

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE CIMENTOS DE IONÔMERO DE VIDRO RESTAURADORES CONVENCIONAIS E MODIFICADOS COM RESINA "IN VITRO"*

*IN VITRO ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF CONVENTIONAL AND RESIN-MODIFIED GLASS
IONOMER CEMENTS*

Beatriz COSTA

Aluna do Curso de Pós Graduação em Odontopediatria, ao nível de Doutorado, da Faculdade de Odontologia de Bauru - USP e Odontopediatra do Hospital de Pesquisa e Reabilitação de Lesões Lábio-Palatais - USP - Bauru.

Odila Pereira da Silva ROSA

Regina Stela Stilac ROCHA

Professoras Doutoradas da Disciplina de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Odontologia de Bauru - USP.

Eulázio Mikio TAGA

Professor Doutor da Disciplina de Bioquímica da Faculdade de Odontologia de Bauru - USP.

A atividade antimicrobiana de cimentos de ionômero de vidro restauradores convencionais (Chelon fil e Chelon silver) e modificados com resina (VariGlass e Vitremer) foi avaliada "in vitro", por um período de 7 dias, pelos testes de fermentação e formação de placa em caldo de cultura inoculado com **S. mutans**#GS-5. Como controle foram utilizados espécimes de aço inoxidável. O pH do meio foi medido diariamente e o conteúdo de carboidratos e proteínas da placa acumulada sobre os espécimes foi determinado no final do período. Na avaliação do pH dos meios de cultura semeados, somente o Vitremer reduziu significativamente a produção de ácidos, mantendo o pH acima do valor crítico, nas primeiras 24 horas do experimento. Em relação ao controle, houve um menor acúmulo de carboidratos sobre todos os cimentos, porém com quantidades significativamente menores apenas sobre o Vitremer. Não houve diferenças significantes nas quantidades de proteínas depositadas sobre os cimentos e o controle.

Unitermos : Cimentos de ionômero de vidro; *Streptococos mutans*; Placa dentária; Flúor.

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

INTRODUÇÃO

O cimento de ionômero de vidro tem sido utilizado como um material restaurador com potencial de inibir 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.

No entanto, alguns estudos clínicos associaram a menor ocorrência de cáries secundárias adjacentes às restaurações de cimento de ionômero de vidro não somente à este efeito, mas a redução dos níveis de *S. mutans* na placa das margens de tais restaurações, quando comparadas com as restaurações de amálgama e resina composta^{24,25}.

As propriedades antimicrobianas de cimentos de ionômero de vidro forradores ou restauradores foram também demonstradas em estudos laboratoriais e atribuídas ao alto conteúdo de flúor^{4,5,9} e ao baixo pH inicial do material^{1,4,5,18}.

Em vista da diversidade de cimentos de ionômero de vidro disponíveis para utilização em tratamentos restauradores, torna-se importante conhecer suas características biológicas, uma vez que poderão influir na qualidade da placa bacteriana que se forma sobre eles.

O objetivo deste estudo portanto, foi comparar "in vitro", pelos testes de fermentação e formação de placa em caldo de cultura, a atividade antimicrobiana contra a cepa GS-5 do *S. mutans*, de dois cimentos de ionômero de vidro restauradores convencionais, Chelon fil e Chelon silver (ESPE, GMBH&Co), um modificado com resina, Vitremer (3M, USA) e de uma resina composta modificada com componentes do cimento de ionômero de vidro, VariGlass (CAULK, Dentsply).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram preparados, para cada material, seis espécimes em forma de disco, de 11 mm de diâmetro e 1,5 mm de espessura através da utilização de uma matriz de aço inoxidável. Os componentes (pó e líquido) eram pertencentes ao mesmo lote de fabricação e foram manipulados em condições igualmente padronizadas às de outro estudo³. Com exceção dos cimentos, todos os materiais e instrumentos utilizados foram previamente esterilizados e os experimentos realizados sob condições assépticas.

