que testaram a atividade antimicrobiana de outros cimentos de ionômero de vidro<sup>1,12,14,18</sup>. Os resultados obtidos com o *S. mutans* não podem ser generalizados para outros microrganismos da boca, uma vez que diferentes bactérias variam consideravelmente quanto á resposta a um mesmo material. Isto é verdadeiro tanto para diferentes materiais<sup>1,3,7,12,14,15,17,18,23,24</sup> como para os diversos tipos de ionômero de vidro<sup>1,12,14,18,23</sup>.

A atividade antimicrobiana verificada em testes de difusão em ágar tem sido atribuída, no caso dos cimentos de ionômero de vidro, ao baixo pH durante a reação de presa e ao grande conteúdo de flúor<sup>1,5,6,14</sup>. Contudo, seria importante identificar se existem outros agentes que tenham contribuído para a atividade antimicrobiana observada. Para o Chelon-SILVER, por exemplo, a prata deve também ter contribuído para seu efeito antibacteriano, uma vez que este elemento reduz a acidogenicidade mesmo em baixas concentrações<sup>16</sup>. Quanto à influência do pH na atividade antimicrobiana dos cimentos de ionômero de vidro em testes de difusão em ágar, há na literatura dois estudos significativos, demonstrando que, após a inserção destes materiais, o pH do ágar adjacente baixa significativamente<sup>5,6</sup>.

Neste estudo fez-se apenas a quantificação do flúor no ágar, sem, todavia, medir-se o pH. Entretanto, pela comprovada queda do pH durante a reação de presa dos cimentos de ionômero de vidro<sup>19</sup>, considerou-se que a acidez do meio tenha contribuído para a atividade antimicrobiana observada. Quanto ao flúor, todos os cimentos no estado fresco liberaram em concentrações suficientes para inibir o crescimento do *S. mutans* (Tabela II), mas em quantidades variadas, como já tinha ocorrido com o tamanho dos halos de inibição. A este respeito inclusive não se observou correspondência entre os tamanhos dos halos e a liberação de flúor. A atividade inibitória não pode ser atribuída

exclusivamente à concentração de flúor liberado, considerando a variabilidade das concentrações capazes de inibir o crescimento bacteriano ao redor dos diferentes cimentos. Isto se comprova verificando o flúor liberado fora do halo de inibição, expresso na Tabela II. Lá se observa que enquanto para o Shofu GlasIonomer a concentração de 55,33 ppmF não mais foi capaz de produzir inibição, para o Vidrion R esta foi de 53,33 ppmF, para o Chelon-FIL de 41,33 ppmF, para o Chelon-SILVER de 36,00 ppmF e para o Ceram fil de 19,33 ppmF.

O comportamento dos cimentos após a presa seguiu a mesma ordem de liberação observada com os cimentos frescos, sendo que o traço de inibição pelo Ceram fil não permitiu a quantificação do flúor no limite do halo (Tabela III). Para eles são válidas as mesmas considerações feitas para os cimentos frescos.

Tanto após a presa, como no estado fresco, existiu um gradiente de concentração com a maior concentração de flúor adjacente a cada material, com diferenças estatisticamente significantes entre os cimentos ( $F=21,87$  e  $F_{crit.}=3,48$ ) e entre um e outro estado ( $F=9,63$  e  $F_{crit.}=3,48$ ) obedecendo a seguinte ordem decrescente de liberação: Vidrion R, Chelon-FIL, Shofu GlasIonomer, Chelon-SILVER e Ceram fil. Os cilindros de ágar utilizados como controle, retirados da região central das placas, exibiram concentrações mínimas de flúor de em média 1,2 ppm.

Após a homogeneização dos dados através da representação do flúor liberado por  $\text{mm}^3$  de cimento, constatou-se que todos os cimentos liberaram mais flúor no estado fresco (Tabela IV). Estas diferenças, entretanto, só foram significantes para os cimentos Shofu GlasIonomer e Chelon-FIL.

Dependendo da concentração de flúor a que são submetidas, todas as bactérias estão sujeitas a diferentes efeitos inibitórios. Estes efeitos podem ser desde apenas a inibição de uma etapa do metabolismo até a morte celular<sup>10</sup>. As condições ambientais, entretanto, principalmente o pH, exercem papel importante sobre a concentração necessária e o mecanismo de ação antibacteriana do flúor<sup>10,20</sup>. Em pH 7,0, cepas de *S. mutans* podem crescer frente a até 135 ppmF, mas esta quantia é reduzida para 40 e 15 ppmF em pHs 6,0 e 5,5, respectivamente<sup>10</sup>. Para o *S. mutans* GS-5 ficou

demonstrado que um pH ácido por si só pode ser bactericida; entretanto, a bacteriólise é intensificada pelo flúor<sup>11</sup>.

