



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO ODONTOPEDIATRIA

THAISA CEZÁRIA TRICHES

**EFICÁCIA DO PREPARO QUÍMICO-MECÂNICO PELAS
TÉCNICAS UFSC E PRECONIZADA POR GUEDES-PINTO NA
REDUÇÃO DO CONTEÚDO MICROBIANO DE CANAIS
RADICULARES DE DENTES DECÍDUOS COM NECROSE
PULPAR - ESTUDO *in vivo***

Dissertação de Mestrado

Florianópolis
2010

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

THAISA CEZÁRIA TRICHES

**EFICÁCIA DO PREPARO QUÍMICO-MECÂNICO PELAS
TÉCNICAS UFSC E PRECONIZADA POR GUEDES-PINTO NA
REDUÇÃO DO CONTEÚDO MICROBIANO DE CANAIS
RADICULARES DE DENTES DECÍDUOS COM NECROSE
PULPAR - ESTUDO *in vivo***

Dissertação de Mestrado

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal de Santa Catarina como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Odontologia – Área de Concentração Odontopediatria

Professora Orientadora: Dr^a. Mabel Mariela Rodríguez Cordeiro

Florianópolis
2010

Catálogo na fonte pela Biblioteca Universitária
da
Universidade Federal de Santa Catarina

T823e Triches, Thaisa Cezária

Eficácia do preparo químico-mecânico pelas Técnicas UFSC e preconizada por Guedes-Pinto na redução do conteúdo microbiano de canais radiculares de dentes decíduos com necrose pulpar - Estudo in vivo [dissertação] / Thaisa Cezária Triches ; orientadora, Mabel Mariela Rodríguez Cordeiro. - Florianópolis, SC, 2010.

216 p.: il., grafs., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Odontologia.

Inclui referências

1. Odontologia. 2. Necrose pulpar. 3. Dentes decíduos - Infecção. 4. Canal radicular - Tratamento. 5. Sondas DNA. I. Cordeiro, Mabel Mariela Rodríguez. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Odontologia. III. Título.

CDU 616.314

THAISA CEZÁRIA TRICHES

“Eficácia do preparo químico-mecânico pelas técnicas UFSC e preconizada por Guedes-Pinto na redução do conteúdo microbiano de canais radiculares de dentes decíduos com necrose pulpar - Estudo *in vivo*”

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre em Odontologia – Área de Concentração Odontopediatria e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia da UFSC.

Florianópolis, 05 de março de 2010.

Prof. Dr. Ricardo de Souza Magini

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Odontologia

Apresentada perante a banca examinadora, composta pelas professoras:

Dr.^a. Mabel Mariela Rodríguez Cordeiro

Orientadora

Dr.^a. Maria Letícia Ramos-Jorge

Membro

Dr.^a. Vera Lúcia Bosco

Membro

Com amor, dedico este trabalho,

A Deus...

Obrigada Senhor, por colocar Tuas mãos santas me dando a graça de poder estudar, sabedoria para entender e compreender, e inteligência para resolver as mais difíceis situações. Sou eternamente grata por Teres me dado a vida e forças para vencer!

Aos meus queridos e amados pais Henrique e Idelma...

Hoje, grata a vocês, me emociono ao concretizar este sonho... que não é só meu! Vocês, meus primeiros mestres na arte de compreender a vida, com muito amor, esforço e confiança, me conduziram por sábios caminhos... Sei que cada vitória que esta carreira me proporcionar, vocês certamente estarão por trás dela, como estiveram em cada momento de minha vida. Obrigada pelo exemplo de honestidade, integridade, respeito, coragem, dedicação e união. Hoje estou feliz porque amo vocês e posso dizer obrigada por tudo! A vocês dedico esta conquista, meu eterno amor, respeito e admiração.

Ao meu maninho Rodrigo...

Meu amigo e companheiro, que fez dos meus mais simples dias, os mais especiais, com muito amor, carinho e incentivo. Obrigada por compartilhar os momentos alegres e tristes, pelas palavras de conforto e pelo auxílio tanto no desenvolvimento deste trabalho como nas inúmeras atividades profissionais, compartilhando sabedoria e aprendizado. Tenho profundo orgulho de você, meu lindo! Obrigada por você existir e fazer a minha vida mais feliz! Meu amor também é seu, assim como esta conquista.

*A vocês, que estiveram sempre ao meu lado, lutando comigo, que abriram mão de momentos de convívio, que compreenderam minha falta de tempo quando o dever e o estudo me chamavam... Obrigada por formarem esta família maravilhosa. **Eu amo muito vocês!***

Agradecimentos especiais

Meu reconhecimento e minha gratidão,

*À minha orientadora e amiga **Prof^a. Dr^a. Mabel Mariela Rodríguez Cordeiro**, pelo exemplo de inteligência, conhecimento, competência e determinação, com uma paciência infinita para ensinar, explicar e uma capacidade quase mágica de fazer tudo parecer mais simples. Pela dedicação e ensinamentos que fizeram possível a realização deste trabalho, deixando muitas vezes seus familiares e compromissos, para me auxiliar e me confortar nas horas em que estava longe da minha família. Obrigada por ter me acolhido de forma tão carinhosa e atenciosa, pela confiança, pela orientação segura, por estar sempre disposta a me ajudar, pelas palavras de incentivo, pela amizade e por tornar tão agradável a realização desta jornada. Parabéns pela sua simplicidade e, principalmente, pelo seu amor ao ensino. Foi um privilégio conhecê-la. Eu te gosto e te admiro muito!*

*Ao “meu anjinho da guarda”, **Prof^a. Me. Gláucia Santos Zimmermann...** Obrigada por me receber e orientar com tanto carinho e atenção no momento em que mais precisei. Pela disponibilidade, compreensão e convivência enriquecedora. Pelo apoio, exemplo de força e de trabalho em equipe. Obrigada pela amizade e pelas oportunidades colocadas em meu caminho. Sua contribuição foi fundamental para a conclusão desta minha tão sonhada pesquisa. Conte sempre comigo!*

Agradecimentos especiais

Às minhas **Vovós Jaira e Beverli**, ao meu **Vovô Henrique**, à minha **Bisa**, aos meus **Tios e Tias**, aos meus **Primos e Primas...** É uma alegria ter uma família como esta! Todos vocês são pessoas importantes em minha vida. Obrigada por vibrarem comigo a cada conquista.

Dentre tantos, faltará um abraço, aquele que não sinto há tanto tempo, e que tanto me faz falta. O seu, **Vovô Reinaldo**, que de algum lugar sei que estará de pé aplaudindo mais esta conquista. Eternos são o meu amor e a minha saudade.

Ao meu amado **Rafael**, por ser tão especial, pelo amor, carinho, pelo incentivo e companhia. Obrigada pela confiança, dedicação, paciência e compreensão nos momentos difíceis e ausências necessárias, pelo sorriso e alegria nos momentos de alívio. Obrigada pelo auxílio no desenvolvimento deste trabalho. Conhecer-te foi um dos grandes privilégios que a vida me ofereceu.

Aos meus eternos **amigos e amigas**, em especial minhas “amigas-irmãs” **Aline Lucena, Helen Frizzo e Taísa Braga**, que perto ou longe, estarão sempre presentes no meu coração. Obrigada por compartilharem dos momentos importantes da minha vida, mesmo meu tempo para vocês nesta jornada sendo tão limitado. Pela amizade verdadeira e sincera, e pela torcida na realização dos meus sonhos.

Ao meu querido amigo que se tornou “irmão” durante o Mestrado, **Marcos Ximenes Ponte Filho**, sou grata pela amizade tão sincera nesses anos de aprendizado e realizações, pelo carinho, pelo apoio, pelas conversas divertidas e pela troca de experiências pessoais e profissionais. Obrigada pela paciência com minhas ansiedades e pela cumplicidade. Pela ajuda e parceria nos estudos e trabalhos, principalmente no desenvolvimento desta pesquisa, pelas tantas fotografias realizadas durante as clínicas e pelas noites viradas para darmos conta das produções. Além de amigos, companheiros e colaboradores em todos os momentos inesquecíveis desta trajetória.

*Às minhas amigas de Mestrado, **Ana Paula Silveira Caldeira de Andrada Beltrame**, e de Doutorado, **Bianca Zimmermann Santos**, que estenderam suas mãos desde o primeiro dia em que nos conhecemos, por todos os momentos agradáveis que passamos juntas, por compartilharem desafios, experiências, trabalhos, pela disponibilidade em ajudar na parte clínica e fotográfica desta pesquisa e, principalmente, pelo carinho e amizade.*

*Aos meus amigos, amigas e colegas de Mestrado, em especial **Anne Caroline Costa Oenning**, **Ernesto Barquero Cordero**, **Juliana Brunetto**, **Newton Bergamaschi Lucchiari Júnior**, **Pâmela Cândida Aires Ribas de Andrade** e **Saulo Leonardo Sousa Melo**, que compartilharam dificuldades, anseios e alegrias, pela nova amizade que se tornará eterna, pelo companheirismo, apoio e pelos bons momentos de convívio. São pessoas que se fizeram especiais na minha história de vida. Torço muito por vocês!*

Agradecimentos

À *Universidade Federal de Santa Catarina - Florianópolis/SC*, em especial ao *Programa de Pós-Graduação em Odontologia*, na pessoa de seu coordenador **Prof. Dr. Ricardo de Souza Magini**, pela oportunidade de aprendizado, aperfeiçoamento e contribuição na minha formação profissional.

Aos professores do Curso de Graduação e Pós-Graduação em Odontologia da UFSC, em especial aos da Área de Concentração em Odontopediatria, **Prof^ª. Dr^ª. Izabel Cristina Santos Almeida**, **Prof^ª. Dr^ª. Joeci de Oliveira**, **Prof^ª. Dr^ª. Mabel Mariela Rodríguez Cordeiro**, **Prof^ª. Dr^ª. Mariane Cardoso**, **Prof^ª. Dr^ª. Michele Bolan**, **Prof. Dr. Ricardo de Sousa Vieira** e **Psicóloga Rosamaria Areal Nogueira**, pela disponibilidade, dedicação, atenção e amizade. Pelos ensinamentos e exemplos profissionais. Pelo carinho e pela valiosa contribuição na minha formação profissional.

Aos membros da comissão avaliadora da qualificação do projeto desta Dissertação, **Prof^ª. Me. Ana Maria Hecke Alves** e **Prof^ª. Dr^ª. Vera Lúcia Bosco**, a quem tenho muita admiração pelo exemplo de professoras e dedicação. Obrigada pela contribuição para o aprimoramento deste trabalho, pela simplicidade e sinceridade, pelos conselhos e palavras de estímulo.

Aos membros da comissão avaliadora desta Dissertação, **Prof^ª. Dr^ª. Maria Letícia Ramos-Jorge** e **Prof^ª. Dr^ª. Vera Lúcia Bosco**, é uma honra tê-las comigo neste momento tão especial. Obrigada pela presença e pela valiosa contribuição.

Ao **Prof. Dr. Sergio Fernando Torres de Freitas**, pelo carinho, disponibilidade, pelo profissionalismo e pela valiosa contribuição na análise estatística e interpretação dos resultados, com muita qualidade e honestidade.

Ao **Prof. Dr. Rubens Rodrigues Filho**, pela atenção, incentivo e conhecimentos transmitidos.

À **Prof^ª. Dr^ª. Daniela Lemos Carcereri**, pelo apoio, pela oportunidade e transmissão de conhecimento durante o estágio no Núcleo de Atendimento a Pacientes com Deformidades Faciais (NAPADF-UFSC).

Aos **alunos do Curso de Graduação em Odontologia da UFSC**, pela amizade e por me proporcionarem a experiência da docência.

Aos **pacientes e seus responsáveis**, pelo respeito, confiança e por me permitirem a realização pessoal e profissional ao trabalhar com a Odontopediatria.

Às **crianças** que fizeram parte deste estudo e aos seus **responsáveis**, por toda a participação, confiança e colaboração.

À secretária do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da UFSC, **Ana Maria Vieira Frandolozo**, e às secretárias da Área de Concentração em Odontopediatria, **Elizabete Caldeira de Andrade** e **Ivalda Deforme dos Santos**, pela disposição, atenção, pelo auxílio, carinho e pela eficiência com que sempre atenderam a todas as solicitações.

Aos **funcionários da Biblioteca Setorial de Odontologia**, pela atenção e auxílio prestados.

Às funcionárias do Setor de Esterilização, **Rosângela Fernandes Konig** e **Verônica May**, pela disposição, paciência e carinho com que sempre me atenderam, mesmo quando esta pesquisa exigia horários extras.

Ao Programa de Pós-Graduação em Neurociências da UFSC, Laboratório de Neurobiologia da Dor e da Inflamação, em especial ao seu coordenador **Prof. Dr. Adair Roberto Soares dos Santos**, e ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da UFSC, Laboratório de Virologia Aplicada, em especial à **Prof^{fa}. Dr^a. Cláudia Maria de Oliveira Simões** e à doutoranda **Prof^{ta}. Me. Ariadne Cristiane Cabral da Cruz**, por permitirem a utilização dos seus Laboratórios de Pesquisa para a realização deste trabalho, assim como pela disponibilidade, atenção e carinho.

Ao Centro de Pós-Graduação, Pesquisa e Extensão da **Universidade Guarulhos – Guarulhos/SP**, em especial às Professoras **Dr^a. Magda Feres** e **Dr^a. Luciene Cristina de Figueiredo**, por permitirem a utilização do Laboratório de Pesquisa em Odontologia – Microbiologia, Imunologia e Biologia Molecular para a realização desta pesquisa, e à Técnica Responsável **Izilvânia Marofy Quindaré Barreto**, pela recepção, disponibilidade, paciência e colaboração no processamento das amostras pela técnica de Biologia Molecular.

À **CAPES** – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela bolsa concedida.

A **todas as pessoas** que, de diferentes formas, contribuíram para a concretização deste trabalho, minha lembrança, meu carinho e meus sinceros agradecimentos.

*“Deus nos fez perfeitos e não escolhe os capacitados, capacita os escolhidos.
Fazer ou não fazer algo só depende de nossa vontade e perseverança.”*
(Albert Einstein)

*“Porque Eu, o Senhor teu Deus,
te tomo pela sua mão direita e te digo:
Não temas, que Eu te ajudo.”*
(Isaías 41:13)

TRICHES, T. C. **Eficácia do preparo químico-mecânico pelas técnicas UFSC e preconizada por Guedes-Pinto na redução do conteúdo microbiano de canais radiculares de dentes decíduos com necrose pulpar - Estudo *in vivo***. 2010. 216p. Dissertação (Mestrado em Odontologia – Área de Concentração Odontopediatria) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

RESUMO

Este estudo teve como objetivo determinar a eficácia das manobras químico-mecânicas de dois protocolos padronizados e recomendados para tratamento endodôntico (Protocolo UFSC e Técnica preconizada por Guedes-Pinto), na redução do conteúdo séptico de canais radiculares de dentes decíduos com necrose pulpar e lesão perirradicular associada. Para tanto, 24 canais radiculares de dentes decíduos de crianças atendidas na Clínica de Odontopediatria da Universidade Federal de Santa Catarina – Brasil foram aleatoriamente divididos em dois grupos, de acordo com a técnica endodôntica a ser realizada: Protocolo UFSC (Grupo 1; n=12) e preconizada por Guedes-Pinto (Grupo 2; n=12). Amostras microbianas foram coletadas usando três pontas de papel estéril por canal, antes e após a limpeza químico-mecânica. Três pontas de papel foram avaliadas quanto à sua esterilidade (controle negativo). A identificação microbiológica foi realizada pelo método de hibridização DNA-DNA *checkerboard* para 40 espécies bacterianas diferentes. Para os controles positivos foram utilizadas suspensões contendo todas as espécies microbianas avaliadas em duas concentrações (10^5 e 10^6 células bacterianas). Os níveis de detecção foram determinados por escores: 0 = ausência de sinal de quimioluminescência; 1 = quantidades $< 10^5$ células; 2 = quantidades $\sim 10^5$ células; 3 = quantidades entre 10^5 e 10^6 células; 4 = quantidades $\sim 10^6$ células; 5 = quantidades $> 10^6$ células. A análise estatística foi realizada usando um teste de proporções para escore=0 e comparando os achados obtidos nos dois momentos (antes e após tratamento) para cada grupo (teste de Wilcoxon), e os resultados das diferenças entre ambos os grupos (teste de Mann-Whitney) ($p<0,05$). A avaliação microbiológica dos canais radiculares estudados mostrou a presença de uma infecção polimicrobiana, com detecção de microrganismos aeróbios, anaeróbios e facultativos. As diferenças nas proporções de escore=0 antes do tratamento não foram significativas ($p=0,415$), mostrando equivalência

entre os grupos. Ambos os grupos mostraram um aumento significativo nas proporções de escore=0 após tratamento (Grupo 1= $p<0,0001$; Grupo 2= $p<0,0001$). Os escores gerais foram fortemente reduzidos após a limpeza dos canais, para ambas as técnicas (Grupo 1= $p<0,0001$; Grupo 2= $p<0,0001$). O Grupo 2 mostrou uma redução significativamente maior dos escores médios após as manobras químico-mecânicas, do que o Grupo 1 ($p=0,024$). A partir dos achados deste estudo, pode-se concluir que os canais radiculares de dentes decíduos com necrose pulpar apresentam infecção polimicrobiana. Os dois protocolos de tratamento endodôntico avaliados têm a capacidade de reduzir significativamente o conteúdo séptico de canais radiculares de dentes decíduos portadores de necrose pulpar com lesão perirradicular associada. Entretanto, a Técnica preconizada por Guedes-Pinto mostrou uma maior eficácia na redução da infecção endodôntica.

PALAVRAS-CHAVE: Dente Decíduo. Necrose Pulpar. Infecção. Tratamento do Canal Radicular. Sondas DNA.

TRICHES, T. C. **Efficacy of chemical-mechanical preparation by UFSC's Protocol and Guedes-Pinto's Technique in reducing microbial content from root canals of primary teeth with necrotic pulp – An *in vivo* study.** 2010. 216p. Dissertation (Master's Degree in Dentistry – Concentration Area in Pediatric Dentistry) – Federal University of Santa Catarina, Florianópolis.

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the efficacy of chemical-mechanical maneuvers of two standardized and recommended endodontic techniques (UFSC's Protocol and Guedes-Pinto's Protocol), in the reduction of septic content from necrotic root canals of primary teeth with associated periradicular lesion. To achieve this, 24 root canals of primary teeth from children attending Pediatric Dentistry Clinic at the Federal University of Santa Catarina - Brazil were randomly divided in two groups, according to the endodontic technique performed: UFSC's Protocol (Group 1; n=12) and Guedes-Pinto's Protocol (Group 2; n=12). Microbial samples were collected using three sterile paper points per canal, before and after the chemical-mechanical cleaning. Paper points not previously used for sample collection were tested to check sterile conditions (negative control). Microbiological identification was performed by checkerboard DNA-DNA hybridization for 40 different species of bacteria. The positive controls were suspensions containing all species of bacteria in two concentrations (10^5 and 10^6 cells). Detection levels were determined through scores: 0 = no signal of chemoluminescence; 1 = quantities $< 10^5$ cells; 2 = quantities as high as 10^5 cells; 3 = quantities between 10^5 and 10^6 cells; 4 = quantities as high as 10^6 cells; 5 = quantities $> 10^6$ cells. Statistical analysis was performed using a test of proportions for score=0 and comparing data obtained at both moments (before and after treatment) for each group (Wilcoxon's Test), and data from the differences between both groups (Mann-Whitney's Test) ($p<0.05$). Microbiological evaluation of the studied root canals showed the presence of a mixed infection consisting of aerobic, anaerobic and facultative microorganisms. Differences of proportions for score=0 before treatment were not significant ($p=0.415$), showing equivalency between the groups. Both groups showed a significant increase in the proportions of score=0 after treatment ($G1=p<0.0001$; $G2=p<0.0001$). Scores were strongly reduced after cleaning for both

techniques ($G1=p<0.0001$; $G2=p<0.0001$). G2 showed a statistically significant reduction in scores after the chemical-mechanical maneuvers, higher than G1 ($p=0.024$). It may be concluded that root canals from primary teeth with necrotic pulp show a mixed infection. Both techniques have the capacity to significantly reduce the septic content from pulp necrotic root canals with associated periradicular lesion. However, Guedes-Pinto's Protocol showed higher efficacy in reducing contamination.

KEYWORDS: Tooth, Deciduous. Dental Pulp Necrosis. Infection. Root Canal Therapy. DNA Probes.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Procedimentos clínicos iniciais para as duas técnicas endodônticas avaliadas

A – Exame clínico inicial do dente decíduo com necrose pulpar, comprometido por lesão cariosa, com presença de abscesso submucoso.

B – Exame radiográfico periapical inicial para diagnóstico do dente decíduo portador de necrose pulpar, com presença de extensa lesão cariosa e lesão na região de furca.

C – Solução de Digluconato de Clorexidina 0,12%.

D - Antissepsia da cavidade bucal através de bochecho com Digluconato de Clorexidina 0,12%.

E – Isolamento absoluto do dente com dique de borracha, após anestesia.

F - Solução de Digluconato de Clorexidina 1%.

G – Desinfecção da superfície do dente e das áreas circundantes com algodão embebido em Digluconato de Clorexidina 1%.

H – Remoção da restauração provisória e acesso à câmara pulpar com broca diamantada esférica de número 2 em alta-rotação.

I – Remoção do tecido cariado com broca esférica em baixa-rotação.

J – Acesso completo à câmara pulpar e ao canal radicular com broca Endo-Z em alta-rotação.

K – Visualização da entrada dos canais radiculares.

Figura 2 – Procedimentos clínicos (Técnica UFSC - 1ª sessão)

A – Desinfecção da superfície do dente e das áreas circundantes com algodão embebido em Digluconato de Clorexidina 1%, após abertura coronária.

B – Ponta de papel absorvente estéril calibrada no comprimento aparente do dente.

C – Primeira coleta de amostra microbiana do canal radicular, no comprimento aparente do dente, antes do preparo químico-mecânico pela Técnica UFSC.

D – Solução de Formocresol diluído 1:5.

E – Aplicação do Formocresol com bolinha de algodão estéril na entrada dos canais radiculares, como medicação prévia.

F - Cimento de Ionômero de Vidro Convencional.

G – Restauração provisória com Cimento de Ionômero de Vidro, após aplicação do Formocresol.

Figura 3 – Procedimentos clínicos (Técnica UFSC - 2ª sessão)

A - Desinfecção da superfície do dente e das áreas circundantes com algodão embebido em Digluconato de Clorexidina 1%, após anestesia, antissepsia da cavidade bucal e isolamento absoluto.

B – Odontometria dos canais com limas endodônticas no comprimento aparente do dente.

C – Radiografia periapical de odontometria.

D – Preparo químico-mecânico dos canais radiculares no comprimento de exploração com lima endodôntica de número 20, seguindo o protocolo UFSC.

E - Preparo químico-mecânico dos canais radiculares no comprimento de exploração com lima endodôntica de número 25, seguindo o protocolo UFSC.

F - Preparo químico-mecânico dos canais radiculares no comprimento de exploração com lima endodôntica de número 30, seguindo o protocolo UFSC.

G – Solução de hipoclorito de sódio 1% (Solução de Milton).

H – Irrigação com hipoclorito de sódio 1% durante o preparo químico-mecânico, concomitante com aspiração.

I – Secagem dos canais com pontas de papel absorvente estéreis.

J - Ponta de papel absorvente estéril calibrada no comprimento de exploração do dente.

K - Segunda coleta de amostra microbiana do canal radicular, no comprimento de exploração do dente, após o preparo químico-mecânico pela Técnica UFSC.

Figura 4 – Procedimentos clínicos (Técnica UFSC - 2ª sessão)

A – Pó de Hidróxido de cálcio P.A..

B - Propilenoglicol.

C – Proporção 2:1 de Hidróxido de cálcio e Propilenoglicol para preparo do curativo de demora.

D – Curativo de demora de Hidróxido de cálcio e Propilenoglicol manipulado em consistência de “massa”.

E – Preenchimento dos canais radiculares com curativo de demora de Hidróxido de cálcio e Propilenoglicol através de uma Lentulo.

F – Preenchimento dos canais radiculares com curativo de demora de Hidróxido de cálcio e Propilenoglicol.

G – Exame radiográfico periapical para confirmação da presença do curativo de demora de Hidróxido de cálcio e Propilenoglicol, após selamento coronário provisório com Cimento de Ionômero de Vidro.

Figura 5 – Procedimentos clínicos (Técnica UFSC - 3ª sessão)

A – Remoção da restauração provisória de Cimento de Ionômero de Vidro e acesso à entrada dos canais radiculares com broca esférica em alta-rotação, após anestesia, antisepsia da cavidade bucal, isolamento absoluto e desinfecção do dente e das áreas circundantes.

B – Remoção do curativo de demora de Hidróxido de cálcio e Propilenoglicol com lima endodôntica Flexo-File de número 30.

C – Remoção do curativo de demora de Hidróxido de cálcio e Propilenoglicol com irrigação de hipoclorito de sódio 1% concomitante com aspiração.

D – Secagem dos canais radiculares por sucção.

E – Secagem dos canais radiculares com pontas de papel absorvente estéreis.

F – Cimento de óxido de zinco e eugenol para obturação endodôntica.

G - Proporção 1:1 de óxido de zinco e eugenol para preparo do cimento para obturação.

H – Cimento de óxido de zinco e eugenol manipulado em consistência mais fluida.

I - Preenchimento dos canais radiculares com cimento de óxido de zinco e eugenol através de uma Lentulo.

J – Obturação dos canais radiculares com cimento de óxido de zinco e eugenol.

K - Exame radiográfico periapical para verificar a qualidade da obturação com cimento de óxido de zinco e eugenol.

L – Selamento coronário provisório com Cimento de Ionômero de Vidro.

M – Restauração definitiva com Resina Composta (4ª sessão).

Figura 6 – Procedimentos clínicos (Técnica preconizada por Guedes-Pinto)

A – Ponta de papel absorvente estéril calibrada no comprimento aparente do dente.

B – Primeira coleta de amostra microbiana do canal radicular, no comprimento aparente do dente, antes do preparo químico-mecânico pela Técnica preconizada por Guedes-Pinto, após anestesia, antissepsia da cavidade bucal, isolamento absoluto e desinfecção do dente e das áreas circundantes.

C – Amostra microbiana do canal radicular.

D – Lima endodôntica Flexo-File calibrada no comprimento de trabalho do dente (condutometria).

E - Preparo químico-mecânico dos canais radiculares no comprimento de trabalho com lima endodôntica Flexo-File de número 25.

F - Preparo químico-mecânico dos canais radiculares no comprimento de trabalho com lima endodôntica Flexo-File de número 30.

G - Preparo químico-mecânico dos canais radiculares no comprimento de trabalho com lima endodôntica Flexo-File de número 35.

H - ENDO-C-PREP.

I – Solução de hipoclorito de sódio 0,5% (Líquido de Dakin).

J – Preparo químico-mecânico dos canais radiculares com limas endodônticas Flexo-File, associadas ao ENDO-C-PREP e irrigação com Líquido de Dakin, seguindo a Técnica preconizada por Guedes-Pinto.

Figura 7 – Procedimentos clínicos (Técnica preconizada por Guedes-Pinto)

A - Secagem dos canais com pontas de papel absorvente estéreis.

B - Ponta de papel absorvente estéril calibrada no comprimento de trabalho do dente.

C - Segunda coleta de amostra microbiana do canal radicular, no comprimento de trabalho do dente, após o preparo químico-mecânico pela Técnica preconizada por Guedes-Pinto.

D – Componentes da Pasta Guedes-Pinto (Iodofórmio, Paramonoclorofenol canforado e Rifocort®).

E – Proporção 1:1:1 de Iodofórmio, Paramonoclorofenol canforado e Rifocort[®] para preparo da Pasta Guedes-Pinto.

F – Pasta Guedes-Pinto manipulada em consistência cremosa e coloração homogênea.

G – Preenchimento dos canais radiculares com a Pasta Guedes-Pinto através de uma Lentulo.

H – Obturação dos canais radiculares com a Pasta Guedes-Pinto.

