

**MESTRADO**

**TATIANA GUIMARÃES PINTO**

**INFLUÊNCIA DA IRRIGAÇÃO COM HIPOCLORITO DE SÓDIO A 2,5% E DA MEDICAÇÃO INTRACANAL COM PASTA DE HIDRÓXIDO DE CÁLCIO E GLICERINA NA REDUÇÃO DE MICRORGANISMOS DA INFECÇÃO ENDODÔNTICA DE DENTES COM LESÃO PERIRRADICULAR CRÔNICA ASSOCIADA.**

**2006**



Vice-reitoria De Pós-graduação E Pesquisa  
Av. Paulo De Frontin, 628 / 5º Andar - Rio Comprido  
20261-243 - Rio De Janeiro, RJ  
Tels.: (0xx21) 2503-7289 Ramal 242

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

TATIANA GUIMARÃES PINTO

**INFLUÊNCIA DA IRRIGAÇÃO COM HIPOCLORITO DE SÓDIO A 2,5% E DA  
MEDICAÇÃO INTRACANAL COM PASTA DE HIDRÓXIDO DE CÁLCIO E  
GLICERINA NA REDUÇÃO DE MICRORGANISMOS DA INFECÇÃO  
ENDODÔNTICA DE DENTES COM LESÃO PERIRRADICULAR CRÔNICA  
ASSOCIADA**

Dissertação apresentada à  
Faculdade de Odontologia da  
Universidade Estácio de Sá, visando  
à obtenção do grau de Mestre em  
Odontologia (Endodontia).

Orientador:  
Prof<sup>a</sup> . Dra. Isabela das Neves Rôças Siqueira

UNIVERSIDADE ESTÁCIO DE SÁ  
RIO DE JANEIRO  
2006

P659i Pinto, Tatiana Guimarães.

Influência da irrigação com hipoclorito de sódio a 2,5% e da medicação intracanal com pasta de hidróxido de cálcio e glicerina na redução de microorganismos da infecção endodôntica de dentes com lesão perirradicular crônica associada / Tatiana Guimarães Pinto. - Rio de Janeiro, 2006.

80 f. : XI.

Bibliografia: p. 55-73.

Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Universidade Estácio de Sá, Rio de Janeiro, 2006.

1. Endodontia. 2. Lesão perirradicular. 3. Infecção.  
4. Tratamento. I. Título.

CDD 617.6342

**“O futuro pertence àqueles que acreditam na  
beleza de seus sonhos”  
Anna Eleanor Roosevelt**

À minha família por todo apoio e amizade demonstrados.  
À minha mãe e ao meu irmão pelo carinho e incentivo,  
essenciais em todos os momentos da minha vida.  
Ao meu pai, com muito amor, pelo exemplo de dedicação,  
estudo e amor à profissão.  
Ao meu namorado, sempre presente, me confortando e  
alegrando em todos os momentos.

Sem vocês, a minha formação  
profissional não seria possível

## **AGRADECIMENTOS**

---

Meus sinceros agradecimentos:

À minha orientadora, Prof<sup>a</sup> . Dra. Isabela das Neves Rôças Siqueira, que durante a realização deste trabalho foi sempre paciente e atenciosa. Agradeço pelos conhecimentos, pelo apoio e pela dedicação transmitidos durante todo o curso.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. José Freitas Siqueira Junior, agradeço pelos ensinamentos e incentivo, importantes para minha formação profissional e desenvolvimento do interesse científico.

Ao Sr. Fernando A. C. Magalhães pela colaboração e empenho, sempre demonstrados e essenciais na confecção deste trabalho.

A toda disciplina de Endodontia da Universidade Estácio de Sá, pelo exemplo de Mestres e Profissionais.

Aos meus amigos do curso de Mestrado pelo carinho, amizade e apoio recebidos.

A Deus por todas as graças concedidas.

A todos que colaboraram para realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

---

RESUMO	VIII
ABSTRACT	IX
LISTA DE TABELAS	X
LISTA DE ANEXOS	XI
INTRODUÇÃO	1
PROPOSIÇÃO	20
MATERIAL E MÉTODOS	21
RESULTADOS	29
DISCUSSÃO	34
CONCLUSÃO	54
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55
ANEXOS	74

## RESUMO

---

Microrganismos que sobrevivem ao tratamento endodôntico de dentes com necrose pulpar e portadores de lesão perirradicular representam um potencial para o fracasso a longo prazo. Como consequência, uma estratégia antimicrobiana deve ser adotada durante o tratamento. A redução microbiana *in vivo* no sistema de canais radiculares, através do preparo químico-mecânico, com instrumentos manuais de NiTi e NaOCl a 2,5%, e medicação intracanal, com hidróxido de cálcio e glicerina por 7 dias, foi avaliada neste trabalho. Foram utilizados 11 dentes unirradiculares com imagem radiográfica de lesão perirradicular. Amostras foram coletadas antes da instrumentação (A<sub>1</sub>), pós-instrumentação (A<sub>2</sub>) e pós-medicação (A<sub>3</sub>). Após a incubação por 14 dias em atmosfera de anaerobiose, foi realizada contagem do número de UFCs e colônias de diferentes tipos foram identificadas através do seqüenciamento do 16S rDNA. Em A<sub>2</sub>, 5 casos (45,5%) apresentaram cultura positiva e predomínio de bactérias facultativas Gram-positivas. Em A<sub>3</sub>, nos 2 casos (18,2%) com cultura positiva, houve a presença das espécies *Fusobacterium nucleatum* e *Lactococcus garviaea*. Os resultados deste estudo indicaram que o preparo químico-mecânico foi importante para a redução microbiana e que o hidróxido de cálcio associado à glicerina demonstrou efeito antimicrobiano adicional.

**Palavras-Chave:** Infecção endodôntica, lesão perirradicular, tratamento endodôntico, biologia molecular.

## ABSTRACT

---

Microorganisms surviving the effects of the endodontic disinfection measures in teeth with necrotic pulp and periradicular lesion represent a potential risk to the long-term treatment outcome. As a consequence, an antimicrobial strategy must be adopted during treatment. This study aimed to evaluate the *in vivo* microbial reduction in the root canal after chemomechanical preparation with hand NiTi instruments, irrigating with 2.5% NaOCl, and intracanal dressing with calcium hydroxide and glycerin for 7 days. Eleven single-rooted teeth with radiographic image of periradicular lesion were used. Samples were collected before instrumentation (S<sub>1</sub>), after-instrumentation (S<sub>2</sub>) and after-dressing (S<sub>3</sub>). After incubation for 14 days in an anaerobic atmosphere, the number of CFUs for sample was calculated and colonies of each different types were identified through 16S rDNA sequencing. At S<sub>2</sub>, 5 cases (45,5%) presented positive culture and predominance of Gram-positive facultative bacteria. At S<sub>3</sub>, only 2 cases (18,2%) showed positive culture, and the species detected were *Fusobacterium nucleatum* and *Lactococcus garviaea*. The results of this study indicated that the chemomechanical preparation was important for microbial reduction and calcium hydroxide provided important additional antimicrobial effects.

**Key Words:** Endodontic infection, periradicular lesion, endodontic treatment, molecular biology.

## **LISTA DE TABELAS**

---

Tabela 1: Número de UFCs encontradas na amostra inicial e após instrumentação e medicação intracanal. \_\_\_\_\_ p.30

Tabela 2 Bactérias presentes na infecção inicial, pós-instrumentação e pós-medicação. \_\_\_\_\_ p.32

## **LISTA DE ANEXOS**

---

Anexo 1: Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estácio de Sá. \_\_\_\_\_ p.74

Anexo 2: Ficha de Inscrição da Clínica Odontológica da Universidade Estácio de Sá. \_\_\_\_\_ p. 75

Anexo 3: Questionário Médico-Odontológico da Clínica Odontológica da Universidade Estácio de Sá. \_\_\_\_\_ p. 76

Anexo 4: Ficha do Projeto PCR do Departamento de Endodontia da Universidade Estácio de Sá. \_\_\_\_\_ p. 78

## INTRODUÇÃO

---

As patologias pulpares e perirradiculares são, usualmente, de natureza inflamatória e de etiologia microbiana. Apesar de fatores químicos e físicos poderem induzir alterações inflamatórias na polpa e nos tecidos perirradiculares, microrganismos e seus produtos exercem um papel significativo na indução e, principalmente, na perpetuação das doenças pulpares e perirradiculares (SIQUEIRA, 1997; SIQUEIRA, 2001).

O primeiro relato na literatura referente ao papel de microrganismos nas patologias pulpares e perirradiculares é de WILLOUGHBY DAYTON MILLER, em 1894, considerado o pai da Microbiologia Oral. Foi demonstrada, por meio de material coletado de dentes extraídos, a presença de bactérias associadas aos canais radiculares infectados (SIQUEIRA, 2002).

KAKEHASHI *et al.* (1965), em um estudo clássico da literatura endodôntica, expuseram mecanicamente polpas dentais de ratos convencionais e ratos *germ-free* ao meio bucal. Enquanto nos animais convencionais foram observadas inflamação severa e necrose pulpar, associadas a lesões perirradiculares, nos animais *germ-free* isso não foi observado. Nestes últimos houve, inclusive, o reparo do tecido pulpar por neoformação de dentina .

Até os anos 70, acreditava-se que os microrganismos facultativos eram predominantes em canais radiculares infectados. Tais achados eram decorrentes

das limitações dos métodos de cultura empregados até aquela época, uma vez que o cultivo bacteriológico para estudos de infecção endodôntica era efetivado utilizando métodos de baixa eficácia em detectar anaeróbios. A partir da década de 70, com o avanço das técnicas de cultivo para anaeróbios em pesquisas relacionadas à Endodontia, novos estudos microbiológicos foram realizados, utilizando-se amostras de canais radiculares infectados, alterando-se, com isso, alguns conceitos existentes. Entre alguns estudos realizados naquela época, a tese de doutorado de SUNDQVIST (1976), desenvolvida na Suécia, teve grande importância devido a alguns achados inéditos até então: os microrganismos foram isolados somente nos casos com lesão perirradicular; quanto maior a lesão, maior era o número de espécies isoladas; em dentes com inflamação perirradicular aguda, havia maior número de microrganismos que nos casos sem inflamação; havia uma correlação positiva entre a incidência de agudização de doença perirradicular com a presença de microrganismos específicos, como por exemplo, espécies de bacilos produtores de pigmentos negros.

MÖLLER *et al* (1981) também confirmaram o papel crucial exercido por microrganismos na etiopatogenia de lesões perirradiculares. Estes autores induziram necrose pulpar asséptica e séptica em dentes de macacos e, após seis a sete meses, as análises clínica, radiográfica, microbiológica e histológica evidenciaram nos casos de polpas necrosadas, mas não infectadas, que os tecidos perirradiculares estavam desprovidos de inflamação e apresentando indícios de reparação tecidual. Entretanto, nos casos de dentes contendo polpas

necrosadas e infectadas houve sempre o desenvolvimento de doenças perirradiculares .

Após necrose pulpar, os microrganismos são capazes de invadir e colonizar o sistema de canais radiculares. De uma maneira geral, qualquer microrganismo oral tem o potencial para colonizar o tecido pulpar necrosado. No entanto, devido à pressão seletiva exercida pela própria microbiota infectante operando no canal radicular, somente um pequeno número de espécies é capaz de se instalar e de estar envolvida com a patogênese das doenças perirradiculares (SUNDQVIST, 1994). Mais de 200 espécies bacterianas diferentes, muitas potencialmente patogênicas, têm sido isoladas de canais radiculares infectados, usualmente em combinações de 4 a 7 espécies, com grande prevalência de anaeróbios estritos (SIQUEIRA *et al.*, 2004).

Como descrito anteriormente, estudos utilizando métodos de cultura foram de fundamental importância na determinação de patógenos relacionados às infecções endodônticas (MILLER,1894; SUNDQVIST, 1976), especialmente após o desenvolvimento de modernas técnicas de coleta e transporte (SUNDQVIST,1994; NAIR,1997). Estes estudos se baseiam na identificação através de características fenotípicas de cada espécie microbiana e são dependentes da escolha do método de coleta do espécime clínico, do meio de transporte utilizado, da determinação do sistema de incubação e atmosférico, da escolha do meio para isolamento primário, do critério de identificação e, principalmente, da capacidade de interpretação dos resultados obtidos (SLOTS, 1986).

O uso dos métodos moleculares para investigação da microbiota assumiu uma importância epidemiológica indiscutível. Métodos moleculares baseiam-se na detecção de seqüências genômicas específicas para cada espécie microbiana, podendo inclusive discriminar clones dentro de uma mesma espécie. Estes métodos geralmente apresentam uma sensibilidade maior que os métodos de cultura e são aptos a identificar, rapidamente, várias espécies microbianas (SIQUEIRA *et al.*, 2004). Além disso, cepas da mesma espécie com fenótipos divergentes, espécies de difícil cultivo ou mesmo não cultiváveis, espécies que tenham morrido durante os procedimentos de coleta do espécime clínico podem ser detectadas pelos métodos baseados na identificação de seqüências genômicas (RELMAN,1999).

Estudos empregando métodos de cultura para anaeróbios ou metodologia avançada de Biologia Molecular têm revelado que os gêneros de bactérias anaeróbias estritas mais prevalentes em canais infectados são *Treponema*, *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Peptostreptococcus*, *Eubacterium* e *Actinomyces* (SUNDQVIST *et al.*, 1998; OLIVEIRA *et al.*, 2000; RÔÇAS *et al.*, 2000; SIQUEIRA *et al.*, 2000b,c; RÔÇAS *et al.*, 2001; SIQUEIRA *et al.*, 2001). Algumas espécies aeróbias ou anaeróbias facultativas também têm sido encontradas em canais radiculares, muitas vezes associadas a infecções persistentes ou secundárias, as quais podem comprometer o sucesso da terapia endodôntica. Dentre elas destacam-se as espécies do gênero *Streptococcus* e as espécies *Enterococcus faecalis* e *Pseudomonas aeruginosa* (SUNDQVIST, 1976; MOLANDER *et al.*, 1998; SIQUEIRA, 2001). Além disso, em casos de infecções

persistentes ou secundárias, fungos, principalmente espécies do gênero *Candida* , podem ser encontrados (SIQUEIRA, 2001; SIQUEIRA & SEN, 2004).

A maioria dos microrganismos encontra-se em suspensão nos fluidos presentes na luz do canal principal. Entretanto, agregados microbianos são usualmente visualizados colonizando as paredes do canal, por vezes formando multicamadas celulares. Além disso, a infecção pode se propagar para os túbulos dentinários e para variações da anatomia interna, principalmente no terço apical do canal radicular. As espécies bacterianas encontradas com maior prevalência nos túbulos dentinários pertencem aos gêneros *Actinomyces*, *Peptostreptococcus*, *Veillonella*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Propionibacterium*, *Prevotella*, *Bacteroides*, *Porphyromonas* e *Streptococcus*. (SIQUEIRA *et al.*, 1996; SIQUEIRA, 1997) .

*Treponema denticola*, *Dialister pneumosintes*, *Filifactor alocis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema malthophilum*, *Treponema socranskii* e *Prevotella tannerae* são exemplos de espécies de bactérias atualmente consideradas importantes patógenos endodônticos e que foram detectadas em canais radiculares apenas através dos métodos moleculares (SIQUEIRA & RÔÇAS, 2003).