A partir dessas informações e à vista dos resultados observados, pode-se teorizar que os níveis de flúor liberados pelos cimentos de ionômero de vidro, exceto o Ceram fil, foram bactericidas no teste de difusão em ágar, potencializados pelo baixo pH produzido no ágar pelos materiais.

Partindo do princípio de que uma restauração, por menor que seja, não possui menos que  $5\text{mm}^3$  e que concentrações de flúor desde 0,02 ppm têm efeito anti-cariogênico químico e/ou antibacteriano, dependendo da concentração, não resta dúvida que as concentrações de flúor liberadas pelos cimentos de ionômero de vidro utilizados aqui, variando de 0,66 a 6,76 ppmF/ $\text{mm}^3$  para os cimentos frescos e de 0,19 a 4,06 ppmF/ $\text{mm}^3$  para os após a presa (Tabela IV), possam contribuir de forma efetiva para o efeito anticariogênico do material.

O que ocorre com a atividade antimicrobiana destes cimentos com o passar do tempo, quando apenas pequena quantidade de flúor é liberada, ainda não está bem esclarecido. Comparativamente ao sugerido por HAMILTON; BOWDEN<sup>10</sup>, para as pequenas concentrações de flúor, de 0,01 a 0,05 ppm observadas na saliva de indivíduos residentes em regiões com em média 1 ppmF na água de abastecimento, as baixas quantidades de flúor liberadas pelos cimentos com o passar do tempo poderiam ter um significado importante, o de evitar o domínio de microrganismos acidúricos, mais cariogênicos.

## CONCLUSÕES

- ◆ Os cimentos de ionômero de vidro Chelon-FIL, Chelon SILVER, Shofu GlasIonomer e Vidrion R no estado fresco e após a presa apresentam "in vitro" atividade antimicrobiana contra o *S. mutans* GS-5. O Ceram fil apenas no estado fresco.
- ◆ No teste de difusão em ágar, todos os cimentos no estado fresco e após a presa liberaram flúor na seguinte ordem decrescente: Vidrion R, Chelon-FIL, Shofu GlasIonomer, Chelon-SILVER e Ceram fil, sem haver, contudo, correspondência com o tamanho do halo de inibição.

- ◆ As concentrações de flúor liberadas pelos cimentos podem ter sido responsáveis pela atividade antibacteriana detectada.

## AGRADECIMENTOS

As autoras agradecem sinceramente aos professores Drs. Eymar Sampaio Lopes e Antonio Lázaro Valeriani Marques pelas sugestões e colaboração, aos Srs. Wanderley Pires de Andrade e José Osni Vitorato, pelo auxílio técnico e à Sra. Maryla de Lourdes Aguado, pelo trabalho de digitação.

## ABSTRACT

It was the purpose of this study, using agar diffusion assay methodology, to determine the antimicrobial effect of restorative glass ionomer cements Ceram fil, Chelon-FIL, Chelon-SILVER, Shofu GlasIonomer and Vidrion R against *Streptococcus mutans* GS-5, and also if the concentration of fluoride released would be compatible with those capable of inhibiting the bacterial growth. The results showed that all of the cements, both freshly prepared and following cure, except Ceram fil after cure inhibit the bacterial growth and in both conditions also release fluoride in concentrations enough to produce antibacterial effects against *S. mutans*. In both situations higher fluoride release occurred from Vidrion R followed by Chelon-FIL, Shofu GlasIonomer, Chelon-SILVER and Ceram fil. However, correlation between the inhibition zone sizes and the released fluoride concentrations was not found.