I – Exame radiográfico periapical para verificação da qualidade da obturação com a Pasta Guedes-Pinto.

J - Cimento de Ionômero de Vidro Convencional.

K - Selamento coronário provisório com Cimento de Ionômero de Vidro.

L – Restauração definitiva com Resina Composta (2^a sessão).

Figura 8 – Processamento laboratorial das amostras para a Técnica de Biologia Molecular

A – Amostra microbiana retirada do canal radicular de dente decíduo com necrose pulpar através de ponta de papel absorvente estéril de calibre 15.

B – Transferência da amostra microbiana para *Eppendorf* contendo 150µl de tampão TE.

C – Adição de 100µl de NaOH 0,5M no *Eppendorf* contendo a amostra microbiana.

D – Agitação mecânica vigorosa do *Eppendorf* contendo a amostra microbiana.

E – *Eppendorf* contendo a amostra microbiana identificado individualmente.

F – Armazenamento dos *Eppendorfs* contendo as amostras microbianas em freezer a -80°C.

G - Armazenamento dos *Eppendorfs* contendo as amostras microbianas em freezer a -80°C.

H – Amostras microbianas dos canais radiculares descongeladas em meio ambiente.

I – Centrifugação das amostras microbianas a 12.000 RPM.

Figura 9 - Processamento laboratorial das amostras para a Técnica de Biologia Molecular

A – Adição de 800µl de acetato de amônia 5M no *Eppendorf* contendo a suspensão da amostra microbiana.

B - “Minislot 30”.

C – Membrana de nylon (15x15cm) com carga positiva.

D – Introdução da membrana de nylon com carga positiva no “Minislot 30”.

E – Introdução de 15 filtros de papel no “MiniSlot 30” sob a membrana de nylon com carga positiva.

F – Conjunto parafusado preparado para deposição das amostras microbianas.

G – Deposição das 28 amostras microbianas nas 28 canaletas do “Minislot 30”.

H - Deposição das 28 amostras microbianas nas 28 canaletas do “Minislot 30”.

I – Movimentação do “Minislot 30”, de lado a lado, para que a suspensão das amostras microbianas se estenda por toda a membrana da canaleta.

J - Movimentação do “Minislot 30”, de lado a lado, para que a suspensão das amostras microbianas se estenda por toda a membrana da canaleta.

Figura 10 - Processamento laboratorial das amostras para a Técnica de Biologia Molecular

A – Amostras de DNA concentradas na membrana de nylon.

B – Exposição da membrana ao calor (120°C) para fixação do DNA.

C – Forno a 120°C.

D - Kit “*DIG DNA Labeling*” para confecção das sondas de DNA.

E - Kit “*DIG DNA Labeling*” para confecção das sondas de DNA.

F – Lavagem da membrana com o DNA fixado em tampão 2XSSC.

G – Pré-hibridização em estufa (42°C) em solução de pré-hibridização.

H – Estufa a 42°C.

Figura 11 - Processamento laboratorial das amostras para a Técnica de Biologia Molecular

A – Introdução da membrana de nylon no “Minibloter 45”, evidenciando que as amostras de DNA estão dispostas perpendicularmente às canaletas do dispositivo.

B - Conjunto parafusado preparado para deposição das sondas de DNA.

C - “Minibloter 45”.

D – Preenchimento das canaletas do “Minibloter 45” com as 40 sondas de DNA.

E – Preenchimento das canaletas do “Minibloter 45” com as 40 sondas de DNA.

F - Revestimento do “Minibloter 45” contendo a membrana de nylon com filme de PVC transparente.

G – “Minibloter 45” revestido por um plástico com água destilada para evitar desidratação da membrana.

H – Hibridização das amostras com as sondas na membrana em estufa a 42°C, durante 16 horas.

Figura 12 - Processamento laboratorial das amostras para a Técnica de Biologia Molecular

A – Lavagem da membrana hibridizada em tampão PO_4 a 65°C para remoção das sondas que não hibridizaram.

B - Lavagem da membrana hibridizada em tampão PO_4 a 65°C para remoção das sondas que não hibridizaram.

C – Lavagem da membrana hibridizada em tampão ácido maléico.

D – Imersão da membrana hibridizada em solução de bloqueio em uma mesa agitadora.

E – Acréscimo do anticorpo Anti-Digoxigenina conjugado à fosfatase alcalina.

F – Lavagem da membrana hibridizada em solução tampão ácido maléico e solução tampão 3.

G – Substrato CDP-Star[®] Detection Reagent.

H – Imersão da membrana hibridizada em solução CDP-Star[®] para a enzima fosfatase alcalina.

Figura 13 - Processamento laboratorial das amostras para a Técnica de Biologia Molecular

A – Membrana envolvida por folhas de papel alumínio em um ambiente a 37°C.

B – Chassi radiográfico.

C – Chassi radiográfico contendo a membrana que é posicionada sob o filme radiográfico.

D - Filme radiográfico (18x24cm).

E – Detecção dos sinais de quimioluminescência no filme radiográfico pela Técnica da hibridização DNA-DNA *checkerboard*.

Figura 14 – Hibridização do *checkerboard*: linhas horizontais representam as amostras clínicas e as verticais as sondas de DNA (“tabuleiro de xadrez”)

Figura 15 – Protocolo UFSC para tratamento endodôntico de dentes decíduos (1ª sessão)

A – Exame clínico inicial do dente decíduo com necrose pulpar, comprometido por lesão cariosa, com presença de abscesso submucoso.

B – Exame radiográfico periapical inicial para diagnóstico do dente decíduo portador de necrose pulpar, com presença de extensa lesão cariosa e lesão na região de furca.

C – Isolamento absoluto do dente com dique de borracha, após anestesia.

D – Remoção da restauração provisória e acesso à câmara pulpar com broca diamantada esférica de número 2 em alta-rotação.

E – Remoção do tecido cariado com broca esférica em baixa-rotação.

F – Acesso completo à câmara pulpar e ao canal radicular com broca Endo-Z em alta-rotação.

G – Visualização da entrada dos canais radiculares.

H - Aplicação do Formocresol diluído 1:5 com bolinha de algodão estéril próximo à entrada dos canais radiculares, como medicação prévia

I – Restauração provisória com Cimento de Ionômero de Vidro, após aplicação do Formocresol.

Figura 16 – Protocolo UFSC para tratamento endodôntico de dentes decíduos (2ª sessão)

A - Odontometria dos canais com limas endodônticas no comprimento aparente do dente.

B – Radiografia periapical de odontometria.

C – Preparo químico-mecânico dos canais radiculares no comprimento de exploração com lima endodôntica Flexo-File de número 20, seguindo o protocolo UFSC.

D - Preparo químico-mecânico dos canais radiculares no comprimento de exploração com lima endodôntica Flexo-File de número 25, seguindo o protocolo UFSC.

E - Preparo químico-mecânico dos canais radiculares no comprimento de exploração com lima endodôntica Flexo-File de número 30, seguindo o protocolo UFSC.

F – Irrigação com solução de hipoclorito de sódio 1% durante o preparo químico-mecânico, concomitante com aspiração.

G – Secagem dos canais com pontas de papel absorvente.

H - Proporção 2:1 de Hidróxido de cálcio e Propilenoglicol para preparo do curativo de demora.

I – Curativo de demora de Hidróxido de cálcio e Propilenoglicol manipulado em consistência de “massa”.

J – Lentulo calibrada 1mm aquém do comprimento de exploração.

K – Preenchimento dos canais radiculares com curativo de demora de Hidróxido de cálcio e Propilenoglicol através de uma Lentulo.

L – Preenchimento dos canais radiculares com curativo de demora de Hidróxido de cálcio e Propilenoglicol.

M – Exame radiográfico periapical para verificação da presença do curativo de demora de Hidróxido de cálcio e Propilenoglicol, após selamento coronário provisório com Cimento de Ionômero de Vidro.

Figura 17 – Protocolo UFSC para tratamento endodôntico de dentes decíduos (3ª sessão)

A – Remoção da restauração provisória de Cimento de Ionômero de Vidro e acesso à entrada dos canais radiculares com broca esférica em alta-rotação, após anestesia e isolamento absoluto.

B – Visualização da entrada dos canais radiculares preenchidos com curativo de demora de Hidróxido de cálcio e Propilenoglicol.

C – Remoção do curativo de demora de Hidróxido de cálcio e Propilenoglicol com lima endodôntica Flexo-File de número 30.

D – Remoção do curativo de demora de Hidróxido de cálcio e Propilenoglicol com irrigação de hipoclorito de sódio 1% concomitante com aspiração.

E – Secagem dos canais radiculares por sucção.

F – Secagem dos canais radiculares com pontas de papel absorvente.

G - Proporção 1:1 de óxido de zinco e eugenol para preparo do cimento para obturação.

H – Cimento de óxido de zinco e eugenol manipulado em consistência mais fluida.

I – Lentulo calibrada 1mm aquém do comprimento de exploração.

Figura 18 – Protocolo UFSC para tratamento endodôntico de dentes decíduos (3ª sessão)

A - Preenchimento dos canais radiculares com cimento de óxido de zinco e eugenol através de uma Lentulo.

B – Refluxo do cimento de óxido de zinco e eugenol na câmara pulpar.

C – Condensação vertical do material obturador com uma bolinha de algodão seca estéril.

D – Exame radiográfico periapical para verificar a qualidade da obturação.

E – Limpeza da câmara pulpar e das entradas dos canais com bolinha de algodão estéril embebida em álcool.

F - Câmara pulpar limpa e obturação dos canais radiculares com cimento de óxido de zinco e eugenol.

G – Selamento coronário provisório com Cimento de Ionômero de Vidro.

H – Restauração definitiva com Resina Composta (4ª sessão).

Figura 19 – Tratamento endodôntico de dentes decíduos com polpa mortificada (Técnica preconizada por Guedes-Pinto – Sessão única)

A – Exame clínico inicial do dente decíduo com necrose pulpar, comprometido por lesão cáriosa, com presença de abscesso submucoso.

B – Exame clínico inicial do dente decíduo com necrose pulpar, comprometido por lesão cáriosa.

C – Exame radiográfico periapical inicial para diagnóstico do dente decíduo portador de necrose pulpar, com presença de extensa lesão cariosa e lesão na região de furca.

D – Isolamento absoluto do dente com dique de borracha, após anestesia.

E – Remoção do tecido cariado com broca esférica em baixa-rotação e acesso à câmara pulpar com broca diamantada esférica de número 2 em alta-rotação.

F – Forma de conveniência e remoção do teto da câmara pulpar com broca Endo-Z em alta-rotação.

G – Visualização da entrada dos canais radiculares.

H – Lima endodôntica Flexo-File calibrada no comprimento de trabalho do dente, verificado na condutometria.

I - Preparo químico-mecânico dos canais radiculares com limas endodônticas Flexo-File associadas ao ENDO-C-PREP e irrigação com Líquido de Dakin, seguindo a Técnica preconizada por Guedes-Pinto.

J – Efervescência da mistura durante o preparo químico-mecânico dos canais radiculares.

K - Preparo químico-mecânico dos canais radiculares no comprimento de trabalho com lima endodôntica Flexo-File de número 25.

L - Preparo químico-mecânico dos canais radiculares no comprimento de trabalho com lima endodôntica Flexo-File de número 30.

M - Preparo químico-mecânico dos canais radiculares no comprimento de trabalho com lima endodôntica Flexo-File de número 35.

Figura 20 – Tratamento endodôntico de dentes decíduos com polpa mortificada (Técnica preconizada por Guedes-Pinto – Sessão única)

A – Irrigação final com detergente Tergensol, concomitante com aspiração.

B – Secagem dos canais radiculares por sucção.

C – Secagem dos canais radiculares com pontas de papel absorvente.

D - Proporção 1:1:1 de Iodofórmio, Paramonoclorofenol canforado e Rifocort[®] para preparo da Pasta Guedes-Pinto.

E – Pasta Guedes-Pinto manipulada em consistência cremosa, de coloração homogênea.

F – Lentulo calibrada no comprimento de trabalho.

G – Preenchimento dos canais radiculares com a Pasta Guedes-Pinto através de uma Lentulo.

H – Pressão vertical com bolinha de algodão estéril embebida em álcool.

I – Remoção do excesso de material da câmara pulpar com bolinha de algodão estéril embebida em álcool.

J – Câmara pulpar limpa e obturação dos canais radiculares com a Pasta Guedes-Pinto.

Figura 21 – Tratamento endodôntico de dentes decíduos com polpa mortificada (Técnica preconizada por Guedes-Pinto – Sessão única)

A – Inserção de base delgada de guta percha na câmara pulpar para selamento da obturação.

B – Remoção do excesso de guta percha na cervical.

C – Selamento coronário provisório com Cimento de Ionômero de Vidro.

D - Exame radiográfico periapical final para verificação da qualidade da obturação com a Pasta Guedes-Pinto.

E - Restauração definitiva com Resina Composta (2ª sessão).

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Espécies bacterianas utilizadas na confecção das sondas genômicas de DNA

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Prevalência das espécies bacterianas detectadas nos canais radiculares pela técnica da hibridização DNA-DNA *checkerboard*

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 (artigo 1) – Prevalência bacteriana e número de observações por escore

Tabela 1 (artigo 2) – Número de observações por escore, nos Grupos 1 e 2, nos momentos antes e após instrumentação

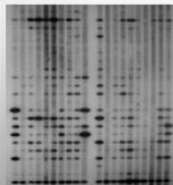
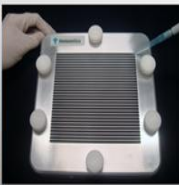
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- - menos
- **80°C** – oitenta graus Celsius abaixo de zero
- % - por cento
- ~ - aproximadamente
- + - mais
- < - menor
- = - igual
- > - maior
- °C – graus Celsius
- µl** – microlitro
- 10⁵** – 100.000
- 10⁶** – 1.000.000
- AB** – distância da ponta do instrumento endodôntico ao ponto de referência apical
- BPB** – bacilos pigmentados de negro
- Ca(OH)₂** – hidróxido de cálcio
- CAD** – comprimento aparente do dente
- cm** – centímetro
- CRD** – comprimento real do dente
- CT** – comprimento de trabalho
- CTEx** - comprimento de trabalho para exploração
- DNA** - ácido desoxirribonucleico
- DP** – desvio padrão
- EDTA** – ácido etilenodiamino tetra-acético
- FF** – lima Flexo-file
- g** – grama
- G1** – grupo 1
- G2** – grupo 2
- l** – litro
- M** – molar
- MgCl₂** – cloreto de magnésio
- ml** – mililitro
- mm** – milímetro
- mM** - miliMolar
- n** – número absoluto
- Na₂HPO₄** – hidrogenofosfato de sódio
- NaCl** – cloreto de sódio

NaOH – hidróxido de sódio
ng – nanograma
OZE – cimento de óxido de zinco e eugenol
p – valor de p
P.A. – para análise
PCR – reação em cadeia da polimerase
pH – potencial hidrogeniônico
PMS – protocolo endodôntico multisessões
PO₄ – fosfato
PSU – protocolo endodôntico sessão única
PVC – policloreto de vinila
Real-Time PCR – reação em cadeia da polimerase, em tempo real
RNA – ácido ribonucleico
RPM – rotações por minuto
SC – Santa Catarina
SDS – detergente dodecil sulfato de sódio
solução tampão TE – solução tampão de Trizma base e EDTA
SSC – cloreto de sódio + citrato de sódio
t – valor do teste Wilcoxon
UFC – unidade formadora de colônia
UFSC - Universidade Federal de Santa Catarina
X – concentração da solução
x – vezes (multiplicação)

SUMÁRIO

1 Introdução geral e contextualização	45
2 Justificativa	57
3 Hipótese	61
4 Artigo 1	65
4.1 Quadro	81
4.2 Gráfico	82
4.3 Tabela	83
5 Artigo 2	85
5.1 Quadro	102
5.2 Tabela	103
6 Conclusão geral	105
7 Referências	109
8 Apêndices	127
8.1 Apêndice A – Metodologia expandida	129
8.2 Apêndice B – Parecer do Comitê de Ética UFSC	170
8.3 Apêndice C – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	173
8.4 Apêndice D – Ficha de coleta de dados dos pacientes	174
9 Anexos	177
9.1 Anexo A – Protocolo UFSC para tratamento endodôntico	179
9.2 Anexo B – Técnica Guedes-Pinto para pulpectomia	194
9.3 Anexo C – Normas do Periódico <i>Journal of Endodontics</i>	206
9.4 Anexo D – Produção científica durante o Mestrado	210



1. Introdução Geral

1 INTRODUÇÃO GERAL E CONTEXTUALIZAÇÃO

1.1 Cárie dentária

Educação e prevenção em saúde são prioridades na odontologia atual, mas alterações pulpares ocasionadas pelo avanço de lesões cáries ainda são muito frequentes. Assim, a odontologia curativa precisa, ao mesmo tempo, evoluir e melhorar seus conceitos e procedimentos terapêuticos (PAZELLI et al., 2003).

A literatura mundial tem relatado alta prevalência da doença cárie na infância (DOWNER, 1996; SLAVKIN, 1999; NADANOVSKY, 2000; CARVALHO et al., 2001; NISHI et al., 2002; BÖNECKER; CLEATON-JONES, 2003; WHO, 2010). No Brasil, os estudos conduzidos em crianças de 0 a 6 anos de idade revelaram que a prevalência ainda é expressiva na dentição decídua, com resultados que variam entre as regiões e as classes sociais envolvidas, observando-se uma estreita relação entre o nível de saúde e a carência sócio-econômica-cultural (PINTO, 2003). A doença cárie tem afetado principalmente as crianças de famílias de classes com menor grau de escolaridade e maior dificuldade de acesso à educação em saúde (BATELLINO et al., 1997; LALLOO et al., 1999; MEDEIROS; WEYNE, 2001). Segundo o Projeto SB Brasil 2003: condições de saúde bucal da população brasileira (2004), aproximadamente 27% das crianças de 18 a 36 meses de idade apresenta pelo menos um dente decíduo com experiência de cárie dentária, sendo que esta proporção aumenta de acordo com o avanço da faixa etária. Pesquisas epidemiológicas em diferentes regiões demonstraram alta prevalência da doença cárie (BARROS et al., 2001; HABIBIAN et al., 2001), enquanto que em grupos beneficiados por programas preventivos, foi constatado um substancial declínio (BORGES; TOLEDO, 1999; PEREIRA; FREIRE, 2004; WEINSTEIN et al., 2006).

Decorrente dessa alta prevalência de cárie dentária, a frequência de dentes decíduos com comprometimento pulpar por necrose também é elevada. Assim, a recuperação e a manutenção desses dentes no arco dentário envolvem, muitas vezes, o tratamento pulpar.

1.2 Tratamento endodôntico

O tratamento endodôntico para dentes permanentes foi instituído no início do século XX e, com o passar do tempo, estudos bacteriológicos, patológicos e radiográficos, permitiram o reconhecimento da importância desse tratamento, a sua aceitação e o seu ensinamento nas escolas de Odontologia de todo o mundo, com o objetivo de manter na cavidade bucal o dente com os tecidos pulpar e/ou periodontal comprometidos, evitando assim, tratamentos mais complexos e agressivos (DEUS, 1992; LEONARDO, 1998).

Da mesma forma que nos dentes permanentes, a única maneira de o dente decíduo com sua polpa comprometida ser mantido na cavidade bucal, é através do tratamento endodôntico. Entretanto, nas crianças, esta manobra adquire maior importância, visto que a perda do elemento decíduo pode levar ao comprometimento do desenvolvimento do sistema estomatognático, da instalação da dentadura permanente e ao estabelecimento de problemas emocionais, psicológicos e comportamentais (CORDEIRO, 2004).

Apesar de controverso, muitos autores relatam a necessidade de tratamento de canais radiculares de dentes decíduos com necrose pulpar (FARACO; PERCINOTO, 1998; RIBEIRO et al., 1998; FARIA, 2001; ROCHA, 2001; GUEDES-PINTO, 2006), devido à propagação de microrganismos ao longo de todo o sistema de canal radicular e região perirradicular (GODOY, 1999; PAZELLI et al., 2003).

Ao longo dos anos, inúmeros estudos de cultura microbiológica e biologia molecular em dentes permanentes detectaram e estabeleceram a microbiota de canais radiculares e seus subprodutos, como sendo a principal causa de doenças pulpares e periapicais (SUNDQVIST, 1992a,b; MÖLLER, 1996; ABOU-RASS; BOGEN, 1998; JUNG et al., 2001; FOUAD et al., 2002; MUNSON et al., 2002; PINHEIRO et al., 2003; RÔÇAS et al., 2003; GOMES et al., 2004; SIQUEIRA JR et al., 2004; SOCRANSKY et al., 2004; NAIR et al., 2005; SOUZA et al., 2005; CHU et al., 2006; SAITO et al., 2006; SAKAMOTO et al., 2006; SASSONE et al., 2007; BAIK et al., 2008; GOMES et al., 2008; SASSONE et al., 2008; RÔÇAS; SIQUEIRA JR, 2010).

1.3 Microbiota endodôntica

Durante as décadas de 50 e 60, pesquisadores isolaram principalmente espécies bacterianas aeróbias e facultativas de canais radiculares com polpa necrosada e lesões periapicais, devido às limitações técnicas para isolamento e cultura microbiológica (SHOVELTON, 1964). Com a evolução científica e tecnológica, técnicas de cultura estritamente anaeróbias foram desenvolvidas e, na década de 80, pesquisadores demonstraram que, em canais radiculares de dentes permanentes com necrose pulpar e lesões periapicais, existe uma infecção polimicrobiana com predominância de espécies anaeróbias estritas (SUNDQVIST, 1992a,b; TRONSTAD, 1992; ASSED et al., 1996; PAZELLI et al., 2003; SOUZA et al., 2005).

Ainda que mais de 300 espécies microbianas tenham sido isoladas/detectadas nas infecções endodônticas, um grupo mais restrito, composto de 15 a 30 espécies, tem sido mais comumente encontrado em dentes permanentes (SIQUEIRA JR, 2002; SIQUEIRA JR; RÔÇAS, 2005). Os gêneros bacterianos mais frequentemente isolados de infecções endodônticas em dentes permanentes são *Peptostreptococcus*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Eubacterium*, *Actinomyces*, *Bacteroides*, *Lactobacillus* e *Streptococcus* facultativos (YOSHIDA et al., 1987; SUNDQVIST et al., 1989; HASHIOKA et al., 1992; SUNDQVIST, 1992a,b; GOMES et al., 1994; SUNDQVIST, 1994; GOMES et al., 1996a,b,c; MÖLLER, 1996; DRUCKER et al., 1997; LE GOFF et al., 1997; GOMES et al., 1999; JUNG et al., 2000; MUNSON et al., 2002; JACINTO et al., 2003; GOMES et al., 2004; JACINTO et al., 2008; RÔÇAS; SIQUEIRA JR, 2010).

1.4 Hibridização DNA-DNA checkerboard

O avanço nas técnicas de cultura para bactérias anaeróbias tem permitido uma descrição mais detalhada da composição da microbiota de infecções endodônticas. No entanto, isolar e manter culturas viáveis de algumas destas espécies em condições laboratoriais são tarefas difíceis, além de apresentar custo elevado. A introdução de métodos moleculares de diagnóstico microbiológico, altamente sensíveis, rápidos e específicos, representou um grande avanço em relação à identificação da microbiota relacionada com infecções endodônticas. Estudos utilizando estes métodos, tais como a hibridização DNA-DNA

checkerboard (SOCRANSKY et al., 1994; MORAES et al., 2002; SIQUEIRA JR et al., 2002) e a reação em cadeia da polimerase (PCR) (MULLIS et al., 1986; MUNSON et al., 2002; SIQUEIRA JR et al., 2004), levaram a uma melhor compreensão da composição da microbiota do canal radicular e dos tecidos periapicais (JUNG et al., 2000; SIQUEIRA JR et al., 2000; DE SOUZA et al., 2005; GOMES et al., 2005; SASSONE et al., 2007; RÔÇAS; SIQUEIRA JR, 2010).

Embora a técnica PCR seja apontada como um dos métodos mais sensíveis de diagnóstico molecular (ZAMBON; HARASZTHY, 1995; MOLANDER et al., 2002), detectando apenas espécies microbianas alvo, não permite a quantificação microbiana. Apenas o PCR em tempo real (*Real-Time PCR*) permite este tipo de análise, mas o elevado custo desta técnica limita sua utilização para algumas amostras e espécies bacterianas (SIQUEIRA JR; RÔÇAS, 2005; GOMES et al., 2008; SASSONE et al., 2008). O PCR em tempo real é um método que oferece a capacidade de determinar um microrganismo específico em uma amostra mista sem a necessidade de cultivo, após amplificação do fragmento de DNA bacteriano em estudo. Isto salienta a importância de considerar, quando se utilizam testes moleculares, não só a presença de microrganismos específicos, mas também o número de células em uma amostra, de forma a associá-la com os sinais e sintomas do paciente (LYONS et al., 2000; GOMES et al., 2004). Jung et al. (2001), sugeriram que o grau de severidade de uma infecção endodôntica está relacionado não só com a presença de agentes patogênicos, mas com o número desses microrganismos no sítio infectado.

A técnica da hibridização DNA-DNA *checkerboard* foi introduzida por Socransky et al. em 1994, e tem sido utilizada para o estudo da microbiota bucal (SOCRANSKY et al., 1994; HAFFAJEE et al., 1997a,b), permitindo a identificação (presença e concentração) e a quantificação simultânea de um elevado número de amostras e de espécies bacterianas, mesmo que estas espécies estejam em baixa proporção, não sendo necessária a amplificação do DNA para a identificação do microrganismo (GATTI et al., 2000; SUNDE et al., 2000). A vantagem é que a técnica não exige viabilidade bacteriana para sua detecção, permitindo também a identificação das espécies não cultiváveis ou que são difíceis de identificar por métodos convencionais de cultura (SASSONE et al., 2008).

A identificação dos microrganismos através da técnica da hibridização DNA-DNA *checkerboard* é baseada em similaridades

genômicas. O método consiste em cruzar um grande número de amostras de DNA com amostras específicas de DNA de microrganismos (sondas), posicionadas sobre um suporte de membrana (SOCRANSKY et al., 1994).

A utilização dessas novas técnicas moleculares conduz a uma melhor compreensão sobre o perfil microbiano de infecções endodônticas primárias porque permite a identificação de algumas espécies que foram subestimadas em estudos de cultura, tais como *Treponema ssp.* (SIQUEIRA JR et al., 2000; JUNG et al., 2001; SIQUEIRA JR et al., 2001; SIQUEIRA JR; RÔÇAS, 2003a; GOMES et al., 2006), *Filifactor alocis* (SIQUEIRA JR; RÔÇAS, 2003b; GOMES et al., 2006), *Tannerella forsythia* (SOUZA et al., 2005; GOMES et al., 2006; SASSONE et al., 2007) e *Enterococcus faecalis* (SEDGLEY et al., 2006; SASSONE et al., 2007) e, assim, fornecer terapias de canais radiculares mais específicas, baseado nos agentes etiológicos dessas infecções (SASSONE et al., 2007; SASSONE et al., 2008).

1.5 Preparo químico-mecânico dos canais radiculares

O tratamento endodôntico visa, prioritariamente, à eliminação da infecção e à privação de fontes nutritivas para as bactérias persistentes, objetivando a cura de lesões perirradiculares e a prevenção da reinfecção (ALVES et al., 1994; PETERS et al., 1995; PETERS et al., 2001). O preparo químico-mecânico do sistema de canais radiculares associado ao uso de antimicrobianos como medicação intracanal foi proposto (BYSTRÖM et al., 1985; BARBOSA et al., 1997) visando um aumento na taxa de eliminação dessas bactérias e melhora na eficácia terapêutica. O uso do Hidróxido de cálcio (Ca(OH)_2) como curativo de demora resultou na redução da maioria das espécies inicialmente detectadas, mas estudos demonstraram que o seu uso como um curativo não foi capaz de eliminar completamente os microrganismos do sistema de canal radicular, pois as características *in vivo* deste sistema são muito complexas e podem favorecer a persistência de alguns microrganismos (BARBOSA et al., 1997; SOUZA et al., 2005).