Reconhecendo-se o papel de microrganismos na indução e na perpetuação das lesões pulpares e perirradiculares, torna-se evidente a necessidade de se prevenir e se controlar a infecção endodôntica, visando o reparo das estruturas perirradiculares e o restabelecimento da função dentária normal. Esta é a base sólida na qual se fundamenta a Endodontia Moderna (SIQUEIRA, 2001). A

principal doença de interesse para o endodontista é a lesão perirradicular (SHUPING *et al.*, 2000) .

Devido à localização anatômica da infecção endodôntica, a mesma apenas pode ser tratada por meios químicos e mecânicos, realizados através da intervenção profissional. Dessa forma, o tratamento endodôntico para dentes portadores de necrose pulpar representa três etapas principais de combate à infecção: o preparo químico-mecânico, a medicação intracanal e a obturação do sistema de canais radiculares (LOPES *et al.*, 2004). Além disso, para o controle e a prevenção da infecção do canal radicular, a manutenção da cadeia asséptica também assume especial importância na terapia endodôntica (SIQUEIRA, 2001) .

O combate aos microrganismos presentes no canal radicular envolve um conjunto de procedimentos. Acreditar que apenas o preparo químico-mecânico seria capaz de reduzir o número de microrganismos e levar à saúde dos tecidos perirradiculares significa realizar uma Endodontia sem bases científicas, superestimando a técnica em detrimento do conhecimento biológico (BYSTRÖM *et al.*, 1985; NAIR *et al.*, 1990) .

Com o avanço de técnicas para preparo químico-mecânico houve uma mudança relevante no foco da Endodontia. A valorização da estratégia tecnicista em detrimento do aspecto biológico do tratamento endodôntico pode reduzir o índice de sucesso destes tratamentos, especialmente após avaliações a longo prazo. Muita atenção tem sido dispensada para a tecnologia e pouca para o principal objetivo da terapia endodôntica, que é o de prevenir e tratar uma infecção quando presente (BERGENHOLTZ *et al.*, 2004).

Indiscutivelmente, uma das mais importantes etapas em qualquer tratamento do sistema de canais radiculares é o preparo químico-mecânico. Este é essencial, uma vez que o preparo determina a eficácia de todos os demais procedimentos e inclui o debridamento mecânico, a criação de um espaço adequado para a medicação intracanal e a otimização da geometria do canal para uma adequada obturação. Infelizmente, o preparo dos canais radiculares é muito influenciado pela anatomia, altamente variável, do canal radicular e a relativa incapacidade do operador de visualizar esta anatomia, através das radiografias (PETERS, 2004).

Durante o preparo químico-mecânico, limas endodônticas promovem a remoção mecânica de microrganismos, seus produtos e tecidos degenerados, auxiliados por uma substância química que além de maximizar a remoção de detritos através da ação mecânica do fluxo e refluxo, também exerce um efeito químico, desde que possua ação antibacteriana e seja solvente de matéria orgânica (LOPES *et al.*, 2004).

Novos instrumentos e técnicas de instrumentação têm sido sugeridos. Instrumentos manuais de níquel-titânio foram introduzidos em 1988 e, rapidamente, se tornaram populares (WALIA *et al.*, 1988). A superelasticidade da liga de níquel-titânio, associada a um desenho avançado da lima, permitiram a realização de uma instrumentação segura e eficiente, utilizando instrumentos manuais e acionados a motor com baixa rotação em uma direção coroa-ápice (SHUPING *et al.*, 2000). Não tem sido demonstrada nenhuma diferença entre as técnicas de instrumentação manuais e mecânicas, no que diz respeito à redução

microbiana (DALTON *et al.*, 1998; SIQUEIRA *et al.*, 1999) . Instrumentação com limas de níquel-titânio tem se mostrado eficaz em manter o formato original do canal radicular (PETTIETTE *et al.*, 1999).

O diâmetro final do preparo do canal radicular dependerá da anatomia dentária, em especial do volume radicular e da presença de curvaturas. Instrumentos endodônticos rotatórios ou manuais confeccionados a partir da liga de níquel-titânio podem alargar canais curvos a diâmetros dificilmente alcançados por instrumentos de aço inoxidável, com menor risco de acidentes transoperatórios. Preparos suficientemente amplos podem incorporar irregularidades anatômicas e permitir uma remoção substancial de irritantes do interior do sistema de canais radiculares. Além disso, preparos amplos melhoram a eficiência da irrigação do terço apical dos canais e a qualidade da obturação (PETERS, 2004).

As soluções irrigadoras utilizadas durante o tratamento endodôntico devem remover os debris que se encontram suspensos no canal, lubrificar as paredes de dentina e dissolver a matéria orgânica no canal radicular (SIQUEIRA, 1997). Foi demonstrado que quando nenhuma irrigação é utilizada durante a instrumentação, permanecem 70% a mais de debris, quando comparado com canais que foram devidamente irrigados (BAKER *et al.*, 1975).

Apesar da ação mecânica dos instrumentos e do fluxo-refluxo da irrigação promoverem uma redução significativa do número de bactérias do canal radicular, a eliminação total é dificilmente observada (SIQUEIRA, 2001). BYSTRÖM & SUNDQVIST (1981) demonstraram que a instrumentação mecânica sem irrigação

com agentes desinfetantes foi eficaz em reduzir significativamente o número de microrganismos dentro dos canais radiculares, mas, INGLE & ZELDOM (1958) observaram que a irrigação somente com água esterilizada manteve 80% de culturas positivas nos canais radiculares inicialmente infectados. SIQUEIRA *et al.* (1997) demonstraram que irrigantes com propriedades antimicrobianas foram mais eficazes do que a solução salina na eliminação de microrganismos.

Portanto, uma substância irrigadora ideal deveria remover os debris suspensos no canal radicular, lubrificar as paredes de dentina, dissolver matéria orgânica no canal radicular, eliminar microrganismos e remover *smear layer*. Esta substância também não deveria ser tóxica e deveria ser capaz de dissolver tanto polpa vital quanto necrosada. (GOLDMAN *et al.*, 1981).

Inúmeras substâncias irrigantes têm sido recomendadas como co-adjuvantes para o tratamento de infecções endodônticas: compostos halogenados (hipoclorito de sódio), tensoativos (aniônicos, catiônicos e neutros), quelantes (ácido etileno diaminotetracético), peróxidos, associações (hidróxido de cálcio e água destilada, hidróxido de cálcio e detergente), clorexidina, entre outras (PÉCORA *et al.*, 1999).

O hipoclorito de sódio vem sendo amplamente utilizado como solução irrigadora desde a sua introdução na Endodontia por WALKER, em 1936. Além das propriedades de ação clareadora, desodorizante, lubrificante, ação detergente e solvente de tecido orgânico, o hipoclorito de sódio tem se mostrado um excelente agente desinfetante (SIQUEIRA *et al.*, 1997).

O hipoclorito de sódio tem ação antimicrobiana de amplo espectro. Esta substância pode eliminar rapidamente bactérias na forma vegetativa, fungos, protozoários e vírus (incluindo HIV, rotavírus, vírus herpes simples 1 e 2 e vírus da hepatite A e B). Concentrações mais altas são necessárias para eliminar bacilos ácido-resistentes e esporos bacterianos (BYSTRÖM & SUNDQVIST,1983; SIQUEIRA *et al.*, 1997).

Embora os efeitos antibacterianos do hipoclorito de sódio sejam reconhecidos, o exato mecanismo de ação não está devidamente elucidado. Tem sido sugerido que quando o hipoclorito de sódio se associa à água, forma o ácido hipocloroso, que contém cloro ativo, um forte agente oxidante. O cloro exerce sua ação antibacteriana através de uma oxidação irreversível de grupamentos sulfidríla de enzimas essenciais aos microrganismos, desativando funções metabólicas da célula bacteriana (RUTALA & WEBER,1997; SIQUEIRA *et al.*, 2000a). O hipoclorito de sódio também pode ter um efeito deletério ao DNA bacteriano, que envolve a formação de derivados clorados das bases de nucleotídeos. Além disso, tem sido relatado que o hipoclorito de sódio pode induzir o rompimento da membrana bacteriana (Mc DONNEL & RUSSEL,1999) .

A dissolução de tecidos orgânicos é observada através da reação do hipoclorito de sódio com ácidos graxos e lipídios, transformando-os em sabão e álcool. O ácido hipocloroso e os íons hipoclorito levam à degradação dos amino ácidos e à hidrólise (ESTRELA *et al.*, 2002).

Apesar do hipoclorito de sódio ser amplamente utilizado em Endodontia, não existe ainda um consenso sobre a concentração ideal a ser utilizada. A

relação risco-benefício deve ser considerada para a escolha da solução irrigadora. O aumento da concentração do hipoclorito de sódio corresponde ao aumento da atividade antibacteriana, desde que outros fatores, como pH, temperatura e conteúdo orgânico, se mantenham constantes. Porém, também ocorre um aumento da citotoxicidade. Uma irrigação freqüente e copiosa com uma solução de hipoclorito de sódio a 2,5% pode manter uma reserva de cloro suficiente para eliminar um número significativo de células bacterianas, compensando o efeito da concentração (BYSTRÖM & SUNDQVIST, 1985; SIQUEIRA *et al.*, 2000a).

Limitações físicas inerentes ao sistema de canais radiculares impedem a ação dos instrumentos em áreas além do canal principal. As soluções irrigadoras permanecem por um período curto de tempo no canal radicular, especialmente com as modernas técnicas de instrumentação. Dessa forma, os efeitos do preparo químico-mecânico estão restritos a luz do canal principal (SIQUEIRA, 2001).

Devido a esta grande complexidade anatômica do sistema de canais radiculares e a organização ecológica da microbiota em biofilmes, compostos por células microbianas embebidas em uma matriz polissacarídica formando microcolônias, é bastante improvável que se consiga um sistema de canais radiculares completamente livre de microrganismos, através de qualquer técnica contemporânea de limpeza e modelagem do canal radicular e sua obturação, particularmente em uma única sessão. Bactérias localizadas dentro dos túbulos dentinários estão protegidas dos efeitos das células e moléculas de defesa, assim como de antibióticos administrados sistemicamente, já que a polpa dental encontra-se necrosada, e do preparo químico-mecânico (SIQUEIRA & LOPES,

1999). Estes fatos aumentam a importância e a necessidade da aplicação de medicação intracanal com o objetivo de reduzir a população microbiana de todo o sistema de canais radiculares para os menores níveis possíveis e assegurar o prognóstico mais favorável a longo prazo (NAIR *et al.*, 2005).

Por permanecerem por um período de tempo mais longo dentro do canal radicular, medicamentos intracanaís podem penetrar em áreas não atingidas pelos instrumentos endodônticos e soluções irrigadoras. Além disso, agindo como uma barreira física, a medicação intracanal pode tanto prevenir a reinfecção, quanto o suprimento de nutrientes para as bactérias remanescentes ao preparo químico-mecânico (SIQUEIRA & UZEDA, 1996).

Bons resultados clínicos têm sido atribuídos ao uso do hidróxido de cálcio como medicação intracanal (HEITHERSAY,1975; TRONSTAD, 1992; TROPE *et al.*,1999). O hidróxido de cálcio é uma base forte, com pH aproximadamente de 12.5, introduzida por HERMANN em 1920. Várias propriedades têm sido atribuídas a esta substância, como atividade antimicrobiana, solvente de tecido orgânico, inibidor de reabsorção dentária e indução de reparo através da formação de tecido duro (SIQUEIRA & UZEDA, 1996).

As propriedades do hidróxido de cálcio provêm de sua dissociação iônica em íons cálcio e íons hidroxila. Estes íons hidroxila são extremamente reagentes, interagindo com várias biomoléculas próximas ao seu local de formação. Seu efeito letal sobre microrganismos se dá pela indução da perda de integridade da membrana citoplasmática, da inativação de enzimas envolvidas no metabolismo celular e pelo dano ao DNA (SIQUEIRA, 2001). O hidróxido de cálcio exerce efeito

antimicrobiano no canal radicular enquanto mantiver o pH elevado. Se o hidróxido de cálcio se difundir nos tecidos e a concentração de hidroxila diminuir, como resultado de sistemas tampão (bicarbonato e fosfato), ácidos, proteínas e dióxido de carbono, seu efeito antibacteriano pode ser reduzido ou nulo. Bons resultados têm sido observados quando a substância está em contato direto com os microrganismos. Nestas condições, a concentração de íons hidroxila é bastante alta, atingindo níveis incompatíveis com a sobrevivência bacteriana. Clinicamente, este contato direto não é sempre possível (SIQUEIRA & LOPES, 1999) .

Em microrganismos gram-negativos, os lipopolissacarídeos ou endotoxinas da membrana celular, são liberados após a morte celular e constituem um importante fator de virulência (SILVA *et al.*,2002). Estudos indicam que o hidróxido de cálcio também promove a hidrólise deste componente, neutralizando-o (SAFAVI & NICHOLS,1994; SIQUEIRA & LOPES, 1997; SILVA *et al.*,2002) .

Um outro mecanismo que também tem sido proposto para tentar explicar a atividade antimicrobiana do hidróxido de cálcio é a capacidade desta substância de absorver dióxido de carbono nos canais radiculares. O dióxido de carbono é essencial para microrganismos anaeróbios estritos, como *Capnocytophaga*, *Eikenella* e *Actinomyces* spp. e ainda poderia ser provido por bactérias como *Fusobacterium*, *Bacteroides*, *Porphyromonas* e *Streptococcus* spp. Como o hidróxido de cálcio absorve o dióxido de carbono tecidual, microrganismos CO<sub>2</sub>-dependentes não sobreviveriam (KONTAKIOTIS *et al.*, 1995). Esse resultado vai de encontro com trabalhos de ESTRELA *et al.* (1998) e SIQUEIRA & LOPES (1999) os quais afirmaram que o hidróxido de cálcio precisa estar em contato

direto para que tenha ação antimicrobiana. Além disso, o dióxido de carbono tecidual dificilmente se esgotará e, se o hidróxido de cálcio reagir com o dióxido de carbono, perderá suas propriedades pH dependentes (SIQUEIRA, 1997).

O uso de uma medicação intracanal também pode perturbar as inter-relações nutricionais já estabelecidas, pode eliminar alguns microrganismos que poderiam ser essenciais para o crescimento de outros ou pode deixar alguns microrganismos cuja presença, permite o crescimento de outros ainda (GOMES *et al.*, 2002).

O tempo ideal para o hidróxido de cálcio exercer sua ação antimicrobiana e desinfetar da forma eficaz o canal radicular ainda não foi determinado. Este tempo pode estar relacionado à presença ou ausência de exsudato no canal radicular, tipo de microrganismo envolvido, localização dos microrganismos no sistema de canais radiculares e a presença ou ausência de *smear layer* (GOMES *et al.*, 2002). Nos estudos que inicialmente demonstraram a eficácia do hidróxido de cálcio, os canais radiculares permaneciam preenchidos por, pelo menos, um mês (CVEK *et al.*, 1976; BYSTRÖM *et al.*, 1985). Estudos *in vitro* demonstraram que muitos microrganismos comumente presentes na microbiota do canal radicular foram rapidamente eliminados quando expostos ao hidróxido de cálcio por até 1-6 minutos (BYSTRÖM *et al.*, 1985). SJÖGREN *et al.* (1991) concluíram que uma aplicação por 7 dias eliminou os microrganismos que sobreviveram à instrumentação nos canais radiculares.

Uma vez que se encontra na forma de pó, o hidróxido de cálcio deve ser associado a uma outra substância que permita a sua veiculação para o interior do

sistema de canais radiculares. Estes veículos podem ser classificados em inertes ou biologicamente ativos, no que diz respeito à atividade antimicrobiana (SIQUEIRA, 2001).

