

EVIDENCIAÇÃO DE MICRORGANISMOS EM TECIDOS DENTÁRIOS

Egon A. Kilian *

A demonstração de microrganismos nas estruturas dentárias e peri dentárias é de grande interesse para os vários campos de investigação, bem como para finalidades didáticas.

No caso particular, em que o material para estudo são peças dentárias constituídas por estruturas mineralizadas, um aspecto importante a ser considerado é a obtenção de bons cortes. Estes podem ser obtidos quando se executa uma boa técnica histológica.

Visando a divulgação da técnica que temos executado, apresentamos o presente trabalho.

Temos procurado evidenciar os microrganismos nas diversas zonas de cárie. Molares e pré-molares com cáries oclusais, são dentes que bastante bem se prestam para a evi-

denciação desejada, pois que nesta situação é que melhor se podem observar as zonas em aprêço. Entretanto, não é fácil dispor-se de peças nestas condições, visto que dentes acometidos de cáries superficiais ou mesmo profundas, ou ainda com atingimento pulpar, são perfeitamente recuperáveis pelos atuais procedimentos técnicos, podendo vir a serem reintegrados em sua importante função. Assim sendo, as peças que temos obtido procedem de casos em que a extração é indicada para fins terapêuticos, tais como tratamentos protéticos ou ortodônticos.

Procuramos evitar a limpeza mecânica da cavidade de cárie, para não alterar a zona mais externa do processo cárie na dentina, ou seja, a zona de peptonização, cons-

* Instrutor de Ensino da Cátedra de Patologia e Terapêutica Aplicadas.

tituída pelos restos orgânicos da matriz descalcificada, colônias bacterianas e restos alimentares.

Extraído o dente, após ser lavado rapidamente em solução fisiológica é o mesmo fixado em formol a 10%, durante 24 horas no mínimo.

Após a fixação a peça é lavada em água corrente aproximadamente durante 12 horas, para depois sofrer a ação descalcificadora do ácido nítrico numa solução de 5%.

O tempo durante o qual se processa a descalcificação varia com o grau de mineralização das estruturas. Este tempo varia entre 21 a 30 dias geralmente, com mudança da solução descalcificadora de 3 em 3 dias. O grau de descalcificação é testado pela introdução de agulha histológica para verificar a resistência dos tecidos. E' exatamente nesse passo da técnica histológica, a descalcificação, que reside boa parte do sucesso para obter-se bons cortes, pois se não tivermos peças suficientemente descalcificadas, difícil ou mesmo impossível se torna obter cortes delgados como convém.

A desidratação é feita pela série crescente de álcoois, sendo que após o álcool 95, passamos por um banho de álcool 95 e álcool butílico normal em partes iguais, e, em outro banho de álcool butílico normal puro, para então passar pelos 3 banhos de parafina (56 a 58°C) e ser confeccionado o taco.

O álcool butílico normal é desidratante e solvente da parafina; pode ser empregado como substituto do álcool etílico e do xilol pa-

ra a desidratação e clarificação da peça.

Temos executado os cortes (6 a 8 micra) em micrótomo de guias. Para a colagem temos empregado a albumina fixadora de Mayer.

A coloração empregada, para evidenciar os microrganismos, e com o qual temos obtido resultados satisfatórios é a «Coloração de MAC CALLUM — GOODPASTURE para bactérias em tecidos», descrita no «Manual of Histologic and Special Staining Technics» (3), como se segue:

Fixação: Qualquer tecido bem fixado pode ser usado.

Técnica: Finos cortes em parafina. Podem ser usados cortes em celoidina.

(Temos usado cortes, incluídos em parafina, com espessura de 6 a 8 micra.).

Soluções:

Corante de Goodpasture.

Fucsina básica — 0.59g
Anilina — 1.00cc
Cristais de fenol (fundidos) - 1.00cc
Alcool 30% — 100.00cc

Solução iodada de Gram (Lugol).

Iodo — 1.00g
Iodeto de potássio — 2.00g
Água destilada — 300.00cc

Solução de Violeta genciana de Stirling.

Violeta genciana — 5.00g

Alcool absoluto — 10.00cc

Anilina — 2.00cc

Água destilada — 88.00cc

Solução staurada de ácido pícrico

Ácido pícrico — 1.18g

Água destilada — 100.00cc

Técnica de coloração:

- 1 Desparafinar e hidratar em: xilol, álcool absoluto, álcool 95%, água destilada.
- 2 Corante de Goodpasture, 10 minutos.
- 3 Lavar em água destilada.
- 4 Diferenciar em formol puro por poucos minutos. A cor vermelho-viva desaparece sendo substituída por uma cor rosada.
- 5 Lavar em água destilada.
- 6 Contrastar na solução aquosa saturada de ácido pícrico, 3 a 5 minutos.
- 7 Lavar em água.
- 8 Diferenciar no álcool 95%.
- 9 Lavar em água.
- 10 Violeta genciana de Stirling, 3 minutos.
- 11 Lavar em água
- 12 Solução iodada de Gram (Lugol), 1 minuto.
- 13 Secar suavemente com papel filtro.
- 14 Lavar em solução de anilina-

-xilol em partes iguais, até não desprender mais corante. 2 ou mais lavagens.