O preparo químico-mecânico de canais radiculares infectados tem se mostrado eficaz em reduzir significativamente a microbiota intracanal, embora microrganismos viáveis sejam frequentemente isolados após o tratamento. Essa flora residual usualmente se multiplica se um medicamento não é utilizado (BYSTRÖM; SUNDQVIST, 1981;

BYSTRÖM; SUNDQVIST, 1983; BYSTRÖM; SUNDQVIST, 1985). O Ca(OH)_2 é um dos mais populares medicamentos utilizados para esse fim (CHU et al., 2006; BAIK et al., 2008). Sabe-se que, após o preparo químico-mecânico e um curativo de Ca(OH)_2 , mais canais ficam livres do crescimento de bactérias, do que aqueles desprovidos de um curativo de demora (CHAVEZ DE PAZ, 2007; DUGGAN; SEDGLEY, 2007; RÔÇAS et al., 2008). Uma das razões para a eficácia do Ca(OH)_2 é considerar o ambiente alcalino (pH aproximadamente 12,5-12,8) criado por sua aplicação, que desestimula o crescimento bacteriano (BAIK et al., 2008) e inativa enzimas presentes nas membranas bacterianas (ESTRELA et al., 1995). Apesar dos bons resultados clínicos (BARBOSA et al., 1997), o uso do Ca(OH)_2 como medicação intracanal pode ser limitado pela presença de espécies resistentes, como o *Enterococcus faecalis*, uma espécie particular associada com infecção persistente e com a falha do tratamento (PECIULIENE et al., 2000; SOUZA et al., 2005).

Ørstavik et al. (1991) relataram em seu estudo que 15 de 23 canais (65%) tiveram culturas negativas após 7 dias de curativo de demora com Ca(OH)_2 , mas todos os canais apresentaram cultura negativa após nova limpeza na segunda sessão, enquanto que Shuping et al. (2000), encontraram um crescimento positivo em 38% de 42 canais imediatamente após o preparo químico-mecânico, e apenas 7,5% dos canais tiveram um crescimento após 7 dias de curativo de demora de Ca(OH)_2 .

Em termos da média total de unidades formadoras de colônias (UFC), tem sido demonstrado por Peters et al. (2002), que esta poderia ser reduzida a 0,93% dos canais não tratados após o preparo químico-mecânico e curativo de demora com Ca(OH)_2 por 4 semanas, embora apenas 6 de 21 canais (28,5%) tinham culturas negativas. Após novo preparo químico-mecânico, a média de UFC foi reduzida a 0,01% do valor original, e 19 canais (90,4%) finalmente tiveram culturas negativas. Este estudo confirmou que, embora a eliminação total dos microrganismos não possa ser alcançada, a média total de UFC pode ser reduzida por duas sessões endodônticas para menos de 1% da contagem inicial, e que a utilização de diferentes medicamentos apresentou resultados semelhantes. Embora microrganismos residuais fossem ainda encontrados em canais após o tratamento neste estudo, os diferentes medicamentos utilizados não tiveram impacto significativo sobre este parâmetro. Assim, em vez de confiar em medicamentos intracanaís, o

preparo químico-mecânico cuidadoso do canal durante a segunda consulta é necessário para eliminar os resíduos da flora do canal.

Pesquisas têm demonstrado que a bactéria pode ser viável no mesmo canal radicular após preparo químico-mecânico vigoroso (BYSTRÖM; SUNDQVIST, 1985), levando a infecções intrarradiculares persistentes ou secundárias e, conseqüentemente, falha do tratamento. Portanto, o uso de uma medicação intracanal com atividade antimicrobiana entre sessões de terapia tem sido recomendado para eliminar possíveis microrganismos persistentes (BYSTRÖM et al., 1985), particularmente nos casos de necrose pulpar com perda óssea perirradicular (SJÖGREN et al., 1990). Guedes-Pinto et al. (1981) e Guedes-Pinto (2006), salientam que é importante que durante o preparo do canal criem-se, a partir de substâncias químicas adequadas e/ou do uso de instrumentos, condições de limpeza que favoreçam uma melhor ação farmacológica dos medicamentos usados no curativo de demora e/ou obturação de canal, dando assim, condições de uma resposta orgânica mais rápida e organizada.

1.6 Tratamento endodôntico em dentes decíduos

O sucesso do tratamento endodôntico depende de vários fatores, dos quais o mais importante é a redução e/ou eliminação da infecção bacteriana presente no sistema de canal radicular, que pode ser conseguida em grande parte pelo preparo químico-mecânico do conduto (LEONARDO et al., 2002; SOUZA et al., 2005; SILVA et al., 2006). No entanto, para que isto ocorra, é importante identificar os microrganismos que estão presentes. Poucos estudos têm sido feitos para identificar quais espécies bacterianas estão presentes na microbiota de canais radiculares de dentes decíduos com necrose pulpar e/ou infecção periapical (GOMES et al., 1997; FARIA, 2001; SOUZA-GUGELMIN et al., 2001; ONÇAG et al., 2003; PAZELLI et al., 2003; FARIA et al., 2005; SILVA et al., 2006). Além disso, apenas alguns estudos empregaram a técnica da hibridização DNA-DNA *checkerboard* (RUVIÉRE, 2005; MATOBA JR, 2006; RUVIÉRE et al., 2007).

Atualmente, duas técnicas de preparo endodôntico (ROCHA, 2001 – Anexo A; GUEDES-PINTO et al., 1981 – Anexo B) são as mais utilizadas nas universidades brasileiras de Odontologia (KRAMER et al., 2000; ROCHA, 2001; BRUSCO et al., 2002), para redução do

conteúdo microbiano séptico de canais radiculares de dentes decíduos com necrose pulpar e/ou lesão perirradicular.

Na técnica de tratamento endodôntico preconizada por Guedes-Pinto et al. (1981), por acreditar que as maiores dificuldades existentes no tratamento de dentes decíduos portadores de necrose, com reabsorções ósseas, fistulados ou não, se devem principalmente às dificuldades oriundas do preparo químico-mecânico, medicamentos são usados durante a instrumentação e para a obturação, assumindo considerável importância em obter melhores condições de desinfecção durante o preparo do canal e principalmente em manter, pela obturação do mesmo, as condições de assepsia a fim de facilitar o desenvolvimento normal de cura e reparo. Para os pesquisadores, tais obstáculos têm como ponto de partida vários aspectos anatômicos e fisiológicos próprios dos dentes decíduos que dificultam a tentativa de preparo do canal. Entre eles, destacam-se a curvatura das raízes dos molares, o grande número de canais laterais, recorrentes e intercanais, bem como a reabsorção radicular fisiológica (GUEDES-PINTO et al., 1981; GUEDES-PINTO, 2006).

Já a técnica de tratamento endodôntico de dentes decíduos do Protocolo UFSC (ROCHA, 2001) busca uma máxima remoção do conteúdo séptico dos canais por meio do preparo químico-mecânico, seguindo os mesmos princípios biológicos que regem a terapia de canais de dentes permanentes, associado a curativo de demora intersessão com Ca(OH)_2 e posterior obturação com cimento de óxido de zinco e eugenol, onde “mais importante é o que se remove do canal e não o que nele se coloca”. Este protocolo tem sido avaliado sob vários aspectos (CORDEIRO, 1999; MENEZES, 1999; SCHRAMM, 2001; NICOLOSI, 2002; CORDEIRO, 2004), sendo um deles a possibilidade de preparo químico-mecânico do canal principal de dentes decíduos, em toda a sua extensão e com segurança (RESENDE; ROCHA, 2001; KUMMER et al., 2008).

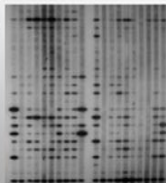
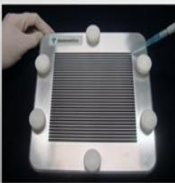
Os materiais mais comumente utilizados para a obturação de condutos radiculares decíduos são óxido de zinco e eugenol (OZE) (CARDOSO, 2001; ROCHA, 2001), pastas iodoformadas (GUEDES-PINTO, 2006) e Hidróxido de cálcio (CARDOSO, 2001; ROCHA, 2001; AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRIC DENTISTRY, 2004). O OZE foi o primeiro material recomendado para o tratamento endodôntico em dentes decíduos com necrose pulpar, obtendo taxas de sucesso clínico de moderada a alta. Porém, foram expressas

preocupações relativas à menor velocidade da rizólise em dentes decíduos com canais radiculares preenchidos por este material (FUKS, 2000; CERQUEIRA et al., 2007; MELLO-MOURA et al., 2007). O Ca(OH)_2 tem efeitos antimicrobianos mais favoráveis, sendo reabsorvido facilmente, não causando reação de corpo estranho e apresentando alta taxa de sucesso (SRINIVASAN et al., 2006). As pastas iodoformadas cumprem a maioria das exigências de um material de preenchimento radicular em dentes decíduos por serem reabsorvidas mais facilmente, além de possuírem propriedades germicidas potentes, não gerando nenhum efeito indesejável para o processo de rizólise dos decíduos e erupção dos sucessores permanentes (GUEDES-PINTO, 2006; CERQUEIRA et al., 2007; MELLO-MOURA et al., 2007).

As maiores barreiras ao êxito do tratamento de dentes decíduos com necrose pulpar, fistulados ou não, provêm, na maioria das vezes, do método de preparo do canal (GUEDES-PINTO et al., 1981). Assim, o presente estudo tem como objetivo geral determinar a eficácia das manobras químico-mecânicas para limpeza endodôntica pelas Técnicas UFSC e preconizada por Guedes-Pinto, na redução do conteúdo microbiano de canais radiculares de dentes decíduos com necrose pulpar e lesão perirradicular associada.

Além disso, os seguintes objetivos específicos foram estabelecidos:

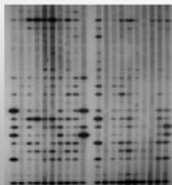
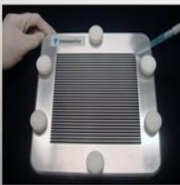
- Avaliar/identificar a condição microbiana endodôntica inicial de canais de dentes decíduos com necrose pulpar, através de testes microbiológicos moleculares;
- Avaliar/identificar a condição microbiana endodôntica após o preparo químico-mecânico do canal decíduo pela Técnica UFSC, através de testes microbiológicos moleculares;
- Avaliar/identificar a condição microbiana endodôntica após o preparo químico-mecânico do canal decíduo pela Técnica preconizada por Guedes-Pinto, através de testes microbiológicos moleculares;
- Avaliar comparativamente a eficácia das Técnicas UFSC e preconizada por Guedes-Pinto na redução do conteúdo microbiológico de canais radiculares de dentes decíduos necrosados.



2. Justificativa

2 JUSTIFICATIVA

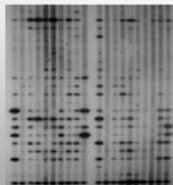
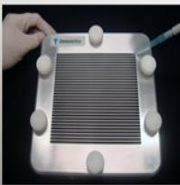
Devido à importância dos cuidados e tratamento dos dentes decíduos, a fim de evitar consequências indesejáveis sobre os tecidos vizinhos e possíveis sequelas nos permanentes sucessores, e devido à escassez de trabalhos que avaliam a eficácia de técnicas endodônticas em Odontopediatria, este trabalho fica justificado na tentativa de verificar qual técnica promove uma maior redução da infecção bacteriana presente nos canais de dentes decíduos portadores de necrose pulpar, com lesão perirradicular associada, por meio das suas manobras químico-mecânicas de instrumentação, comparando a Técnica do Protocolo UFSC com a Técnica tradicional preconizada por Guedes-Pinto, uma vez que estes dois protocolos são cientificamente comprovados, utilizados e divulgados há muito tempo em diversas escolas de Odontologia do Brasil.



3. Hipòtese

3 HIPÓTESE

O preparo químico-mecânico pelo Protocolo UFSC para tratamento endodôntico de dentes decíduos promove uma maior redução do conteúdo microbiano de canais radiculares com necrose pulpar e lesão perirradicular associada, em comparação à Técnica preconizada por Guedes-Pinto.



4. Artigo 1

4 ARTIGO 1

*O artigo a seguir encontra-se formatado nas normas do Periódico
Journal of Endodontics.*

*Perfil microbiano de canais radiculares de dentes decíduos com
necrose pulpar e lesão perirradicular*

Thaís Cezária Triches ⁽¹⁾

Luciene Cristina de Figueiredo ⁽²⁾

Magda Feres ⁽³⁾

Sérgio Fernando Torres de Freitas ⁽⁴⁾

Gláucia Santos Zimmermann ⁽⁵⁾

Mabel Mariela Rodríguez Cordeiro ⁽⁶⁾

- (1) Mestre em Odontopediatria pela Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC - Florianópolis - Santa Catarina - Brasil. (ttriches@ibest.com.br)
- (2) Doutora. Professora Titular e Vice-Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Guarulhos - UNG - Guarulhos - São Paulo - Brasil. (lfigueiredo@ung.br)
- (3) Doutora. Professora Titular e Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Guarulhos - UNG - Guarulhos - São Paulo - Brasil. (mferes@ung.br)
- (4) Doutor. Professor do Departamento de Saúde Pública da Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC - Florianópolis - Santa Catarina - Brasil. (sergiofreitas@ccs.ufsc.br)
- (5) Mestre. Professora Assistente do Departamento de Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC - Florianópolis - Santa Catarina - Brasil.
Estudante do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Guarulhos - UNG - Guarulhos - São Paulo - Brasil. (glauciasz@hotmail.com)
- (6) Doutora. Professora do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC - Florianópolis - Santa Catarina - Brasil. (mabelmrcordeiro@hotmail.com)

Endereço para correspondência:

Thaís Cezária Triches

Rua: Paulo Furtado Lucena, nº 101

Terra Roxa - Paraná - Brasil

Cep: 85.990-000 / Centro

E-mail: ttriches@ibest.com.br

RESUMO

OBJETIVO: avaliar a composição da microbiota endodôntica de dentes decíduos humanos com necrose pulpar e lesão perirradicular. **MÉTODOS:** amostras microbianas foram coletadas de 24 canais de dentes decíduos de crianças atendidas na Clínica de Odontopediatria da Universidade Federal de Santa Catarina – Brasil. A identificação microbiológica foi realizada por hibridização DNA-DNA *checkerboard* para 40 bactérias distintas. Os dados microbiológicos foram analisados, por canal radicular, pela contagem média, frequência e prevalência de cada espécie bacteriana. **RESULTADOS:** das 40 sondas bacterianas utilizadas, 35 (87,5%) foram identificadas e as bactérias mais prevalentes foram *Fusobacterium nucleatum sp. nucleatum*, *Fusobacterium periodonticum*, *Prevotella melaninogenica*, *Prevotella nigrescens* e *Prevotella intermedia*. De acordo com as características do microrganismo, espécies facultativas foram identificadas em 20 (83,3%) canais radiculares, anaeróbias em 24 (100%) e aeróbias em 18 (75%). Os bacilos pigmentados de negro estavam presentes em 23 (96%) amostras. O número de espécies bacterianas distintas detectadas por canal variou de 5 a 33, com uma média de 20 (DP \pm 7,9). **CONCLUSÃO:** pode-se concluir que em dentes decíduos com necrose pulpar e lesão perirradicular, a infecção endodôntica é polimicrobiana, com presença de microrganismos aeróbios, facultativos e anaeróbios estritos, sendo *Fusobacterium nucleatum sp. nucleatum*, *Fusobacterium periodonticum*, *Prevotella melaninogenica*, *Prevotella nigrescens* e *Prevotella intermedia* as espécies mais prevalentes.

Palavras-chave: Dente Decíduo, Canal Radicular, Necrose Pulpar, Infecção, Sondas DNA

INTRODUÇÃO

O sucesso do tratamento endodôntico depende de vários fatores, dos quais o mais importante é a redução e/ou eliminação da infecção bacteriana presente no sistema do canal radicular, que pode ser conseguida em grande parte pelo preparo químico-mecânico do conduto (1, 2). No entanto, para que isto ocorra, é importante conhecer os microrganismos que estão presentes. Poucos estudos têm sido realizados para identificar quais espécies bacterianas estão presentes na microbiota de canais radiculares de dentes decíduos com necrose pulpar e/ou infecção periapical (2-9). Além disso, apenas alguns estudos empregaram métodos moleculares de detecção como a técnica da hibridização DNA-DNA *checkerboard* (8, 9).

A técnica da hibridização DNA-DNA *checkerboard* foi introduzida por Socransky et al. (10), e tem sido utilizada para o estudo da microbiota bucal, permitindo a identificação e a quantificação simultânea de um elevado número de amostras e de espécies bacterianas, mesmo que estas espécies estejam em baixa proporção, não sendo necessária a amplificação do DNA para a identificação do microrganismo (11, 12). A vantagem é que a técnica não exige viabilidade bacteriana para sua detecção, permitindo também a identificação das espécies não cultiváveis ou que são difíceis de identificar por métodos convencionais de cultura (13).

A utilização dessas novas técnicas moleculares conduz a uma melhor compreensão sobre o perfil microbiano de infecções endodônticas, permitindo a identificação de algumas espécies que foram subestimadas em estudos de cultura e, assim, fornecendo subsídios para o desenvolvimento de terapias de canais radiculares mais específicas, baseadas nos agentes etiológicos dessas infecções (13, 14).

Com base nisso, o presente estudo tem como objetivo identificar, através da técnica da hibridização DNA-DNA *checkerboard*, a microbiota endodôntica de canais radiculares de dentes decíduos humanos com necrose pulpar e lesão perirradicular.

MATERIAL E MÉTODOS

Seleção da amostra

O protocolo de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa

Catarina (UFSC), Florianópolis - SC, Brasil. Foram incluídos no estudo 24 canais radiculares de dentes decíduos, de oito crianças atendidas na Clínica de Odontopediatria da UFSC, durante o ano de 2009, após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido pelos seus responsáveis.

Para serem incluídas na amostra, as crianças não poderiam apresentar doenças ou comprometimento sistêmicos ou terem feito uso de antibiótico e/ou antimicrobiano no último mês. O dente decíduo deveria apresentar envolvimento pulpar devido ao avanço de lesão de cárie e diagnóstico de necrose pulpar com lesão perirradicular associada, com presença ou ausência de fístula. Ainda, o dente deveria ter indicação de tratamento endodôntico e condições de ser isolado e restaurado adequadamente.

Todos os pacientes receberam o tratamento endodôntico, a restauração definitiva, bem como o acompanhamento longitudinal clínico e radiográfico do dente em questão, assim como qualquer outra necessidade odontológica com vistas ao restabelecimento da saúde do paciente.

Coleta e Preparo da amostra

Todas as etapas da coleta e do preparo das amostras foram realizadas por um único operador.

Após a seleção do caso, diagnóstico e anestesia, foi feita antissepsia da cavidade bucal com bochecho com Digluconato de Clorexidina 0,12% (Inodon[®] Laboratório, Porto Alegre, RS, Brasil) por 1 minuto. Após isolamento absoluto foi realizada nova desinfecção da superfície do dente e das áreas circundantes com Digluconato de Clorexidina 1% (Dermus[®] Manipulação, Florianópolis, SC, Brasil), duas vezes, por 3 minutos cada. Após remoção do tecido cariado, o acesso completo à câmara pulpar e ao canal radicular foi obtido obedecendo a todos os princípios que regem a abertura endodôntica de dentes decíduos. As manobras de desinfecção já citadas foram repetidas.

As amostras foram coletadas com três pontas de papel absorvente estéreis de calibre 15 (Tanari[®] Indústria Ltda., Manaus, AM, Brasil), absorvendo o “líquido” de cada canal por 1 minuto. Três pontas de papel absorvente estéreis de mesmo calibre foram coletadas como controle da esterilidade das mesmas (controle negativo).

Todas as pontas de papel foram retiradas do interior do canal radicular e imediatamente transferidas para solução tampão TE, seguido da adição de NaOH 0,5M e agitação mecânica vigorosa.

A avaliação foi realizada através da técnica da hibridização DNA-DNA *checkerboard*, onde sondas de DNA foram utilizadas para a identificação das bactérias (Quadro 1).

Método de processamento e Avaliação microbiológica

Extração do DNA

Como descrito por Socransky et al. (10), as amostras foram centrifugadas, as pontas de papel absorvente retiradas dos tubos e as suspensões, fervidas em banho-maria. Após a fervura, as suspensões foram neutralizadas com Acetato de Amônia 5M, as células bacterianas lisadas, e o DNA estabilizado. Então, o DNA foi fixado em uma membrana de nylon com carga positiva (Amersham Hybond-N⁺, GE[®] Healthcare Limited, Amersham Place, Little Chalfont, Buckinghamshire, England), em cada canaleta do “Minislot 30” (Immunetics[®], Cambridge, Massachusetts, United States). Os controles positivos consistiram de suspensão contendo todas as espécies microbianas avaliadas em duas concentrações (10^5 e 10^6 células bacterianas).

Preparo das sondas de DNA

As sondas de DNA foram confeccionadas usando o kit “*DIG DNA Labeling*” (Roche[®] Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany), gentilmente cedidas pelo Laboratório de Pesquisa em Odontologia – Microbiologia, Imunologia e Biologia Molecular da Universidade Guarulhos (Guarulhos, SP, Brasil). O Quadro 1 apresenta as 40 sondas de DNA empregadas, específicas para as espécies avaliadas neste estudo, selecionadas de acordo com a sua associação com diferentes tipos de infecções endodônticas.

Hibridização das membranas com as sondas de DNA

Após a fixação do DNA na membrana, esta foi pré-hibridizada e, em seguida, colocada no “Miniblotter 45” (Immunetics[®], Cambridge, Massachusetts, United States). As sondas hibridizaram perpendicularmente às linhas contendo o DNA bacteriano fixado, com as amostras de DNA horizontais e as sondas verticais.

Incubação com anticorpo

Após a hibridização com as sondas, a membrana foi imersa em uma solução contendo o anticorpo Anti-Digoxigenina conjugado à fosfatase alcalina (Anti-Digoxigenin-AP, Roche[®] Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany). A membrana foi então incubada na solução CDP-Star[®] Detection Reagent (GE[®] Healthcare UK Limited, Little Chalfont, Buckinghamshire, England), contendo o substrato para essa enzima, para ativação da reação de quimioluminescência.

Deteção das espécies bacterianas

A membrana foi colocada em um chassi radiográfico, sob um filme radiográfico (18x24cm) (IBF-Medix[®], Indústria Brasileira de Filmes, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e, a seguir, revelado para a detecção dos sinais de quimioluminescência.

A leitura dos resultados foi semi-quantitativa, realizada por meio de comparação da intensidade dos sinais das amostras dos canais radiculares com os sinais das amostras controle (10^5 e 10^6 células). Todas as avaliações foram realizadas por um único examinador calibrado.

Os níveis das diferentes espécies em cada canal radicular foram determinados através da frequência média, estabelecendo-se os seguintes escores (9): 0 = ausência de sinal de quimioluminescência; 1 = $< 10^5$ células; 2 = $\sim 10^5$ células; 3 = entre 10^5 e 10^6 células; 4 = $\sim 10^6$ células; 5 = $> 10^6$ células.

Análise estatística

A análise dos dados microbiológicos de todas as amostras foi realizada através da contagem média (\pm desvio padrão), frequência e prevalência de cada espécie, levando em consideração o canal radicular e o escore.

RESULTADOS

1) Presença das diferentes espécies bacterianas:

O Gráfico 1 apresenta a prevalência das espécies bacterianas detectadas nos canais radiculares pela técnica da hibridização DNA-DNA *checkerboard*.

Das 40 sondas utilizadas, 35 (87,5%) foram identificadas e as espécies bacterianas mais prevalentes foram *Fusobacterium nucleatum*

sp. nucleatum, *Fusobacterium periodonticum*, *Prevotella melaninogenica*, *Prevotella nigrescens* e *Prevotella intermedia*, sendo as três primeiras encontradas em 100% da amostra.

Dentre as 35 (87,5%) sondas de DNA encontradas, de acordo com as características do microrganismo, as espécies facultativas estavam presentes em 20 (83,3%) canais radiculares, as espécies anaeróbias em 24 (100%) e as aeróbias em 18 (75%) canais. Os bacilos pigmentados de negro (BPB) estavam presentes em 23 (96%) amostras.

O número de espécies bacterianas detectadas variou de 5 a 33, com uma média de 20 ($DP \pm 7,9$) tipos diferentes de bactérias por canal radicular. Todas as 24 amostras estudadas apresentaram sinal positivo para pelo menos cinco sondas. Doze canais (50%) apresentaram 19 ou mais espécies diferentes de bactérias e os outros 12 (50%) apresentaram menos do que 19 tipos bacterianos.

Cinco sondas de DNA empregadas não apresentaram sinal de quimioluminescência em nenhuma amostra: *Actinomyces israelii*, *Actinomyces naeslundii I*, *Actinomyces odontolyticus I*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans serotypes a* e *Propionibacterium acnes I*.

2) Prevalência bacteriana por escore:

A Tabela 1 apresenta a prevalência bacteriana e o número de observações por escore.

Aproximadamente 50% (49,17%) das amostras apresentaram escore positivo. Maior concentração bacteriana foi observada nos escores 1 (13,33%), 2 (17,81%) e 3 (15,52%). Enquanto que nos escores 4 e 5 foram encontradas apenas 2,30% e 0,21% das espécies bacterianas, respectivamente.

As espécies que apresentaram o escore mais alto (escore 5) foram *Prevotella intermedia* e *Tannerella forsythia*. Já o escore 4 foi encontrado nas seguintes bactérias: *Enterococcus faecalis*, *Fusobacterium periodonticum*, *Parvimonas micra*, *Porphyromonas endodontalis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella melaninogenica*, *Prevotella nigrescens*, *Propionibacterium acnes I*, *Tannerella forsythia* e *Veillonella parvula*.

DISCUSSÃO

Poucos estudos utilizando técnicas de cultura e, principalmente, métodos moleculares de detecção bacteriana, têm sido realizados para

identificar os microrganismos presentes na microbiota dos canais radiculares dos dentes decíduos (2-9).

Nos resultados do presente estudo através da técnica da hibridização DNA-DNA *checkerboard*, foram encontrados microrganismos anaeróbios, facultativos, aeróbios e BPB. Outras pesquisas também relatam que em dentes decíduos com necrose pulpar, com ou sem lesão perirradicular, ocorre a presença de uma infecção polimicrobiana (2, 3, 5-9), assim como já observado para os dentes permanentes (1, 14-17).

As 40 sondas de microrganismos utilizadas no presente estudo revelaram uma elevada frequência e variação das espécies bacterianas nos canais radiculares dos casos avaliados. Os anaeróbios estavam presentes em 100% dos canais, o que está próximo dos valores encontrados em outros estudos com dentes decíduos. Silva et al. (2) e Faria et al. (7) encontraram 100% de anaeróbios, enquanto que Pazelli et al. (3) acharam 96,8%, Matoba Jr (8), 82,3% e Ruvierre et al. (9), 90%. As espécies microbianas facultativas estavam presentes em 83,3% dos canais, enquanto que Matoba Jr (8) e Ruvierre et al. (9) encontraram 94,1% e 96%, respectivamente. Embora no presente estudo só tenha sido pesquisada uma única espécie aeróbia, esta foi encontrada em 75% dos canais, sendo que uma proporção de cerca de 60% foi encontrada por Silva et al. (2) e Faria et al. (7). Uma maior proporção foi achada por Pazelli et al. (3), 93,5%, e por Matoba Jr (8), 100%, de amostras positivas para aeróbios. Já Ruvierre et al. (9) não pesquisaram aeróbios em seu estudo.

As espécies mais prevalentes no presente estudo foram: *Fusobacterium nucleatum sp. nucleatum*, *Fusobacterium periodonticum* e *Prevotella melaninogenica* (n=24; 100%); *Prevotella nigrescens* (n=23; 95,8%); *Prevotella intermedia* (n=22; 91,7%); *Enterococcus faecalis* e *Gemella morbillorum* (n=20; 83,3%); e, *Parvimonas micra* (n=19; 79,2%). Já Matoba Jr (8) encontrou *Neisseria mucosa* (100%), *Fusobacterium nucleatum sit polymorphum* (50%), *Prevotella melaninogenica* (35,7%) e *Streptococcus gordonii* (28,5%), enquanto Ruvierre et al. (9) encontraram *Campylobacter rectus* (90,2%), *Treponema denticola* (88,2%), *Streptococcus intermedius* (76,5%) e *Gemella morbillorum* (72,5%).