Após um período de reação de presa padronizado (40 segundos por quadrante para os cimentos de ionômero de vidro fotoativados e 20 minutos para os químico-ativados), os espécimes foram removidos das matrizes e suspensos em tubos de ensaio com caldo Mitis Salivaris (MS) através

de fio de algodão incluído no espécime e fixado na tampa de borracha, ocupando a altura central do meio de cultura e afastados das paredes do tubo. O inóculo para o caldo MS consistiu de 50 µl de cultura de 24 horas, a 37°C, em aerobiose, do *S. mutans* # GS-5 em caldo BHI.

Como controle positivo foram utilizadas pastilhas de aço inoxidável (PA) de 11 mm de diâmetro e 1,5 mm de espessura (n=5), polidas e fixadas ao fio de algodão com adesivo (Araldite - CIBA-GEIGY) e imersas em meio semeado. Como controle negativo foram utilizados os espécimes dos cimentos e pastilhas de aço inoxidável imersos em caldo MS sem semear, sendo o teste realizado em duplicata.

A incubação dos tubos foi feita a 37°C, em atmosfera convencional, com leitura dos resultados e transferência dos espécimes para novos tubos com caldo MS a cada 24 horas, durante 7 dias consecutivos.

1- Leitura do pH do caldo de cultura

Após a transferência dos espécimes, o caldo remanescente foi analisado sob o ponto de vista da ação dos cimentos sobre a fermentação dos açúcares presentes no caldo MS pelo *S. mutans* #GS-5, através da medição do pH em um pHmetro digital (INCIBRAS - precisão 0,01). Este procedimento foi repetido diariamente, durante 7 dias.

2- Quantificação dos carboidratos e proteínas da placa formada "in vitro"

2.1- Obtenção das amostras de placa

Após os 7 dias, os espécimes foram removidos do caldo de cultura e cada espécime mergulhado em um tubo de ensaio contendo 8 ml de água destilada para a eliminação do meio de cultura e remoção do material frouxamente aderido. A seguir, os espécimes foram transferidos para tubos de ensaio secos e estéreis para escorrer a água da lavagem. Com o auxílio de uma tesoura de ponta curva e no interior de um becker pequeno, a linha que estava incluída no espécime foi cortada bem rente, e adicionou-se 2 ml de KOH 0,1 N, volume suficiente para cobrir o espécime. O material aderido foi raspado de sua superfície com o auxílio de uma pipeta de Pasteur e, em seguida, o espécime foi removido com uma pinça, observando se houve a completa remoção do material aderido.

As suspensões obtidas foram transferidas para recipientes de poliestireno e realizou-se uma homogeneização com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, aspirando-se e soltando-se várias vezes. A seguir, as suspensões foram mantidas em freezer, a uma temperatura

de -20°C, até o momento da quantificação de carboidratos e proteínas.

2.2- Quantificação de carboidratos

As suspensões foram descongeladas em temperatura ambiente e colocadas em tubos de ensaio, aos quais adicionou-se individualmente 2 ml de NaOH a 50% e procedeu-se a uma homogeneização manual com bastão de teflon.

O teste de quantificação de carboidratos foi realizado com as 6 amostras de cada cimento e com 5 amostras de pastilhas de aço, em duplicata, de acordo com o método fenol-ácido sulfúrico de DUBOIS et al.⁶. A leitura do conteúdo de carboidrato foi realizada em um espectrofotômetro digital (MICRONAL - B 34211) no comprimento de onda de 490 nm.

A quantidade de carboidratos contida em cada tubo foi determinada utilizando-se uma curva padrão com diferentes concentrações de glicose. A quantidade total de carboidratos das amostras foi obtida multiplicando-se o resultado anterior pelos fatores de diluição. O resultado final foi expresso em μg de carboidratos por mm^2 .

2.3- Quantificação de proteínas

O teste de quantificação de proteínas foi realizado de acordo com o Método de LOWRY et al.¹⁵, utilizando-se as 6 amostras de cada material, em duplicata. As leituras do conteúdo de proteína foram realizadas utilizando-se o espectrofotômetro digital no comprimento de onda de 660 nm.

O cálculo da quantidade de proteína contida em cada tubo foi feito utilizando-se uma curva padrão, com diferentes concentrações de albumina de soro bovino (SIGMA). A quantidade total de proteínas das amostras foi obtida multiplicando-se o resultado anterior pelos fatores de diluição. O resultado final foi expresso em μg de proteína por mm^2 .