A biocompatibilidade do hidróxido de cálcio se deve a sua pequena solubilidade e difusão em água. Idealmente, os veículos devem possibilitar a dissociação iônica do hidróxido de cálcio. O veículo, no qual o hidróxido de cálcio é misturado, pode afetar as suas propriedades físicas e químicas e, com isso, sua indicação clínica e eficácia (FAVA & SAUNDERS, 1999).

Veículos inertes são biocompatíveis mas, não influenciam as propriedades antimicrobianas do hidróxido de cálcio. Estes incluem a água destilada, o soro fisiológico, as soluções anestésicas, a solução de metilcelulose, o óleo de oliva, a glicerina, o polietilenoglicol e o propilenoglicol. Os veículos biologicamente ativos conferem à pasta efeitos adicionais aos proporcionados pelo hidróxido de cálcio. Exemplos incluem o paramonoclorofenol canforado, a clorexidina, o iodeto de potássio iodetado, a cresatina e o tricresol formalina (LOPES & SIQUEIRA, 2004).

De acordo com suas características físico-químicas, os veículos ainda podem ser classificados em hidrossolúveis e oleosos. Os hidrossolúveis são miscíveis a água e podem ser divididos em: aquosos e viscosos (LOPES *et al.*, 1996).

Os veículos aquosos (água destilada, soro fisiológico, solução anestésica e solução de metilcelulose) permitem uma rápida dissociação iônica e, assim, uma maior ação por contato dos íons cálcio e hidroxila com os tecidos e microrganismos (BEHNEN *et al.*, 2001; LYNNE *et al.*, 2003). Por outro lado, estes

veículos também permitem uma rápida diluição da pasta no interior do canal radicular, sendo necessárias sucessivas trocas (SIQUEIRA & LOPES, 2004).

Os veículos viscosos (glicerina, polietilenoglicol, propilenoglicol) tornam a dissociação do hidróxido de cálcio mais lenta, provavelmente devido a um peso molecular mais elevado (SIQUEIRA & LOPES, 2004).

Os veículos oleosos (ácidos graxos, óleo de oliva, óleo de papoula-lipiodol, silicone, cânfora), como são pouco solúveis em água, conferem à pasta de hidróxido de cálcio pouca solubilidade e difusão junto aos tecidos (SIQUEIRA & LOPES, 2004). Em estudo de GOMES *et al.*, 2002, foi observado que os veículos oleosos aumentaram o efeito antimicrobiano do hidróxido de cálcio contra *E. faecalis* e outros microrganismos.

Diferentes testes para avaliação da capacidade antimicrobiana dos materiais endodônticos têm sido descritos. Alguns resultados indicam o hidróxido de cálcio, associado ao paramonoclorofenol canforado, como a melhor medicação intracanal para o tratamento de canais radiculares infectados (LEONARDO *et al.*, 1994; SIQUEIRA & UZEDA, 1997). No entanto, outros estudos têm demonstrado, através de análise histopatológica, que o hidróxido de cálcio associado a um veículo hidrossolúvel promove resultados mais favoráveis no tratamento de dentes com periodontite apical (HOLLAND *et al.*, 1999 a e b).

O fato de microrganismos associados ao fracasso da terapia endodôntica, como *E. faecalis* e *Candida albicans*, serem altamente resistentes ao hidróxido de cálcio põe em questionamento o uso rotineiro desta substância associada a um veículo inerte como medicação intracanal (BYSTRÖM *et al.*, 1985; HAAPASALO &

ORSTAVIK, 1987; ORSTAVIK & HAAPASALO, 1990; SAFAVI *et al.*, 1990; SIQUEIRA & UZEDA, 1996; SIQUEIRA & LOPES, 1999; WALTIMO *et al.*, 1999; SIQUEIRA & SEN, 2004). Estes dados justificam o emprego do hidróxido de cálcio basicamente como veículo para agentes antimicrobianos eficazes contra estes microrganismos, como o paramonoclorofenol canforado (SIQUEIRA & LOPES, 1999). É questionável, no entanto, se o cálcio e a hidroxila, resultantes desta associação, podem se espalhar pelos túbulos dentinários (GOMES CAMÕES *et al.*, 2003). De fato, o efeito antimicrobiano em túbulos dentinários tem sido atribuído ao PMCFC (SIQUEIRA, 1997).

A capacidade de preenchimento do hidróxido de cálcio é, provavelmente, mais importante em retardar a recontaminação do canal do que seu efeito químico. Pela baixa solubilidade em água do hidróxido de cálcio, ele é dissolvido lentamente na saliva, permanecendo no canal um período maior de tempo, impedindo a progressão das bactérias em direção ao forame apical (SIQUEIRA & LOPES, 1999).

Independente do veículo usado, o hidróxido de cálcio parece agir como uma eficaz barreira físico-química contra a micro-infiltração coronária. Dessa forma, o medicamento impede que haja substrato para os microrganismos e limita o espaço para multiplicação microbiana (SIQUEIRA *et al.*, 1998).

A medicação à base de hidróxido de cálcio pode ser levada ao interior do canal radicular através de diferentes técnicas, utilizando instrumentos endodônticos (limas), compactador de McSpadden, espiral Lentulo, porta-amálgama, aparelho de ultra-som, cone de guta-percha ou seringas especiais; o

grau de alargamento e a curvatura presente podem influenciar no completo preenchimento do canal. FAVA & OTANI (1998) avaliaram as diferentes técnicas de colocação de pasta à base de hidróxido de cálcio, para analisar a qualidade do preenchimento dos canais pela medicação e observaram que, em canais instrumentados até a lima #40, o preenchimento adequado foi conseguido por todas as técnicas empregadas; porém, em canais preparados até a lima #25, a Lentullo apresentou-se mais eficaz. Em contrapartida, AGUIAR & PINHEIRO (2001) observaram que as técnicas de inserção da medicação intracanal à base de hidróxido de cálcio não apresentaram diferença estatisticamente significativa, entre si, em canais instrumentados até a lima #25, apesar de que dos métodos empregados a Lentullo foi o que promoveu maior aporte da medicação à região apical.

A obturação dos canais radiculares tem um papel relevante na perpetuação do estado de desinfecção atingido pelo preparo químico-mecânico e pela medicação intracanal (BYSTRÖM & SUNDQVIST, 1983; PETERSSON *et al.*, 1991). As chances de sucesso do tratamento endodôntico tornam-se maiores quando a infecção intracanal é erradicada de maneira efetiva antes da obturação do sistema de canais radiculares (SJÖGREN *et al.*, 1997).

Os microrganismos que conseguem sobreviver em um canal radicular obturado devem resistir às medidas de desinfecção e devem ter a capacidade de se adaptar a mudanças do meio, como a escassez de nutrientes. Sendo assim, os poucos microrganismos que têm este potencial estão envolvidos nos casos de insucesso endodôntico (SIQUEIRA, 2001).

A microbiota associada ao insucesso endodôntico é normalmente composta por uma ou poucas espécies bacterianas, geralmente Gram-positivas. A utilização de métodos moleculares, como a Reação em Cadeia da Polimerase e o *Checkerboard*, para hibridizar DNA-DNA, contribuiu para a identificação de novos microrganismos associados ao fracasso endodôntico, a exemplo das espécies *Pseudoramibacter alactolyticus*, *Filifactor alocis*, *Tannerella forsythia* e *Dialister pneumosintes*. Estes estudos também confirmaram a associação de microrganismos já anteriormente tidos como putativos, como *E. faecalis* e *C. albicans* (SIQUEIRA & RÔÇAS, 2004).

É possível que alguns microrganismos consigam chegar nos tecidos perirradiculares e se estabelecer nos mesmos, caracterizando uma infecção extra-radicular. *Actinomyces* spp e *Propionibacterium propionicum* já foram associadas às infecções extra-radiculares, uma vez que são capazes de evadir às defesas do hospedeiro. Estas bactérias também podem ser associadas ao fracasso endodôntico (SIQUEIRA, 2003).

## PROPOSIÇÃO

---

O objetivo deste estudo foi avaliar *in vivo* a eliminação ou redução bacteriana intracanal após instrumentação utilizando a técnica dos Movimentos Contínuos de Rotação Alternada e irrigação com hipoclorito de sódio a 2,5% e após uso de medicação intracanal contendo hidróxido de cálcio e glicerina, utilizando como metodologia a técnica de cultura para anaeróbios estritos; e posterior identificação bacteriana por meio da análise da seqüência do gene do 16S rRNA.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

---

### **Seleção da amostra**

O material examinado foi coletado de pacientes encaminhados para tratamento endodôntico no Departamento de Endodontia da Universidade Estácio de Sá. Dez pacientes adultos contribuíram para a pesquisa, sendo 2 homens e 8 mulheres. Dois pacientes contribuíram com 2 dentes cada. A média de idade foi de 37 anos, variando entre 24 e 54 anos. Foram incluídos neste estudo 12 dentes unirradiculares que apresentavam tecido pulpar necrosado, com paredes intactas da câmara pulpar (com coroa hígida ou lesão cariiosa ou restauração coronária que não tivessem atingido a câmara pulpar) e que, radiograficamente, apresentavam evidência de reabsorção óssea perirradicular. Os dentes selecionados não apresentavam bolsa periodontal maior que 4 mm e os pacientes não haviam sido submetidos à antibioticoterapia sistêmica nos últimos 3 meses. O protocolo de pesquisa foi aprovado junto ao Comitê de Ética da Universidade Estácio de Sá.

### **Procedimentos Intracanaís**

As amostras foram coletadas por meio de medidas estritas de assepsia. Procedeu-se à raspagem de cálculo e ao polimento coronário com pedra-pomes,

antes do isolamento absoluto. O acesso coronário foi realizado somente após a colocação do isolamento absoluto. Para esta etapa foram utilizadas brocas esféricas carbide e broca Endo Z (Dentsply, Maillefer, Ballaigues, Suíça) em alta rotação sob refrigeração. Antes e após o acesso coronário, o dente e o campo operatório ao seu redor foram limpos com solução de peróxido de hidrogênio a 3%, embebida em uma bolinha de algodão estéril e por meio de uma pinça de algodão também esterilizada, até que a solução não apresentasse mais efervescência. Estes foram posteriormente descontaminados com solução de hipoclorito de sódio a 2,5%. Esta solução foi inativada com uma solução de tiosulfato de sódio a 5%.

Após o acesso coronário e a descontaminação do campo operatório, foi realizada coleta de uma amostra da coroa dentária para controle da descontaminação. Dois cones de papel estéreis foram esfregados na coroa do dente, na região do ângulo cavo-superficial da cavidade de acesso. Os cones foram inseridos em tubos contendo meio de cultura tioglicolato (Merck, Darmstadt, Alemanha) e incubados por 48 horas a 37°C.

- **Coleta Inicial**

Uma pequena quantidade de solução de tiosulfato de sódio a 5% foi gotejada na câmara pulpar, sem deixar extravasar. Quando necessário, o excesso de tiosulfato de sódio da câmara pulpar foi removido com bolinha de algodão estéril. Um instrumento endodôntico de calibre compatível com o canal radicular

(#10 ou #15) foi introduzido até a porção apical do canal, ou seja, cerca de 1 mm aquém do ápice radiográfico. Dessa forma, o tiosulfato de sódio era carregado em direção apical, ao mesmo tempo em que as células bacterianas eram emulsionadas. Foi realizada uma discreta limpeza das paredes.

Com uma pinça de algodão estéril e flambada na ponta antes de cada uso, selecionada exclusivamente para a realização das coletas, foram levados seqüencialmente para o interior do canal radicular 3 cones de papel absorventes, todos previamente esterilizados. Foram introduzidos em toda a extensão do canal até 1 mm aquém do ápice radiográfico. Cada cone de papel foi mantido em posição, no interior do canal, por, pelo menos, 1 minuto. Os cones de papel foram, então, transferidos para um tubo contendo fluido de transporte reduzido (RTF).

Após cada coleta, os tubos foram descontaminados externamente com solução de hipoclorito de sódio a 2,5% e levados imediatamente para o laboratório de Microbiologia, também localizado na Universidade Estácio de Sá.

- **Coleta Pós-instrumentação**

Nesta mesma sessão, o canal radicular foi instrumentado totalmente. Para o preparo químico-mecânico foi utilizada a técnica dos Movimentos Contínuos de Rotação Alternada (SIQUEIRA, 1997). Limas Nitiflex (Maillefer, Ballaigues, Suíça), confeccionadas a partir de uma liga de níquel-titânio com secção transversal triangular e ponta guia não-cortante, foram utilizadas. Como estas limas somente são encontradas até o número #60, para os números #70 e #80 foram utilizadas

limas de aço inoxidável tipo K Flexofile (Maillefer, Ballaigues, Suíça). O princípio de instrumentação planejada foi obedecido, a fim de favorecer limpeza e modelagem adequadas. Como foram utilizados neste estudo canais de dentes unirradiculares e preferencialmente retos, o preparo apical foi realizado até a lima #45 ou #50. Foram levados em consideração os seguintes fatores: instrumento endodôntico utilizado, volume radicular e presença ou ausência de curvatura detectada radiograficamente.

A irrigação com solução de hipoclorito de sódio a 2,5%, associada à aspiração, foi realizada concomitantemente em todo o preparo do canal radicular. Foi utilizada em média 2 a 3 mL de solução para cada recapitulação.

Após a instrumentação, uma nova amostra foi coletada conforme descrito para a coleta inicial: com uma pinça de algodão estéril e flambada na ponta foram introduzidos, até o comprimento de trabalho, 3 cones de papel absorventes do mesmo calibre da lima de memória, todos previamente esterilizados. Antes da coleta, o canal foi irrigado com 5 ml de tiosulfato de sódio a 5% para neutralizar o hipoclorito de sódio utilizado durante o preparo químico-mecânico. O tubo contendo solução RTF com as amostras também foi transportado para o laboratório, imediatamente, para ser processado.

Terminada a instrumentação, a *smear layer* foi removida através do uso de EDTA a 17% por 3 minutos e irrigação com 3 a 5 mL de hipoclorito de sódio a 2,5%. O canal radicular foi então medicado com pasta contendo hidróxido de cálcio e glicerina. Esta pasta foi manipulada até atingir consistência cremosa e foi levada para o interior do canal radicular através de espirais de Lentulo, até 2-3 mm

aquém do comprimento de trabalho. Foi realizada uma radiografia periapical para avaliar o adequado preenchimento do canal radicular com a medicação. Para conferir radiopacidade à pasta de hidróxido de cálcio e glicerina foi adicionada uma porção de óxido de zinco. A coroa dentária foi devidamente selada com cimento de ionômero de vidro (Vidrion R-S.S.White, Rio de Janeiro, Brasil).

- **Coleta Pós-medicação**

Após uma semana, a medicação intracanal foi removida por meio do uso de irrigação com 3 ml de solução salina estéril e recapitulação com a lima de memória. O material no interior do canal radicular foi, então, coletado da mesma forma que após a instrumentação, transportado para o laboratório e processado. O canal radicular foi obturado através da técnica de compactação lateral da gutapercha e selado coronariamente com cimento de ionômero de vidro (Vidrion R-S.S.White, Rio de Janeiro, Brasil).

### **Exame Microbiológico**

Após cada coleta, as amostras foram imediatamente transportadas para processamento no laboratório de Microbiologia, situado no mesmo prédio da clínica onde foi efetuado o tratamento.

Os tubos contendo as amostras da coleta inicial foram agitados em vórtex por 30 segundos. Posteriormente, foram feitas diluições seriadas de 10X em solução salina tamponada pré-reduzida e esterilizada em anaerobiose até  $10^{-3}$ .