As espécies de *Fusobacterium sp.*, encontradas em 100% da amostra no presente estudo, são as mais prevalentes em dentes com necrose pulpar associada ou não a lesão periapical, como também

encontrado por Sundqvist (18). A *Prevotella melaninogenica*, com 100% de prevalência, apresentando um dos escores mais altos (escore 4) de frequência, foi diferente ao encontrado por Matoba Jr (8) com 35,7% e Ruvieré et al. (9) com 37,3%.

Algumas bactérias exigentes e de difícil identificação por meio da técnica de cultura foram encontradas, como foi o caso da *Tannerella forsythia* (n=17; 70,8%) e *Treponema denticola* (n=18; 75%), corroborando achados de outros estudos (8, 9). Estes dois microrganismos periodontopatogênicos fazem parte do complexo vermelho reportado por Socransky et al. (19). A *Tannerella forsythia* foi uma das espécies que apresentou, no presente estudo, o escore mais alto (escore 5) de frequência nos canais radiculares estudados.

Quanto aos BPB (*Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* e *Prevotella nigrescens*), os mesmos têm sido associados ao aparecimento de sinais e sintomas nas doenças periapicais de dentes permanentes, como no desenvolvimento de abscessos, sendo essenciais na infecção purulenta (16, 20, 21). Na coleta deste estudo, foi encontrado 95,8% de BPB. Estes resultados diferem dos encontrados por Silva et al. (2), Pazelli et al. (3) e Faria et al. (7) que detectaram, respectivamente, 30%, 35,5% e 30%, e dos achados por Matoba Jr (8) e Ruvieré et al. (9), que detectaram 52,6% e 51%, respectivamente. Os BPB apresentaram tanto escore 4 (*Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* e *Prevotella nigrescens*) quanto escore 5 (*Prevotella intermedia*) nos canais avaliados.

Das 40 sondas utilizadas, 35 (87,5%) apresentaram sinal positivo em algum dos canais estudados. Matoba Jr (8) encontrou 100% e Ruvieré et al. (9) encontraram 96% utilizando a mesma técnica molecular, no entanto, nessas pesquisas foi empregado um menor número de sondas.

Cinco sondas não apresentaram sinal de quimioluminescência em nenhuma amostra: *Actinomyces israelii*, *Actinomyces naeslundii I*, *Actinomyces odontolyticus I*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans serotypes a* e *Propionibacterium acnes I*. Os resultados do presente estudo diferem dos encontrados por Matoba Jr (8) que não identificaram 4 sondas: *Actinomyces viscosus*, *Parvimonas micra*, *Prevotella nigrescens* e *Streptococcus constellatus*. Já Ruvieré et al. (9) não encontraram 6 sondas: *Actinomyces viscosus*, *Campylobacter showae*, *Eikenella corrodens*, *Eubacterium nodatum*, *Tannerella forsythia* e *Veillonella parvula*.

A avaliação semi-quantitativa dos sinais de quimioluminescência, referente ao número de células bacterianas, mostrou a detecção de escores 0 a 5, corroborando o estudo de Matoba Jr (8). Entretanto, Ruvieré et al. (9) encontraram escores apenas de 0 a 3. É importante ressaltar que o escore 0 não significa necessariamente a ausência de bactérias. A ausência de quimioluminescência pode significar que as bactérias se encontram em uma concentração abaixo do método de detecção, visto que a técnica da hibridização DNA-DNA *checkerboard* identifica a partir de 10^5 células, ou que realmente estas bactérias não estavam presentes.

Entre os diversos trabalhos relatados, puderam-se notar muitas divergências. Vários fatores podem estar relacionados, como a sensibilidade da técnica empregada, o uso de diferentes métodos experimentais, concentrações, períodos de análise, diferentes métodos de detecção bacteriana, diversidade entre as populações estudadas (países diferentes), técnica de coleta do material, entre outros.

Pelo exposto, a microbiota dos canais radiculares de dentes decíduos confirma o caráter polimicrobiano da infecção endodôntica. Recomendam-se mais estudos utilizando métodos de biologia molecular, na tentativa de melhor compreender a microbiota endodôntica dos dentes decíduos e, assim, estabelecer estratégias mais eficazes de combate à infecção, que proporcionem um melhor prognóstico ao tratamento endodôntico em Odontopediatria.

CONCLUSÕES

A partir dos resultados deste estudo, pode-se concluir que:

- 1) nos casos de dentes decíduos com necrose pulpar e lesão perirradicular, a infecção endodôntica é polimicrobiana, com presença de microrganismos aeróbios, facultativos e anaeróbios estritos;
- 2) pela técnica de biologia molecular, *Fusobacterium nucleatum sp. nucleatum*, *Fusobacterium periodonticum*, *Prevotella melaninogenica*, *Prevotella nigrescens* e *Prevotella intermedia*, foram as espécies mais prevalentes.

REFERÊNCIAS

1. Souza CAS, Teles RP, Souto R, Chaves MAE, Colombo APV. Endodontic Therapy Associated with Calcium Hydroxide As an Intracanal Dressing: Microbiologic Evaluation by the Checkerboard DNA-DNA Hybridization Technique. *J Endod* 2005;31:79-83.
2. Silva LAB, Nelson-Filho P, Faria G, Souza-Gugelmin MCM, Ito IY. Bacterial Profile in Primary Teeth with Necrotic Pulp and Periapical Lesions. *Braz Dent J* 2006;17:144-8.
3. Pazelli LC, Freitas AC, Ito IY, Souza-Gugelmin MCMS, Medeiros AS, Nelson-Filho P. Prevalence of microorganisms in root canals of human deciduous teeth with necrotic pulp and chronic periapical lesions. *Pesq Odontol Bras* 2003;17:367-71.
4. Gomes AM, Fonseca L, Guedes-Pinto AC. Avaliação microbiológica do preparo biomecânico e de uma pasta obturadora de canais de dentes decíduos necrosados. *Rev Odontop* 1997;5:93-101.
5. Souza-Gugelmin MCM, Nelson-Filho P; Faria G, Palhares JC, Froner JC, Silva LAB, Ito IY. Determinação da microbiota de canais radiculares de dentes decíduos e permanentes portadores de necrose pulpar e lesão periapical, por meio da coloração de Gram. *Stoma* 2001;60:26-30.
6. Onçag O, Hosgor M, Hilmioglu S, Zekioglu O, Eronat C, Burhanoglu D. Comparison of antibacterial and toxic effects of various root canal irrigants. *Int Endod J* 2003;36:423-32.
7. Faria G, Nelson-Filho P, Freitas AC, Assed S, Ito IY. Antibacterial effect of root canal preparation and calcium hydroxide paste (Calen) intracanal dressing in primary teeth with apical periodontitis. *J Appl Oral Sci* 2005;13:351-5.
8. Matoba Jr F. Detecção da microbiota de canais radiculares de dentes decíduos humanos com necrose pulpar e lesão periapical pelo método *Checkerboard DNA-DNA Hybridization* e pela cultura microbiana, antes e após preparo biomecânico e uso de curativo de demora à base de hidróxido de cálcio associado à clorexidina, Ribeirão Preto: 2006. Dissertação (Mestrado em Odontopediatria) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

9. Ruvière DB, Leonardo MR, Silva LAB, Ito IY, Nelson-Filho P. Assessment of the Microbiota in Root Canals of Human Primary Teeth by Checkerboard DNA-DNA Hybridization. *J Dentist Child* 2007;74:118-23.
10. Socransky SS, Smith C, Martin L, Paster BJ, Dewhirst FE, Levin AE. "Checkerboard" DNA-DNA hybridization. *Biotechniques* 1994;17:788-92.
11. Gatti JJ, Dobeck JM, Smith C, White RR, Socransky SS, Skobe Z. Bacteria of asymptomatic periradicular endodontic lesions identified by DNA-DNA hybridization. *Endod Dent Traumatol* 2000;16:197-204.
12. Sunde PT, Tronstad L, Eribe ER, Lind PO, Olsen I. Assessment of periradicular microbiota DNA-DNA hybridization. *Endod Dent Traumatol* 2000;16:191-6.
13. Sassone LM, Fidel RA, Favari M, Guerra R, Figueiredo L, Fidel SR, Feres M. A Microbiological Profile of Symptomatic Teeth With Primary Endodontic Infections. *J Endod* 2008;34(5):541-5.
14. Sassone L, Fidel R, Figueiredo L, Fidel S, Favari M, Feres M. Evaluation of the microbiota of primary endodontic infections using *checkerboard DNA-DNA hybridization*. *Oral Microbiol Immunol* 2007;22:390-7.
15. Chu FCS, Leung WK, Tsang PCS, Chow TW, Samaranayake LP. Identification of Cultivable Microorganisms from Root Canals with Apical Periodontitis Following Two-Visit Endodontic Treatment with Antibiotics/Steroid or Calcium Hydroxide Dressings. *J Endod* 2006;32:17-23.
16. Gomes BPFA, Pinheiro ET, Jacinto RC, Zaia AA, Ferraz CCR, Souza-Filho FJ. Microbial Analysis of Canals of Root-filled Teeth with Periapical Lesions Using Polymerase Chain Reaction. *J Endod* 2008;34:537-40.
17. Rôças IN, Siqueira Jr JF. Identification of Bacteria Enduring Endodontic Treatment Procedures by a Combined Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction and Reverse-Capture Checkerboard Approach. *J Endod* 2010;36:45-52.
18. Sundqvist G. Associations between microbial species in dental root canals infections. *Oral Microbiol Immunol* 1992;7:257-62.

19. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent Jr R. L. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 1998;25:134-44.
20. Sundqvist G, Johanson E, Sjögren U. Prevalence of black-pigmented *Bacteroides* species in root canal infection. *J Endod* 1989;15:13-19.
21. Gomes BPFA, Drucker DB, Lilley JD. Association of endodontic signs and symptoms with particular combinations of specific bacteria. *Int Endod J* 1996;29:69-75.

4.1 QUADRO

Quadro 1 – Espécies bacterianas utilizadas na confecção das sondas genômicas de DNA

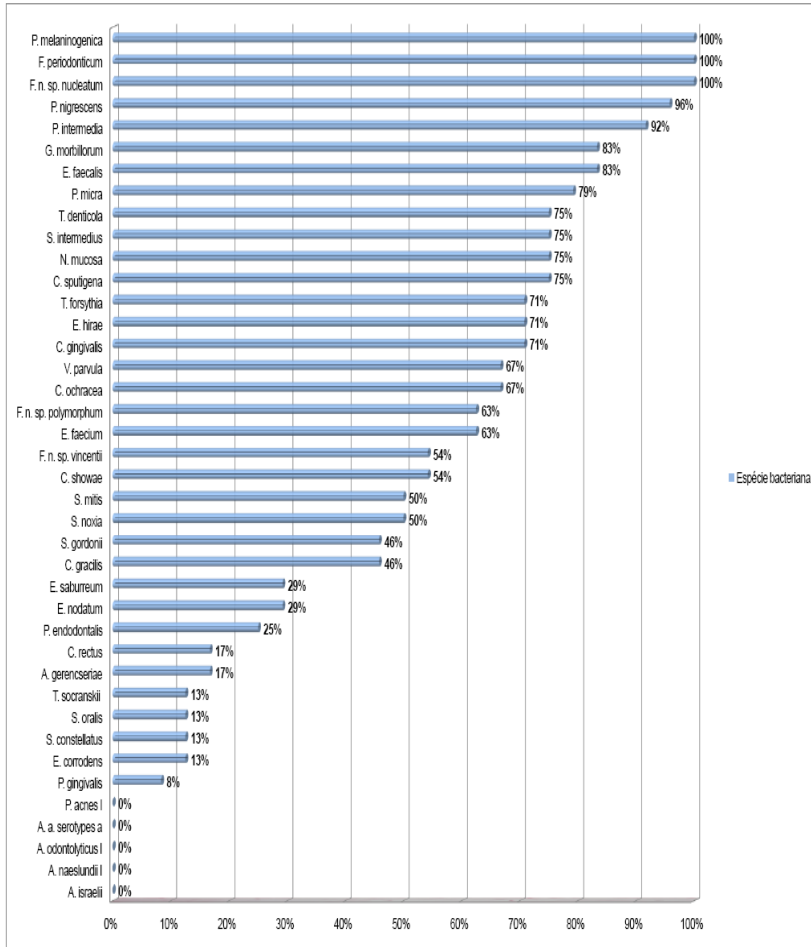
Espécies bacterianas	Procedência da cepa	Fisiologia
<i>Actinomyces gerencseriae</i>	ATCC 23860	Facultativo
<i>Actinomyces israelii</i>	ATCC 12102	Facultativo
<i>Actinomyces naeslundii I</i> (NEW 9.5µl)	ATCC 12104	Facultativo
<i>Actinomyces odontolyticus I</i>	ATCC 17929	Facultativo
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> serotypes <i>a</i>	ATCC 43718	Facultativo
<i>Campylobacter gracilis</i>	ATCC 33236 (1084)	Anaeróbico
<i>Campylobacter rectus</i>	ATCC 33238 (371)	Anaeróbico
<i>Campylobacter showae</i>	ATCC 51146	Anaeróbico
<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	ATCC 33624 (27)	Facultativo
<i>Capnocytophaga ochracea</i>	ATCC 33596 (25)	Facultativo
<i>Capnocytophaga sputigena</i>	ATCC 33612 (4)	Facultativo
<i>Eikenella corrodens</i>	ATCC 23834	Facultativo
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212	Facultativo
<i>Enterococcus faecium</i>	ATCC 6569	Facultativo
<i>Enterococcus hirae</i>	ATCC 10541	Facultativo
<i>Eubacterium nodatum</i>	ATCC 33099	Anaeróbico
<i>Eubacterium saburreum</i> (NEW 1-6-99)	ATCC 33271	Anaeróbico
<i>Fusobacterium nucleatum sp. nucleatum</i>	ATCC 25586	Anaeróbico
<i>Fusobacterium nucleatum sp. polymorphum</i>	ATCC 10953	Anaeróbico
<i>Fusobacterium nucleatum sp. vincentii</i>	ATCC 49256	Anaeróbico
<i>Fusobacterium periodonticum</i>	ATCC 33693	Anaeróbico
<i>Gemella morbillorum</i>	ATCC 27824	Facultativo
<i>Neisseria mucosa</i>	ATCC 19696	Aeróbico
<i>Parvimonas micra</i>	ATCC 33270	Anaeróbico
<i>Porphyromonas constellatus</i>	ATCC 35406	Anaeróbico
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	ATCC 33277	Anaeróbico
<i>Prevotella intermedia</i>	ATCC 25611	Anaeróbico
<i>Prevotella melaninogenica</i>	ATCC 25845	Anaeróbico
<i>Prevotella nigrescens</i>	ATCC 33563	Anaeróbico
<i>Propionibacterium acnes I</i>	ATCC 11827	Anaeróbico
<i>Selenomonas noxia</i>	ATCC 43541	Anaeróbico
<i>Streptococcus constellatus</i>	ATCC 27823 (M32b)	Facultativo
<i>Streptococcus gordonii</i>	ATCC 10558	Facultativo
<i>Streptococcus intermedius</i>	ATCC 27335	Facultativo
<i>Streptococcus mitis</i>	ATCC 49456	Facultativo
<i>Streptococcus oralis</i>	ATCC 35037	Facultativo
<i>Tannerella forsythia</i>	ATCC 43037 (338)	Anaeróbico
<i>Treponema denticola</i>	*B1	Anaeróbico
<i>Treponema socranskii</i> (NEW 1-6-99)	ATCC D40DR2	Anaeróbico
<i>Veillonella parvula</i>	ATCC 10790	Anaeróbico

*Cepa B1 (Forsyth Institute, Boston, MA)

ATCC (American Type Culture Collection, Rockville, MD)

4.2 GRÁFICO

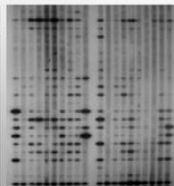
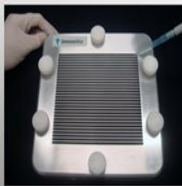
Gráfico 1 - Prevalência das espécies bacterianas detectadas nos canais radiculares pela técnica da hibridização DNA-DNA *checkerboard*



4.3 TABELA

Tabela 1 - Prevalência bacteriana e número de observações por escore

Escore		
	n	%
0	488	50,83
1	128	13,33
2	171	17,81
3	149	15,52
4	22	2,30
5	2	0,21
Total	960	100,0



5. Artigo 2

5 ARTIGO 2

*O artigo a seguir encontra-se formatado nas normas do Periódico
Journal of Endodontics.*

Eficácia de duas técnicas de preparo químico-mecânico na redução do conteúdo microbiano de canais radiculares de dentes decíduos com necrose pulpar – Estudo *in vivo*

Thaís Cezária Triches ⁽¹⁾

Luciene Cristina de Figueiredo ⁽²⁾

Magda Feres ⁽³⁾

Sérgio Fernando Torres de Freitas ⁽⁴⁾

Gláucia Santos Zimmermann ⁽⁵⁾

Mabel Mariela Rodríguez Cordeiro ⁽⁶⁾

⁽¹⁾ Mestre em Odontopediatria pela Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC – Florianópolis – Santa Catarina – Brasil. (ttriches@ibest.com.br)

⁽²⁾ Doutora. Professora Titular e Vice-Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Guarulhos – UNG – Guarulhos – São Paulo – Brasil. (lfigueiredo@ung.br)

⁽³⁾ Doutora. Professora Titular e Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Guarulhos – UNG – Guarulhos – São Paulo – Brasil. (mferes@ung.br)

⁽⁴⁾ Doutor. Professor do Departamento de Saúde Pública da Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC - Florianópolis – Santa Catarina – Brasil. (sergiofreitas@ccs.ufsc.br)

⁽⁵⁾ Mestre. Professora Assistente do Departamento de Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC - Florianópolis – Santa Catarina – Brasil.

Estudante do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Guarulhos – UNG – Guarulhos – São Paulo – Brasil. (glauciasz@hotmail.com)

⁽⁶⁾ Doutora. Professora do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC - Florianópolis – Santa Catarina – Brasil. (mabelmrcordeiro@hotmail.com)

Endereço para correspondência:

Thaís Cezária Triches

Rua: Paulo Furtado Lucena, nº 101

Terra Roxa – Paraná – Brasil

Cep: 85.990-000 / Centro

E-mail: ttriches@ibest.com.br

RESUMO

OBJETIVO: determinar a eficácia das manobras químico-mecânicas de dois protocolos endodônticos, na redução do conteúdo séptico de canais radiculares decíduos. **MÉTODOS:** 24 canais de dentes decíduos com necrose pulpar foram aleatoriamente divididos de acordo com o protocolo de tratamento: Grupo 1 - multisessões (n=12), e Grupo 2 - sessão única (n=12). Amostras foram coletadas usando pontas de papel estéreis, antes e após a limpeza químico-mecânica. A identificação microbiológica foi realizada por hibridização DNA-DNA *checkerboard*. Os escores utilizados foram: 0=ausência de quimioluminescência; 1= $< 10^5$ células; 2= $\sim 10^5$ células; 3= entre 10^5 e 10^6 células; 4= $\sim 10^6$ células; 5= $> 10^6$ células. A análise estatística foi realizada usando teste de proporções para escore=0 e comparando os achados nos dois momentos (antes e após tratamento) para cada grupo (teste de Wilcoxon), e os resultados das diferenças dos escores entre os protocolos (teste de Mann-Whitney) ($p<0,05$). **RESULTADOS:** as diferenças nas proporções de escore=0 antes do tratamento não foram significativas ($p=0,415$), mostrando equivalência entre os grupos. Ambos os grupos mostraram aumento significativo nas proporções de escore=0 após tratamento (Grupo 1= $p<0,0001$; Grupo 2= $p<0,0001$). Os escores foram fortemente reduzidos após a limpeza dos canais, para ambos os protocolos (Grupo 1= $p<0,0001$; Grupo 2= $p<0,0001$). O Grupo 2 mostrou uma redução significativamente maior dos escores médios após as manobras químico-mecânicas ($p=0,024$). **CONCLUSÃO:** ambos os protocolos são capazes de reduzir significativamente o conteúdo séptico de canais radiculares de dentes decíduos com necrose pulpar. Entretanto, o protocolo de sessão única mostrou uma maior eficácia na redução da infecção endodôntica.

Palavras-chave: Dente Decíduo, Necrose Pulpar, Infecção, Tratamento do Canal Radicular, Sondas DNA

INTRODUÇÃO

O objetivo do tratamento endodôntico é manter na cavidade bucal o dente com comprometimento pulpar, evitando assim, tratamentos mais complexos e agressivos (1). Esta manobra obtém maior importância nas crianças, visto que a perda precoce do elemento decíduo pode levar ao comprometimento do desenvolvimento do sistema estomatognático, da instalação da dentadura permanente e ao estabelecimento de problemas emocionais, psicológicos e comportamentais (2).

O sucesso do tratamento endodôntico depende de vários fatores, dos quais o mais importante é a redução e/ou eliminação da infecção bacteriana presente no sistema do canal radicular, que pode ser conseguida em grande parte pelo preparo químico-mecânico do conduto (3, 4). Poucos estudos têm sido realizados para verificar qual técnica endodôntica em Odontopediatria apresenta maior eficácia na redução da infecção bacteriana de dentes decíduos (5-7). Além disso, apenas um estudo empregou a técnica da hibridização DNA-DNA *checkerboard* (7).

Embora o preparo químico-mecânico de canais radiculares infectados seja eficaz em reduzir significativamente a infecção intracanal, microrganismos viáveis são frequentemente isolados após o tratamento. Autores (8) salientam a importância de criar, durante o preparo do canal, a partir de substâncias químicas adequadas e/ou do uso de instrumentos, condições de limpeza que favoreçam uma melhor ação farmacológica dos medicamentos usados no curativo e/ou obturação de canal, dando assim, condições de uma resposta orgânica mais rápida e organizada.

Atualmente, protocolos multisessões ou de sessão única de preparo endodôntico têm sido utilizados (8-11) para redução do conteúdo microbiano de canais radiculares de dentes decíduos com necrose pulpar e/ou lesão perirradicular associada.

As maiores barreiras ao êxito do tratamento de dentes decíduos com necrose pulpar, fistulados ou não, provêm, na maioria das vezes, do método de preparo do canal (8). No entanto, ainda não há consenso sobre o protocolo mais favorável para obtenção de uma melhor limpeza do canal radicular desses dentes. Assim, o presente estudo tem como objetivo determinar a eficácia das manobras químico-mecânicas para limpeza endodôntica através de dois protocolos diferentes, um

multisessões (PMS) e outro de sessão única (PSU), na redução do conteúdo microbiano de canais radiculares de dentes decíduos com necrose pulpar e lesão perirradicular associada.

MATERIAL E MÉTODOS

Considerações éticas

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

Seleção da amostra

Foram incluídas no estudo 8 crianças atendidas na Clínica de Odontopediatria da UFSC, Florianópolis, SC, Brasil, durante o ano de 2009, após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido pelos seus responsáveis. Um total de 24 canais foram aleatoriamente divididos em 2 grupos: G1, protocolo multisessões – PMS (n=12) e G2, protocolo de sessão única – PSU (n=12).

Para serem incluídas na amostra, as crianças não poderiam apresentar doenças ou comprometimentos sistêmicos ou terem feito uso de antibiótico e/ou antimicrobiano no último mês. O dente decíduo deveria apresentar envolvimento pulpar devido ao avanço de lesão de cárie e diagnóstico de necrose pulpar com lesão perirradicular associada, com presença ou ausência de fístula. Ainda, o dente deveria ter indicação de tratamento endodôntico e condições de ser isolado e restaurado adequadamente.

Preparo químico-mecânico

Os canais foram preparados seguindo os dois protocolos endodônticos a serem avaliados:

Protocolo multisessões (PMS; G1): realizado no mínimo em 3 sessões, iniciando com uma medicação prévia com Formocresol diluído 1:5 (permanecendo de 48 horas a 7 dias), promovendo uma neutralização prévia do conteúdo séptico do canal radicular. O esvaziamento e modelagem dos canais são realizados na 2ª sessão, com limas endodônticas até calibre 35 ou 40, associados à irrigação com solução de hipoclorito de sódio 1%. A 3ª sessão consiste na obturação do canal radicular com cimento de óxido de zinco e eugenol.

Protocolo de sessão única (PSU; G2): realiza o esvaziamento e limpeza dos canais por meio do uso de apenas duas limas de calibre maior após a inicial, associados à irrigação com solução de hipoclorito de sódio 0,5% tamponada com bicarbonato de sódio, mais ENDO-C-PREP (10% de Peróxido de uréia; 15% de Tween 80; 75% de Carbowax). A irrigação final é realizada com Tergensol. A obturação do canal radicular é feita com pasta iodoformada, na mesma sessão.

Coleta e Preparo da amostra

Todas as etapas do tratamento endodôntico, da coleta e do preparo das amostras foram realizadas por um único operador, para os dois protocolos.

Após a seleção do caso, diagnóstico e anestesia, para ambos os grupos, foi feita antisepsia da cavidade bucal com bochecho com Digluconato de Clorexidina 0,12% (Inodon[®] Laboratório, Porto Alegre, RS, Brasil) por 1 minuto. Após isolamento absoluto, foi realizada nova desinfecção da superfície do dente e das áreas circundantes com Digluconato de Clorexidina 1% (Dermus[®] Manipulação, Florianópolis, SC, Brasil), duas vezes, por 3 minutos cada. Após remoção do tecido cariado, o acesso completo à câmara pulpar e ao canal radicular foi obtido obedecendo a todos os princípios que regem a abertura endodôntica de dentes decíduos. As manobras de desinfecção já citadas foram repetidas.

As amostras foram coletadas com três pontas de papel absorvente estéreis de calibre 15 (Tanari[®] Indústria Ltda., Manaus, AM, Brasil), absorvendo o “líquido” de cada canal por pelo menos 1 minuto, em dois momentos: a primeira, introduzindo-o no comprimento aparente do dente, antes do preparo químico-mecânico, e a segunda, introduzindo-o no comprimento de trabalho, após o preparo, para ambos os grupos.

A primeira amostra teve como objetivo avaliar o perfil microbiano inicial dos canais e a segunda, a identificação, contagem e percentual dos microrganismos remanescentes, após o preparo químico-mecânico, para ambos os protocolos.

Três pontas de papel absorvente estéreis de calibre 15 foram coletadas como controle da esterilidade das mesmas (controle negativo).

Todas as pontas de papel foram retiradas do interior do canal radicular e imediatamente transferidas para solução tampão TE, seguido da adição de NaOH 0,5M e agitação mecânica vigorosa.

A avaliação foi realizada através da técnica da hibridização DNA-DNA *checkerboard*, onde sondas de DNA foram utilizadas para a identificação das bactérias (Quadro 1). O processamento das amostras foi feito no Laboratório de Pesquisa em Odontologia – Microbiologia, Imunologia e Biologia Molecular da Universidade Guarulhos (Guarulhos, SP, Brasil).

Método de processamento e Avaliação microbiológica

Extração do DNA

Como descrito por Socransky et al. (12), as amostras foram centrifugadas, as pontas de papel absorvente retiradas dos tubos e as suspensões, fervidas em banho-maria. Após a fervura, as suspensões foram neutralizadas com Acetato de Amônia 5M, as células bacterianas lisadas, e o DNA estabilizado. Então, o DNA foi fixado em uma membrana de nylon com carga positiva (Amersham Hybond-N⁺, GE[®] Healthcare Limited, Amersham Place, Little Chalfont, Buckinghamshire, England), em cada canaleta do “Minislot 30” (Immunitics[®], Cambridge, Massachusetts, United States). Os controles positivos consistiram de suspensão contendo todas as espécies microbianas avaliadas em duas concentrações (10^5 e 10^6 células bacterianas).

Preparo das sondas de DNA

As sondas de DNA foram confeccionadas usando o kit “*DIG DNA Labeling*” (Roche[®] Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany), gentilmente cedidas pelo Laboratório de Pesquisa em Odontologia – Microbiologia, Imunologia e Biologia Molecular da Universidade Guarulhos. O Quadro 1 apresenta as 40 sondas de DNA empregadas, específicas para as espécies avaliadas neste estudo, selecionadas de acordo com a sua associação com diferentes tipos de infecções endodônticas.