RESULTADOS

1- Teste de fermentação do meio de cultura

As médias diárias e desvios-padrão dos pHs dos caldos de cultura contendo os espécimes de cimento de ionômero de vidro e pastilhas de aço são vistos na Tabela 1.

Pode-se verificar que, à exceção do Vitremer no primeiro dia, os demais cimentos de ionômero de vidro não impediram que o *S. mutans* fermentasse os açúcares levando à queda do pH abaixo de 5,0, nos 7 dias do experimento.

Os meios de cultura não semeados exibiram pH entre

7,1 e 7,2 durante todo o período do teste, quer contivessem os cimentos de ionômero de vidro ou as pastilhas de aço, observando-se porém, nas primeiras 24 horas variações desprezíveis para o Chelon fil (pH 7,0) e Chelon silver (pH 6,9), e mais notável para o Vitremer (pH 6,7).

A análise de variância mostrou diferenças estatisticamente significantes nos pHs, em todos os dias ($p < 0,01$). Comparativamente ao controle positivo somente o resultado proveniente do Vitremer diferiu significativamente nos 7 dias.

2- Quantificação de carboidratos dos depósitos formados sobre os espécimes

Para todos os materiais testados nos meios de cultura não semeados não houve formação de placa e a quantificação de carboidratos foi igual a zero.

Nos meios de cultura semeados observou-se formação de placa sobre todos os materiais. Em ordem crescente a quantidade média de carboidratos (\pm dp) nesses depósitos, em $\mu\text{g}/\text{mm}^2$, foi de 13,75 \pm 5,07 sobre o Vitremer; 23,23 \pm 1,43 sobre o Chelon fil; 23,61 \pm 7,48 sobre o VariGlass; 28,11 \pm 4,41 sobre o Chelon silver e 29,40 \pm 3,75 sobre as pastilhas de aço inoxidável (Tabela 2).

A análise de variância indicou diferença significativa entre os grupos. Realizado o teste de Tukey verificou-se que somente o Vitremer apresentou quantidades significativamente menores de carboidratos, em relação aos outros cimentos e ao controle.

3- Quantificação de proteínas dos depósitos formados sobre os espécimes

No teste de quantificação de proteínas dos depósitos formados sobre os espécimes, nos meios de cultura semeados, verificou-se que, em ordem crescente, a quantidade média de proteínas, em $\mu\text{g}/\text{mm}^2$, foi de 2,41 \pm 0,97 para o Vitremer, 2,85 \pm 0,45 para o Chelon fil, 2,95 \pm 1,01 para o VariGlass, 3,08 \pm 0,44 para as pastilhas de aço inoxidável e 3,74 \pm 0,65 para o Chelon silver (Tabela 2).

Através da análise de variância verificou-se a ausência de diferenças estatisticamente significantes entre os valores de proteínas dos depósitos formados pelos diferentes cimentos e o controle.

DISCUSSÃO

Diversos estudos "in vitro" avaliaram a atividade antimicrobiana de cimentos de ionômero de vidro restauradores e forradores contra várias bactérias e utilizaram a metodologia do teste de difusão em ágar^{14,5,9,18}

TABELA 1 - Médias diárias (desvios-padrão) dos pHs dos meios de cultura semeados com *S. mutans*, contendo os espécimes dos cimentos de ionômero de vidro e os controles (n=6)

MATERIAIS	DIAS						
	1	2	3	4	5	6	7
Chelon fil	4,84 (0,05)	4,77 (0,06)	4,68 (0,06)	4,67 (0,07)	4,57 (0,04)	4,54 (0,04)	4,60 (0,05)
Chelon silver	4,65 (0,06)	4,55 (0,10)	4,31 (0,09)	4,38 (0,17)	4,31 (0,14)	4,32 (0,13)	4,40 (0,11)
VariGlass	4,46 (0,04)	4,44 (0,08)	4,45 (0,13)	4,42 (0,13)	4,37 (0,11)	4,39 (0,11)	4,44 (0,09)
Vitremer	5,81 (0,16)	5,28 (0,50)	4,84 (0,36)	4,75 (0,19)	4,63 (0,20)	4,61 (0,16)	4,62 (0,14)
Controle	4,42 (0,03)	4,78 (0,29)	4,26 (0,02)	4,31 (0,07)	4,28 (0,06)	4,28 (0,03)	4,41 (0,08)