Alíquotas de 0,1 ml da solução pura (não-diluída) e da última diluição foram semeadas em placas de ágar-sangue de carneiro com base de meio Brucella (BBL Microbiology Systems, Cockeysville, MD, EUA), suplementado com hemina (5 mg/l) e menadiona (1 mg/l), e em placas de ágar *Mitis-salivarius* (Difco, Maryland, MI, EUA). As placas foram incubadas no interior de uma jarra de anaerobiose por 14 dias a 37°C. A atmosfera anaeróbica foi gerada por envelopes do sistema GasPak Plus (BBL Microbiology Systems, Cockeysville, MD, EUA). As amostras pós-instrumentação e pós-medicação foram processadas da mesma forma, com exceção para o fato de que foram realizadas diluições seriadas até 10<sup>-2</sup>, uma vez que se acredita que nestas etapas já tenha ocorrido uma redução significativa no número de microrganismos presentes no canal radicular. Foram semeadas a amostra original e a última diluição (10<sup>-2</sup>).

Após o período de incubação, procedeu-se à contagem do número de unidades formadoras de colônias (UFCs) por amostra. Os números reais foram calculados tomando-se como base os fatores de diluição. Uma ou duas colônias de cada diferente tipo foram isoladas, transferidas para criotubos contendo tampão TE (10mM Tris-HCL, 1 mM EDTA, pH 8) e armazenadas a -20°C para posterior identificação através da análise da seqüência do gene 16S rRNA.

### **Identificação do gene do 16S rRNA**

O DNA genômico foi extraído através do aquecimento da suspensão bacteriana por 10 minutos a 97°C em um termociclador. Os tubos foram

armazenados por 5 minutos em gelo e centrifugados. Alíquotas de 5 µl do sobrenadante foram então utilizadas para amplificação por PCR (*Polimerase Chain Reaction*).

Amplificação do gene do 16S rRNA foi utilizada para a identificação bacteriana. O par de *primers* universal do gene do 16S rRNA usado foi 5'-GAT TAG ATA CCC TGG TAG TCC AC-3' e 5'-CCC GGG AAC GTA TTC ACC G-3', correspondendo às posições das bases 786-808 e 1,369-1,387, respectivamente, da seqüência do gene do 16S rRNA da espécie *Escherichia coli* (número de acesso do *GenBank* JO1695). Este par universal de *primers* flanqueia as regiões variáveis V5, V6, V7 e V8 do gene do 16S rRNA.

A amplificação por PCR foi realizada em um volume de reação de 50 µl, consistindo de 5 µl de tampão 10X para PCR, 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 1.25 U de *Tth* DNA polimerase e concentração de 0.2 mM de cada desoxirribonucleosídeo trifosfatado (todos os reagentes de Biotools, Madrid, Espanha), 5 µl de DNA extraído de cada amostra e 0.8 µM de cada *primer*. Os parâmetros cíclicos incluíram uma etapa de desnaturação inicial a 95°C por 2 minutos, seguida de 36 ciclos de desnaturação a 95°C por 30 segundos, anelamento dos *primers* a 60°C por 1 minuto e extensão a 72°C por 1 minuto, com uma etapa final a 72°C por 2 minutos.

Os produtos de PCR foram purificados utilizando um sistema de purificação para PCR (Wizard PCR Preps, Promega, Madison, WI, EUA) e, então, seqüenciados diretamente no seqüenciador automático de DNA ABI 377 utilizando *dye terminator chemistry* (Amersham Biosciences, Little Chalfont, Buckinghamshire, Reino Unido). Dados das seqüências e os respectivos

eletroferogramas foram inspecionados e editados através do *software* BioEdit (HALL,1999). As seqüências foram corrigidas quando observados erros óbvios no sequenciamento, como quando um falso espaço ocorria ou quando nucleotídeos indeterminados na seqüência podiam ser identificados de acordo com o eletroferograma.

As seqüências geradas foram comparadas aos dados do *GenBank* para identificar aquelas com maior similaridades, utilizando o programa BLAST (ALTSCHUL *et al.*, 1990). As seqüências do banco de dados com a maior similaridade e *scorebits* com a seqüência pesquisada foram escolhidas para identificação. Uma identidade maior que 99% com a seqüência do gene do 16S rRNA no banco de dados foi o critério usado para identificar a espécie.

### **Análise Estatística**

Foi utilizado o teste estatístico Mann-Whitney com significância de 5% ( $p < 0,05$ ), no intuito de comparar a eficácia de cada etapa na redução microbiana do canal radicular. Para isto, foram utilizados os valores absolutos do número de UFCs para cada amostra coletada.

Os dados relativos ao número de casos apresentando culturas positivas e negativas, após cada etapa de tratamento, foram registrados como valores percentuais.

## RESULTADOS

---

### Eliminação bacteriana

Um dente foi excluído do estudo por ter apresentado cultura positiva no teste de esterilidade do campo operatório. Nos demais 11 dentes, bactérias foram identificadas em todas as amostras iniciais dos canais radiculares. A mediana do número de UFCs na infecção primária foi  $3 \times 10^5$ , variando de  $4,0 \times 10^3$  a  $2 \times 10^8$  (Tabela 1).

Em média, o preparo-químico mecânico reduziu o número de células bacterianas presentes na infecção primária em 94,7% (variação 49,54%-100%). A mediana do número de UFCs encontradas imediatamente após a instrumentação e irrigação com NaOCl foi zero, variando de zero a  $1 \times 10^7$ . Dos 11 casos estudados, 6 apresentaram cultura negativa após o preparo químico-mecânico, o que representa uma eliminação “total” de bactérias cultiváveis em 54,5% dos casos (Tabela 1).

Após a medicação intracanal com pasta HG, observou-se uma redução de 99,67% na infecção primária (variação 96,52%-100%). A mediana do número de UFCs encontradas após a medicação foi zero, variando de zero a  $3,76 \times 10^5$ . Dos 11 casos estudados, 9 apresentaram culturas negativas após uso da pasta HG por

uma semana, correspondendo à eliminação “total” de bactérias cultiváveis em 81,8% dos casos (Tabela 1).

**Tabela 1**

Número de UFCs encontradas na amostra inicial e após instrumentação e medicação intracanal

<i>N</i>	<i>Caso</i>	<i>Amostra Inicial</i>	<i>Amostra Pós-Instrumentação</i>	<i>Amostra Pós-Medicação</i>
<b>1.</b>	1TT	$3 \times 10^5$	0 (100%)	0 (100%)
<b>2.</b>	2TT	$7.65 \times 10^5$	0 (100%)	0 (100%)
<b>3.</b>	4TT	$5.49 \times 10^5$	$2.77 \times 10^5$ (49.54%)	$3 \times 10^2$ (99.95%)
<b>4.</b>	5TT	$2.39 \times 10^4$	0 (100%)	0 (100%)
<b>5.</b>	6TT	$2 \times 10^8$	$1 \times 10^7$ (95%)	0 (100%)
<b>6.</b>	7TT	$2 \times 10^5$	$5.1 \times 10^3$ (97.45%)	0 (100%)
<b>7.</b>	8TT	$1.08 \times 10^7$	$9.2 \times 10^3$ (99.91%)	$3.76 \times 10^5$ (96.52%)
<b>8.</b>	9TT	$3.24 \times 10^4$	0 (100%)	0 (100%)
<b>9.</b>	10TT	$6 \times 10^6$	$2.4 \times 10^3$ (99.96%)	0 (100%)
<b>10.</b>	11TT	$8.8 \times 10^3$	0 (100%)	0 (100%)
<b>11.</b>	12TT	$4 \times 10^3$	0 (100%)	0 (100%)
	Median	$3 \times 10^5$	0	0

Não foi incluído no estudo o grupo controle, pois cada amostra é controle para si própria nas diferentes etapas da terapia endodôntica.

### **Identificação bacteriana**

A tabela 2 ilustra a identificação bacteriana através de seqüências do gene do 16S rRNA. Todas as bactérias apresentadas na tabela 2 estavam presentes no momento da infecção inicial, com exceção de *Lactococcus garvieae*. A coluna 1 mostra as espécies presentes apenas na infecção inicial e em nenhuma etapa subsequente; e as colunas 2 e 3 mostram as bactérias que persistiram após a instrumentação com a técnica MRA e irrigação com NaOCl e após a medicação com pasta de hidróxido de cálcio e glicerina, respectivamente.

Os gêneros mais freqüentemente detectados na infecção inicial dos canais radiculares foram *Streptococcus*, *Fusobacterium*, *Actinomyces*, *Staphylococcus* e *Rothia*. As espécies mais prevalentes foram *Streptococcus mitis* (3), *Fusobacterium nucleatum* (2), *Actinomyces israelii* (2), *Streptococcus anginosus* (2), *Streptococcus parasanguinis* (2).

Após o preparo químico-mecânico, os 5 casos nos quais a infecção persistiu, apresentaram bactérias dos gêneros *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Neisseria* e *Flavobacterium*, sendo 3 espécies do gênero *Streptococcus* e 2 espécies do gênero *Staphylococcus*.

Nos 2 casos com cultura positiva pós-medicação, foi observada a presença das espécies *Fusobacterium nucleatum* e *Lactococcus garviaea*. Este último só foi encontrado na amostra pós-medicação.

**Tabela 2**

Bactérias presentes na infecção inicial, pós-instrumentação e pós-medicação

<b>Bactérias presentes apenas na infecção inicial</b>	<b>Bactérias Persistentes</b>	
	<b>Pós-instrumentação</b>	<b>Pós-medicação</b>
<i>Actinomyces israelii</i> (2)	<i>Streptococcus mitis</i> biovar 2 (1)	<i>Fusobacterium nucleatum</i> (1)
<i>Streptococcus anginosus</i> (2)	<i>Streptococcus gordonii</i> (1)	<i>Lactococcus garviaea</i> (1) *
<i>Streptococcus mitis</i> biovar 2 (2)	<i>Streptococcus oralis/mitis/sanguinis</i> (1)	
<i>Streptococcus parasanguinis</i> (2)	<i>Neisseria sicca</i> (1)	
<i>Fusobacterium nucleatum</i> (1)	<i>Flavobacterium</i> sp. (1)	
<i>Prevotella marshallii</i> (1)	<i>Staphylococcus aureus</i> (1)	
<i>Campylobacter rectus</i> (1)	<i>Staphylococcus epidermidis</i> (1)	
<i>Actinomyces</i> oral clone GU009 (1)		
<i>Actinomyces</i> sp. (1)		
<i>Propionibacterium acnes</i> (1)		
<i>Streptococcus gordonii</i> (1)		
<i>Streptococcus</i> sp. oral strain T4-E3 (1)		
<i>Streptococcus oralis/mitis/sanguinis</i> (1)		
<i>Rothia dentocariosa</i> (1)		
<i>Rothia mucilaginosa</i> (1)		
<i>Delftia tsuruhatensis</i> (1)		
Não identificados (3)		

\*Espécie encontrada apenas na amostra pós-medicação.

Das seqüências genômicas analisadas durante este estudo, 3 delas não puderam ser identificadas e estavam presentes apenas na infecção inicial. Foram identificados 2 filotipos: *Actinomyces* oral clone GU009 e *Streptococcus* sp. oral strain T4-E3, que são conhecidos apenas pelo seu genótipo e não por suas características fenotípicas.

Foi encontrado um total de 28 isolados clínicos de 20 espécies diferentes e 3 seqüências não identificadas na infecção inicial, o que representa 2,8 espécies por canal radicular. Após o preparo químico-mecânico, foram identificadas 7 espécies bacterianas nos 5 canais infectados, representando 1,4 espécie por canal radicular. Nos 2 canais infectados pós-medicação foram encontradas 2 espécies, representando uma espécie por canal.

### **Análise Estatística**

Através do teste estatístico Mann-Whitney com significância de 5% foi observada diferença estatística significativa quando comparando a amostra inicial com a amostra pós-instrumentação ou com a amostra pós-medicação ( $p= 0,004$  e  $p= 0,0001$ , respectivamente).

Não houve diferença estatística significativa quando a amostra pós-instrumentação foi comparada à amostra pós-medicação ( $p=0,19$ ).

## DISCUSSÃO

---

O principal objetivo de um estudo biológico aplicado a uma disciplina clínica é prover base científica sólida para o diagnóstico e tratamento de uma determinada desordem, ajudando a resolver problemas clínicos e aumentando a eficácia da terapia (SIQUEIRA *et al.*, 2002a). A pesquisa voltada para a Endodontia assume uma importância especial ao descobrir métodos e materiais para erradicar e prevenir a principal doença de interesse do endodontista, a lesão perirradicular.

Através dos anos, inúmeros estudos têm demonstrado que microrganismos e seus produtos desempenham um papel fundamental na patogênese das doenças pulpares e perirradiculares (MILLER, 1894; KAKEHASHI *et al.* , 1965; SUNDQVIST,1976; MÖLLER *et al* ,1981; BAUMGARTNER & FALKLER, 1991; SIQUEIRA, 1997; SIQUEIRA, 2001). Na sua essência, a infecção endodôntica é a infecção do canal radicular de um dente e é o agente etiológico primário das diferentes formas das doenças inflamatórias perirradiculares. O processo patológico se inicia quando a polpa dentária se torna necrosada, geralmente como uma seqüela de lesão cáriosa, e, então, infectada por microrganismos que são usualmente habitantes normais da cavidade oral. O canal radicular com seu conteúdo necrosado fornece ao microrganismo um ambiente úmido, quente, nutritivo e anaeróbio que ainda é protegido das defesas do hospedeiro. Estas condições são favoráveis à colonização e multiplicação microbianas. Após o

estabelecimento da infecção endodôntica, os microrganismos entram em íntimo contato com os tecidos perirradiculares através do forame apical e foraminas, causam dano a estes tecidos e levam a um processo inflamatório. Se a infecção endodôntica é devidamente erradicada durante o tratamento endodôntico, as células do hospedeiro são favorecidas e ocorre a reparação tecidual. Se acontecer um equilíbrio entre o agente agressor e as células de defesa, o resultado é o desenvolvimento de uma doença inflamatória crônica nos tecidos em torno do ápice radicular (SIQUEIRA, 2002a). As inflamações perirradiculares estão entre as doenças mais comuns que podem afetar os seres humanos (SIQUEIRA & RÔÇAS, 2005).

Uma forte correlação entre a presença de microrganismos no canal radicular e a lesão perirradicular foi confirmada neste estudo. Dos dentes estudados, com sinais clínicos e radiográficos de periodontite apical crônica, todos (100%) apresentaram microrganismos cultiváveis na amostra inicial. Este achado é similar a outros estudos (SUNDQVIST,1976; BYSTRÖM & SUNDQVIST,1983; BYSTRÖM & SUNDQVIST,1985; BYSTRÖM *et al.*,1985; SJÖGREN *et al.*, 1997; SHUPING *et al.*, 2000; PETERS *et al.*, 2002; CARD *et al.*, 2002, WALTIMO *et al.*, 2005) .

Tem sido estimado que o espaço pulpar seja capaz de alojar de  $10^7$  a  $10^8$  células bacterianas (SJÖGREN *et al.*,1991). O número médio de UFCs na infecção inicial tem variado de  $6,5 \times 10^3$  a  $1 \times 10^5$  na literatura (BYSTRÖM & SUNDQVIST,1981; SJÖGREN *et al.*,1991; ORSTAVIK *et al.*, 1991; PETERS *et al.*, 2002). Neste estudo, a média de células bacterianas na infecção primária foi 1.99

$\times 10^7$ , variando de  $4,0 \times 10^3$  a  $2 \times 10^8$ . É sabido que quanto maior for o diâmetro de uma lesão perirradicular, maior será o número de células e espécies bacterianas dentro do sistema de canais radiculares e que a evolução da lesão perirradicular está diretamente vinculada ao tempo de duração de um quadro de infecção do sistema de canais radiculares (SUNDQVIST, 1992). Entretanto, é importante ressaltar que, aparentemente, o tamanho que a lesão perirradicular apresenta antes do tratamento endodôntico não tem influência no resultado deste (SJÖGREN *et al.*, 1990; 1997).