Hibridização das membranas com as sondas de DNA

Após a fixação do DNA na membrana, esta foi pré-hibridizada e em seguida, foi colocada no “Minibloter 45” (Immunitics[®], Cambridge, Massachusetts, United States). As sondas hibridizaram perpendicularmente às linhas contendo o DNA bacteriano fixado, com as amostras de DNA horizontais e as sondas verticais.

Incubação com anticorpo

Após a hibridização com as sondas, a membrana foi imersa em uma solução contendo o anticorpo Anti-Digoxigenina conjugado à fosfatase alcalina (Anti-Digoxigenin-AP, Roche[®] Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany). A membrana foi então incubada na solução CDP-Star[®] Detection Reagent (GE[®] Healthcare UK Limited, Little Chalfont, Buckinghamshire, England), contendo o substrato para essa enzima, para ativação da reação de quimioluminescência.

Detecção das espécies bacterianas

A membrana foi colocada em um chassi radiográfico, sob um filme radiográfico (18x24cm) (IBF-Medix[®], Indústria Brasileira de Filmes, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e, a seguir, revelado para a detecção dos sinais de quimioluminescência.

A leitura dos resultados foi semi-quantitativa, realizada por meio de comparação da intensidade dos sinais das amostras dos canais radiculares com os sinais das amostras controle (10^5 e 10^6 células). Todas as avaliações foram realizadas por um único examinador calibrado.

Os níveis das diferentes espécies em cada canal radicular foram determinados através da frequência média, estabelecendo-se os seguintes escores (13): 0 = ausência de sinal de quimioluminescência; 1 = $< 10^5$ células; 2 = $\sim 10^5$ células; 3 = entre 10^5 e 10^6 células; 4 = $\sim 10^6$ células; 5 = $> 10^6$ células.

Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando um teste de proporções para comparação dos escores zero iniciais, entre os dois grupos, e para comparação da efetividade das técnicas, a partir das contagens de escores zero.

A comparação de todos os escores obtidos nos dois momentos (antes e após o tratamento) para cada grupo individualmente foi realizada por meio do teste de Wilcoxon, e para a análise das diferenças entre os dois grupos foi utilizado o teste de Mann-Whitney.

O nível de significância adotado foi $p < 0,05$ para todos os testes.

RESULTADOS

1) Teste de proporção de escore 0:

A Tabela 1 mostra os números de observações por escores nos dois momentos avaliados, para o G1 e para o G2.

Em relação à avaliação semi-quantitativa do número de células bacterianas, os resultados da comparação entre as proporções de escores zero iniciais entre os dois grupos revelaram que as diferenças observadas no momento inicial não foram significativas ($p=0,415$). Ou seja, ainda que o G2 apresentasse uma menor porcentagem de escores zero no momento inicial (49,2%) em relação ao G1 (52,5%), os grupos podem ser considerados equivalentes.

2) Teste de proporção para comparação da efetividade dos protocolos isoladamente:

A comparação do total de escores zero entre os momentos antes e após para cada protocolo, pode ser observada na Tabela 1.

As comparações feitas entre os momentos em cada grupo demonstraram que ambos os protocolos aumentaram significativamente a porcentagem de escores zero ($p<0,0001$) após a instrumentação endodôntica, e que podem ser considerados efetivos.

3) Comparação dos protocolos endodônticos nos dois momentos avaliados:

Comparando todos os escores obtidos para cada grupo, nos momentos antes e após instrumentação, através do teste de Wilcoxon, foi constatada uma diferença estatisticamente significativa, demonstrando que o escore médio de ambos os protocolos foi fortemente reduzido no momento após (Tabela 1).

- G1: $t = 6,58$ ($p<0,0001$)

- G2: $t = 10,31$ ($p<0,0001$)

4) Comparação das diferenças entre os dois protocolos:

A aplicação do teste de Mann-Whitney, comparando as médias das diferenças entre os escores dos dois grupos, mostrou significância estatística indicando que o G2 (média=0,631) apresentou maior redução média nos escores que o G1 (média=0,398) ($p=0,024$).

DISCUSSÃO

De acordo com a literatura consultada, este é o primeiro estudo *in vivo* que teve por objetivo avaliar a eficácia apenas das manobras químico-mecânicas de dois protocolos endodônticos para dentes decíduos. Os poucos estudos realizados em dentes decíduos, avaliam o perfil da microbiota dos canais radiculares (4, 5, 7, 13-15), ou o efeito dos medicamentos utilizados para curativo de demora e/ou obturação (5, 7, 8, 16), ou outras técnicas endodônticas (5, 7).

Peters et al. (17) afirmaram que, embora a eliminação total dos microrganismos não possa ser alcançada pelo preparo químico-mecânico, a flora residual de microrganismos pode ser reduzida por duas sessões endodônticas. Assim, em vez de confiar em medicamentos intracanaís, um novo preparo químico-mecânico cuidadoso do canal durante uma segunda consulta é necessário para eliminar os resíduos da flora do canal.

Embora a infecção remanescente às manobras de preparo químico-mecânico possa ser eliminada e/ou controlada pelos medicamentos usados nas etapas seguintes aos protocolos endodônticos, sabe-se que quanto menos infecção permanecer após a limpeza e modelagem dos canais, maior será a efetividade desses medicamentos. Sob este aspecto, o objetivo deste estudo foi avaliar a quantidade de redução da infecção endodôntica pelos dois protocolos, no qual foi observado que o PSU foi mais eficaz na redução do conteúdo bacteriano.

Das 40 sondas utilizadas, 28 (70%) foram identificadas na primeira coleta do G1 e 35 (87,5%) do G2. Esses percentuais diminuíram na segunda coleta para 23 (57,5%) e 28 (70%), respectivamente. Ruvière et al. (13), para 34 sondas empregadas, encontraram 82,3% (28 sondas) de sinal positivo. Matoba Jr (7), das 35 sondas utilizadas, 31 (88,5%) foram positivas na primeira coleta e 13 (37,1%), na segunda.

A avaliação semi-quantitativa dos sinais de quimioluminescência, referente ao número de células bacterianas, mostrou a detecção de escores 0 a 5, corroborando o estudo de Matoba Jr (7). Entretanto, Ruvière et al. (13) encontraram escores apenas de 0 a 3. É importante ressaltar que o escore 0 não significa necessariamente a ausência de bactérias. A ausência de quimioluminescência pode significar que as bactérias se encontram em uma concentração abaixo do

método de detecção, visto que a técnica da hibridização DNA-DNA *checkerboard* identifica a partir de 10^5 células, ou que realmente estas bactérias não estavam presentes.

O preparo químico-mecânico de dentes decíduos realizado no PMS segue os mesmos princípios biológicos que regem a terapia de canais de dentes permanentes (modelagem), utilizando limas endodônticas até a numeração 35 ou 40, o que, comparado ao PSU, pode levar a um maior desgaste das paredes do canal radicular pela instrumentação, fragilizando a estrutura da raiz e aumentando o risco de perfuração. Já o PSU visa apenas à limpeza e remoção da maior quantidade possível do tecido necrosado e material contaminado do interior do canal radicular, na mesma sessão, através da utilização de apenas duas limas de maior calibre após a inicial, associada às soluções já citadas (ENDO-C-PREP, Hipoclorito de sódio 0,5% e Tergensol).

Neste estudo ficou comprovado que os dois protocolos aumentaram significativamente a proporção de escores 0 apenas com as manobras de preparo químico-mecânico do canal radicular podendo, portanto, serem considerados efetivos. Porém, o PSU apresentou uma redução significativa estatisticamente maior da contaminação (74,6%), em relação ao PMS (70,2%). Esta maior redução pode ser explicada pelas diferenças nos passos metodológicos de cada protocolo.

Em síntese, pode-se dizer que os dois protocolos avaliados diminuem para escore 0 em nível semelhante, têm capacidade equivalente de diminuição média dos escores, mas o PSU apresenta maior capacidade de diminuir o valor médio dos escores, apontado pela comparação das diferenças. Este resultado pode ter sido influenciado pela presença de escores maiores na etapa inicial, uma vez que a diminuição para escore 0 seria mais frequente no G2. Esta possibilidade deve ser estudada especificamente, uma vez que o delineamento proposto não controla totalmente este aspecto, nem foi planejado para isso.

Considerando o tempo de trabalho para a realização de um tratamento endodôntico em Odontopediatria, o PSU seria mais vantajoso frente aos passos técnicos que são simples e visam apenas à limpeza dos canais. Já o PMS é realizado em no mínimo 3 sessões e no máximo 5, envolvendo em cada uma delas anestesia, isolamento absoluto e selamento coronário provisório, o qual pode ser perdido entre uma consulta e outra, fazendo com que seja necessário a repetição de todos os procedimentos iniciais (curativo com Formocresol,

esvaziamento, irrigação e curativo intersessão). Como observado durante os procedimentos clínicos desta pesquisa, vale ressaltar também a condição comportamental do paciente, pois, apesar da consulta do PSU ter sido mais longa, em uma única sessão o paciente tornou-se mais colaborador.

Em se tratando das tomadas radiográficas, no PMS, por fazer uma instrumentação mais intensa, requer odontometria mais precisa e, por isso, são realizadas no mínimo quatro radiografias (inicial, odontometria, prova da obturação e final) podendo chegar a cinco quando se faz a prova do curativo de demora. Cabe ressaltar que, frequentemente, a tomada radiográfica de odontometria requer a sua repetição por falhas como a introdução de duas limas em um mesmo canal e/ou o corte do ápice radicular na imagem, inviabilizando a medição. No PSU, são necessárias apenas duas radiografias (inicial e final). Esta característica torna este protocolo vantajoso, frente à redução da exposição da criança à radiação e também, em algumas vezes, o seu responsável, além do comportamento mais colaborador, visto que algumas crianças sentem desconforto durante a tomada radiográfica, levando a dificuldades no condicionamento. O menor número de sessões e de tomadas radiográficas seriam também vantagens na escolha de um protocolo endodôntico para dentes decíduos a ser implementado em um serviço público de saúde.

A odontometria realizada no PMS, semelhante à executada para os dentes permanentes, porém preservando sempre o germe do dente permanente, é mais segura por ser mais criteriosa no que diz respeito à confirmação do comprimento aparente do dente (CAD) e, através dos pontos de referência, radiograficamente, fornece com maior segurança o comprimento de trabalho para exploração (CTEx) e o comprimento real do dente (CRD) bem como o comprimento adequado para obturação (9). Já a condutometria realizada no PSU, também é criteriosa devido ao germe do dente permanente, mas não fornece, com muita segurança, comprimentos adequados para o preparo químico-mecânico e a obturação, visto que se ocorrer um extravasamento apical da pasta iodoformada utilizada na obturação, poderá manchar a coroa do sucessor permanente, devido à presença do Iodofórmio em sua composição. No entanto, é relatado na literatura (8) que não há qualquer inconveniente no extravasamento apical desta pasta, principalmente quando da presença de fístula, pois o extravasamento auxilia no processo de cicatrização.

O PMS tem sido avaliado sob vários aspectos (18, 19), mas não no que diz respeito à capacidade de diminuição do conteúdo microbiano do canal. Gomes et al. (6), avaliaram microbiologicamente a eficiência do preparo químico-mecânico e dos constituintes de uma pasta iodoformada, durante os procedimentos de necropulpectomia em dentes decíduos. Culturas positivas foram observadas antes e após o preparo químico-mecânico, entretanto, a intensidade da turvação (do nível de infecção) foi forte e moderada, respectivamente. Após uma semana da presença da pasta, 48% das amostras apresentou culturas negativas e, 52% delas foi positiva, porém com leves turvações. Sob este aspecto, o nosso grupo está atualmente avaliando o efeito do curativo de demora na redução da infecção endodôntica remanescente, pelo PMS.

Pelo exposto, é confirmada a dificuldade da remoção da infecção endodôntica dos canais radiculares por meio do preparo químico-mecânico, visto que nenhum dos dois protocolos foi capaz de eliminar completamente o conteúdo microbiano. Recomendam-se mais estudos utilizando métodos de biologia molecular, na tentativa de melhor compreender a microbiota endodôntica dos dentes decíduos e, assim, estabelecer estratégias mais eficazes de combate à infecção, que proporcionem um melhor prognóstico ao tratamento endodôntico em Odontopediatria.

CONCLUSÕES

A partir dos resultados deste estudo, pode-se concluir que:

- 1) os dois protocolos de preparo químico-mecânico avaliados têm capacidade de reduzir significativamente o conteúdo séptico de canais radiculares de dentes decíduos com necrose pulpar;
- 2) as manobras químico-mecânicas do protocolo de sessão única mostraram maior capacidade de diminuir o valor médio dos escores da infecção endodôntica de canais de dentes decíduos com necrose pulpar e lesão perirradicular.

REFERÊNCIAS

1. Siqueira Jr JF, Rôças IN. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. J Endod 2008;34:1291-1301.e3.

2. Cordeiro MM, Rocha MJC. The effects of periradicular inflammation and infection on a primary tooth and permanent successor. *J Clin Pediatr Dent* 2005;29:193-200.
3. Souza CAS, Teles RP, Souto R, Chaves MAE, Colombo APV. Endodontic Therapy Associated with Calcium Hydroxide As an Intracanal Dressing: Microbiologic Evaluation by the Checkerboard DNA-DNA Hybridization Technique. *J Endod* 2005;31:79-83.
4. Silva LAB, Nelson-Filho P, Faria G, Souza-Gugelmin MCM, Ito IY. Bacterial Profile in Primary Teeth with Necrotic Pulp and Periapical Lesions. *Braz Dent J* 2006;17:144-8.
5. Faria G, Nelson-Filho P, Freitas AC, Assed S, Ito IY. Antibacterial effect of root canal preparation and calcium hydroxide paste (Calen) intracanal dressing in primary teeth with apical periodontitis. *J Appl Oral Sci* 2005;13:351-5.
6. Gomes AM, Fonseca L, Guedes-Pinto AC. Avaliação microbiológica do preparo biomecânico e de uma pasta obturadora de canais de dentes decíduos necrosados. *Rev Odontoped* 1997;5:93-101.
7. Matoba Jr F. Detecção da microbiota de canais radiculares de dentes decíduos humanos com necrose pulpar e lesão periapical pelo método *Checkerboard DNA-DNA Hybridization* e pela cultura microbiana, antes e após preparo biomecânico e uso de curativo de demora à base de hidróxido de cálcio associado à clorexidina, Ribeirão Preto: 2006. Dissertação (Mestrado em Odontopediatria) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.
8. Guedes-Pinto AC, Paiva JG, Bozzola JR. Tratamento endodôntico de dentes decíduos com polpa mortificada. *Rev Ass Paul Cirurg Dent* 1981;35:240-5.
9. Rocha MJC. Tratamento endodôntico em dentes decíduos comprometidos por cárie. In: Livro Anual do Grupo de Professores de Ortodontia e Odontopediatria: 2001. Anais. Belo Horizonte: Furmac; 2001;10:28-30.
10. Kramer PF, Faraco Jr IM, Feldens CA. Estudo atual da terapia pulpar nas universidades brasileiras – Pulpotomia e Pulpectomia em dentes decíduos. *J Bras Odontopediatr Odontol Bebe* 2000;3:222-30.

11. Brusco EHC, Perussolo B, Scapin HLC, Ferreira SLM. Procedimentos e substâncias empregados por Faculdades de Odontologia brasileiras na terapia endodôntica de dentes decíduos pulpectomizados. *J Bras Odontopediatr Odontol Bebe* 2002;5:35-46.
12. Socransky SS, Smith C, Martin L, Paster BJ, Dewhirst FE, Levin AE. "Checkerboard" DNA-DNA hybridization. *Biotechniques* 1994;17:788-92.
13. Ruviére DB, Leonardo MR, Silva LAB, Ito IY, Nelson-Filho P. Assessment of the Microbiota in Root Canals of Human Primary Teeth by Checkerboard DNA-DNA Hybridization. *J Dentist Child* 2007;74:118-23.
14. Pazelli LC, Freitas AC, Ito IY, Souza-Gugelmin MCMS, Medeiros AS, Nelson-Filho P. Prevalence of microorganisms in root canals of human deciduous teeth with necrotic pulp and chronic periapical lesions. *Pesq Odontol Bras* 2003;17:367-71.
15. Souza-Gugelmin MCM, Nelson-Filho P; Faria G, Palhares JC, Froner JC, Silva LAB, Ito IY. Determinação da microbiota de canais radiculares de dentes decíduos e permanentes portadores de necrose pulpar e lesão periapical, por meio da coloração de Gram. *Stoma* 2001;60:26-30.
16. Cerqueira DF, Mello-Moura ACV, Santos EM. Cytotoxicity, Histopathological, Microbiological and Clinical Aspects of an Endodontic Iodoform-Based Paste Used in Pediatric Dentistry: A Review. *J Clin Pediatr Dent* 2007;32:105-10.
17. Peters LB, Winkelhoff AJ, Wesselink PR. Effects of instrumentation, irrigation and dressing with calcium hydroxide on infection in pulpless teeth with periapical bone lesions. *Int Endod J* 2002;35:13-21.
18. Rocha MJC, Cordeiro MMR, Freitas SFT. Análise histopatológica de dentes decíduos traumatizados com insucesso no tratamento endodôntico. *Clín Int J Braz Dent* 2005;1:331-8.
19. Kummer TR, Calvo MC, Cordeiro MMR, Vieira RS, Rocha MJCR. Ex vivo study of manual and rotary instrumentation techniques in human primary teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008;105:e84-e92.

5.1 QUADRO

Quadro 1 – Espécies bacterianas utilizadas na confecção das sondas genômicas de DNA

Espécies bacterianas	Procedência da cepa	Fisiologia
<i>Actinomyces gerencseriae</i>	ATCC 23860	Facultativo
<i>Actinomyces israelii</i>	ATCC 12102	Facultativo
<i>Actinomyces naeslundii I</i> (NEW 9.5µl)	ATCC 12104	Facultativo
<i>Actinomyces odontolyticus I</i>	ATCC 17929	Facultativo
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> serotypes <i>a</i>	ATCC 43718	Facultativo
<i>Campylobacter gracilis</i>	ATCC 33236 (1084)	Anaeróbio
<i>Campylobacter rectus</i>	ATCC 33238 (371)	Anaeróbio
<i>Campylobacter showae</i>	ATCC 51146	Anaeróbio
<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	ATCC 33624 (27)	Facultativo
<i>Capnocytophaga ochracea</i>	ATCC 33596 (25)	Facultativo
<i>Capnocytophaga sputigena</i>	ATCC 33612 (4)	Facultativo
<i>Eikenella corrodens</i>	ATCC 23834	Facultativo
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212	Facultativo
<i>Enterococcus faecium</i>	ATCC 6569	Facultativo
<i>Enterococcus hirae</i>	ATCC 10541	Facultativo
<i>Eubacterium nodatum</i>	ATCC 33099	Anaeróbio
<i>Eubacterium saburreum</i> (NEW 1-6-99)	ATCC 33271	Anaeróbio
<i>Fusobacterium nucleatum sp. nucleatum</i>	ATCC 25586	Anaeróbio
<i>Fusobacterium nucleatum sp. polymorphum</i>	ATCC 10953	Anaeróbio
<i>Fusobacterium nucleatum sp. vincentii</i>	ATCC 49256	Anaeróbio
<i>Fusobacterium periodonticum</i>	ATCC 33693	Anaeróbio
<i>Gemella morbillorum</i>	ATCC 27824	Facultativo
<i>Neisseria mucosa</i>	ATCC 19696	Aeróbio
<i>Parvimonas micra</i>	ATCC 33270	Anaeróbio
<i>Porphyromonas endodontalis</i>	ATCC 35406	Anaeróbio
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	ATCC 33277	Anaeróbio
<i>Prevotella intermedia</i>	ATCC 25611	Anaeróbio
<i>Prevotella melaninogenica</i>	ATCC 25845	Anaeróbio
<i>Prevotella nigrescens</i>	ATCC 33563	Anaeróbio
<i>Propionibacterium acnes I</i>	ATCC 11827	Anaeróbio
<i>Selenomonas noxia</i>	ATCC 43541	Anaeróbio
<i>Streptococcus constellatus</i>	ATCC 27823 (M32b)	Facultativo
<i>Streptococcus gordonii</i>	ATCC 10558	Facultativo
<i>Streptococcus intermedius</i>	ATCC 27335	Facultativo
<i>Streptococcus mitis</i>	ATCC 49456	Facultativo
<i>Streptococcus oralis</i>	ATCC 35037	Facultativo
<i>Tannerella forsythia</i>	ATCC 43037 (338)	Anaeróbio
<i>Treponema denticola</i>	[†] B1	Anaeróbio
<i>Treponema socranskii</i> (NEW 1-6-99)	ATCC D40DR2	Anaeróbio
<i>Veillonella parvula</i>	ATCC 10790	Anaeróbio

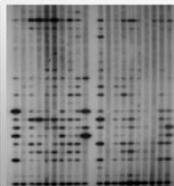
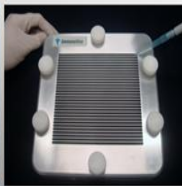
[†]Cepa B1 (Forsyth Institute, Boston, MA)

ATCC (American Type Culture Collection, Rockville, MD)

5.2 TABELA

Tabela 1 – Número de observações por escore, nos Grupos 1 e 2, nos momentos antes e após instrumentação

Escore	Antes G1		Antes G2		Após G1		Após G2	
	n	%	n	%	N	%	N	%
0	252	52,5	236	49,2	337	70,2	358	74,6
1	69	14,4	59	12,3	43	9,0	41	8,5
2	81	16,9	90	18,8	67	14,0	51	10,6
3	71	14,8	78	16,2	27	5,6	24	5,0
4	6	1,2	16	3,3	6	1,2	6	1,3
5	1	0,2	1	0,2	0	0,0	0	0,0
Total	480	100,0	480	100,0	480	100,0	480	100,0

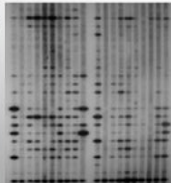
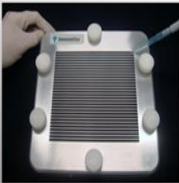


6. Conclusão Geral

6 CONCLUSÃO GERAL

A partir dos resultados deste estudo, pode-se concluir que:

- 1) nos casos de dentes decíduos com necrose pulpar e lesão perirradicular, a infecção endodôntica é polimicrobiana, com presença de microrganismos aeróbios, facultativos e anaeróbios estritos;
- 2) pela técnica de biologia molecular, *Fusobacterium nucleatum* sp. *nucleatum*, *Fusobacterium periodonticum*, *Prevotella melaninogenica*, *Prevotella nigrescens* e *Prevotella intermedia*, foram as espécies mais prevalentes;
- 3) os dois protocolos de preparo químico-mecânico avaliados têm capacidade de reduzir significativamente o conteúdo séptico de canais radiculares de dentes decíduos com necrose pulpar;
- 4) as manobras químico-mecânicas da Técnica preconizada por Guedes-Pinto (protocolo de sessão única) mostraram maior capacidade de diminuir o valor médio dos escores da infecção endodôntica de canais de dentes decíduos com necrose pulpar e lesão perirradicular. Portanto, a hipótese do presente estudo foi rejeitada.



7. Referências

7 REFERÊNCIAS

ABOU-RASS, M; BOGEN, G. Microorganisms in closed periapical lesions. **Int Endod J**, v.31, p.39-47, 1998.

ALVES, J. A; ZINET, M. P. A; GONÇALVES, E. N. Novos avanços na microbiologia endodôntica: uma breve revisão. **Rev Paul Odontol**, v.16, p.22-32, 1994.

AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRIC DENTISTRY. Guideline on pulp therapy for primary and young permanent teeth. **Pediatr Dent**, v.26, suppl.7, p.115-119, 2004.

ASSED, S. et al. E. Anaerobic microorganisms in root canals of human teeth with chronic apical periodontitis detected by indirect immunofluorescence. **Endod Dent Traumatol**, v.12, p.66-68, 1996.

BAIK, J. E. et al. Calcium Hydroxide Inactivates Lipoteichoic Acid from *Enterococcus faecalis*. **J Endod**, v.34, n.11, p.1355-1359, 2008.

BARBOSA, C. A. et al. Evaluation of the antibacterial activities of calcium hydroxide, chlorhexidine, and camphorated paramonochlorophenol as intracanal medicament. A clinical and laboratory study. **J Endod**, v.23, p.297-300, 1997.

BARROS, S. G. et al.. Contribuição ao estudo da cárie dentária em crianças de 0-30 meses. **Pesq Odontol Bras**, v.15, n.3, p.215-222, 2001.

BATTELLINO, L. J. et al. Evaluación del estado de salud bucodental em pré escolares: estudio epidemiológico longitudinal (1993-1994). **Rev Saude Publica**, v.31, n.3, p.272-281, 1997.

BÖNECKER, M; CLEATON-JONES, P. Trends in dental caries in Latin American and Caribbean 5-6 and 11-13-year-old children: a systematic review. **Community Dent Oral Epidemiol**, v.31, n.2, p.152-157, 2003.

BORGES, E. S. M. T; TOLEDO, O. A. Prevalência de cárie em crianças de 0 a 5 anos. Avaliação após 5 anos de um programa preventivo. **Rev ABO Nac**, v.7, n.5, p.298-303, 1999.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Coordenação Nacional de Saúde Bucal. **Projeto SB Brasil 2003: condições de saúde bucal da população brasileira 2002-2003: resultados principais**. Brasília, Ministério da Saúde, 2004. 68p.

BRUSCO, E. H. C. et al. Procedimentos e substâncias empregados por Faculdades de Odontologia brasileiras na terapia endodôntica de dentes decíduos pulpectomizados. **J Bras Odontopediatr Odontol Bebe**, v.5, n.23, p.35-46, 2002.

BYSTRÖM, A; CLAESSION, R; SUNDQVIST, G. The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. **Endod Dent Traumatol**, v.1, p.170-175, 1985.

BYSTRÖM, A; SUNDQVIST, G. Bacteriologic evaluation of the effect of 0.5 per cent sodium hypochlorite in endodontic therapy. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.55, p.307-312, 1983.

BYSTRÖM, A; SUNDQVIST, G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. **Scand J Dent Res**, v.89, p.321-328, 1981.

BYSTRÖM, A; SUNDQVIST, G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. **Int Endod J**, v.18, p.35-40, 1985.

CARDOSO, M. **Avaliação longitudinal dos tratamentos de dentes decíduos traumatizados realizados na Universidade Federal de Santa Catarina – Brasil**, Florianópolis: 2001. Dissertação (Mestrado em Odontologia – Área de Concentração Odontopediatria) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

CARVALHO, J. C; NIEUWENHUYSEN, J. P. V; D'HOORE, W. The decline in dental caries among Belgian children between 1983 and 1998. **Community Dent Oral Epidemiol**, v.29, n.1, p.55-61, 2001.

CERQUEIRA, D. F; MELLO-MOURA, A. C. V; SANTOS, E. M. Cytotoxicity, Histopathological, Microbiological and Clinical Aspects of an Endodontic Iodoform-Based Paste Used in Pediatric Dentistry: A Review. **J Clin Pediatr Dent**, v.32, n.2, p.105-110, 2007.

CHAVEZ DE PAZ, L. E. Redefining the persistent infection in root canals: possible role of biofilm communities. **J Endod**, v.33, p.652-662, 2007.

CHU, F. C. S. et al. Identification of Cultivable Microorganisms from Root Canals with Apical Periodontitis Following Two-Visit Endodontic Treatment with Antibiotics/Steroid or Calcium Hydroxide Dressings. **J Endod**, v.32, n.1, p.17-23, 2006.

CORDEIRO, M. M. R. **Análise histopatológica de dentes decíduos com insucesso no tratamento endodôntico efetuado utilizando o Protocolo UFSC, em função da cárie ou do traumatismo dental**, Florianópolis: 2004. Tese (Doutorado em Odontologia – Área de Concentração Odontopediatria) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

CORDEIRO, M. M. R. **Tratamento endodôntico em dentes decíduos: consequências nos dentes permanentes sucessores**, Florianópolis: 1999. Monografia (Curso de Especialização em Odontopediatria) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

DE SOUZA, C. A. S. et al. Endodontic therapy associated with calcium hydroxide as a intracanal dressing: microbiologic evaluation by the checkerboard DNA-DNA hybridization technique. **J Endod**, v.31, p.79-83, 2005.