TABELA 2 - Quantidades médias, em $\mu\text{g}/\text{mm}^2$, de carboidratos e proteínas (desvios-padrão) da placa formada sobre os espécimes dos cimentos de ionômero de vidro e controles (n=6)

MATERIAIS	CARBOIDRATOS		PROTEÍNAS	
	média	(dp)	média	(dp)
Chelon fil	23,23	(1,43)	2,85	(0,45)
Chelon silver	28,11	(4,41)	3,74	(0,65)
VariGlass	23,61	(7,48)	2,95	(1,01)
Vitremer	13,75	(5,07)	2,41	(0,97)
Controle	29,40	(3,75)	3,08	(0,44)

ou o método de caldo de cultura^{9,10,18,20}.

Neste trabalho foi utilizado o método do caldo de cultura, no qual se avaliou a fermentação de açúcares pelo *S. mutans* GS-5 e a quantidade de placa formada sobre os espécimes, através da quantificação de carboidratos e proteínas, presentes nesses depósitos.

Em relação ao teste de fermentação do meio de cultura foi verificado que, à exceção do Vitremer no primeiro dia, os demais cimentos de ionômero de vidro não impediram

que o *S. mutans* fermentasse os açúcares, levando à queda do pH abaixo de 5,0, durante os 7 dias do experimento, com um pH final para todos os materiais testados variando de 4,25 à 4,77 (Tabela 1).

Estes valores são semelhantes aos obtidos no estudo de GILMOUR; EDMUNDS; SHELLIS¹⁰ que encontraram um pH final variando de 4,56 à 4,59. Estão também de acordo com os achados de PALENICK et al.¹⁸ que verificaram que os pHs dos meios de cultura alcançaram

o valor de 5,2, inferior ao crítico, após 24 horas de crescimento bacteriano, e com o estudo de SEPPÄ; TORPPA-SAAFINEN; LUOMA²⁰ que observaram a queda do pH durante a fermentação da sacarose, tanto para um cimento de ionômero de vidro convencional como para um reforçado com partículas de prata, recém-preparados e envelhecidos sendo esta, no entanto, significativamente menor para os cimentos frescos.

Ao contrário, nos estudos de GARIB⁹, que utilizou um teste de caldo de cultura idêntico ao utilizado neste trabalho, todos os cimentos de ionômero de vidro recém-preparados testados prejudicaram o crescimento e o metabolismo bacteriano nas primeiras 48 horas. Além disso, em outro estudo, SEPPÄ; FORSS; ÖGAARD¹⁹ verificaram que um cimento de ionômero de vidro convencional recém-preparado inibiu significativamente a queda do pH, o mesmo não ocorrendo com o cimento envelhecido.

A queda do pH do caldo de cultura ocorre porque as bactérias utilizadas são acidogênicas e amplas quantidades de carboidratos estão presentes no meio. O efeito inibitório desta, pode ser provavelmente atribuído à liberação de flúor dos materiais, que é maior para os cimentos recém-preparados. Também, o pH inicial do cimento de ionômero de vidro recém-preparado é baixo, mas o pH final alcançado dentro de 24 horas é ao redor de 6,5²¹.

À medida que o pH cai, aumenta a atividade antimicrobiana do cimento de ionômero de vidro, uma vez que a ação antimicrobiana do flúor é pH-dependente¹². Coincidentemente, a avaliação sobre a variação do pH do meio sem semear (controle negativo), após contato com os cimentos de ionômero de vidro, revelou queda até 6,7 apenas para o Vitremer, o cimento que melhor atividade antimicrobiana exibiu, mesmo sendo segundo na liberação de flúor.

Em relação ao controle negativo, não só os cimentos não alteraram o pH do caldo, como foram mantidas condições assépticas na experimentação, pois todos os tubos mantiveram-se estéreis por até 7 dias.