Baseando-se nestas evidências, o principal objetivo da terapia endodôntica tem sido focado na eliminação ou, pelo menos, em uma significativa redução, de microrganismos presentes no sistema de canais radiculares, o que pode ser atingido através do preparo químico-mecânico do conduto, uso de uma medicação intracanal e obturação do sistema de canais radiculares (BYSTRÖM & SUNDQVIST, 1983; BYSTRÖM *et al.*, 1985; PETERSSON *et al.*, 1991; TRONSTAD, 1992; SIQUEIRA & UZEDA, 1996; SJÖGREN *et al.*, 1997; DALTON *et al.*, 1998; TROPE *et al.*, 1999; SIQUEIRA, 2001; LOPES *et al.*, 2004; NAIR *et al.*, 2005).

BYSTRÖM & SUNDQVIST (1981;1983;1985) realizaram uma série de estudos *in vivo* que servem de referência para avaliar a eficácia antimicrobiana do preparo químico-mecânico dos canais radiculares. Os autores observaram uma redução de  $10^2$  a  $10^3$  vezes na contagem bacteriana após a instrumentação e irrigação com solução salina, mas, todos os dentes ainda apresentaram cultura positiva após a primeira consulta (BYSTRÖM & SUNDQVIST,1981). O uso

combinado de hipoclorito de sódio e EDTA como irrigantes demonstraram uma melhora significativa na eliminação bacteriana (BYSTRÖM & SUNDQVIST, 1983; 1985). ORSTAVIK *et al.* (1991) relataram achados semelhantes ao utilizarem solução salina para irrigação dos canais radiculares também *in vivo*. Somente 13 dos 23 dentes do estudo estavam livres de bactérias. DALTON *et al.* (1998) também utilizaram irrigação com solução salina para realizar o preparo químico-mecânico *in vivo*. Apenas 28% dos casos obtiveram cultura negativa. SIQUEIRA *et al.* (1999), ao utilizarem solução salina como irrigante em canais infectados com *E. faecalis* em estudo *in vitro*, observaram 100% de culturas positivas após o preparo dos canais.

Procedimentos de limpeza e desinfecção são altamente dependentes dos efeitos dos instrumentos endodônticos e da solução irrigadora. Sendo a irrigação-aspiração um procedimento de curta duração, é de se esperar que a redução do número de microrganismos esteja vinculada apenas à movimentação e renovação da solução irrigadora, ou seja, ao volume de solução empregado. Todavia, os componentes químicos com efeito antimicrobiano podem ajudar aos efeitos mecânicos na eliminação da infecção endodôntica. Várias são as vantagens de tais soluções além da eliminação de microrganismos, como desinfecção de áreas inacessíveis à limpeza mecânica, dissolução de tecidos e inativação de produtos microbianos (TROPE & BERGENHOLTZ, 2002).

Durante a Primeira Guerra Mundial, DAKIN introduziu o uso da solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) a 0,5% e 0,6% para anti-sepsia de feridas abertas e infectadas. Baseando-se neste fato, o NaOCl foi recomendado por COOLIDGE

(1919) como irrigante. Em 1936, WALKER introduziu o uso da soda clorada (NaOCl a 5%) como solução irrigadora para canais radiculares. Atualmente, NaOCl tem sido utilizado, mundialmente, como irrigante em Endodontia (BYSTRÖM & SUNDQVIST,1983).

Estudos clínicos e laboratoriais não puderam demonstrar nenhuma diferença significativa no efeito antimicrobiano de uma concentração de NaOCl a 0,5% ou a 5% (BYSTRÖM & SUNDQVIST,1985). Aparentemente, a frequência e o volume da irrigação com NaOCl podem compensar os efeitos da concentração (SIQUEIRA *et al.*, 2002a).

Os achados deste estudo demonstram que a instrumentação e irrigação com solução antimicrobiana dos canais radiculares reduziram consideravelmente a microbiota cultivável da amostra inicial. Através da técnica de instrumentação MRA (SIQUEIRA, 1997) e utilizando NaOCl a 2,5% como solução irrigadora, foi observada redução do número de microrganismos em 94,7% dos casos, em média, na infecção inicial imediatamente após o preparo químico-mecânico. Os resultados deste e de outros estudos (SIQUEIRA *et al.*,1997;1999;2000a) dão suporte a idéia de que preparos radiculares mais largos (tão largos quanto a anatomia os permite) e a irrigação freqüente e abundante com NaOCl, têm um papel fundamental na eficácia da terapia endodôntica.

O aumento do calibre do instrumento também é um importante fator para a redução microbiana. ORSTAVIK *et al.* (1991) relataram um decréscimo de 10 vezes no número de células microbianas com limpeza mais vigorosa. MATSUMIYA & KITAMURA, já em1960, observaram canais radiculares de dentes

infectados que foram instrumentados e relataram que à medida que os canais eram instrumentados até calibres maiores, o número de microrganismos diminuía. Para se ter a vantagem do maior calibre no preparo radicular, foi empregado, neste estudo, o conceito de instrumentação planejada, através da técnica MRA (SIQUEIRA, 1997).

Este maior alargamento no canal principal, em especial na porção apical, tem sido possível através da utilização de instrumentos de níquel-titânio. Estas limas realmente aumentam a eficácia da instrumentação por apresentarem a vantagem da flexibilidade (SHUPING et al., 2000; PETERS, 2004). Com instrumentos de níquel-titânio, enquanto o trajeto original é mantido, os canais radiculares curvos podem ser mais alargados até calibres que não eram viáveis para limas de aço inoxidável. Preparos mais largos podem incorporar irregularidades anatômicas e permitir a remoção de um número substancial de células microbianas de dentro dos canais radiculares. Além disso, estes canais mais largos também favorecem a eficácia da irrigação da porção apical (SIQUEIRA et al., 2002a).

No entanto, mesmo após um preparo químico-mecânico bem realizado ainda observa-se persistência microbiana, tanto em estudos in vitro (SIQUEIRA et al., 1997, 2000a, 2002a) como em estudos clínicos. Apesar da significativa redução do número de células bacterianas observada neste estudo, 6 dos 11 casos apresentaram total eliminação de bactérias cultiváveis após o preparo químico-mecânico. Isto representa um total de 45,5% de culturas positivas. O resultado deste estudo é comparável à literatura especializada.

BYSTRÖM & SUNDQVIST (1983), comparando as propriedades antimicrobianas da solução salina e do NaOCl a 0,5% em canais radiculares, observaram que mesmo após a irrigação com NaOCl associada à instrumentação mecânica ainda havia, aproximadamente, 60% de culturas positivas após a primeira consulta. Em trabalho de SJÖGREN et al. (1997), também através do uso de NaOCl a 0,5% e instrumentação com limas Hedstroem de aço inoxidável, 40% das amostras apresentavam cultura positiva. SHUPING et al. (2000), utilizando instrumentação rotatória com limas de NiTi e NaOCl a 1,25%, conseguiram dobrar o número de culturas negativas do estudo de BYSTRÖM & SUNDQVIST (1983), mas, 38% dos dentes ainda obtiveram cultura positiva. MCGURKIN-SMITH et al. (2005) relataram 52,72% de cultura positiva nas amostras após uso de instrumento rotatório de NiTi e NaOCl a 5,25%. Alguns trabalhos mostram números menores, como o de PETERS et al. (2002), no qual 24% das amostras obtiveram cultura positiva após o preparo dos canais com NaOCl a 2% e limas de NiTi; e o de WALTIMO et al. (2005), no qual foi observada presença de bactérias em 22% dos casos após instrumentação com limas de aço inox e irrigação com NaOCl a 2,5%. Também VIANNA *et al.* (2006), comparando o uso de NaOCl a 2,5% com clorexidina como irrigantes e utilizando instrumentos rotatórios de NiTi, encontraram 25% das amostras contaminadas após o preparo com NaOCl. No estudo de CARD *et al.* (2002), os dentes foram instrumentados até calibres muito maiores do que nos estudos anteriores. Através de uma instrumentação rotatória com NiTi mais calibrosa e uso de NaOCl a 1%, obtiveram 0% de amostras contaminadas em dentes unirradiculares e birradiculares e 18,5% em molares.

Após realização do preparo químico-mecânico e obturação em única sessão, microrganismos remanescentes foram localizados em 88% dos casos sob a forma de biofilme colonizando áreas inacessíveis aos instrumentos endodônticos e à solução irrigadora, incluindo istmos e canais acessórios (NAIR *et al.*, 2005). Microrganismos que permanecem viáveis podem levar a uma infecção persistente ou secundária, e, então, ao fracasso do tratamento endodôntico (SIQUEIRA, 2001).

Assim, o uso de uma medicação intracanal, com atividade antimicrobiana, entre as sessões de tratamento tem sido recomendado para eliminar possíveis microrganismos persistentes (BYSTRÖM *et al.*, 1985; SJÖGREN *et al.*, 1997; TROPE *et al.*, 1999), principalmente em casos de necrose pulpar com perda óssea perirradicular (SJÖGREN *et al.*, 1990), assim como as amostras deste estudo. Entre as medicações intracanaís disponíveis, o hidróxido de cálcio é o mais indicado e mais freqüentemente utilizado na clínica (HEITHERSAY, 1975; TRONSTAD, 1992; TROPE *et al.*, 1999). Suas propriedades antimicrobianas estão relacionadas a sua alta alcalinidade, que apresenta efeito destrutivo sobre a membrana celular bacteriana e sobre a estrutura de proteínas e do DNA (ESTRELA *et al.*, 1995). Além disso, agindo como uma barreira físico-química, a pasta de hidróxido de cálcio previne tanto a reinfecção quanto o suprimento de nutrientes para microrganismos remanescentes (SIQUEIRA & UZEDA, 1996).

A aplicação de uma medicação intracanal nos casos em que há indicação tem resultado em análises histológicas que demonstram um melhor reparo dos

tecidos perirradiculares, com maiores chances de selamento do forame por tecido mineralizado e reação inflamatória de menor intensidade ou ausente na região perirradicular (HOLLAND *et al.*, 1999a; KATEBZADEH *et al.*, 1999).

O período mínimo e máximo necessários para a manutenção da medicação intracanal nos casos selecionados ainda permanece incerto, mas, é sugerido um período de 7 a 14 dias para eficácia antimicrobiana (BYSTRÖM *et al.*, 1985; SJÖGREN *et al.*, 1991; SHUPING *et al.*, 2000; SIQUEIRA & LOPES, 2004).

BYSTRÖM *et al.* (1985) observaram que o hidróxido de cálcio utilizado por 4 semanas foi mais eficaz que o paramonoclorofenol canforado e o fenol canforado. O uso do hidróxido de cálcio resultou em 97% dos canais com cultura negativa, enquanto as outras medicações atingiram este nível em apenas dois terços dos canais tratados. McGURKIN-SMITH *et al.* (2005) observaram 86% dos canais livres de bactérias após o uso do hidróxido de cálcio por um período médio de 37 dias, variando de 7-110 dias. SJÖGREN *et al.* (1991) demonstraram que o uso por 7 dias do hidróxido de cálcio foi suficiente para que a redução bacteriana chegasse à cultura negativa. Quando SHUPING *et al.* (2000) associaram o uso da medicação intracanal com hidróxido de cálcio por 7 dias à instrumentação com limas de NiTi e irrigação com NaOCl, obtiveram 93% dos canais livres de bactérias. ORSTAVIK *et al.* (1991) observaram persistência de bactérias em 35% dos canais radiculares após 7 dias de medicação com hidróxido de cálcio. A percentagem de culturas negativas aumentou de 54,5%, imediatamente após o preparo químico-mecânico, para 81,8% após o uso da medicação intracanal no

presente estudo. Dos 11 casos avaliados, 9 apresentaram cultura negativa após uso de pasta de hidróxido de cálcio e glicerina por 7 dias.

Uma avaliação microbiológica *in vivo* das diversas etapas do tratamento endodôntico demonstrou que 98% dos dentes necrosados que apresentavam lesão perirradicular estavam infectados em uma amostragem inicial (antes do início da terapia), e que houve redução significativa de microrganismos após o preparo químico-mecânico e a aplicação de uma medicação intracanal sob a forma de pasta de hidróxido de cálcio, considerando a ausência de microrganismos remanescentes em 64% dos dentes avaliados (KVIST *et al.*, 2004). LAW & MESSER (2004) revisando a literatura sobre eficácia antimicrobiana de algumas medicações intracanaís *in vivo*, observaram que após o uso de hidróxido de cálcio, 73% dos canais radiculares apresentavam cultura negativa. Apenas cinco estudos, todos envolvendo hidróxido de cálcio, avaliaram separadamente a eficácia antimicrobiana da medicação (ORSTAVIK *et al.*, 1991; SJÖGREN *et al.*, 1991; YARED & BOU DAGHER, 1994; SHUPING *et al.*, 2000; PETERS *et al.*, 2002). SHUPING *et al.* (2000) observaram 61,9% dos canais com cultura negativa após o preparo químico-mecânico, aumentando este número para 93% após a utilização de hidróxido de cálcio como medicação intracanal por 7 dias.

Diferentes veículos têm sido associados ao hidróxido de cálcio como uma tentativa de aumentar a atividade antimicrobiana, biocompatibilidade, dissociação iônica e difusão. SIQUEIRA & UZEDA (1997) analisaram os efeitos antimicrobianos do hidróxido de cálcio associado à água destilada,

paramonoclorofenol canforado (PMCC) e glicerina através do método de difusão em ágar. O hidróxido de cálcio associado ao PMCC demonstrou as maiores zonas de inibição para todas as espécies de bactérias testadas, sendo ineficaz quando associado à água destilada e à glicerina. Outros trabalhos discordam destes resultados (BYSTRÖM *et al.*, 1985; HOLLAND *et al.*, 1999 a;b). De acordo com os resultados deste estudo, após o uso da medicação intracanal, na qual o hidróxido de cálcio foi associado à glicerina, um veículo inerte, foi observada redução de, em média, 99,67% do número de células bacterianas presentes na infecção primária.

As diferenças observadas entre alguns estudos podem ser explicadas por certos fatores como a diferença geográfica na associação bacteriana das infecções endodônticas, a variação na microbiota inicial dependente de uma infecção aguda ou crônica no espaço pulpar, variáveis relacionadas ao operador que executa a terapia endodôntica, quantidade de NaOCl utilizada, integridade das restaurações temporárias e, finalmente, a possibilidade de resultado falso positivo ou negativo dependente da técnica microbiológica utilizada (CHU *et al.*, 2003).

Como descrito, vários são os estudos que demonstraram os efeitos do preparo químico-mecânico e da medicação intracanal sobre a infecção endodôntica. Entretanto, ainda existe pouco conhecimento sobre quais são os microrganismos que sobrevivem a estes procedimentos (CHÁVEZ DE PAZ *et al.*, 2003).