DEUS, Q. D. **Endodontia**. 5 ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 1992.

DOWNER, M. C. The caries decline. A comment in light of the UK experience. **Eur J Oral Sci**, v.104, p.433-435, 1996.

DRUCKER, D. B; GOMES, B. P. F. A; LILLEY, J. D. Role of anaerobic species in endodontic infection. **Clin Infect Dis**, v.25, suppl.2, p.220-221, 1997.

DUGGAN, J. M; SEDGLEY, C. M. Biofilm formation of oral and endodontic *Enterococcus faecalis*. **J Endod**, v.33, p.815-818, 2007.

ESTRELA, C. et al. Mechanism of action of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria. **Braz Dent J**, v.6, p.85-90, 1995.

FARACO JR, I. M; PERCINOTO, C. Avaliação de duas técnicas de pulpectomia em dentes decíduos. **Rev Assoc Paul Cir Dent**, v.52, p.400-404, 1998.

FARIA, G. **Prevalência de microorganismos em canais radiculares de dentes decíduos de humanos portadores de necrose pulpar e lesão periapical. Efeito de preparo biomecânico e do curativo de demora à base de hidróxido de cálcio**, Ribeirão Preto: 2001. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia da USP.

FARIA, G. et al. Antibacterial effect of root canal preparation and calcium hydroxide paste (Calen) intracanal dressing in primary teeth with apical periodontitis. **J Appl Oral Sci**, v.13, n.4, p.351-355, 2005.

FOUAD, A. F. et al. PCR-based identification of bacteria associated with endodontic infections. **J Clin Microbiol**, v.40, n.9, p.3223-3231, 2002.

FUKS, A. B. Pulp therapy for the primary and Young permanent dentitions. **Dent Clin North Am**, v.44, n.3, p.571-596, 2000.

GATTI, J. J. et al. Bacteria of asymptomatic periradicular endodontic lesions identified by DNA-DNA hybridization. **Endod Dent Traumatol**, v.16, p.197-204, 2000.

GODOY, V. L. **Distribuição de bactérias planctônicas, colônias bacterianas e biofilmes microbianos em dentes decíduos com pulpite**

e/ou necrose pulpar, Bauru: 1999. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia da USP.

GOMES, A. M; FONSECA, L; GUEDES-PINTO, A. C. Avaliação microbiológica do preparo biomecânico e de uma pasta obturadora de canais de dentes decíduos necrosados. **Rev Odontoped**, v.5, n.3, p.93-101, 1997.

GOMES, B. P. F. A; DRUCKER, D. B; LILLEY, J. D. Association of endodontic signs and symptoms with particular combinations of specific bacteria. **Int Endod J**, v.29, p.69-75, 1996. (a)

GOMES, B. P. F. A; DRUCKER, D. B; LILLEY, J. D. Association of specific bacteria with some endodontic signs and symptoms. **Int Endod J**, v.27, p.291-298, 1994.

GOMES, B. P. F. A; DRUCKER, D. B; LILLEY, J. D. Endodontic microflora of different teeth in the same mouth. **Anaerobe**, v.5, p. 241-245, 1999.

GOMES, B. P. F. A; DRUCKER, D. B; LILLEY, J. D. Variations in the susceptibilities of components of the endodontic microflora to biomechanical procedures. **Int Endod J**, v.29, p.235-241, 1996. (b)

GOMES, B. P. F. A. et al. Molecular analysis of *Filifactor alocis*, *Tannerella forsythia* and *Treponema denticola* associated with primary endodontic infections and failed endodontic treatment. **J Endod**, v.32, p.937-940, 2006.

GOMES, B. P. F. A. et al. *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas endodontalis*, *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens* in endodontic lesions detected by culture and by PCR. **Oral Microbiol Immunol**, v.20, p.211-215, 2005.

GOMES, B. P. F. A; LILLEY, J. D; DRUCKER, D. B. Clinical significance of dental root canal microflora. **J Dent**, v.24, p.47-55, 1996. (c)

GOMES, B. P. F. A. et al. Microbiological examination of infected dental root canals. **Oral Microbiol Immunol**, v.19, p.71-76, 2004.

GOMES, B. P. F. A. et al. Microbial Analysis of Canals of Root-filled Teeth with Periapical Lesions Using Polymerase Chain Reaction. **J Endod**, v.34, n.5, p.537-540, 2008.

GUEDES-PINTO, A. C. **Odontopediatria**. 7 ed. São Paulo: Santos, 2006. cap. 31. p. 553-573.

GUEDES-PINTO, A. C; PAIVA, J. G; BOZZOLA, J. R. Tratamento endodôntico de dentes decíduos com polpa mortificada. **Rev Ass Paul Cirurg Dent**, v.35, n.3, p.240-245, 1981.

HABIBIAN, M. et al. Dietary habits and dental health over the first 18 months of life. **Community Dent Oral Epidemiol**, v.29, n.4, p.239-246, 2001.

HAFFAJEE, A. D. et al. Clinical and microbiological features of subjects with adult periodontitis who responded poorly to scaling and root planning. **J Clin Periodontol**, v.24, p.767-776, 1997. (a)

HAFFAJEE, A. D. et al. The effect of SRP on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases. **J Clin Periodontol**, v.24, p.324-334, 1997. (b)

HAFFAJEE, A. D; SOCRANSKY, S. S. Microbial etiologic agents of destructive periodontal diseases. **Periodontology** 2000, v.5, p.78-111, 1994.

HASHIOKA, K. et al. The relationship between clinical symptoms and anaerobic bacteria from infected root canal. **J Endod**, v.18, p.558-561, 1992.

JACINTO, R. C. et al. Microbiological analysis of infected root canals from symptomatic and asymptomatic teeth with periapical periodontitis and the antimicrobial susceptibility of some isolated anaerobic bacteria. **Oral Microbiol Immunol**, v.18, p.285-292, 2003.

JACINTO, R. C. et al. Frequency, Microbial Interactions, and Antimicrobial Susceptibility of *Fusobacterium nucleatum* and *Fusobacterium necrophorum* Isolated from Primary Endodontic Infections. **J Endod**, v.34, n.12, p.1451-1456, 2008.

JUNG, I. Y. et al. Identification of oral *Spirochetes* at the species level and their association with other bacteria in endodontic infections. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.92, p.329-334, 2001.

JUNG, I. Y. et al. Molecular epidemiology and association of putative pathogens in root canal infection. **J Endod**, v.26, n.10, p.599-604, 2000.

KRAMER, P. F; FARACO JUNIOR, I. M; FELDENS, C. A. Estudo atual da terapia pulpar nas universidades brasileiras – Pulpotomia e Pulpectomia em dentes decíduos. **J Bras Odontopediatr Odontol Bebe**, v.3, n.13, p.222-230, 2000.

KUMMER, T. R. et al. Ex vivo study of manual and rotary instrumentation techniques in human primary teeth. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.105, n.4, p.e84-e92, 2008.

LALLOO, R; MYBURGH, N. G; HOBDELL, M. H. Dental caries, socio-economic development and national oral health policies. **Int Dent J**, v.49, n.4, p.196-202, 1999.

LE GOFF, A. et al. Evaluation of root canal bacteria and their antimicrobial susceptibility in teeth with necrotic pulp. **Oral Microbiol Immunol**, v.12, p.318-322, 1997.

LEONARDO, M. R. Endodontia. Tratamento de canais radiculares: Evolução através da história. In: LEONARDO, M. R; LEAL, J. M. **Endodontia: tratamento de canais radiculares**. 3 ed. São Paulo: Panamericana, 1998.

LEONARDO, M. R. et al. EM evaluation of bacterial biofilm and microorganisms on the apical external root surface of human teeth. **J Endod**, v.28, p.815-818, 2002.

LYONS, S. R; GRIFFEN, A. L; LEYS, E. J. Quantitative Real Time PCR for *Porphyromonas gingivalis* and total bacteria. **J Clin Microbiol**, v.38, p.2362-2365, 2000.

MATOBA JR, F. **Detecção da microbiota de canais radiculares de dentes decíduos humanos com necrose pulpar e lesão periapical pelo método Checkerboard DNA-DNA Hybridization e pela cultura microbiana, antes e após preparo biomecânico e uso de curativo de demora à base de hidróxido de cálcio associado à clorexidina**, Ribeirão Preto: 2006. Dissertação (Mestrado em Odontopediatria) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

MEDEIROS, U. V; WEYNE, S. C. A doença cárie dentária no Brasil e no mundo. **UFES Rev Odontol**, v.3, n.1, p.88-95, 2001.

MELLO-MOURA, A. C. V; CERQUEIRA, D. F; SANTOS, E. M. Pasta Guedes-Pinto – Revisão de literatura: 26 anos de estudos citotóxicos, histopatológicos, microbiológicos e clínicos. **RPG Rev Pos Grad**, v.14, n.3, p.264-270, 2007.

MENEZES, J. V. N. B. **Estudo “in vitro” do grau de fidelidade de técnicas de odontometria em molares decíduos**, Florianópolis: 1999. Dissertação (Mestrado em Odontologia – Área de Concentração Odontopediatria) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

MOLANDER, A. et al. A protocol for polymerase chain reaction detection of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* from the root canal. **Int Endod J**, v.35, p.1-6, 2002.

MÖLLER, A. J. R. Microbiological examination of root canals and periapical tissues of human teeth: methodological studies. **Odontol Tidskr**, v.74, p.1-380, 1996.

MOORE, W. E; MOORE, L. V. The bacteria of periodontal diseases. **Periodontology** 2000, v.5, p.66-77, 1994.

MORAES, S. R. et al. Comparison of the effectiveness of bacterial culture, 16S rDNA directed polymerase chain reaction, and checkerboard DNA-DNA hybridization for detection of *Fusobacterium nucleatum* in endodontic infections. **J Endod**, v.28, n.2, p.86-89, 2002.

MULLIS, K. et al. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. **Cold Spring Harb Symp Quant Biol**, 51 Pt, v.1, p.263-273, 1986.

MUNSON, M. A. et al. Molecular and Cultural Analysis of the Microflora Associated with Endodontic Infections. **J Dent Res**, v.81, n.11, p.761-766, 2002.

NADANOVSKY, P. O declínio da cárie. In: PINTO, V. G. **Saúde bucal coletiva**. São Paulo: Santos, 2000. p.341-351.

NAIR, P. N. R. et al. 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**, v.99, p.231-252, 2005.

NICOLOSI, L. B. **Avaliação longitudinal dos sucessos e insucessos dos tratamentos endodônticos de dentes decíduos, realizados pela técnica UFSC**, Florianópolis: 2002. Dissertação (Mestrado em Odontologia – Área de Concentração Odontopediatria) - Mestrado Acadêmico Fora de Sede. UNIVILLE, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

NISHI, M. et al. Caries experience of some countries and areas expressed by the Significant Caries Index. **Community Dent Oral Epidemiol**, v.30, n.4, p.96-301, 2002.

ONÇAG, O. et al. Comparison of antibacterial and toxic effects of various root canal irrigants. **Int Endod J**, v.36, p.423-432, 2003.

ØRSTAVIK, D. KEREEKES, K; MOLVEN, O. Effects of extensive apical reaming and calcium hydroxide dressing on bacterial infection during treatment of apical periodontitis: a pilot study. **Int Endod J**, v.14, p.1-7, 1991.

PAZELLI, L. C. et al. Prevalence of microorganisms in root canals of human deciduous teeth with necrotic pulp and chronic periapical lesions. **Pesq Odontol Bras**, v.17, n.4, p.367-371, 2003.

PECIULIENE, V. et al. Isolation of *Enterococcus faecalis* in previously root-filled canals in a Lithuanian population. **J Endod**, v.26, p.593-595, 2000.

PEREIRA, M. B. B; FREIRE, M. C. M. Um programa de saúde bucal para bebês em Goiânia-Go: resultados após 3 anos. **Braz Oral Res**, v.18, n.1, p.12-17, 2004.

PETERS, L. B. et al. Viable bacteria in root dentinal tubules of teeth with apical periodontitis. **J Endod**, v.27, p.76-81, 2001.

PETERS, L. B; WESSELINK, P. R; MOORER, W. R. The fate and the role of bacteria left in root dentinal tubules. **Int Endod J**, v.28, p.95-99, 1995.

PETERS, L. B; WINKELHOFF, A. J; WESSELINK, P. R. Effects of instrumentation, irrigation and dressing with calcium hydroxide on infection in pulpless teeth with periapical bone lesions. **Int Endod J**, v.35, p.13-21, 2002.

PINHEIRO, E. T. et al. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. **Int Endod J**, v.36, p.1-11, 2003.

PINTO, V. G. Epidemiologia das doenças bucais no Brasil. In: KRIGER, L. **ABOPREV: Promoção de saúde bucal**. 3 ed. São Paulo: Artes Médicas, 2003. p. 25-42.

RESENDE, G. B; ROCHA, M. J. C. **Análise in vitro das zonas de perigo no preparo biomecânico de canais radiculares de dentes decíduos**, Florianópolis: 2001. Dissertação (Mestrado em Odontologia – Área de Concentração Odontopediatria) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

RIBEIRO, R. A; CORRÊA, M. S. N. P; COSTA, L. R. R. S. Tratamento pulpar de dentes decíduos. In: CORRÊA, M. S. N. P.

Odontopediatria na primeira infância. São Paulo: Santos, 1998. p. 473-495.

RÔÇAS, I. N; HULSMANN, M; SIQUEIRA JR, J. F. Microorganisms in root canal-treated teeth from a German population. **J Endod**, v.34, p.926-931, 2008.

RÔÇAS, I. N; SIQUEIRA JR, J. F. Identification of Bacteria Enduring Endodontic Treatment Procedures by a Combined Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction and Reverse-Capture Checkerboard Approach. **J Endod**, v.36, n.1, p.45-52, 2010.

RÔÇAS, I. N. et al. Oral treponemes in primary root canal infections as detected by nested PCR. **Int Endod J**, v.36, p.20-26, 2003.

ROCHA, M. J. C. Tratamento endodôntico em dentes decíduos comprometidos por cárie. In: Livro Anual do Grupo de Professores de Ortodontia e Odontopediatria: 2001. Anais. Belo Horizonte: Fumac; 2001. v.10. p.28-30.

RUVIÉRE, D. B. **Biologia molecular: Utilização da técnica checkerboard DNA-DNA hybridization para a identificação da microbiota de canais radiculares de dentes decíduos, em humanos**, Ribeirão Preto: 2005. Dissertação (Mestrado em Odontologia – Área de Concentração Odontopediatria) - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

RUVIÉRE, D. B. et al. Assessment of the Microbiota in Root Canals of Human Primary Teeth by Checkerboard DNA-DNA Hybridization. **J Dentist Child**, v.74, n.2, p.118-123, 2007.

SAITO, D. et al. Identification of bacteria in endodontic infections by sequence analysis of 16S rDNA clone libraries. **J Med Microbiol**, v.55, p.101-107, 2006.

SAKAMOTO, M. et al. Molecular analysis of bacteria in asymptomatic and symptomatic endodontic infections. **Oral Microbiol Immunol**, v.21, p.112-122, 2006.

SASSONE, L. M. et al. A Microbiological Profile of Symptomatic Teeth With Primary Endodontic Infections. **J Endod**, v.34, n.5, p.541-545, 2008.

SASSONE, L. et al. Evaluation of the microbiota of primary endodontic infections using *checkerboard DNA-DNA hybridization*. **Oral Microbiol Immunol**, v.22, p.390-397, 2007.

SCHRAMM, D. R. **Análise “in vitro” do tempo de permanência de pastas e cimentos obturadores em dentes decíduos (Parte II)**, Florianópolis: 2001. Bolsa PIBIC/CNPq - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

SEDGLEY, C. et al. Real-time quantitative polymerase chain reaction and culture analyses of *Enterococcus faecalis* in root canals. **J Endod**, v.32, p.173-177, 2006.

SHOVELTON, D. S. The presence and distribution of microorganisms within non-vital teeth. **Br Dent J**, v.117, p.101-107, 1964.

SHUPING, G. B. et al. Reduction of intracanal bacteria using nickel-titanium rotary instrumentation and various medications. **J Endod**, v.26, p.751-755, 2000.

SILVA, L. A. B. et al. Bacterial Profile in Primary Teeth with Necrotic Pulp and Periapical Lesions. **Braz Dent J**, v.17, n.2, p.144-148, 2006.

SIQUEIRA JR, J. F. Endodontic infections: concepts, paradigms and perspectives. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.94, p.281-293, 2002.

SIQUEIRA JR, J. F; RÔÇAS, I. N. Detection of *Filifactor alocis* in endodontic infections associated with different forms of periradicular diseases. **Oral Microbiol Immunol**, v.18, p.263-265, 2003. (a)

SIQUEIRA JR, J. F; RÔÇAS, I. N. Exploiting molecular methods to explore endodontic infections: part 1-current molecular technologies for microbial diagnosis. **J Endod**, v.31, p.411-423, 2005.

SIQUEIRA JR, J. F; RÔÇAS, I. N. *Treponema socranskii* in primary endodontic infections as detected by Nested PCR. **J Endod**, v.29, p.244-247, 2003. (b)

SIQUEIRA JR, J. F. et al. Selected endodontic pathogens in the apical third of infected root canals: a molecular investigation. **J Endod**, v.30, p.638-643, 2004.

SIQUEIRA JR, J. F. et al. Comparison of 16S rDNAbased PCR and checkerboard DNA-DNA hybridization for detection of selected endodontic pathogens. **J Med Microbiol**, v.51, p.1090-1096, 2002.

SIQUEIRA JR, J. F. et al. Polymerase chain reaction detection of *Treponema denticola* in endodontic infections within root canal. **Int Endod J**, v.34, p.280-284, 2001.

SIQUEIRA JR, J. F. et al. Checkerboard DNA-DNA hybridization analysis of endodontic infections. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.89, p.744-748, 2000.

SJÖGREN, U. et al. Factors affecting the long-term results of endodontic treatment. **J Endod**, v.16, p.498-504, 1990.

SLAVKIN, H. C. Streptococcus mutans, early childhood caries and new opportunities. **J Am Dent Assoc**, v.130, p.1787-1792, 1999.

SOCRANSKY, S. S. et al. Use of checkerboard DNA-DNA hybridization to study complex microbial ecosystems. **Oral Microbiol Immunol**, v.19, n.6, p.352-362, 2004.

SOCRANSKY, S. S. et al. "Checkerboard" DNA-DNA hybridization. **Biotechniques**, v.17, p.788-92, 1994.

SOUZA, C. A. S. et al. Endodontic Therapy Associated with Calcium Hydroxide As an Intracanal Dressing: Microbiologic Evaluation by the Checkerboard DNA-DNA Hybridization Technique. **J Endod**, v.31, n.2, p.79-83, 2005.

SOUZA-GUGELMIM, M. C. M. et al. Determinação da microbiota de canais radiculares de dentes decíduos e permanentes portadores de necrose pulpar e lesão periapical, por meio da coloração de Gram. **Stoma**, v.60, p.26-30, 2001.

SRINIVASAN, V; PATCHETT, C. L; WATERHOUSE, P. J. Is there life after Buckley's Formocresol? Part I – A narrative review of alternative interventions and materials. **Int J Pediatr Dent**, v.16, n.2, p.117-127, 2006.

SUNDE, P. T. et al. Assessment of periradicular microbiota DNA-DNA hybridization. **Endod Dent Traumatol**, v.16, p.191-196, 2000.

SUNDQVIST, G. Associations between microbial species in dental root canals infections. **Oral Microbiol Immunol**, v.7, p.257-262, 1992. (a)

SUNDQVIST, G. Ecology of the root canal flora. **J Endod**, v.18, n.9, p.427-430, 1992. (b)

SUNDQVIST, G. Taxonomy, ecology, and pathogenicity of the root canal flora. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.78, p.522-530, 1994.

SUNDQVIST, G; JOHANSON, E; SJÖGREN, U. Prevalence of black-pigmented *Bacteroides* species in root canal infection. **J Endod**, v.15, p.13-19, 1989.

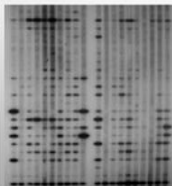
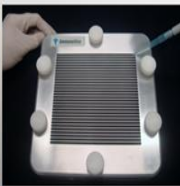
TRONSTAD, L. Recent development in endodontic research. **Scand J Dent Res**, v.100, p.52-59, 1992.

WEINSTEIN, P; HARRISON, R; BENTON, T. Motivating mothers to prevent caries: confirming the beneficial effect of counseling. **J Am Dent Assoc**, v.137, n.6, p.789-793, 2006.

WHO Oral Health Country / Area Profile Programme [web site] (<http://www.whocollab.od.mah.se/sicdata.html>, accessed 20 march 2010).

YOSHIDA, M. et al. Correlation between clinical symptoms and microorganisms isolated from root canals with periapical pathosis. **J Endod**, v.13, p.24-28, 1987.

ZAMBON, J. J; HARASZTHY, V. I. The laboratory diagnosis of periodontal infections. **Periodontol 2000**, v.7, p.69-82, 1995.



8. Apêndices

8.1 APÊNDICE A – Metodologia expandida

Considerações éticas

O projeto de pesquisa foi encaminhado para análise pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina, o qual foi aprovado sob o número 096/09 FR 255814 (Apêndice B).

A pesquisa desenvolvida é inerente ao procedimento realizado nos sujeitos envolvidos, tendo em vista tratar-se de coleta de amostras dos canais radiculares, em que os dentes não foram extraídos para serem objetos da pesquisa, cuja participação foi voluntária.

Após a conclusão do tratamento, os pacientes foram inseridos em um programa de acompanhamento clínico e radiográfico periódico, e caso seja apresentado qualquer sinal de insucesso, visto que existe uma taxa de insucesso considerada dentro do esperado para ambas as técnicas utilizadas, foi garantido aos pacientes um tratamento adicional, quando necessário.

Além de a criança receber o tratamento endodôntico necessário de acordo com a indicação e existir uma possibilidade de redução do tempo de trabalho para este tipo de procedimento em Odontopediatria, visto que a Técnica UFSC é realizada no mínimo em 3 sessões, e a Técnica preconizada por Guedes-Pinto é realizada em uma única sessão, os benefícios advindos desta pesquisa poderão ser medidos em um futuro próximo. Os resultados alcançados servirão de referência para outros trabalhos na área de Odontologia, permitindo conhecimentos elementares sobre a microbiota endodôntica de dentes decíduos com necrose pulpar associada à lesão perirradicular, ressaltando a importância dos cuidados e do tratamento endodôntico desses dentes, evitando consequências indesejáveis sobre os tecidos vizinhos e possíveis sequelas nos dentes permanentes sucessores.

Seleção da amostra

Foram estudados 24 canais de dentes decíduos, de 8 crianças atendidas na Clínica de Odontopediatria da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brasil, durante o ano de 2009. Os 24 canais foram aleatoriamente divididos em 2 grupos, de 12 canais cada (Grupo 1, instrumentado pela Técnica UFSC – Anexo A; e Grupo 2, instrumentado pela Técnica preconizada por Guedes-Pinto – Anexo B).

Para serem incluídas na amostra, as crianças não poderiam apresentar doenças ou comprometimentos sistêmicos, ou terem feito uso de antibiótico e/ou antimicrobiano no último mês. O dente decíduo anterior e/ou posterior, superior e/ou inferior, deveria estar comprometido por cárie e ter o seu envolvimento pulpar devido ao avanço desta lesão, apresentando necrose pulpar com lesão perirradicular, com presença ou ausência de fístula. O dente deveria apresentar no mínimo 1/3 de raiz remanescente, com indicação de tratamento endodôntico e condições de ser isolado e restaurado adequadamente. Todos os pais e/ou responsáveis pelo paciente deveriam concordar em participar do estudo e assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice C).

Foram excluídos os pacientes que seus pais e/ou responsáveis não concordaram em participar da pesquisa; possuíam algum comprometimento sistêmico ou estavam fazendo uso de antibiótico e/ou antimicrobiano; possuíam dentes decíduos anteriores e/ou posteriores, superiores e/ou inferiores, comprometidos endodonticamente, porém, sem indicação de tratamento endodôntico; possuíam dentes decíduos com menos de 1/3 de raiz remanescente; possuíam dentes decíduos com indicação endodôntica, porém, sem condições de serem isolados ou restaurados adequadamente. Foram excluídos os dentes decíduos com vitalidade pulpar, dentes decíduos traumatizados e dentes decíduos com reabsorção interna.

Coleta de dados

Informações relativas aos pacientes e seus dentes foram coletadas em fichas desenvolvidas especificamente para este fim (Apêndice D). As informações referentes ao paciente foram a data de nascimento, o gênero e a data da coleta dos dados.

Quando ao dente a ser tratado, do ponto de vista do exame clínico, foi registrado o número do elemento, número de faces envolvidas pelo processo carioso, presença de restauração, presença de comunicação da cavidade pulpar com o ambiente bucal, presença de abscesso e/ou fístula, presença de mobilidade aumentada não relacionada ao processo esfoliativo, relato de dor ou sensibilidade nesse dente na semana da consulta. Foi registrado também o número e a localização dos canais radiculares encontrados no dente, bem como qualquer situação considerada relevante.

Do ponto de vista radiográfico, as informações foram: presença ou não de lesão perirradicular, presença e quantidade de reabsorção radicular, características da reabsorção radicular (fisiológica ou patológica, simétrica ou assimétrica), posição do germe do dente permanente em relação às raízes do decíduo (sobreposto, tangenciando ou afastado das raízes).

Foram registradas também todas as informações relacionadas ao tratamento endodôntico a ser executado, principalmente comprimento aparente do dente à radiografia inicial, comprimento real do dente e comprimento de trabalho para exploração.

Tratamento endodôntico e Momentos da coleta da amostra

Todas as etapas do tratamento endodôntico foram realizadas por um único operador calibrado.

Grupos 1 e 2 (Técnicas UFSC e preconizada por Guedes-Pinto)

Após a seleção do caso, diagnóstico (Fig. 1A-B) e anestesia, a antisepsia da cavidade bucal foi feita através de bochecho com 5ml de Digluconato de Clorexidina 0,12% (Inodon[®] Laboratório, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil) por 1 minuto (Fig. 1C-D). O isolamento absoluto do dente em questão foi então realizado com dique de borracha (Fig. 1E) e a desinfecção da superfície do dente e das áreas circundantes foi realizada duas vezes com um aplicador de algodão embebido em Digluconato de Clorexidina 1% (Dermus[®] Manipulação, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil) permanecendo nestas superfícies por 3 minutos (Fig. 1F-G). Após remoção do tecido cariado com curetas e brocas esféricas em baixa-rotação, o acesso completo à câmara pulpar e ao canal radicular foi obtido com broca esférica diamantada (KG Sorensen[®] Indústria e Comércio Ltda., Barueri, São Paulo, Brasil) de número 2 (Fig. 1H-I) e broca Endo-Z (Maillefer[®], Dentsply[®] International, York, Pennsylvania, United States) (Fig. 1J-K) esterilizadas, em alta-rotação, sob refrigeração de água e ar, obedecendo a todos os princípios que regem a abertura endodôntica de dentes decíduos. As manobras de desinfecção e descontaminação já citadas foram repetidas (Fig. 2A).

Grupo 1 (Técnica UFSC):

A PRIMEIRA amostra microbiana do canal radicular foi coletada, no comprimento aparente do dente (Fig. 2B-C) à radiografia inicial, antes do preparo químico-mecânico pela Técnica UFSC (Anexo A) (ROCHA, 2001), após o que o curativo de demora com Formocresol (Biodinâmica[®] Química e Farmacêutica Ltda., Ibiporã, Paraná, Brasil) (Fig. 2D-E) diluído 1:5 seguido de restauração provisória com Cimento de Ionômero de Vidro (Vidrion R – SS White[®], Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil) (Fig. 2F-G) foram realizados.