Sob condições de metabolismo de carboidratos, onde o pH pode atingir valores menores que 5,0, o ácido fluorídrico (HF) presente nas reservas de flúor na placa pode penetrar e se concentrar na bactéria. Uma vez dentro da célula bacteriana o HF se dissocia, com os prótons hidrogênio acidificando o citoplasma e o flúor se ligando à bactéria. Esta reação resulta em uma inibição direta da atividade enzimática bacteriana, reduzindo seu crescimento e a produção de ácidos. Outra forma do flúor interferir no metabolismo bacteriano é agindo sobre o equilíbrio potássico da membrana celular, reduzindo a força próton-motriz. A incorporação de prótons pelas células reduz a

tolerância das bactérias ao meio ácido e conseqüentemente seu potencial cariogênico^{11,16}. Considerando-se que um meio cariogênico é caracterizado por um baixo pH, os benefícios antimicrobianos do flúor são reconhecidos como um fato coadjuvante na prevenção da formação de lesões, admitindo-se que os ótimos benefícios do flúor na prevenção de cárie aparecem na presença do processo em si. Assim, um pH ambiental ácido pode aumentar a liberação de flúor e pode localmente afetar o crescimento bacteriano¹⁸.

Por outro lado, estudos "in vivo" demonstraram um maior acúmulo de placa sobre o cimento de ionômero de vidro quando comparado à resina composta, correlacionando-o diretamente à rugosidade superficial dos cimentos de ionômero de vidro^{7,22}. No entanto, a composição da placa que se forma sobre as restaurações é mais importante que a sua quantidade, e portanto espera-se que uma placa com menor virulência se forme sobre o cimento de ionômero de vidro^{2,7,8,13,24,25}.

Quanto à interferência do flúor na produção de polissacarídeos extracelulares sacarose-dependentes e enzimas associadas (importantíssimas para a formação de uma placa cariogênica) esta parece não existir quando pequenas concentrações de flúor são utilizadas⁹.

Com o intuito de verificar esta possibilidade, analisou-se a atividade antimicrobiana de cimentos de ionômero de vidro químico e fotoativados sobre o *S. mutans*#GS-5, utilizando-se também um teste de formação de placa "in vitro", seguindo-se a metodologia de SKJÖRLAND²¹, no qual observou-se a presença de depósitos bacterianos sobre todos os materiais testados.

A quantidade de carboidratos depositados sobre os cimentos de ionômero de vidro, ao final de 7 dias, foi inferior à observada no controle positivo (pastilhas de aço), com diferenças estatisticamente significantes somente para o Vitremer, em relação aos demais materiais (Tabela 2).

GARIB⁹, utilizando uma metodologia idêntica à esta e dois dos cimentos aqui testados, o Chelon fil e o Chelon silver, encontrou os valores de $12,73 \pm 5,5$ e $13,21 \pm 4,3$, respectivamente, bem menores que os deste estudo, embora aqueles relativos à pastilha de aço tenham sido semelhantes ($27,75 \pm 13,8$). Apesar da mesma metodologia empregada houve diferenças no proporcionamento do material, condições ambientais na manipulação e tempo para inserção dos espécimes no meio de cultura, que podem ter contribuído para a maior liberação de componentes antimicrobianos naquela pesquisa e os menores valores de carboidratos na placa formada sobre os materiais. No entanto, os valores relativos aos cimentos envelhecidos daquele estudo⁹, foram mais próximos ao deste, $17,77 \pm$

2,5 para o Chelon fil e $25,91 \pm 5,1$ para o Chelon silver.

Em relação ao teste de quantificação de proteínas nos depósitos formados sobre os espécimes dos cimentos de ionômero de vidro e pastilhas de aço, os valores observados não foram estatisticamente diferentes (Tabela 2).

Embora sem diferença entre os resultados, a quantidade de proteína sobre o Chelon silver maior que no controle pode chamar a atenção. Em termos práticos, porém as quantidades de bactérias são muito próximas e do ponto de vista microbiológico, não constituem diferenças significantes. O que é mais notável mencionar é que quantidades proporcionalmente semelhantes de bactérias não tiveram metabolicamente o mesmo comportamento, traduzido pelas diferenças na produção de carboidratos. Isto sugere que os materiais sejam capazes de determinar apenas alterações qualitativas ao nível dos microrganismos.