## UNITERMS

Antibacterial agents; Dental materials; Fluoride; Glass ionomers, antimicrobial effect.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1-BARKHORDAR,R.A. et al. Technical note: Antimicrobial action of 9 glass-ionomer lining cement on *S. sanguis* and *S. mutans*. Dent. Mat., v.5, n. 4, p. 281-2, July 1989.
- 2-BARRY,A.L.; THORNSBERRY,C. Pruebas de susceptibilidad: Tecnicas para pruebas de difusion. In: LENETTE,E.H. et al. Manual de microbiologia clínica. 4. ed. Buenos Aires, Panamericana, 1989. p. 1213-24.
- 3.BARRY-BABIN,J; HURST,R.V.V.;FEARY,T. Antibacterial effects of dental cements. J. dent. Res., v.57, p. 128, Jan. 1978. Special issue./Abstract n.214.
- 4.BERG,L.R. Class II glass ionomer silver cement restorations and their effect on interproximal growth of mutans streptococci. Pediat. Dent., v.12, n.1, p. 20-3, Feb. 1990.
- 5-DESCHEPPER,E.J.; THRASHER,M.R.; THURMOND,B.A. Antibacterial effects of light-cured liners. Amer. J. Dent., v.2, n.3, p. 74-6, June 1989.
- 6-DESCHEPPER,E.J.; WHITE,R.R.; VON DER LEHR,W. Antibacterial effects of glass ionomers. Amer. J. Dent., v.2, n.2, p. 51-6, Apr. 1989.
- 7-FISHER,F.J. The effect of three proprietary lining materials on microorganisms in carious dentine. An "in vivo" investigation. Brit. dent. J., v.143, n.7, p. 231-5, Oct. 1977.
- 8-FORSTEN,L. Fluoride release from a glass ionomer cement. Scand. J. dent. Res., v.85, n.6, p. 503-4, Sept. 1977.
- 9-FORSTEN,L. Short and long term fluoride release from glass ionomers and other fluoride-containing filling materials "in vitro". Scand. J. dent. Res., v.98, n.2, p. 179-85,1990.
- 10-HAMILTON,I.R.; BOWDEN,G. Effect of fluoride on oral microorganisms. In: EKSTRAND,J.; FEJERSKOV,O.; SILVERSTONE,L.M. Fluorides in dentistry. Copenhagen, Munksgaard, 1988. p. 77-103.
- 11-IZAGUIRRE-FERNANDEZ,E.J.; EISENBERG,A.D.; CURZON,M.E.J. Interaction of zinc with fluoride on growth, glycolysis and survival of *Streptococcus mutans* GS-5. Caries Res., v.23, n.1, p. 18-25, Jan./Feb. 1989.
- 12-JEDRYCHOWSKI,J.R.; CAPUTO,A.A.; KERPER,S. Antibacterial and mechanical properties of restorative materials combined with chlorhexidine. J. oral Rehab., v.10, n.5, p. 373-81, Sept./Oct. 1983.
- 13-KOCH,G.; HATIBOVIC-KOFMAN,S. Glass ionomer cements as a fluoride release system "in vivo". Swed. dent. J., v.14, p. 267-73, 1990.
- 14-McCOMB,D.; ERICSON,D. Antimicrobial action of new, proprietary lining cements. J. dent. Res., v.66, n.5, p. 1025-8, May 1987.
- 15-MORRIER,J.J. et al. Evaluation in vitro de l'activité antibactérienne de cinq ciments. Rev. franc. Endod., v.7, n.4, p. 23-8, Dec. 1988.
- 16-OPPERMANN,R.V.; JOHANSEN,J.R. The effect of fluoride and non-fluoride salts of copper, silver and tin on the acidogenicity of dental plaque "in vivo". Scand. J. dent. Res., v.88, n.4, p. 476-80, 1980.
- 17-ÖRSTAVIK,D.; HENSTE,N.; PETERSEN,A. Antibacterial activity of tooth-colored dental restorative materials. J. dent. Res., v.57, n.2, p. 171-4, Feb. 1978.
- 18-SCHERER,W.; LIPPMAN,N.; KAIN,J. Antimicrobial properties of glass-ionomer cements and other restorative materials. Oper. Dent., v.14, n.2, p. 77-81, Spring 1989.
- 19-SMITH,D.N.; RUSE,N.D. Acidity of glass ionomer cements during setting and its relation to pulp sensitivity. J. Amer. dent. Ass., v.112, n.5, p. 654-7, May 1986.
- 20-SVANBERG,M.; KRASSE,B.; ÖRNERFELDT,H.O. Mutans streptococci in interproximal plaque from amalgam and glass ionomer restorations. Caries Res., v.24, n.2, p. 133-6, Mar./Apr. 1990.
- 21-SVANBERG,M.; MJÖR,I.A.; ÖRSTAVIK,D. Mutans streptococci in plaque from margins of amalgam, composite, and glass-ionomer restorations. J. dent. Res., v.69, n.3, p. 861-4, Mar. 1990.
- 22-TOBIAS,R.S. Antibacterial properties of dental restorative materials: a review. Int. Endod. J., v.21, n.2, p. 155-60, Jan./Feb. 1988.
- 23 - TOBIAS,R.S.; BROWNE,R.M.; WILSON,C.A. Antibacterial activity of dental restorative materials. Int. Endod. J., v.18, n.1, p. 161-71, July. 1985.
- 24 - TOBIAS,R.S. et al. A further study of the antibacterial properties of dental restorative materials. Int. Endod. J. v.21, n.6, p. 381-2, Nov. 1988.
- 25 - WILSON,A.D.; MCLEAN,J.W. Glass-ionomer cement. Baden-Baden, Quintessence, 1988.