Na consulta do preparo químico-mecânico, após anestesia, antisepsia, isolamento absoluto, desinfecção (como já citados) (Fig. 3A) e odontometria (Fig. 3B-C), o canal radicular foi acessado e, então, preparado, utilizando limas endodônticas manuais Flexo-File de 21mm (Maillefer[®], Dentsply[®] International, York, Pennsylvania, United States) de calibres compatíveis ao canal (Fig. 3D-F), com irrigação de hipoclorito de sódio 1% (Solução de Milton – Cloro Rio[®], Rioquímica Indústria Farmacêutica, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil) (Fig. 3G-H), seguindo o Protocolo UFSC. As limas foram trocadas sempre que era observada alteração na sua configuração estrutural ou a cada 6 canais modelados.

Em seguida, o canal foi seco com pontas de papel estéril (Tanari[®] Indústria Ltda., Manaus, Amazonas, Brasil) (Fig. 3I), e uma SEGUNDA amostra microbiana do canal radicular foi tomada, no comprimento de trabalho (Fig. 3J-K). O canal foi posteriormente preenchido com o curativo de demora de hidróxido de cálcio (Biodinâmica[®] Química e Farmacêutica Ltda., Ibiporã, Paraná, Brasil) e propilenoglicol (Dermus[®] Manipulação, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil) (Fig. 4A-B), na proporção 2:1 (Fig. 4C), em uma consistência cremosa (massa) (Fig. 4D) por meio de uma Lentulo (Maillefer[®], Dentsply[®] International, York, Pennsylvania, United States) e/ou limas endodônticas manuais (Maillefer[®], Dentsply[®] International, York, Pennsylvania, United States) (Fig. 4E-G).

As cavidades coronárias foram seladas provisoriamente com Cimento de Ionômero de Vidro (Vidrion R – SS White[®], Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil) e, em todos os casos, a pasta de hidróxido de cálcio foi deixada no canal como curativo por 14 dias.

Na sessão de obturação, após anestesia, antisepsia, isolamento absoluto, desinfecção (como previamente descrito), acesso ao canal radicular (Fig. 5A), remoção do curativo de demora (Fig. 5B-C) e

secagem (Fig. 5D-E), foi feita a obturação do canal pela Técnica UFSC, com cimento de óxido de zinco e eugenol (Inodon[®] Laboratório, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil) (Fig. 5F-K), e a restauração provisória com Cimento de Ionômero de Vidro (Vidrion R – SS White[®], Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil) (Fig. 5L).

A restauração definitiva com Resina Composta foi realizada em uma próxima sessão (Fig. 5M).

Grupo 2 (Técnica preconizada por Guedes-Pinto):

A PRIMEIRA amostra microbiana do canal radicular foi coletada, no comprimento aparente do dente (Fig. 6A-C) à radiografia inicial, antes do preparo químico-mecânico pela Técnica preconizada por Guedes-Pinto (Anexo B) (GUEDES-PINTO et al., 1981).

O canal radicular foi acessado e, então, preparado, utilizando limas endodônticas manuais Flexo-File de 21mm (Maillefer[®], Dentsply[®] International, York, Pennsylvania, United States) de calibres compatíveis (Fig. 6D-G), associadas ao ENDO-C-PREP (Inodon[®] Laboratório, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil) e irrigação com Líquido de Dakin (Biodinâmica[®] Química e Farmacêutica Ltda., Iporã, Paraná, Brasil) (Fig. 6H-J), seguindo o Protocolo preconizado por Guedes-Pinto. As limas foram trocadas sempre que era observada alteração na sua configuração estrutural ou a cada 6 canais saneados.

Em seguida, o canal foi seco com pontas de papel estéril (Tanari[®] Indústria Ltda., Manaus, Amazonas, Brasil) (Fig. 7A), e a SEGUNDA amostra microbiana do canal radicular foi tomada, no comprimento de trabalho (Fig. 7B-C). O canal foi posteriormente obturado com Pasta Guedes-Pinto (Iodofórmio - Biodinâmica[®] Química e Farmacêutica Ltda., Iporã, Paraná, Brasil; Paramonoclorofenol canforado - Biodinâmica[®] Química e Farmacêutica Ltda., Iporã, Paraná, Brasil; e Rifocort - Medley[®] S.A. Indústria Farmacêutica, Campinas, São Paulo, Brasil) (Fig. 7D), na proporção 1:1:1 (Fig. 7E), em uma consistência cremosa e coloração homogênea (Fig. 7F) por meio de uma Lentulo (Maillefer[®], Dentsply[®] International, York, Pennsylvania, United States) e/ou limas endodônticas manuais (Maillefer[®], Dentsply[®] International, York, Pennsylvania, United States) (Fig. 7G-I).

As cavidades coronárias foram seladas provisoriamente com Cimento de Ionômero de Vidro (Vidrion R – SS White[®], Rio de Janeiro,

Rio de Janeiro, Brasil) (Fig. 7J-K) e a restauração definitiva com Resina Composta foi realizada em uma próxima sessão (Fig. 7L).

Coleta e Preparo da amostra

As amostras microbianas foram obtidas a partir de canais radiculares utilizando uma estrita assepsia no procedimento descrito anteriormente.

As amostras foram coletadas com uma pinça clínica estéril, através de três pontas de papel absorvente estéreis de calibre 15 (Tanari[®] Indústria Ltda., Manaus, Amazonas, Brasil), absorvendo o “líquido” do canal por 1 minuto (Fig. 8A), em dois momentos: a primeira, introduzindo-o no comprimento aparente do dente, antes do preparo químico-mecânico pela Técnica UFSC (ROCHA, 2001) e antes do preparo químico-mecânico pela Técnica preconizada por Guedes-Pinto (GUEDES-PINTO et al., 1981), e um discreto movimento foi aplicado; a segunda, introduzindo-o no comprimento de trabalho, após o preparo químico-mecânico pela Técnica UFSC e após o preparo químico-mecânico pela Técnica preconizada por Guedes-Pinto, e um discreto movimento foi aplicado.

A primeira amostra teve como objetivo avaliar o perfil microbiano inicial dos canais dos dentes decíduos. A segunda amostra teve como objetivo a identificação, contagem e percentual dos microrganismos remanescentes, após o preparo químico-mecânico, para ambos os protocolos.

A avaliação foi realizada através da técnica de biologia molecular denominada hibridização DNA-DNA *checkerboard*, onde sondas de DNA foram utilizadas para a identificação de 40 bactérias associadas à contaminação de canais radiculares portadores de necrose pulpar (Quadro 1).

Todas as pontas de papel foram retiradas do interior do canal radicular e imediatamente transferidas para *Eppendorfs* (Eppendorf[®], Eppendorf do Brasil, São Paulo, São Paulo, Brasil) contendo 150µl de solução tampão TE (0,394g Trizma base; 0,093g EDTA 1mM; 250ml água destilada; pH 7.6; autoclavada) (Fig. 8B) para identificação microbiana pela técnica da hibridização DNA-DNA *checkerboard*. A seguir, com o auxílio de uma pipeta automática (Eppendorf[®], Eppendorf do Brasil, São Paulo, São Paulo, Brasil), foram adicionados 100µl de NaOH 0,5M (0,1g NaOH; 5ml água destilada; para cada amostra) (Fig. 8C) para lise das células, seguido por agitação mecânica vigorosa

(Agitador Vortex QL-901, Biomixer[®], Labmais Comércio de Equipamentos Ltda., Curitiba, Paraná, Brasil) (Fig. 8D) a fim de suspender o sedimento.

Três pontas de papel absorvente estéreis de calibre 15 (Tanari[®] Indústria Ltda., Manaus, Amazonas, Brasil) foram coletadas como controle da esterilidade das mesmas.

Os *Eppendorfs* contendo as amostras foram individualmente identificados (Fig. 8E), armazenados em freezer a -80°C (Fig. 8F-G) e transportados para o Laboratório de Pesquisa em Odontologia – Microbiologia, Imunologia e Biologia Molecular da Universidade Guarulhos (Guarulhos, São Paulo, Brasil), para processamento e análise molecular.

Método de processamento e Avaliação microbiológica

Extração do DNA

Como descrito por Socransky et al. (1994) e modificado por Haffajee et al. (1997a,b), as amostras foram descongeladas em meio ambiente (Fig. 8H), agitadas no agitador de tubos (Agitador Vortex QL-901, Biomixer[®], Labmais Comércio de Equipamentos Ltda., Curitiba, Paraná, Brasil), e em seguida, centrifugadas (12.000 RPM – Centrifuge 5804 R, Eppendorf[®], Eppendorf do Brasil, São Paulo, São Paulo, Brasil) durante 5 minutos (Fig. 8I). As pontas de papel absorvente foram então retiradas dos tubos e as suspensões foram fervidas em banho-maria por 5-10 minutos, para separar as duas fitas de DNA. Após a fervura, as suspensões foram neutralizadas com a adição de 800µl de Acetato de Amônia 5M (38,5g em 100ml de água destilada esterilizada) (Fig. 9A) e novamente agitadas (Agitador Vortex QL-901, Biomixer[®], Labmais Comércio de Equipamentos Ltda., Curitiba, Paraná, Brasil). Desta forma, as células bacterianas foram lisadas e o DNA estabilizado e suspenso na solução. Na primeira fase de montagem do *checkerboard*, a placa metálica contendo 30 canaletas, denominada “Minislot 30” (Immuncetics[®], Cambridge, Massachusetts, United States) (Fig. 9B), foi colocada sobre uma membrana de nylon (15x15cm) com carga positiva (Amersham Hybond -N⁺, GE[®] Healthcare Limited, Amersham Place, Little Chalfont, Buckinghamshire, England) (Fig. 9C-D), que estava sobre 15 filtros de papel com as mesmas dimensões (15x15cm) para dar altura (Fig. 9E), e o conjunto foi parafusado firmemente sobre uma base de metal (Fig. 9F). Cada suspensão contendo DNA livre foi depositada

com uma pipeta de pontas descartáveis (Eppendorf[®], Eppendorf do Brasil, São Paulo, São Paulo, Brasil) nas canaletas do “Minislot 30” (Fig. 9G-H) (movendo a placa de lado a lado, permitindo que a suspensão se estenda por toda a membrana da canaleta) (Fig. 9I-J) e o DNA foi concentrado na membrana de nylon (aguardando 5 minutos para absorção completa das amostras) (Fig. 10A). A seguir, a membrana foi removida do aparelho Minislot e exposta ao calor (120°C) (Quimis[®], Diadema, São Paulo, Brasil), durante 20 minutos para a fixação do DNA (Fig. 10B-C). Em cada membrana, foram depositadas 28 amostras, sendo as duas últimas canaletas reservadas para a colocação dos controles positivos, representados por uma suspensão contendo todas as espécies microbianas avaliadas em duas concentrações (10⁵ e 10⁶ células bacterianas – equivalentes a 1ng e 10ng de DNA, respectivamente).

Preparo das sondas de DNA

As sondas de DNA foram confeccionadas usando o kit “DIG DNA Labeling” (Roche[®] Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) (Fig. 10D-E). O Quadro 1 apresenta as 40 sondas de DNA empregadas, específicas para as espécies avaliadas neste estudo, selecionadas de acordo com a sua associação com diferentes tipos de infecções endodônticas (HAFFAJEE; SOCRANSKY, 1994; MOORE; MOORE, 1994).

Destas 40 sondas, 21 espécies são de microrganismos anaeróbios (17 Gram-negativos e 4 Gram-positivos), outras 18 sondas de facultativos (5 Gram-negativos e 13 Gram-positivos) e 1 sonda de aeróbios (1 Gram-negativo). As sondas utilizadas foram gentilmente cedidas pelo Laboratório de Pesquisa em Odontologia – Microbiologia, Imunologia e Biologia Molecular da Universidade Guarulhos.

Hibridização das membranas com as sondas de DNA

Após a fixação do DNA nas membranas, essas foram lavadas com tampão 2XSSC (50ml de SSC 20X; 450ml de água destilada; autoclavado por 30 minutos) (Fig. 10F) e pré-hibridizadas (bloqueio das áreas não específicas na membrana) em estufa (Quimis[®], Diadema, São Paulo, Brasil) a 42°C, durante 1 hora, em uma solução de pré-hibridização (25ml de formamida; 5ml de solução de Denhardt; 3ml de RNA de levedura; 12,5ml de solução estoque de pré-hibridização; 5ml de caseína) (Fig. 10G-H). Em seguida, a membrana foi colocada sob a placa acrílica do aparelho “Minibloter 45” (Immunetics[®], Cambridge,

Massachusetts, United States), de maneira que as linhas contendo o DNA fixado ficaram em uma posição perpendicular às canaletas do “Miniblotter 45” (Fig. 11A). O aparelho foi parafusado firmemente (Fig. 11B).

O “Miniblotter 45” contém 45 canaletas (Fig. 11C) onde, em cada uma delas, foi colocada uma sonda de DNA. Cada canaleta foi preenchida com 135µl de uma determinada sonda, contida em uma solução de hibridização (10ml de formamida; 0,4ml de solução de Denhardt; 0,4ml de RNA de levedura; 2g de sulfato de dextrano; 8,2ml de solução de estoque de hibridização; 2ml de caseína) (Fig. 11D-E), evitando bolhas. As sondas hibridizaram perpendicularmente às linhas contendo o DNA bacteriano, propiciando um formato xadrez, com as amostras de DNA horizontais e as sondas verticais. O aparelho contendo as membranas foi revestido com filme de PVC transparente (MKM® Filmes Flexíveis e Embalagens Ltda., Guarulhos, São Paulo, Brasil) (Fig. 11F) e colocado em um saco plástico com 50ml de água destilada (Fig. 11G), para evitar a desidratação das mesmas. A hibridização das amostras nas membranas com as sondas foi realizada em estufa a 42°C (Fig. 11H), durante um período mínimo de 16 horas (*overnight*).

Lavagem

Após a hibridização com as sondas, a membrana foi removida do “Miniblotter 45” e lavada durante 40 minutos a 65°C (Nova Ética®, 500/DE, Vargem Grande Paulista, São Paulo, Brasil), em uma solução tampão PO₄ (30g de SDS 1%; 1,1g de 1mM EDTA; 8,4g de 20mM Na₂HPO₄; 3l de água destilada; autoclavada por 30 minutos) (Fig. 12A-B), com o objetivo de remover as sondas que não hibridizaram completamente. Em seguida, a membrana foi lavada com tampão ácido maléico (34,8g de Ácido Maléico; 2l de água destilada; 522g de NaCl; 24g de NaOH; volume final de 3l; pH 8.0; 9ml de Tween 20; autoclavado por 30 minutos) por 5 minutos (Fig. 12C). Após este procedimento, a membrana foi imersa durante 1 hora, em uma mesa agitadora (CT-165, Cientec®, Equipamentos para Laboratório, Piracicaba, São Paulo, Brasil), em uma solução tampão bloqueio contendo 450ml de tampão ácido maléico e 50ml de caseína (50ml desta solução tampão bloqueio foi separada para ser utilizada com o anticorpo) (Fig. 12D). A seguir, foi imersa durante 30 minutos em temperatura ambiente na mesma solução (50ml), agora contendo também 5µl do anticorpo Anti-Digoxigenina conjugado à fosfatase

alcalina (Anti-Digoxigenin-AP, Roche[®] Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) (Fig. 12E), em uma concentração de 1/10.000.

Posteriormente, a membrana foi lavada com uma solução tampão ácido maléico, 2 vezes durante 20 minutos e uma vez durante 5 minutos em solução tampão 3 (100ml de solução de dietanolamina; 100ml de solução de MgCl₂) (Fig. 12F). A membrana foi então incubada em uma solução CDP-Star[®] Detection Reagent (GE[®] Healthcare UK Limited, Little Chalfont, Buckinghamshire, England) (Fig. 12G) contendo 1ml do substrato para essa enzima, em 1 ml de água destilada e 4ml de solução tampão 3, durante 45 minutos (Fig. 12H).

Detecção das espécies bacterianas

A membrana foi colocada entre 2 folhas de papel alumínio (Alumitto[®], HS Indústria, Comércio, Importação e Exportação Ltda., São José, Santa Catarina, Brasil), por 1 hora, em um ambiente a 37°C (Fig. 13A). Finalmente, na câmara escura, a membrana foi colocada em um chassi radiográfico (Fig. 13B-C), sob um filme radiográfico (18x24cm) (IBF-Medix[®], Indústria Brasileira de Filmes, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil) (Fig. 13D) durante aproximadamente 1 hora e, a seguir, revelado (revelador 3 minutos; água destilada 60 segundos; fixador 5 minutos; água destilada 60 segundos; solução de endurecimento 60 segundos; secagem) para a detecção dos sinais de quimioluminescência. Ao final, foi obtido um filme radiográfico com os sinais detectados pelas sondas de DNA (Fig. 13E), onde as linhas horizontais representam as amostras e as verticais as sondas de DNA, propiciando um formato de “tabuleiro de xadrez” (Fig. 14).

A leitura dos resultados foi semi-quantitativa, realizada por meio de comparação da intensidade dos sinais das amostras dos canais radiculares com os sinais das amostras controle. Essa comparação foi realizada a partir do DNA de todas as bactérias que estão sendo pesquisadas, e colocadas nas duas últimas canaletas do “Minislot 30”, que equivalem a 100.000 (10⁵) e 1.000.000 (10⁶) de células. Desta forma, foi obtido um número de células bacterianas aproximado, em cada amostra, para cada uma das espécies bacterianas avaliadas.

Todas as avaliações foram realizadas por um único examinador calibrado. Os resultados obtidos foram anotados em fichas específicas.

Os níveis das diferentes espécies em cada canal radicular foram determinados através da frequência média, estabelecendo-se os seguintes escores (RUVIÉRE et al., 2007):

- Escore 0: quando não houve detecção do sinal de quimioluminescência.
- Escore 1: quando apresentava quantidades equivalentes a um sinal menos intenso que o controle de 10^5 células.
- Escore 2: quando apresentava quantidades aproximadas de 10^5 células.
- Escore 3: quando apresentava quantidades entre 10^5 e 10^6 células.
- Escore 4: quando apresentava quantidades aproximadas de 10^6 células.
- Escore 5: quando apresentava quantidades $> 10^6$ células.

Análise estatística (artigo 1)

A análise dos dados microbiológicos de todas as amostras foi realizada através da contagem média (\pm desvio padrão), frequência e prevalência de cada espécie, levando em consideração o canal radicular e o escore.

Análise estatística (artigo 2)

A análise estatística foi realizada utilizando um teste de proporções, para comparação dos escores zero iniciais, entre os dois grupos, e para comparação da efetividade das técnicas, a partir das contagens de escores zero.

A comparação de todos os escores obtidos nos dois momentos (antes e após o tratamento) para cada grupo individualmente foi realizada por meio do teste de Wilcoxon, e para a análise das diferenças entre os dois grupos foi utilizado o teste de Mann-Whitney.

O nível de significância adotado foi $p < 0,05$ para todos os testes.

FIGURAS DA METODOLOGIA EXPANDIDA

Figura 1 – Procedimentos clínicos iniciais para as duas técnicas endodônticas avaliadas

A – Exame clínico inicial do dente decíduo com necrose pulpar, comprometido por lesão cariosa, com presença de abscesso submucoso.

B – Exame radiográfico periapical inicial para diagnóstico do dente decíduo portador de necrose pulpar, com presença de extensa lesão cariosa e lesão na região de furca.

C – Solução de Digluconato de Clorexidina 0,12%.

D - Antissepsia da cavidade bucal através de bochecho com Digluconato de Clorexidina 0,12%.

E – Isolamento absoluto do dente com dique de borracha, após anestesia.

F - Solução de Digluconato de Clorexidina 1%.

G – Desinfecção da superfície do dente e das áreas circundantes com algodão embebido em Digluconato de Clorexidina 1%.

H – Remoção da restauração provisória e acesso à câmara pulpar com broca diamantada esférica de número 2 em alta-rotação.

I – Remoção do tecido cariado com broca esférica em baixa-rotação.

J – Acesso completo à câmara pulpar e ao canal radicular com broca Endo-Z em alta-rotação.

K – Visualização da entrada dos canais radiculares.

Figura 1

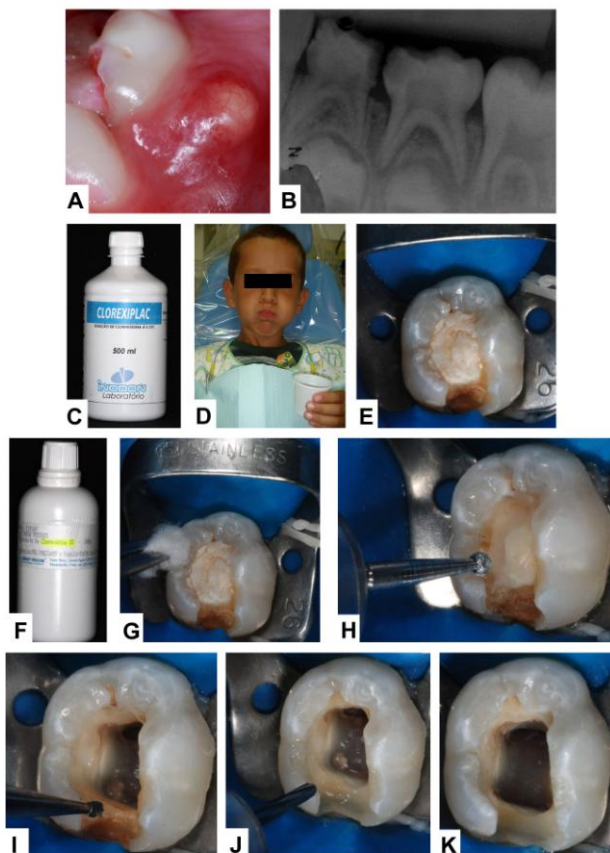


Figura 2 – Procedimentos clínicos (Técnica UFSC - 1ª sessão)

A – Desinfecção da superfície do dente e das áreas circundantes com algodão embebido em Digluconato de Clorexidina 1%, após abertura coronária.

B – Ponta de papel absorvente estéril calibrada no comprimento aparente do dente.

C – Primeira coleta de amostra microbiana do canal radicular, no comprimento aparente do dente, antes do preparo químico-mecânico pela Técnica UFSC.

D – Solução de Formocresol diluído 1:5.

E – Aplicação do Formocresol com bolinha de algodão estéril na entrada dos canais radiculares, como medicação prévia.

F - Cimento de Ionômero de Vidro Convencional.

G – Restauração provisória com Cimento de Ionômero de Vidro, após aplicação do Formocresol.

Figura 2



Figura 3 – Procedimentos clínicos (Técnica UFSC - 2ª sessão)

A - Desinfecção da superfície do dente e das áreas circundantes com algodão embebido em Digluconato de Clorexidina 1%, após anestesia, antissepsia da cavidade bucal e isolamento absoluto.

B - Odontometria dos canais com limas endodônticas no comprimento aparente do dente.

C - Radiografia periapical de odontometria.

D - Preparo químico-mecânico dos canais radiculares no comprimento de exploração com lima endodôntica de número 20, seguindo o protocolo UFSC.

E - Preparo químico-mecânico dos canais radiculares no comprimento de exploração com lima endodôntica de número 25, seguindo o protocolo UFSC.

F - Preparo químico-mecânico dos canais radiculares no comprimento de exploração com lima endodôntica de número 30, seguindo o protocolo UFSC.

G - Solução de hipoclorito de sódio 1% (Solução de Milton).

H - Irrigação com hipoclorito de sódio 1% durante o preparo químico-mecânico, concomitante com aspiração.

I - Secagem dos canais com pontas de papel absorvente estéreis.

J - Ponta de papel absorvente estéril calibrada no comprimento de exploração do dente.

K - Segunda coleta de amostra microbiana do canal radicular, no comprimento de exploração do dente, após o preparo químico-mecânico pela Técnica UFSC.

Figura 3

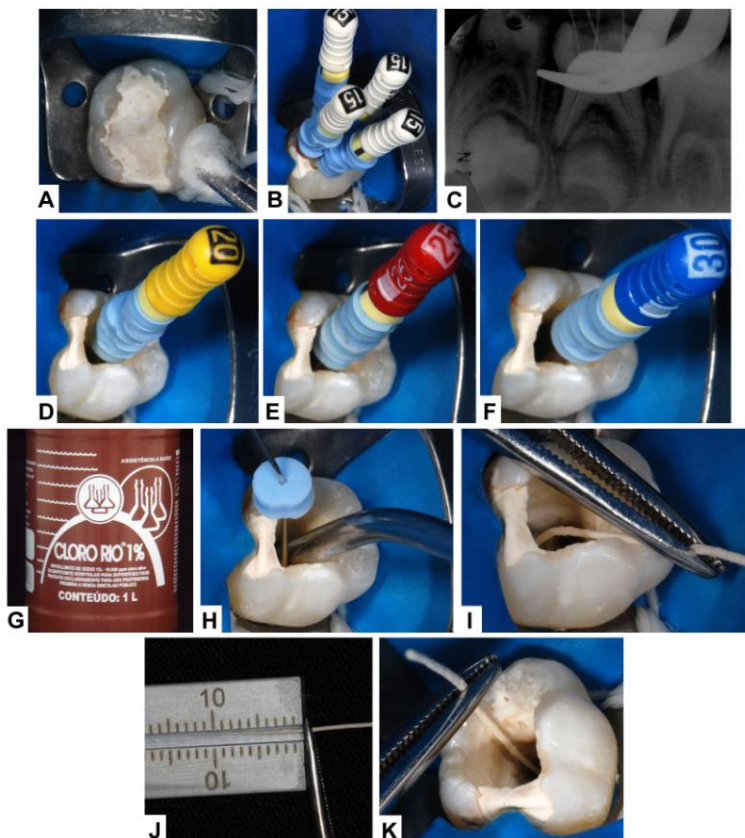


Figura 4 – Procedimentos clínicos (Técnica UFSC - 2ª sessão)

A – Pó de Hidróxido de cálcio P.A..

B - Propilenoglicol.

C – Proporção 2:1 de Hidróxido de cálcio e Propilenoglicol para preparo do curativo de demora.

D – Curativo de demora de Hidróxido de cálcio e Propilenoglicol manipulado em consistência de “massa”.

E – Preenchimento dos canais radiculares com curativo de demora de Hidróxido de cálcio e Propilenoglicol através de uma Lentulo.

F – Preenchimento dos canais radiculares com curativo de demora de Hidróxido de cálcio e Propilenoglicol.

G – Exame radiográfico periapical para confirmação da presença do curativo de demora de Hidróxido de cálcio e Propilenoglicol, após selamento coronário provisório com Cimento de Ionômero de Vidro.

Figura 4

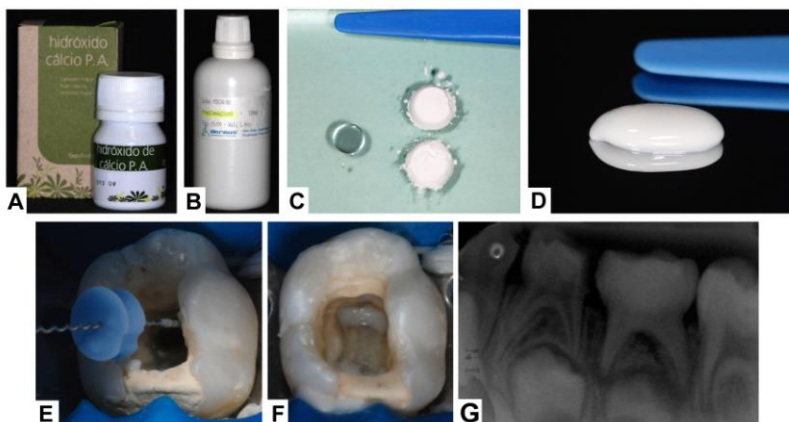


Figura 5 – Procedimentos clínicos (Técnica UFSC - 3ª sessão)

A – Remoção da restauração provisória de Cimento de Ionômero de Vidro e acesso à entrada dos canais radiculares com broca esférica em alta-rotação, após anestesia, antisepsia da cavidade bucal, isolamento absoluto e desinfecção do dente e das áreas circundantes.

B – Remoção do curativo de demora de Hidróxido de cálcio e Propilenoglicol com lima endodôntica Flexo-File de número 30.