Somente dois outros estudos realizaram análise do conteúdo proteico da placa formada sobre o cimento de ionômero de vidro^{7,14}. No entanto, as metodologias empregadas, utilizando dispositivos intra bucais fixos e removíveis para a coleta de placa "in situ", foram diferentes, não permitindo a comparação quantitativa dos resultados obtidos.

Comparando-se os resultados dos testes de formação de placa (carboidratos e proteínas) com o da produção de ácidos observa-se coincidência no desempenho do Vitremer e Chelon fil ocupando a primeira e segunda colocações, respectivamente, em ambos os testes (Tabelas 1 e 2). O Vitremer, seguido pelo Chelon fil, foi o que mais inibiu a queda do pH e a formação de placa. Em relação ao Chelon silver e VariGlass, houve uma inversão de comportamento em relação aos dois testes; enquanto o Chelon silver mostrou uma maior inibição da queda do pH no teste de fermentação, o VariGlass mostrou uma menor formação de placa, embora não significante. Quanto a isso, GARIB⁹ já observou que diferentes testes antimicrobianos com cimentos de ionômero de vidro podem conduzir a resultados diversos.

A ação antimicrobiana dos cimentos de ionômero de vidro reforçados com partículas de prata também tem sido atribuída à liberação de íons de prata, além da liberação de flúor, uma vez que ambos são capazes de modificar a ecologia da placa dentária^{20,24,25}, reduzindo sua acidogenicidade¹⁷.

O cimento de ionômero de vidro reforçado com prata (Chelon silver) que liberou baixas quantidades de flúor na água deionizada³, não foi capaz de inibir a queda do pH e a formação de placa no caldo de cultura, da mesma forma que um cimento de ionômero de vidro convencional (Chelon fil) ou um resinoso (Vitremer), não indicando portanto,

alguma atividade antimicrobiana da prata. Este resultado confirma o de SEPPÄ; FORSS; ØGAARD¹⁹ que não constataram efeito antimicrobiano do cermec envelhecido por duas semanas em água destilada (Ketac silver) frente a um centrifugado bacteriano de *S. mutans*, apesar da grande liberação de prata e levantando a hipótese disto decorrer do decréscimo na quantidade de flúor liberado.

Independente das condições observadas, achados laboratoriais não podem ser comparados diretamente à situação clínica, devido à complexidade do ambiente bucal. Os achados gerais dos estudos "in vitro" dão, pelo menos, indicações dos efeitos inibitórios dos materiais testados sobre o desenvolvimento da cárie, que devem ser confirmados através de estudos clínicos.

CONCLUSÕES

1- O teste de fermentação mostrou que o Vitremer foi o único material capaz de manter o pH do meio acima do valor crítico nas primeiras 24 horas do experimento.

2- Houve formação de placa sobre todos os materiais, mas em relação ao controle positivo, somente o Vitremer reduziu significativamente as quantidades de carboidratos. Não foram observadas diferenças significantes nas quantidades de proteínas depositadas sobre os cimentos e o controle.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Sr. José Roberto P. Lauris pela realização da análise estatística e aos Srs. Wanderley P. de Andrade e José Osni Vitorato, pelo auxílio técnico.

ABSTRACT

The antimicrobial activity of conventional (Chelon fil and Chelon silver) and resin modified (VariGlass and Vitremer) glass ionomer restorative cements was measured on *S. mutans*#GS-5 through fermentation and plaque formation tests in a culture broth for a 7 day period. The pH of the broth was measured daily and protein and carbohydrate contents of the deposits over the specimens were determined at the end of the period. The fermentation test showed that Vitremer was the only material capable of inhibiting pH fall in the first 24 hours of the experiment. The determination of plaque carbohydrates indicated that Vitremer reduced bacterial accumulation significantly when compared with the other materials and with positive controls. In the test of protein contents, no difference was

observed among all materials and controls.