Os resultados deste estudo reforçam o conceito de infecção endodôntica primária polimicrobiana. Foi encontrada uma relação de 2,8 espécies bacterianas por canal radicular, comparável com estudo de CHAVEZ DE PAZ *et al.* (2003), no qual foram encontradas aproximadamente 2 espécies por caso. No entanto, não foi o objetivo a caracterização quantitativa de nenhuma espécie em especial. O objetivo principal da identificação bacteriana através do seqüenciamento do gene 16S rDNA foi verificar quais bactérias sobreviveram e quais foram eliminadas após o preparo químico-mecânico e a medicação intracanal

No presente estudo, os gêneros mais prevalentes foram *Streptococcus*, *Fusobacterium*, *Actinomyces*, *Staphylococcus* e *Rothia*, sendo apenas este último pouco citado na literatura (KAKEHASHI *et al.*, 1965; SUNDQVIST *et al.*, 1998; SIQUEIRA *et al.*, 2002b; CHAVÉZ DE PAZ *et al.*, 2003; SIQUEIRA *et al.*, 2004b; CHU *et al.*, 2006)

SIQUEIRA *et al.* (2002b) relataram a presença de *Streptococcus*, em especial do grupo *S. anginosus*, em alta prevalência em infecções de origem endodôntica, incluindo infecções crônicas e agudas. Observaram prevalência ainda maior em casos de infecções purulentas. Apesar dos fatores de virulência de espécies de *Streptococcus* não serem muito definidos, enzimas, produtos metabólicos, peptidoglicano e ácido lipoteicóico podem exercer um importante papel para a patogenicidade destas bactérias.

Polpas necrosadas, geralmente, não oferecem resistência para o estabelecimento de espécies de *Actinomyces*, exceto pela pressão seletiva exercida pelo microambiente. Tem sido sugerido que cepas de *Actinomyces* têm

estruturas fimbriais que permitem a aderência destas bactérias à parede do canal radicular, justificando sua presença em infecções endodônticas. *Actinomyces* podem ser observados em 10-15% das infecções iniciais (BYSTRÖM *et al.*, 1987; GOMES *et al.*, 1996). Estas bactérias ainda podem se aderir a debris dentinários e avançarem para os tecidos perirradiculares levando a uma infecção extra-radicular (SIQUEIRA *et al.*, 2002b).

Muito embora não tenha sido verificado no laboratório de Microbiologia nenhum caso de contaminação do campo operatório, a não ser a amostra desprezada, algumas espécies de *Staphylococcus*, como o *S. aureus* e *S. epidermidis*, que não são membros da microbiota oral, foram encontradas na infecção endodôntica deste estudo. Geralmente, estão associadas à infecção secundária por quebra da cadeia asséptica (SIQUEIRA *et al.*, 2004b).

É importante ressaltar que a mera presença de uma espécie bacteriana em um canal radicular infectado não é suficiente para considerá-la um patógeno. Esta pode ser apenas um oportunista que se estabelece no canal radicular como resultado da necrose pulpar, podendo não participar de forma alguma na etiologia das alterações patológicas perirradiculares (SIQUEIRA, 2002)

O preparo químico-mecânico conseguiu a redução de 94,7% do número de células bacterianas neste estudo mas, bactérias dos gêneros *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Neisseria* e *Flavobacterium* ainda persistiram nos 5 casos contaminados. Todas estas bactérias estavam presentes na infecção inicial do canal radicular. Os possíveis fatores que permitiram a sobrevivência delas após os procedimentos endodônticos incluem a capacidade das bactérias de penetrar

em túbulos dentinários, a formação de biofilme e a secreção de produtos do metabolismo que revertem os efeitos antimicrobianos (WALTIMO *et al.*, 2005; CHU *et al.*, 2006).

De acordo com a literatura, existe um predomínio de bactérias anaeróbias facultativas após a instrumentação e irrigação dos canais radiculares (BYSTRÖM & SUNDQVIST, 1981; GOMES *et al.*, 1996; PETERS *et al.*, 2002; SORIANO DE SOUZA *et al.*, 2005). É encontrado também o predomínio de bactérias Gram-positivas nesta etapa da terapia endodôntica, sugerindo que o tratamento é mais eficaz contra Gram-negativos do que Gram-positivos. A maioria das bactérias Gram-positivas são habitantes normais da cavidade oral e podem ser patógenos oportunistas envolvidos com várias infecções orais, incluindo a infecção endodôntica (SIQUEIRA *et al.*, 2002b).

Estes resultados dão suporte à hipótese de que os procedimentos endodônticos podem selecionar os organismos mais resistentes, enquanto os mais susceptíveis são facilmente eliminados. A suposta maior resistência de bactérias Gram-positivas pode estar relacionada a diferentes fatores como estrutura da parede celular, secreção de produtos do metabolismo e resistência a medicações. A verdadeira natureza e implicações destes fatores precisam ser aclaradas (CHÁVEZ DE PAZ *et al.*, 2003).

Muitos trabalhos sobre a microbiota intracanal associada a dentes tratados endodonticamente com lesões perirradiculares refratárias relatam a prevalência de *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* ou outros Gram-positivos (FABRICIUS *et al.*, 2006).

Bactérias da espécie *Streptococcus* também foram mais prevalente após tratamento endodôntico nos trabalho de CHAVÉZ DE PAZ *et al.* (2003) e CHU *et al* (2006). GOMES *et al.* (1996) isolaram diversas espécies de *Streptococcus* após instrumentação endodôntica sem o uso de medicação intracanal entre as sessões de tratamento, principalmente, espécies do grupo *S. milleri*, *S. anginosus*, *S. constellatus* , *S. intermedius* e *S. gordonii*. De fato, SUNDQVIST *et al.* (1998) observaram que membros do grupo *Streptococcus* foram prevalentes em casos de insucesso do tratamento endodôntico, assim como *E. faecalis*.

Após a medicação intracanal, o número de células bacterianas reduziu, em média, 99,67% e foi observada a eliminação de muitas bactérias identificadas pós-instrumentação e irrigação. Nos 2 casos que apresentaram cultura positiva, as bactérias presentes foram *F. nucleatum* e *L. garviaea* .

A espécie *F. nucleatum* tem sido associada ao insucesso endodôntico. Esta e outras subespécies têm sido descritas como microrganismos-chave para o processo de co-agregação entre diferentes gêneros de bactérias facultativas (SORIANO DE SOUZA *et al.*, 2005). Bactérias Gram-negativas, assim como *F. nucleatum*, têm sido constantemente associadas ao desenvolvimento de sinais e sintomas das doenças endodônticas (SIQUEIRA *et al.*, 2002b). Segundo PINHEIRO *et al.* (2003), *Prevotella spp* e *Fusobacterium spp* são freqüentemente isolados de obturações endodônticas associadas à dor ou à história de dor prévia.

A espécie *F. nucleatum* encontrada pós-medicação estava presente na infecção inicial do canal radicular mas, não foi identificada na amostra pós-instrumentação. Pode ter ocorrido falha durante o procedimento de coleta desta

amostra do canal radicular ou, então, pode ter acontecido do número de células de *F. nucleatum* ter permanecido abaixo do limite de detecção para cultura no instante após o preparo químico-mecânico (CHU *et al.*, 2006).

A espécie *L. garviaea* foi encontrada apenas na amostra pós-medicação. Pode ser considerada um contaminante. Esta bactéria tem sido encontrada em peixes crus e pode ter entrado no canal radicular por percolação coronária entre as consultas de tratamento (MENENDEZ *et al.*, 2006; WANG *et al.*, 2006).

No presente estudo, espécies de difícil cultivo como espiroquetas, *Tannerella*, *Dialister* e *Filifactor*, previamente associados a amostras de canais radiculares não foram detectadas (WALTIMO *et al.*, 1999; OLIVEIRA *et al.*, 2000; RÔÇAS *et al.*, 2000; SIQUEIRA *et al.*, 2000b; RÔÇAS *et al.*, 2001; SIQUEIRA *et al.*, 2001; CHÁVEZ DE PAZ *et al.*, 2003; SIQUEIRA *et al.*, 2004a). Como as identificações do gene 16 S rDNA foram realizadas a partir de UFCs presentes nas placas, estes microrganismos podem não ter crescido. Apesar de fungos crescerem em placas de aguar-sangue, não foi utilizado nenhum meio específico para eles neste estudo. *E faecalis* e *Pseudomonas aeruginosa*, geralmente associados a lesões perirradiculares refratárias, também não foram encontradas, assim como em trabalho de CHU *et al.* (2006).

As principais vantagens dos métodos de cultura estão relacionadas ao seu amplo alcance, o que torna possível a identificação de uma grande variedade de espécies microbianas. Métodos de cultura ainda permitem determinar a susceptibilidade a antimicrobianos do microrganismo isolado e estudar a sua fisiologia e patogenicidade. Entretanto, estes métodos têm algumas limitações.

Muitos laboratórios utilizam metodologias para o estudo do fenótipo microbiano através de dispositivos manuais, automáticos ou semi-automáticos; e de sistemas comerciais para a identificação de um patógeno. Os algoritmos e o banco de dados utilizados para a interpretação dos resultados se baseiam em características já conhecidas e referendadas, obtidas a partir de propriedades bioquímicas e físicas ideais para o crescimento microbiano. Perfis fenotípicos baseados na coloração pelo método de Gram, morfologia de colônias, requisitos para crescimento e atividades enzimáticas e/ou metabólicas são desenvolvidos mas, estas características não são estáticas e podem ser alteradas pelo estresse e pela própria evolução. Sendo assim, quando um microrganismo comum apresenta um fenótipo incomum, quando um microrganismo não está no banco de dados ou quando o banco de dados está desatualizado, a confiança apenas no fenótipo pode comprometer a identificação microbiana precisa. A experiência do operador também pode comprometer a identificação quando esta se baseia na interpretação de resultados de testes bioquímicos (PETTI *et al.*, 2005).

Além disso, a impossibilidade de cultivo de um grande número de espécies bacterianas representa uma das maiores desvantagens dos métodos de cultura (SIQUEIRA & RÔÇAS, 2005).

Avanços recentes em tecnologia de biologia molecular levaram a uma nova perspectiva e redefinição da microbiota associada à infecção endodôntica. Atualmente, a PCR (*Polimerase Chain Reaction*) consiste na técnica universalmente utilizada para o estudo de DNA e RNA obtidos a partir de uma variedade de fontes. No diagnóstico microbiológico, a PCR tem sido utilizada para

detectar diretamente o DNA e RNA de um patógeno em uma amostra, mesmo quando o microrganismo não é cultivável, está em baixo número, o paciente está sob antibioticoterapia, quando o agente infeccioso está em um material não disponível para cultura, como peças fixadas, e de uma maneira mais rápida que os métodos de cultura (SIQUEIRA & RÔÇAS, 2005). Apesar de não ser perfeita, a identificação genotípica baseada no sequenciamento do gene 16S rDNA é mais precisa, objetiva e fidedigna e, ainda, está revolucionando o conhecimento sobre filologia e taxonomia (CHRISTENSEN *et al.*, 2005; PETTI *et al.*, 2005). Por estes motivos, foi escolhido o método da PCR para a identificação das bactérias deste estudo.

A PCR foi idealizada por Kary Mullis em 1983, o que lhe rendeu o Prêmio Nobel de Química em 1993. Tal método consiste basicamente no processo de replicação *in vitro* do DNA, através de repetidos ciclos de desnaturação, anelamento de *primers* e extensão da fita do DNA estudado. Sequências pequenas com 450-650 pares de bases parecem ser suficientes para a maioria das identificações bacterianas (CHRISTENSEN *et al.*, 2005). Este método é capaz de gerar milhões a bilhões de cópias de uma molécula de DNA em uma a duas horas (SIQUEIRA *et al.*, 2004b).

Para este estudo, uma identidade >99% com o gene 16S rDNA sequenciado foi o critério utilizado para identificar uma espécie. Uma identidade entre 97 e 99% sugeria o gênero e < 97% definia uma possível nova espécie (DRANCOURT *et al.*, 2004).

Sendo assim, foi possível identificar 2 filotipos previamente considerados “não-cultiváveis”: *Actinomyces* oral clone GU009 e *Streptococcus* sp. oral strain T4-E3. Estes ainda não puderam ser caracterizados fenotípicamente para constituírem uma espécie. Dependem de resultados dos testes anteriormente citados.

Através do teste estatístico utilizado, foi possível comparar a eliminação e/ou redução no número de células bacterianas entre as etapas do tratamento endodôntico. Para um nível de significância de 5%, houve diferença entre o número de células bacterianas encontradas na amostra inicial do canal radicular e na amostra pós-instrumentação ( $p=0,004$ ). O mesmo ocorrendo quando comparando a amostra inicial com a amostra pós-medicação ( $p=0,0001$ ). Estes resultados confirmam o que já foi mostrado anteriormente, em termos de percentagem de redução de células bacterianas pós-instrumentação e pós-medicação.

No entanto, em termos quantitativos, não houve diferença estatística entre a amostra pós-instrumentação e a amostra pós-medicação ( $p=0,19$ ). Mas, em termos qualitativos, podemos observar que dos 5 casos que apresentaram bactérias persistentes após a instrumentação, em 3 foi possível eliminar completamente a infecção. Este fato torna justificável o uso de uma medicação intracanal (SHUPING *et al*, 2000; SORIANO DE SOUZA *et al.*, 2005; WALTIMO *et al.*, 2005; CHU *et al*, 2006).

Microrganismos podem sobreviver no sistema de canais radiculares após a aplicação da medicação intracanal por uma série de razões e dentre estas podem

ser mencionadas: espécies bacterianas presentes na infecção endodôntica podem apresentar resistência intrínseca à medicação; células bacterianas podem estar localizadas em áreas inacessíveis à medicação intracanal; pode ocorrer a neutralização da medicação intracanal, havendo prejuízo do efeito antimicrobiano; a medicação pode ter permanecido por tempo insuficiente no sistema de canais radiculares para atingir e eliminar microrganismos; bactérias podem ativar e expressar genes que conferem virulência, adaptando-se ao desafio imposto pelo meio, permitindo assim, a sua sobrevivência (SIQUEIRA & LOPES, 1999).

O *status* bacteriológico no momento da obturação do sistema de canais radiculares tem um impacto extraordinário na cura da lesão perirradicular (SJÖGREN *et al.*, 1997; WALTIMO *et al.*, 2005; FABRICIUS *et al.*, 2006). Uma vez que não se pode determinar, clinicamente, a presença ou ausência de infecção no momento da obturação, devemos seguir protocolos para conduta clínica que apresentem comprovação científica. A tendência mundial da atualidade é realizar uma prática baseada em evidências, sendo este o grande paradigma em todas as áreas de Medicina (SPANGBERG, 2001).

É importante ressaltar que o sucesso da terapia endodôntica depende não apenas da realização de um tratamento baseado em uma estratégia antimicrobiana mas, também da prevenção da reinfecção do sistema de canais radiculares (SJÖGREN *et al.*, 1991). A restauração coronária deve, portanto, ser considerada como parte integrante do tratamento endodôntico .

## CONCLUSÃO

---

Os dados obtidos neste estudo demonstraram a diversidade microbiológica presente nos casos de necrose pulpar associada à lesão perirradicular crônica, confirmando a causa polimicrobiana destas infecções.

Uma redução estatisticamente significativa no número de bactérias foi observada após a utilização de um protocolo antimicrobiano para a instrumentação e irrigação com NaOCl a 2,5% dos canais radiculares. A medicação intracanal com pasta de hidróxido de cálcio e glicerina demonstrou ser um auxiliar eficaz para a terapia endodôntica, aumentando o número de casos com culturas negativas.