15 Xilol, 2 mudanças.

16 Montar em bálsamo do Canadá.

Resultados:

Microorganismos Gram-positivos-azul.

Microorganismos Gram-negativos-vermelho.

Outros elementos — várias nuances de vermelho à púrpura.

Os tecidos tomam tonalidades de vermelho e púrpura.

Apresentamos, a seguir, algumas fotografias de peças preparadas e coradas pela maneira descrita:

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA:

- 1 — FERNANDES, M. C. — «Métodos escolhidos de técnica microscópica», Rio de Janeiro, 1943, Imprensa Nacional.
- 2 — KONFELD, R. — «Histopathology of the teeth», 3a. ed., Philadelphia — U.S.A., Lea & Febiger, 1952.
- 3 — «Manual of Histologic and Special Staining Technics», Armed Institute of Pathology, Washington, D. C., 1957.

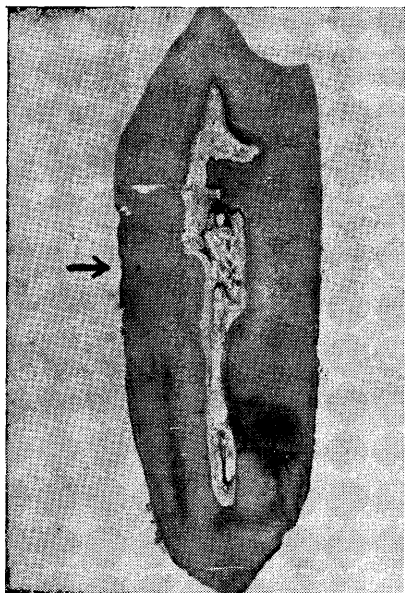


Fig. 1 — Aspecto topográfico de 2º pré-molar inferior com acentuada retração gengival devida a moléstia periodontal. Cárie superficial na porção cervical (vestibular). Aumento: 4,5 X.

Fig. 2 — Microorganismos nos canálculos dentinários da zona de invasão da cárie mostrada na fig. 1. Aumento: 900 X.





Fig. 3 — Aspecto topográfico de molar inferior com cárie oclusal e abscesso pulpar. Aumento: 5 X.



Fig. 4 — Microrganismos na zona periférica da cavidade do abscesso mostrado na fig. 3.
Aumento aproximado: 900 X.

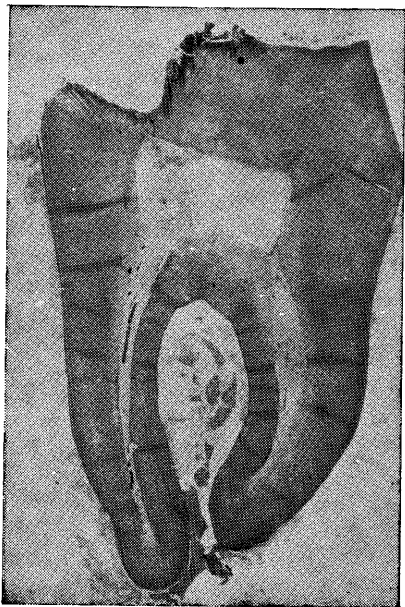


Fig. 5 — Aspecto topográfico de molar inferior com cárie oclusal.
Aumento: 5 X.



Fig. 6 — Zona de peptonização (descalcificação da matriz orgânica) da cárie mostrada na fig. 5, onde se observam os microrganismos isolados e em colônias nos focos de liquefação.
Aumento aproximado: 900 X.

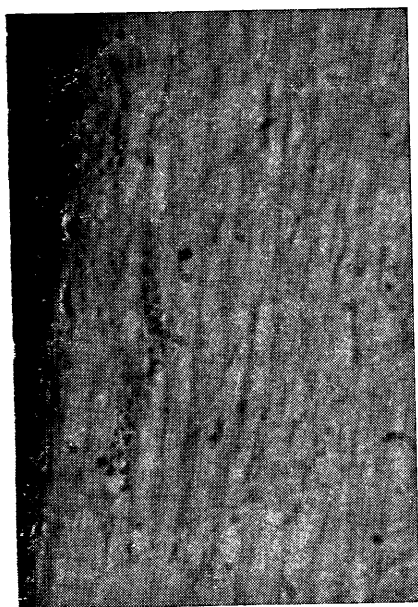


Fig. 7 — Observam-se os microrganismos nos canaliculos que foram cortados obliquamente. Zona da cárie mostrada na fig. 5.
Aumento aproximado: 900 X.