UNITERMS: Glass ionomer cements; Mutans streptococci; Dental Plaque; Fluoride.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- BARKHORDAR, R. A. et al. Technical note: antimicrobial action of glass-ionomer lining cement on *S.sanguis* e *S. mutans*. **Dent. Mat.**, v. 5, n. 4, p. 281-2, July 1989.
- 2- BERG, J. H.; FARRELL, J. E.; BROWN, 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.
- 3- COSTA, B. et al. Liberação de flúor de materiais dentários restauradores "in vitro". **Rev. Odont. Univ. São Paulo**, v.9, n.4, p. 279-84, out./dez. 1995.
- 4- DESCHÉPPER, 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.
- 5- DESCHÉPPER, 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.
- 6- DUBOIS, M. et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analyt. Chem.**, v. 2, p. 350-6, 1956.
- 7- FORSS, H.; SEPPÄ, L.; ALAKUJALA, P. Plaque accumulation on glass ionomer filling materials. **Proc. Fin. dent. Soc.**, v. 87, n. 3, p. 343-50, 1991.
- 8- FORSS, H. et al. Fluoride and mutans streptococci in plaque grown on glass ionomer and composite. **Caries Res.**, v. 25, n. 6, p. 454-8, 1991.
- 9- GARIB, T. M. Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana de cimentos de ionômero de vidro restauradores, sobre o *Streptococcus mutans* # GS-S, Bauri, 1991. 136 p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia de Bauri, Universidade de São Paulo.
- 10- GILMOUR, A. S. M.; EDMUNDS, D. H.; SHELLIS, R. P. Fluoride release from three restorative materials in a bacterial artificial caries system. **Caries Res.**, v. 28, n. 3, p. 201, May/June 1994. / Abstract n. 72/
- 11- HAMILTON, I. R. Biochemical effects of fluoride on oral bacteria. **J. dent. Res.**, v. 69, p. 660-7, Feb. 1990. Special issue.
- 12- HAMILTON, I. R.; BOWDEN, G. Effect of fluoride on oral microorganisms. In: EKSTRAND, J.; FEJERSKOV, O.; SILVERSTONE, L. M. **Fluoride in dentistry**. Copenhagen, Munksgaard, 1988, p. 77-103.
- 13- HATIBOVIC-KOFMAN, S.; KOCH, G. Fluoride release from glass ionomer cement *in vivo* and *in vitro*. **Swed. dent. J.**, v. 15, n. 6, p. 253-8, 1991.
- 14- JOKINEN, J. et al. A new method for studying the effect of glass ionomer on plaque *in vivo*. **Proc. Fin. dent. Soc.**, v. 87, n. 3, p. 339-42, 1991.
- 15- LOWRY, O. H. et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **J. Biol. Chem.**, v. 193, p. 265-75, 1951.
- 16- MARQUIS, R. E. Diminished acid tolerance of plaque bacteria caused by fluoride. **J. dent. Res.**, v. 69, p. 672-5, Feb. 1990. Special issue.
- 17- OPPERMANN, R. V.; JOHANSEN, J. R. 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. 6, p. 476-80, 1980.
- 18- PALENIK, C. J. et al. Inhibition of microbial adherence and growth by various glass ionomers *in vitro*. **Dent. Mat.**, v. 8, n. 1, p. 16-20, Jan. 1992.
- 19- SEPPÄ, L.; FORSS, H.; ÖGAARD, B. The effect of fluoride application on fluoride release and the antibacterial action of glass ionomers. **J. dent. Res.**, v. 72, n. 9, p. 1310-4, Sept. 1993.
- 20- SEPPÄ, L.; TORPPA-SAAFINEN, E.; LUOMA, H. Effect of different glass ionomers on the acid production and electrolyte metabolism of *Streptococcus mutans* Inghritt. **Caries Res.**, v. 26, n. 6, p. 434-8, 1992.
- 21- SKJÖRLAND, K. K. R. Plaque accumulation on different dental filling materials. **Scand. J. dent. Res.**, v. 81, n. 4, p. 538-42, 1973.
- 22- SMALES, R. J. Plaque growth on dental restorative materials. **J. Dent.**, v. 9, n. 2, p. 133-40, 1981.
- 23- 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.
- 24- 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.
- 25- 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.

ENDEREÇO DOS AUTORES

Beatriz Costa

R. Silvio Marchione, 3-20

Bauri - SP

CEP 17.043-900