No futuro, devem ser realizadas investigações para definir o papel específico de determinadas espécies que resistem ao tratamento endodôntico, assim como, devem ser pesquisadas novas medicações e/ou associações mais eficazes em erradicar a infecção endodôntica.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

Aguiar CM, Pinheiro JT (2001). Avaliação de quatro métodos de colocação de curativo de demora à base de hidróxido de cálcio. *Pesq Odont Bras* 15: 135.

Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ (1990). Basic local alignment search tool. *J Mol Biol* 215: 403-410.

Baker NA, Eleazer PD, Averbach RE, Seltzer S (1975). Scanning electron microscopical study of the efficacy of various irrigating solutions. *J Endod* 1: 127-135.

Baumgartner JC, Falkler WA Jr (1991). Bacteria in the apical 5mm of infected root canals. *J Endod* 17: 380-383.

Bergenholtz G, Spangberg L (2004). Controversies in Endodontics. *Crit Rev Oral Biol Med* 15: 99-114.

Byström A, Claesson R, Sundqvist G (1985). The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. *Endod Dent Traumatol* 1: 170-175.

Byström A, Happonen RP, Sjögren U, Sundqvist G (1987). Healing of periapical lesions of pulpless teeth after endodontic treatment with controlled asepsis. *Endod Dent Traumatol* 3: 58-63.

Byström A, Sundqvist G (1981). Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scand J Dent Res* 89: 321-328.

Byström A, Sundqvist G (1983). Bacteriologic evaluation of the effect of 0.5 percent sodium hypochlorite in endodontic therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 55: 307-312.

Byström A, Sundqvist G (1985). The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *Int Endod J* 18: 35-40.

Chávez de Paz LE, Dahlén G, Molander A, Möller A, Bergenholtz G (2003). Bacteria recovered from teeth with apical periodontitis after antimicrobial endodontic treatment. *Int Endod J* 36: 500-508.

Christensen JJ, Andresen K, Justesen T, Kemp M (2005). Ribosomal DNA sequencing: experiences from use in the Danish National Reference Laboratory for identification of bacteria. *APMIS* 113: 621-628.

Chu FCS, Leung WK, Tsang PCS, Chow TW, Samaranayake LP (2006). Identification of cultivable microorganisms from root canals with apical periodontitis following two-visit endodontic treatment with antibiotics/steroid or calcium hydroxide dressings. *J Endod* 32: 17-23.

Cvek M, Hollender L, Nord CE (1976). Treatment of non-vital permanent incisors with calcium hydroxide. *Odontologist Rev* 27: 93-108.

Dalton C, Orstavik D, Phillips C, Pettiet M, Trope M (1998). Bacterial reduction with nickel-titanium rotary instrumentation. *J Endod* 24: 763-767.

Dougherty WJ, Bae KS, Watkins BJ, Baumgartner JC (1998). Black-pigmented bacteria in coronal and apical segments of infected root canals. *J Endod* 24: 356-358.

Drancourt M, Berger P, Raoult D (2004). Systematic 16S rRNA sequencing of atypical clinical isolates identified 27 new bacterial species associated with humans. *J Clin Microbiol* 42: 2197-2202.

Estrela C, Estrela CRA, Barbin EL, Spanó JCE, Marchesan MA, Pécora JD (2002). Mechanism of action of sodium hypochlorite. *Braz Dent J* 13: 113-117.

Estrela C, Pimenta FC, Ito IY, Bammann LL (1998). *In vitro* determination of direct antimicrobial effect of calcium hydroxide. *J Endod* 24: 15–17.

Estrela C, Sydney GB, Bammann LL, Felipe O Jr (1995). Mechanism of action of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria. *Braz Dent J* 6: 85-90.

Fabricius L, Dahlén G, Ohman AE, Möller AJR (1982). Predominant indigenous oral bacteria isolated from infected root canals after varied times of closure. *Scand J Dent Res* 90: 134-144.

Fabricius L, Dahlén G, Sundqvist G, Happonen RP, Möller AJR (2006). Influence of residual bacteria on periapical tissue healing after chemomechanical treatment and root filling of experimentally infected monkey teeth. *Eur J Oral Sci* 114: 278-285.

Fava LRG, Otani AY (1998). Available techniques for calcium hydroxide placement within the root canal. *Braz Endod J* 3: 34–42.

Fava LRG, Saunders WP (1999). Calcium hydroxide pastes: classification and clinical indications. *Int Endod J* 32: 257-282.

Goldman LB, Goldman M, Kronman JH, Lin PS (1981). The efficacy of several irrigating solutions for endodontics: a scanning electron microscopic study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 52:197-204.

Gomes BPFA, Ferraz CCR, Garrido FD, Rosalen PL, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ (2002). Microbial susceptibility to calcium hydroxide pastes and their vehicles. *J Endod* 28: 758-761.

Gomes BPFA, Lilley JD, Drucker DB (1996). Variations in the susceptibilities of components of the endodontic microflora to biomechanical procedures. *Int Endod J* 29: 235-241.

Gomes Camões IC, Salles MR, Chevitaese O (2003). Ca<sup>2</sup> diffusion through dentin of Ca (OH)<sub>2</sub> associated with seven different vehicles. *J Endod* 29: 822-825.

Haapasalo M, Orstavik D (1987). *In vitro* infection and disinfection of dentinal tubules. *J Dental Research* 66: 1375-1379.

Hall TA (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symp Ser* 41: 95-98.

Heithersay GS (1975). Calcium hydroxide in the treatment of pulpless teeth with associated pathology. *J Brit Endod Soc* 8: 74-92.

Holland R, Otoboni Filho JA, Souza V, Nery MJ, Bernabe PFE (1999 a). Reparação dos tecidos periapicais com diferentes formulações do hidróxido de cálcio – estudo em dentes de cães. *Rev Ass Paul Cir Dent* 53: 327-331.

Holland R, Gonzales AC, Souza V, Otoboni Filho JÁ, Bernabe PFE (1999 b). Efecto de los medicamentos colocados em el interior del conducto, hidrosoluble y no hidrosoluble en el processo de reparación de dientes de perros com lesión periapical. *Rev Española de Endodoncia* 17:90-100.

Ingle JI, Zeldow BJ (1958). An evaluation of mechanical instrumentation and the negative cultura in endodontic therapy. *J Am Dent Assoc* 57: 471-476.

Takehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ (1965). The effects of surgical exposures of dental pulp in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 20: 340-349.

Katebzadeh N, Hupp J, Trope M (1999). Histological periapical repair after obturation of infected root canals in dogs. *J Endod* 25: 364-368.

Kotakiotis E, Nakou M, Georgopoulou M (1995). *In vitro* study of the indirect action of calcium hydroxide on the anaerobic flora of the root canal. *Int Endod J* 28: 285-289.

Kvist T, Molander A, Dahlén G, Reit C (2004). Microbiological evaluation of one and two visit endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: a randomized clinical trial. *J Endod* 8: 572-576.

Leonardo MR, Almeida WA, Ito IY, Silva LAB (1994). Radiographic and microbiologic evaluation of posttreatment apical and periapical repair of root canals of dogs teeth with experimentally induced chronic lesion. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 78: 232-238.

Lin IM, Pascon EA, Skribner J, Gaengler P, Langeland K (1991). Clinical, Radiographic and histologic study of endodontic treatment failures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 71: 603-611.

Lopes HP, Estrela C, Siqueira JF Jr, Fava LR (1996). Considerações químicas, microbiológicas e biológicas do hidróxido de cálcio. *Odonto Master: Endod* 1: 1-17.

Lopes HP, Siqueira JF Jr, Elias CN (2004). Preparo químico-mecânico dos canais radiculares. In: Lopes HP, Siqueira JF Jr. *Endodontia. Biologia e Técnica*. Rio de Janeiro, RJ: MEDSI, 419-480.

Matsumiya S, Kitamura M (1960). Histo-pathological and histo-bacteriological studies of the relationship between the condition of sterilization of the interior of the root canal and the healing process of periapical tissues in experimentally infected root canal treatment. *Bull Tokyo Dent Coll* 1: 1-19.

Menendez A, Mayo B, Guijarro JA (2006). Construction of transposition insertion libraries and specific gene inactivation in the pathogen *Lactococcus garvieae*. *Rev Microbiol* 6: 575-581.

Mc Donnel G, Russel AD (1999). Antiseptics and disinfectants: activity , action and resistance. *Clin Microbiol Rev* 12:147-179.

Mc Gurkin-Smith R, Trope M, Caplan D, Sigurdsson A (2005). Reduction of intracanal bacteria using GT rotary instrumentation, 5,25% NaOCl, EDTA and Ca(OH)<sub>2</sub>. *J Endod* 31:359-363.

Molander A, Reit C, Dahlén G, Kvist T (1998). Microbiological status of root –filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J* 31: 1-7.

Möller AJR, Fabricius L, Dahlén G, Omán AE, Hieden G (1981). Influence on periapical tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. *Scand J Dent Res* 89: 475-484.

Nair PNR (2000). Apical periodontites: a dynamic encounter between root canal infection and host response. *Periodontol 2000* 13: 121-148.

Nair PNR, Henry S, Cano V, Vera J (2005). Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after "one-visit" endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2: 231-252.

Nair PNR, Sjögren U, Kahnberg KE, Krey G, Sundqvist G (1990). Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: a long-term light and electron microscopic follow-up study. *J Endod* 16: 580-588.

Oliveira JCM, Siqueira JF Jr, Alves JB, Hirata R Jr, Andrade AFB (2000). Detection of *Porphyromonas endodontalis* in infected root canals by 16s rRNA gene directed polymerase chain reaction. *J Endod* 26: 729-732.

Orstavik D, Haapasalo M (1990). Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. *Endod Dental Traumatol* 6: 142-149.

Orstavik D, Kerekes K, Molven O (1991). Effects of extensive apical reaming and calcium hydroxide dressing on bacterial infection during treatment of apical periodontitis: a pilot study. *Int Endod J* 24: 1-7.

Pecora JD, Sousa-Neto MD, Estrela C (1999). Soluções irrigadoras auxiliares do preparo do canal radicular. In: *Endodontia - Princípios biológicos e mecânicos*. Estrela C, Figueiredo JAP. Eds. São Paulo: Artes Médicas, 552-569.

Peters OA (2004). Current challenges and concepts in the preparation of root canal systems: a review. *J Endod* 8: 559-567.

Peters LB, van Winkelhoff AJ, Buijs JF, Wesselink PR (2002). Effects of instrumentation, irrigation and dressing with calcium hydroxide on infection in pulpless teeth with apical periodontitis. *Int Endod J* 35: 13-21.

Petersson K, Hakansson J, Olsson B, Wennberg A (1991). Follow-up study of endodontic status in an adult Swedish population. *Endod Dent Traumatol* 7: 221-225.

Petti CA, Polage CR, Schreckenberger P (2005). The role of 16 S rRNA gene sequencing in identification of microorganism misidentified by conventional methods. *J Clin Microbiol* 43:6123-6125.

Pettiette M, Metzger Z, Phillips C, Trope M (1999). Endodontic complications of the root canal therapy performed by dental students with stainless steel K-files and NiTi hand files. *J Endod* 25: 230-234.

Pinheiro ET, Gomes BPFA, Ferraz CCR, Sousa ELR, Teixeira FB, Souza-Filho FJ (2003). Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. *Int Endod J* 36: 1-11.

Relman DA (1999). The search for unrecognized pathogens. *Science* 284:1308-1310.

Rôças IN, Siqueira JF Jr, Favieri A, Santos KR (2000). Detecção de *Treponema denticola* em casos de abscesso perirradicular agudo pela técnica da *polymerase chain reaction*. *Pesq Odontol Bras* 14: 209-212.

Rôças IN, Siqueira JF Jr, Santos KRN, Coelho AM (2001). "Red complex" (*Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas gingivalis* and *Treponema denticola*) in endodontic infections: a molecular approach. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 91: 468-471.

Rutala WA, Weber JW (1997). Uses of inorganic hypochlorite (bleach) in health-care facilities. *Clin Microbiol Rev* 10: 597-610.

Safavi KE, Nichols FC (1994). Alteration of biological properties of bacterial lipopolysaccharide by calcium hydroxide treatment. *J Endod* 20: 127-129.

Safavi KE, Spangberg L, Langeland K (1990). Root canal dentinal tubule disinfection. *J Endod* 16: 207-210.

Seltzer S (1988). *Endodontology. Biologic considerations in endodontic procedures*. 2<sup>nd</sup> ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 327-328.

Shuping GB, Orstavik D, Sigurdsson A, Trope M (2000). Reduction of intracanal bacteria using nickel-titanium rotary instrumentation and various medications. *J Endod* 12: 751-755.

Silva LAB, Nelson-Filho P, Leonardo, MR, Rossi MA, Pansani CA (2002). Effect of calcium hydroxide on bacterial endotoxin in vivo. *J Endod* 28: 94-98.

Siqueira JF Jr (1997). *Tratamento das infecções endodônticas*. Rio de Janeiro, RJ: MEDSI.

Siqueira JF Jr (2001). Strategies to treat infected root canal. *CDA Journal* 12: 825-837.

Siqueira JF Jr (2001). Aetiology of endodontic failure: why well-treated teeth can fail. *Int Endod J* 34: 1-10.

Siqueira JF Jr (2002). Endodontic infections: concepts, paradigms and perspectives. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 94: 281-293.

Siqueira JF Jr (2003). Periapical actinomycosis and infection with *Propionibacterium propionicum*. *Endod Topics* 6: 78-95.

Siqueira JF Jr, Lima KC, Magalhães FAC, Lopes HP, Uzeda M (1999). Mechanical reduction of the bacterial cell number inside the root canal by three instrumentation techniques. *J Endod* 25:332-335.

Siqueira JR, Lopes HP (1997). Hidróxido de cálcio em endodontia: suposições x comprovação científica. *Rev Bras Odont* 54:186–193.

Siqueira JF Jr, Lopes HP (1999). Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. *Int Endod J* 32: 361-369.

Siqueira JF Jr, Lopes HP (2004). Medicação intracanal. In: Lopes HP, Siqueira JF Jr. *Endodontia. Biologia e Técnica*. Rio de Janeiro, RJ: MEDSI, 581-618.

Siqueira JF Jr, Lopes HP, Uzeda M (1998). Recontamination of coronally unsealed root canals medicated with camphorated paramonochlorophenol or calcium hydroxide pastes after saliva challenge. *J Endod* 24: 11-14.

Siqueira JF Jr, Rôças IN (2003). PCR methodology as a valuable tool for identification of endodontic pathogens. *J Dent* 31: 333-339.

Siqueira JF Jr, Rôças IN (2004). Polymerase chain reaction-based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 97: 85-94.

Siqueira JF Jr, Rôças IN (2005). Exploiting molecular methods to explore endodontic infections: Part 1- Current molecular technologies for microbiological diagnosis. *J Endod* 31: 411-423.

Siqueira JF Jr, Rôças IN, Alves FRF, Santos KRN (2004a). Selected endodontic pathogens in the apical third of infected root canals: a molecular investigation. *J Endod* 30: 638-643.

Siqueira JF Jr, Rôças IN, Favieri A, Lima KC (2000a). Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5% and 5.25% sodium hypochlorite. *J Endod* 6: 331-334.

Siqueira JF Jr, Rôças IN, Favieri A, Santos KR (2000b). Detection of *Treponema denticola* in endodontic infection by 16r RNA gene directed polymerase chain reaction. *Oral Microbiol Immunol* 15: 335-337.

Siqueira JF Jr, Rôças IN, Lopes HP (2004b). Microbiologia Endodôntica. In: Lopes HP, Siqueira JF Jr. *Endodontia. Biologia e Técnica*. Rio de Janeiro, RJ: MEDSI, 223-280.

Siqueira JF Jr, Rôças IN, Oliveira JC, Santos KR (2001). Detection of putative oral pathogens in acute periradicular abscesses by 16S rDNA directed PCR. *J Endod* 22: 164-167.

Siqueira JF Jr, Rôças IN, Santos SRLD, Lima KC, Magalhães FAC, Uzeda M (2002a). Efficacy of instrumentation techniques and irrigation regimens in reducing the bacterial population within root canals. *J Endod* 28: 181-184.

Siqueira JF Jr, Rôças IN, Souto R, Uzeda M (2000c). Checkerboard DNA-DNA hybridization analysis of endodontic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 89: 744-748.

Siqueira JF Jr, Rôças IN, Souto R, Uzeda M, Colombo AP (2002b). *Actinomyces* species, *Streptococci* and *Enterococcus faecalis* in primary root canal infections. *J Endod* 28: 168-172.

Siqueira JF Jr, Sen BH (2004). Fungi in endodontic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 5: 632-641.

Siqueira JF Jr, Uzeda M (1996). Disinfection by calcium hydroxide pastes of dentinal tubules infected with two obligate and one facultative anaerobic bacteria. *J Endod* 12: 674-676.

Siqueira JF Jr, Uzeda M, Fonseca MEF (1996). A scanning electron microscopic evaluation of *in vitro* dentinal tubules penetration by selected anaerobic bacteria. *J Endod* 6: 308-310.

Siqueira JF Jr, Uzeda M, Machado AG, Silveira RM, Lopes HP (1997). Evaluation of the effectiveness of sodium hypochlorite used with three irrigation methods in the elimination of *Enterococcus faecalis* from the root canal *in vitro*. *Int Endod J* 30: 279-282.

Sjögren U, Figdor D, Persson S, Sundqvist G (1997). Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Int Endod J* 30: 297-306.

Sjögren U, Figdor D, Spangberg L, Sundqvist G (1991). The antimicrobial effect of calcium hydroxide as a short-term intracanal dressing. *Int Endod J* 24: 119-125.

Sjogren U, Hagglund B, Sundqvist G, Wing K (1990). Factors affecting the long-term results of endodontic treatment. *J Endod* 16 : 498-504.

Slots J (1986). Rapid identification of important periodontal microorganisms by cultivation. *Oral Microbiol Immunol* 1: 48-55.

Soriano de Souza CA, Teles RP, Souto R, Chaves MAE, Colombo APV (2005). Endodontic therapy associated with calcium hydroxide as an intracanal dressing: microbiologic evaluation by the Checkerboard DNA-DNA Hybridization technique. *J Endod* 31: 79-83.

Spangberg LSW (2001). Evidence-based endodontics: the one-visit treatment idea (Editorial). *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 91: 617-618.

Sundqvist G (1976). Bacteriological studies of necrotic dental pulps. Odontological Dissertation, n.7 - Umea University, Sweden.

Sundqvist G (1992). Ecology of the root canal flora. *J Endod* 18: 427-430.

Sundqvist G (1994). Taxonomy, ecology, and pathogenicity of the root canal flora. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 78:522-530.

Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjögren U (1998). Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 85: 86-93.

Tronstad L (1992). Recent development in endodontic research. *Scand J Dent Res* 100: 52-59.

Trope M, Bergenholtz G (2002). Microbiological basis for endodontic treatment: can a maximal outcome be achieved in one visit? *Endod Topics* 1: 40-53.

Trope M, Delano EO, Ørstavik D. (1999). Endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: single vs. multivisit treatment. *J Endod* 25: 345–350.

Vianna ME, Horz HP, Gomes BPFA, Conrads G (2006). In vivo evaluation of microbial reduction after chemo-mechanical preparation of human root canals containing necrotic pulp tissue. *Int Endod J* 39: 484-492.

Walia H, Brantley Wa, Gerstein H (1988). An initial investigation of the bending and torsional properties of a Nitinol root canal files. *J Endod* 14: 346-351.

Waltimo T, Sirén E, Orstavik D, Haapasalo M (1999). Susceptibility of oral *Candida* species to calcium hydroxide in vitro. *Int Endod J* 32:94-98.

Waltimo T, Trope M, Haapasalo M, Orstavik D (2005). Clinical efficacy of treatment procedures in endodontic infection control and one year follow-up of periapical healing. *J Endod* 31: 863-866.

Wang CY, Shie HS, Chen SC, Huang JP, Hsieh IC, Wen MS, Lin FC, WU D (2006). *Lactococcus garvieae* infections in humans: possible association with aquaculture outbreaks. *Int J Clin Pract* [in press]

Yared GM, Bou Dagher FE (1994). Influence of apical enlargement on bacterial infection during treatment of apical periodontitis. *J Endod* 20: 535-537.

## ANEXOS

---

**Comitê de Ética em Pesquisa**  
**Parecer**

**Projeto n.º 106**

Rio de Janeiro, 05 de dezembro de 2003

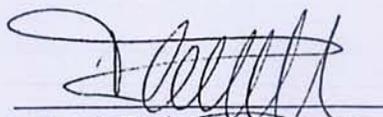
Do: Comitê de Ética em Pesquisa

Para: Prof. JOSÉ FREITAS SIQUEIRA JUNIOR

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estácio de Sá, após avaliar o projeto **DETECÇÃO DOS PRINCIPAIS PATÓGENOS ORAIS EM CANAIS RADICULARES INFECTADOS ATRAVÉS DO “MÉTODO DA POLIMERASE CHAIN REACTION”**, considerou-o aprovado conforme Resolução CNS n.º 196/96 sobre Pesquisa envolvendo seres humanos de 10 de outubro de 1996 e suas complementares.

Da análise do referido projeto pode-se constatar que estão atendidos todos os aspectos éticos da pesquisa, estando preenchidos os requisitos para pesquisa “in anima nobili”. Tanto a metodologia quanto os benefícios esperados encontram-se no padrão adequado e com grande relevância social

O Comitê de Ética solicita a V. S<sup>a</sup>. um relatório final quando do seu término. Toda e qualquer modificação referente ao protocolo de pesquisa apresentado deverá ser encaminhada ao CEP para nova apreciação.



Prof. Roberto Bezerra

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa

Horário de Preferência para Atendimento <input type="checkbox"/> Manhã <input type="checkbox"/> Tarde <input type="checkbox"/> Noite	Categoria _____	N° de Matrícula _____
---	--------------------	--------------------------

Nome do Paciente  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

Data de Nascimento _____	Estado Civil <input type="checkbox"/> 1 - Solteiro <input type="checkbox"/> 3 - Desquitado <input type="checkbox"/> 5 - Viúvo <input type="checkbox"/> 2 - Casado <input type="checkbox"/> 4 - Divorciado <input type="checkbox"/> 6 - Outros	Sexo <input type="checkbox"/> 1 - Masculino <input type="checkbox"/> 2 - Feminino
-----------------------------	---	---

Nacionalidade <input type="checkbox"/> 1 - Brasileira <input type="checkbox"/> 2 - Estrangeira	Naturalidade _____
--	-----------------------

Ocupação  
 \_\_\_\_\_

Nome do Pai  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

Nome da Mãe  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

Endereço Residencial  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

Bairro _____	CEP _____ - _____
-----------------	----------------------

Cidade _____	UF _____
-----------------	-------------

Telefone Residencial (DDD e N°) _____ - _____	Telefone Comercial (DDD, N° e Ramal) _____ - _____
--	---

Telefone de Recado (DDD e N°) _____ - _____	Nome de Contato _____
--	--------------------------

**Deveres e obrigações do paciente para com a Clínica Odontológica de Ensino do Curso de Odontologia da Universidade Estácio de Sá**

A fim de contribuir para o desenvolvimento da Ciência, em benefício do ensino, estou de pleno acordo em que professores e alunos façam em minha pessoa exames, diagnósticos, planejamentos e tratamentos, utilizando anestesia (local ou geral) e cirurgias (desde que haja indicação), enfim, todas as ações pertinentes ao Tratamento Odontológico, autorizando, desde já, que tais procedimentos sejam fotografados ou filmados.

O atendimento clínico obedecerá, rigorosamente, ao horário estabelecido. Havendo 2 (duas) faltas consecutivas ou 3 (três) alternadas, o tratamento será cancelado.

Assim sendo, por meio deste instrumento, autorizo e dou plenos poderes à Clínica Odontológica de Ensino para que, por meio de professores e alunos, execute os procedimentos odontológicos necessários e, conseqüentemente, faça estudos, trabalhos e pesquisas, com direito de retenção, para uso em quaisquer fins de ensino, conclaves científicos, divulgação em livros, revistas e jornais, no Brasil e no exterior, desde que seja preservada a minha identidade.

Rio de Janeiro,                      de                      de

\_\_\_\_\_  
 Assinatura do Paciente

\_\_\_\_\_  
 Assinatura do Pai ou Responsável

Nome do Paciente

Matrícula

### QUESTÕES MÉDICAS

Nome do seu Médico	Telefone do seu médico	Data do último exame médico		
		____ / ____ / ____		
QUESTÕES		SIM	NÃO	NS
01 - Você já foi hospitalizado(a)? Se positivo, qual o motivo?		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
02 - Você está sob cuidados médicos? Se positivo, qual o motivo?		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
03 - Você tem ou já teve doenças congênitas do coração?		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
04 - Você tem ou já teve doenças cardíacas (ex.: enfarte, angina, derrame, pressão alta, pressão baixa)?		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Você tem ou já teve respiração difícil quando deitado ou sem fazer esforço?		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Você tem ou já teve inchaço nos pés ou nos tornozelos?		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Você tem ou já teve dor, pressão ou mal estar no peito?		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
05 - Você tem ou já teve febre reumática?		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
06 - Você tem ou já teve endocardite bacteriana?		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
07 - Você tem ou já teve sopro no coração?		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
08 - Você tem ou já teve desmaios, convulsões ou epilepsia?		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
09 - Você tem ou já teve dor de cabeça freqüente (duas vezes ou mais por semana)?		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
10 - Você esteve ou está em tratamento nervoso?		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
11 - Você tem ou já teve problemas pulmonares (ex.: tuberculose, asma, enfisema, bronquite)?		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
12 - Você tem ou já teve hepatite, doenças hepáticas ou icterícia?		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
13 - Você tem ou já teve artrite ou dores articulares?		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
14 - Você tem ou já teve doenças sexualmente transmissíveis (ex.: sífilis, gonorréia, AIDS)?		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
15 - Você tem ou já teve diabetes?		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Seus ferimentos demoram a cicatrizar?		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Você urina mais de seis vezes por dia?		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Você sente sede a maior parte do tempo?		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
16 - Você tem ou já teve problemas sangüíneos (ex.: anemia, fragilidade capilar, coagulação, sangramento, hemoptose, melena, hematemese, hemotúria, epistaxes)?		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
17 - Você tem ou já teve úlceras ou outros problemas estomacais?		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
18 - Você tem ou já teve reação alérgica a anestésicos, antibióticos (ex.: penicilina, tetraciclina), sulfa, analgésicos, anti-inflamatórios, tranqüilizantes, outros (ex.: alimentos, iodo, poeira)?		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
19 - Você já sofreu transfusão sangüínea?		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
20 - Você está tomando algum medicamento? Se positivo, relacionar nas observações, no verso do questionário.		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
21 - Você teve um aumento ou diminuição acentuada de peso?		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
22 - Você teve uma variação recente no apetite?		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
23 - Você sofreu tratamento com raios X, rádio ou cobalto?		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
24 - Você está grávida? Se positivo, há quantos meses?		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
25 - Você já passou pela menopausa?		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
26 - Você está tomando algum hormônio?		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**QUESTÕES ODONTOLÓGICAS**

Nome do seu Dentista			
Freqüência de visitas ao Dentista	Data da última visita ao dentista ____ / ____ / ____		
Causa provável das extrações	Data da última extração ____ / ____ / ____		
<b>QUESTÕES</b>	<b>SIM</b>	<b>NÃO</b>	<b>NS</b>
01 - Você teve reações adversas durante ou após alguma extração dentária?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
02 - Você teve sangramento excessivo após alguma extração dentária?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
03 - Suas gengivas sangram?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
04 - Você já teve algum abscesso periodontal ou GUNA?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
05 - Você já fez algum tratamento periodontal? Se positivo, qual?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
06 - Você já teve algum tratamento ortodôntico? Se positivo, em que data, condições e quanto tempo durou?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
07 - Você já fez algum tratamento de canal? Se positivo, em que data?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
08 - Você usa ou já usou alguma prótese dentária? Se positivo, por quanto tempo ou qual a idade da prótese em uso?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
09 - Alguém em sua família tem ou teve doença periodontal? Se positivo, quem e qual doença?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
10 - Alguém em sua família teve perda precoce de dentes? Se positivo, quem e quais causas prováveis?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
11 - Você costuma respirar pela boca?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
12 - Você range os dentes?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
13 - Você escova os dentes periodicamente? Quantas vezes por dia?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
14 - Alguém já lhe ensinou a escovar os dentes?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
15 - Você usa o fio dental?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
16 - Você utiliza flúor regularmente?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
16 - Você usa ou já usou algum medicamento para tratar um problema dentário? Se positivo, que medicamento em que condição e quando foi tratado ?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
17 - Você fuma? Se positivo, quantos cigarros por dia?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
18 - Você é ex-fumante? Se positivo, há quanto tempo parou, por quanto tempo fumou e quantos cigarros costumava fumar?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**OBSERVAÇÕES**

.....

.....

.....

.....

**DECLARAÇÃO DO PACIENTE**

Eu ....., abaixo assinado(a), autorizo a utilização de radiografias, de fotografias, de resultados de exames e de informações contidas nesta Ficha Clínica, como material didático, de pesquisa ou publicação científica, desde que minha identidade e residência fiquem preservadas.

.....  
Assinatura do(a) Paciente

Assinatura do(a) Aluno(a)	Assinatura do(a) Professor(a)
---------------------------	-------------------------------



# ENDODONTIA

## Projeto PCR

n° do caso: \_\_\_\_\_

Nome do paciente: \_\_\_\_\_ Sexo: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Tel: \_\_\_\_\_  
Raça \_\_\_\_\_ Status Sócio-econômico: \_\_\_\_\_  
Dentista: \_\_\_\_\_

### Exames Subjetivo e Objetivo

Sinais e Sintomas:

Dente(s): \_\_\_\_\_ Sintomático: \_\_\_\_\_ Assintomático: \_\_\_\_\_

#### Dor Pré-Operatória

Localizada       Difusa       Espontânea       Provocada  
 Intermitente       Fugaz       Persistente       Uso de Analgésico  
 Calor       Frio       Mastigação       Percussão  
 Esforço       Palpação       Posição      Outros: \_\_\_\_\_

Intensidade:     Leve                                   Moderada                                   Severa

Aspectos Radiográficos

Lesão Perirradicular      Diâmetro: \_\_\_\_\_       Fístula

### Preparo Químico-Mecânico

Canal

CP

CT

Preparo Apical (calibre): \_\_\_\_\_ Instrumentação (Técnica): \_\_\_\_\_  
Medicação Intracanal: \_\_\_\_\_ Medicação Sistêmica: \_\_\_\_\_

### Pós Operatório – Instrumentação completa

Sensibilidade Pós-Operatória

Ausente       Leve       Moderada       Severa

### Obturação

Canal

Limite da Obturação

Legenda (Sensibilidade Dolorosa)

a) Leve - Não requer Analgésico    b) Moderada - Analgésico resolve    c) Severa - Analgésico não resolve



# 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](#)