C – Remoção do curativo de demora de Hidróxido de cálcio e Propilenoglicol com irrigação de hipoclorito de sódio 1% concomitante com aspiração.

D – Secagem dos canais radiculares por sucção.

E – Secagem dos canais radiculares com pontas de papel absorvente estéreis.

F – Cimento de óxido de zinco e eugenol para obturação endodôntica.

G - Proporção 1:1 de óxido de zinco e eugenol para preparo do cimento para obturação.

H – Cimento de óxido de zinco e eugenol manipulado em consistência mais fluida.

I - Preenchimento dos canais radiculares com cimento de óxido de zinco e eugenol através de uma Lentulo.

J – Obturação dos canais radiculares com cimento de óxido de zinco e eugenol.

K - Exame radiográfico periapical para verificar a qualidade da obturação com cimento de óxido de zinco e eugenol.

L – Selamento coronário provisório com Cimento de Ionômero de Vidro.

M – Restauração definitiva com Resina Composta (4ª sessão).

Figura 5

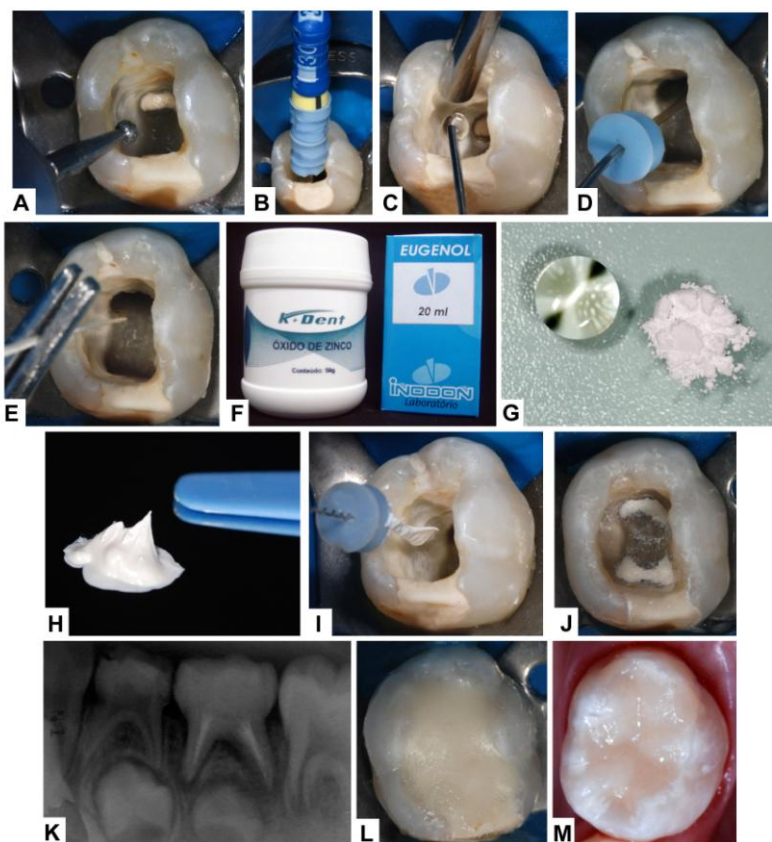


Figura 6 – Procedimentos clínicos (Técnica preconizada por Guedes-Pinto)

A – Ponta de papel absorvente estéril calibrada no comprimento aparente do dente.

B – Primeira coleta de amostra microbiana do canal radicular, no comprimento aparente do dente, antes do preparo químico-mecânico pela Técnica preconizada por Guedes-Pinto, após anestesia, antisepsia da cavidade bucal, isolamento absoluto e desinfecção do dente e das áreas circundantes.

C – Amostra microbiana do canal radicular.

D – Lima endodôntica Flexo-File calibrada no comprimento de trabalho do dente (condutometria).

E - Preparo químico-mecânico dos canais radiculares no comprimento de trabalho com lima endodôntica Flexo-File de número 25.

F - Preparo químico-mecânico dos canais radiculares no comprimento de trabalho com lima endodôntica Flexo-File de número 30.

G - Preparo químico-mecânico dos canais radiculares no comprimento de trabalho com lima endodôntica Flexo-File de número 35.

H - ENDO-C-PREP.

I – Solução de hipoclorito de sódio 0,5% (Líquido de Dakin).

J – Preparo químico-mecânico dos canais radiculares com limas endodônticas Flexo-File, associadas ao ENDO-C-PREP e irrigação com Líquido de Dakin, seguindo a Técnica preconizada por Guedes-Pinto.

Figura 6

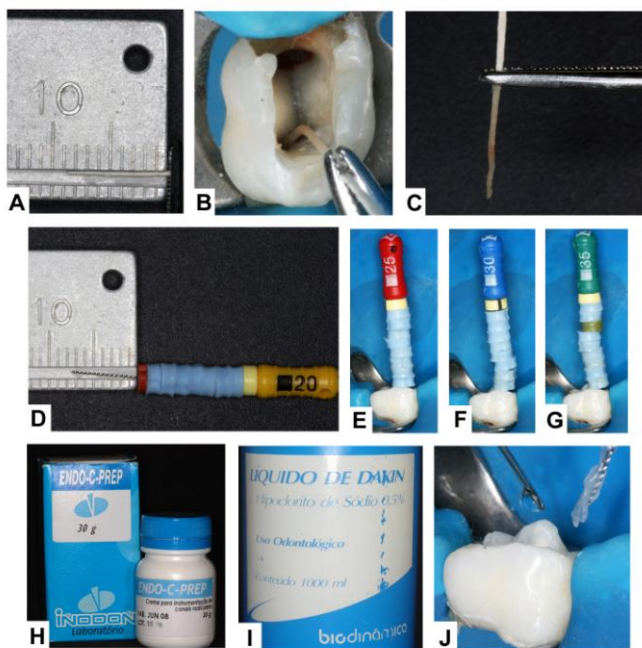


Figura 7 – Procedimentos clínicos (Técnica preconizada por Guedes-Pinto)

A - Secagem dos canais com pontas de papel absorvente estéreis.

B - Ponta de papel absorvente estéril calibrada no comprimento de trabalho do dente.

C - Segunda coleta de amostra microbiana do canal radicular, no comprimento de trabalho do dente, após o preparo químico-mecânico pela Técnica preconizada por Guedes-Pinto.

D – Componentes da Pasta Guedes-Pinto (Iodofórmio, Paramonoclorofenol canforado e Rifocort[®]).

E – Proporção 1:1:1 de Iodofórmio, Paramonoclorofenol canforado e Rifocort[®] para preparo da Pasta Guedes-Pinto.

F – Pasta Guedes-Pinto manipulada em consistência cremosa e coloração homogênea.

G – Preenchimento dos canais radiculares com a Pasta Guedes-Pinto através de uma Lentulo.

H – Obturação dos canais radiculares com a Pasta Guedes-Pinto.

I – Exame radiográfico periapical para verificação da qualidade da obturação com a Pasta Guedes-Pinto.

J - Cimento de Ionômero de Vidro Convencional.

K - Selamento coronário provisório com Cimento de Ionômero de Vidro.

L – Restauração definitiva com Resina Composta (2ª sessão).

Figura 7

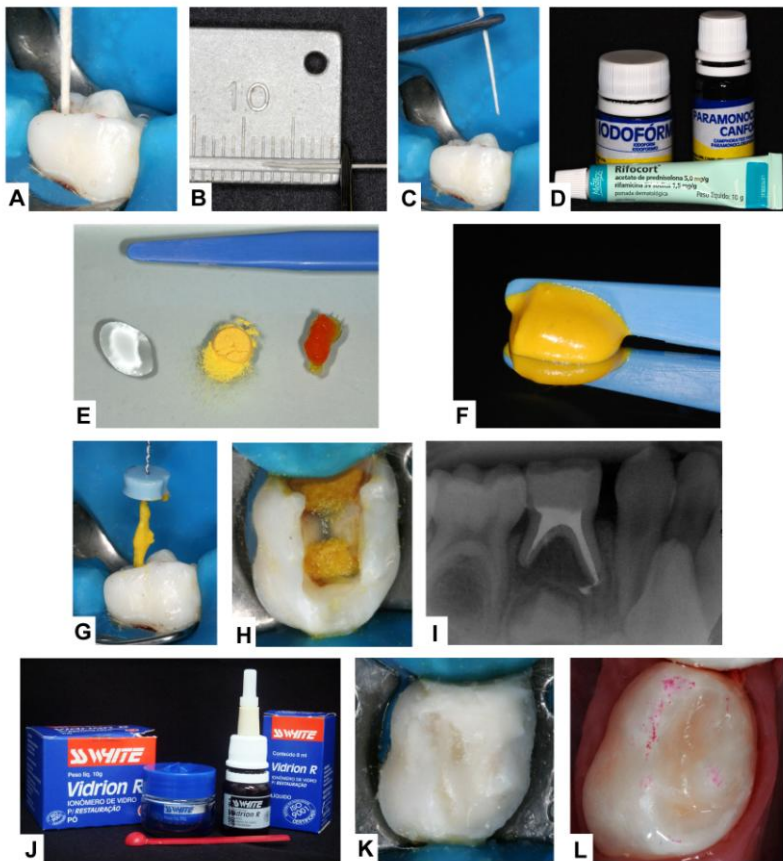


Figura 8 – Processamento laboratorial das amostras para a Técnica de Biologia Molecular

A – Amostra microbiana retirada do canal radicular de dente decíduo com necrose pulpar através de ponta de papel absorvente estéril de calibre 15.

B – Transferência da amostra microbiana para *Eppendorf* contendo 150µl de tampão TE.

C – Adição de 100µl de NaOH 0,5M no *Eppendorf* contendo a amostra microbiana.

D – Agitação mecânica vigorosa do *Eppendorf* contendo a amostra microbiana.

E – *Eppendorf* contendo a amostra microbiana identificado individualmente.

F – Armazenamento dos *Eppendorfs* contendo as amostras microbianas em freezer a -80°C.

G - Armazenamento dos *Eppendorfs* contendo as amostras microbianas em freezer a -80°C.

H – Amostras microbianas dos canais radiculares descongeladas em meio ambiente.

I – Centrifugação das amostras microbianas a 12.000 RPM.

Figura 8

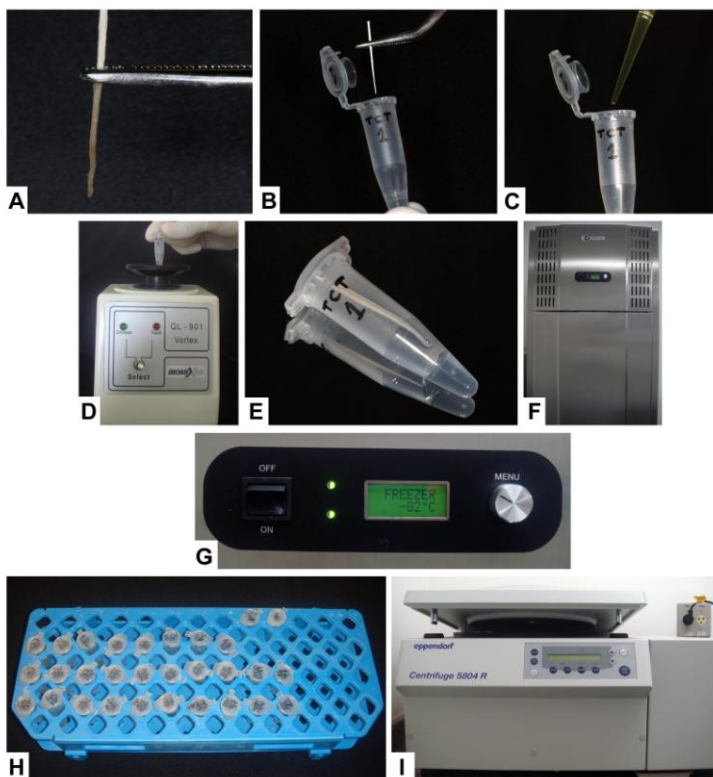


Figura 9 - Processamento laboratorial das amostras para a Técnica de Biologia Molecular

A – Adição de 800µl de acetato de amônia 5M no *Eppendorf* contendo a suspensão da amostra microbiana.

B - “Minislot 30”.

C – Membrana de nylon (15x15cm) com carga positiva.

D – Introdução da membrana de nylon com carga positiva no “Minislot 30”.

E – Introdução de 15 filtros de papel no “MiniSlot 30” sob a membrana de nylon com carga positiva.

F – Conjunto parafusado preparado para deposição das amostras microbianas.

G – Deposição das 28 amostras microbianas nas 28 canaletas do “Minislot 30”.

H - Deposição das 28 amostras microbianas nas 28 canaletas do “Minislot 30”.

I – Movimentação do “Minislot 30”, de lado a lado, para que a suspensão das amostras microbianas se estenda por toda a membrana da canaleta.

J - Movimentação do “Minislot 30”, de lado a lado, para que a suspensão das amostras microbianas se estenda por toda a membrana da canaleta.

Figura 9

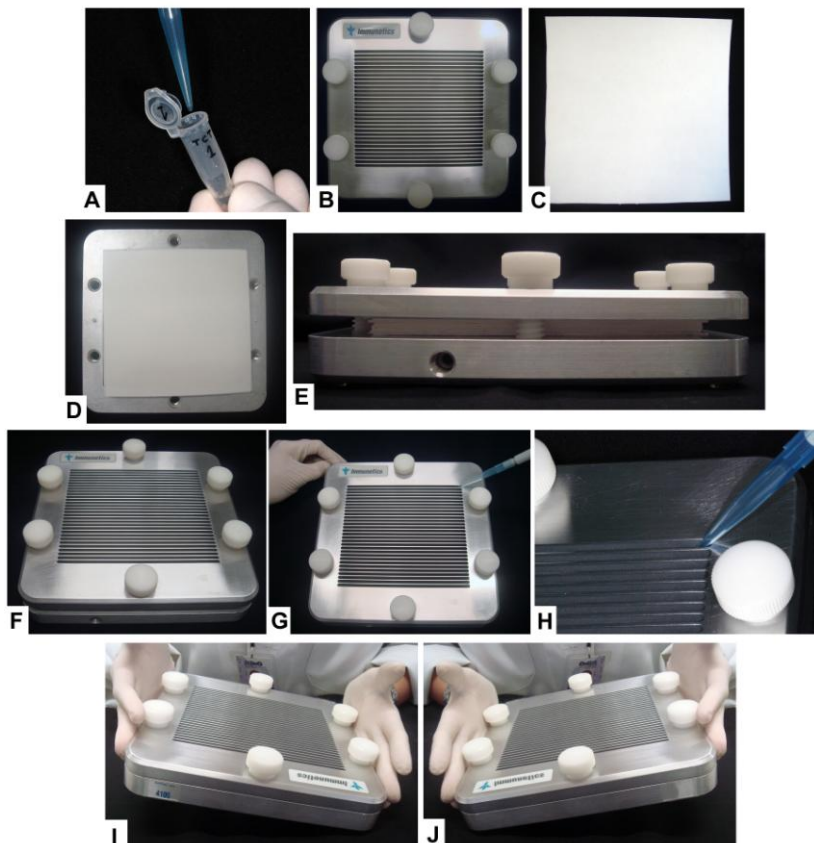


Figura 10 - Processamento laboratorial das amostras para a Técnica de Biologia Molecular

- A** – Amostras de DNA concentradas na membrana de nylon.
- B** – Exposição da membrana ao calor (120°C) para fixação do DNA.
- C** – Forno a 120°C.
- D** - Kit “*DIG DNA Labeling*” para confecção das sondas de DNA.
- E** - Kit “*DIG DNA Labeling*” para confecção das sondas de DNA.
- F** – Lavagem da membrana com o DNA fixado em tampão 2XSSC.
- G** – Pré-hibridização em estufa (42°C) em solução de pré-hibridização.
- H** – Estufa a 42°C.

Figura 11 - Processamento laboratorial das amostras para a Técnica de Biologia Molecular

A – Introdução da membrana de nylon no “Minibloter 45”, evidenciando que as amostras de DNA estão dispostas perpendicularmente às canaletas do dispositivo.

B - Conjunto parafusado preparado para deposição das sondas de DNA.

C - “Minibloter 45”.

D – Preenchimento das canaletas do “Minibloter 45” com as 40 sondas de DNA.

E – Preenchimento das canaletas do “Minibloter 45” com as 40 sondas de DNA.

F - Revstimento do “Minibloter 45” contendo a membrana de nylon com filme de PVC transparente.

G – “Minibloter 45” revestido por um plástico com água destilada para evitar desidratação da membrana.

H – Hibridização das amostras com as sondas na membrana em estufa a 42°C, durante 16 horas.

Figura 11

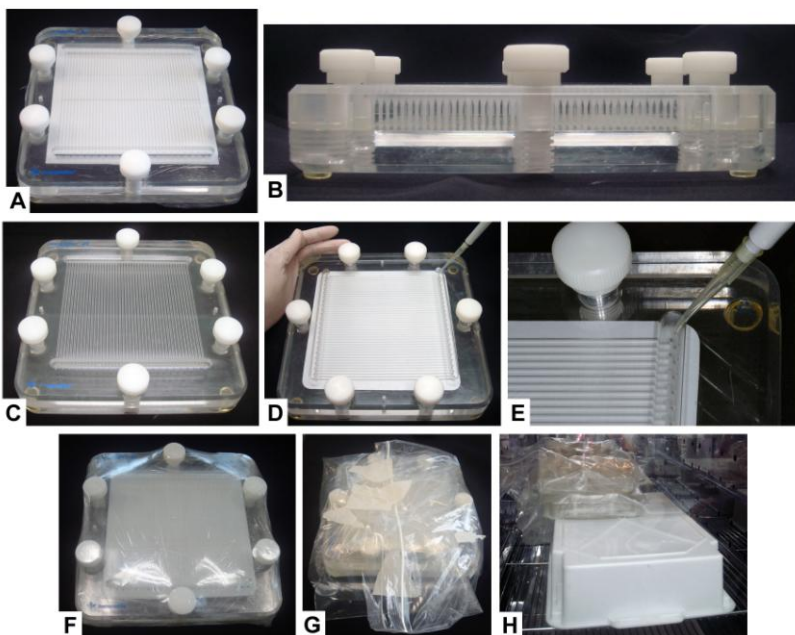


Figura 12 - Processamento laboratorial das amostras para a Técnica de Biologia Molecular

A – Lavagem da membrana hibridizada em tampão PO_4 a 65°C para remoção das sondas que não hibridizaram.

B - Lavagem da membrana hibridizada em tampão PO_4 a 65°C para remoção das sondas que não hibridizaram.

C – Lavagem da membrana hibridizada em tampão ácido maléico.

D – Imersão da membrana hibridizada em solução de bloqueio em uma mesa agitadora.

E – Acréscimo do anticorpo Anti-Digoxigenina conjugado à fosfatase alcalina.

F – Lavagem da membrana hibridizada em solução tampão ácido maléico e solução tampão 3.

G – Substrato CDP-Star[®] Detection Reagent.

H – Imersão da membrana hibridizada em solução CDP-Star[®] para a enzima fosfatase alcalina.

Figura 12

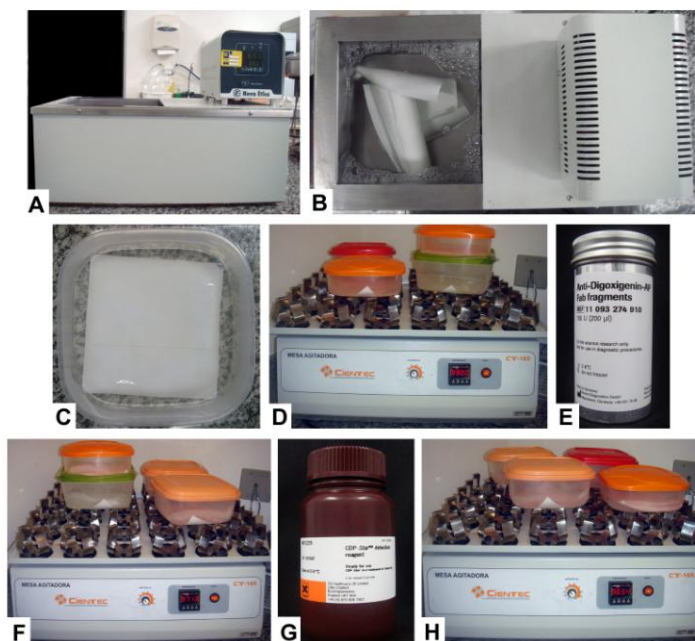


Figura 13 - Processamento laboratorial das amostras para a Técnica de Biologia Molecular

A – Membrana envolvida por folhas de papel alumínio em um ambiente a 37°C.

B – Chassi radiográfico.

C – Chassi radiográfico contendo a membrana que é posicionada sob o filme radiográfico.

D - Filme radiográfico (18x24cm).

E – Detecção dos sinais de quimioluminescência no filme radiográfico pela Técnica da hibridização DNA-DNA *checkerboard*.

Figura 13

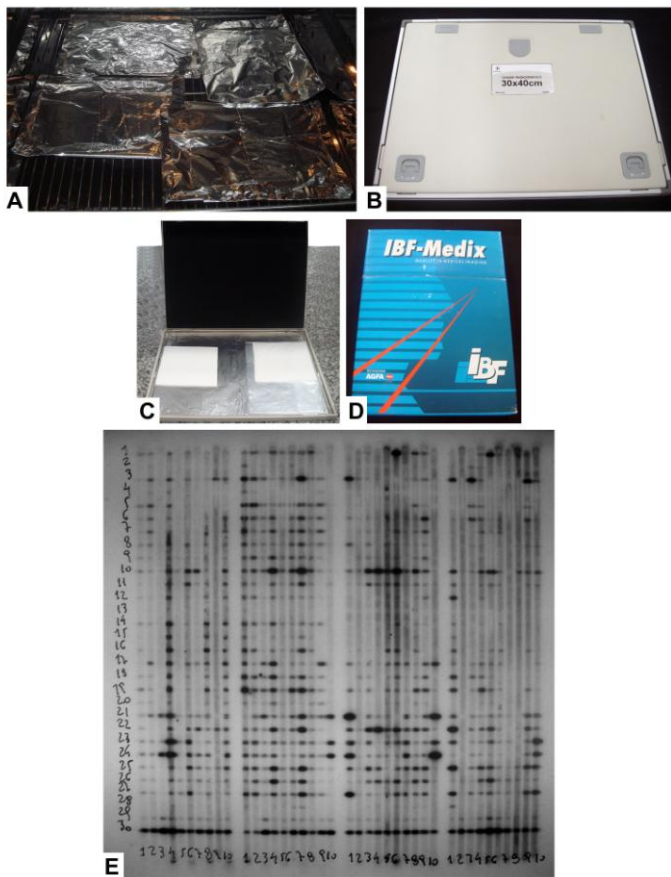
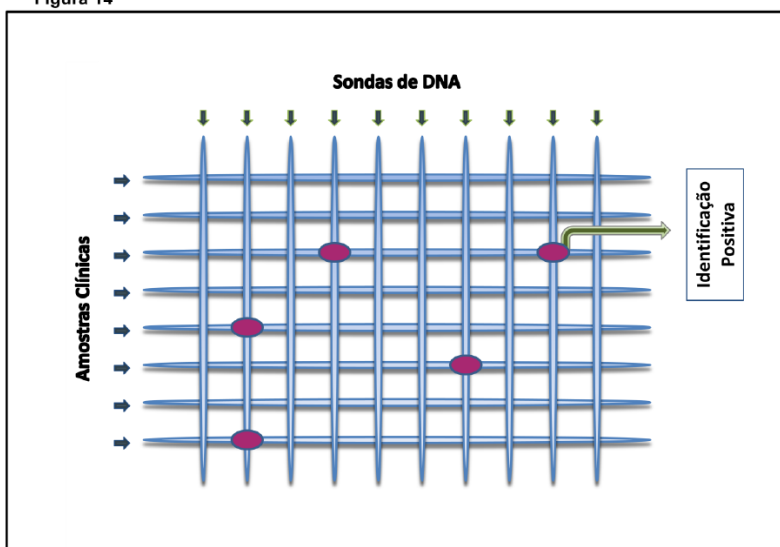


Figura 14 – Hibridização do *checkerboard*: linhas horizontais representam as amostras clínicas e as verticais as sondas de DNA (“tabuleiro de xadrez”)

Figura 14



8.2 APÊNDICE B – Parecer do Comitê de Ética UFSC

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
 Pró-Reitoria de Pesquisa e Extensão
 Comitê de Ética na Pesquisa em Seres Humanos



CERTIFICADO Nº 093

O Comitê de Ética na Pesquisa em Seres Humanos (CEPSH) da Pró-Reitoria de Pesquisa e Extensão da Universidade Federal de Santa Catarina, instituído pela PORTARIA N.º0584/GR/99 de 04 de novembro de 1999, com base nas normas para a constituição e funcionamento do CEPSH, considerando o conteúdo no Regimento Interno do CEPSH, **CERTIFICA** que os procedimentos que envolvem seres humanos no projeto de pesquisa abaixo especificado estão de acordo com os princípios éticos estabelecidos pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP

APROVADO

PROCESSO: 096/09 FR-255814

TÍTULO: Avaliação comparativa do conteúdo microbiológico de canais radiculares de dentes deciduos necrosados antes e após instrumentação endodôntica pelas Técnicas UFSC ou Guedes-Pinto.

AUTOR: Mabel M. R. Cordeiro, Lella P. Garcia e Thaísa C. Triches.

DPTO.: CCS/UFSC

FLORIANÓPOLIS, 27 de abril de 2009.


 Coordenador do CEPSH/UFSC - Prof.º Washington Portela de Souza



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

Pró-Reitoria de Pesquisa e Extensão
Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos - CEPESH

Campus Prof. João David Ferreira Lima – CEP 88040-900
Trindade - Florianópolis - Santa Catarina - Brasil | www.cep.ufsc.br / +55 (48) 3721-9206

PARECER CONSUBSTANCIADO - PROJETO Nº 096/09

I – IDENTIFICAÇÃO:

Título do projeto: Avaliação comparativa do conteúdo microbiológico de canais radiculares de dentes deciduos necrosados antes e após instrumentação endodôntica pelas Técnicas UFSC ou Guedes-Pinto.

Pesquisador Responsável: Profª. Drª. Mabel Mariela Rodríguez Cordeiro

Pesquisador Principal: Profª. Drª. Leila Posenato Garcia e Mestranda Thaisa Cezária Triches

Data da coleta dos dados: 05/2009 a 06/2009

Instituições em que será realizado o estudo: Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina

II – OBJETIVOS:

Geral:

Determinar a eficácia da instrumentação endodôntica pelas Técnicas UFSC e Guedes-Pinto, na redução do conteúdo microbiano séptico de canais radiculares de dentes deciduos com necrose pulpar e/ou lesão perirradicular.

Específicos:

Avaliar/identificar a condição bacteriológica endodôntica inicial de canais de dentes deciduos, através de testes microbiológicos.

Avaliar/identificar a condição bacteriológica endodôntica após a modelagem do canal decíduo pela Técnica UFSC, através de testes microbiológicos.

Avaliar/identificar a condição bacteriológica endodôntica após o saneamento do canal decíduo pela Técnica Guedes-Pinto, através de testes microbiológicos.

Avaliar comparativamente a eficácia das Técnicas UFSC e Guedes-Pinto na redução do conteúdo microbiológico de canais radiculares de dentes deciduos necrosados.

III – SUMÁRIO DO PROJETO:

Trata-se de um estudo em que serão selecionados 12 canais de dentes deciduos humanos com indicação de tratamento endodôntico pertencentes à pacientes odontopediátricos em atendimento na Clínica de Odontopediatria da UFSC. Os canais serão separados em dois grupos, um receberá o tratamento endodôntico preconizado pela técnica UFSC e o outro pela Técnica de Guedes-Pinto. Será colhido o fluido intra-canal em dois diferentes momentos e esse material será cultivado para análise dos microorganismos presentes em ambos os grupos de pesquisa.

IV – COMENTÁRIO:

A pesquisa proposta tem relevância científica. O protocolo da pesquisa contém todos os documentos exigidos pela legislação preenchidos de maneira correta. O **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)** encontra-se convenientemente redigido, porém excessivamente resumido.

V – PARECER CEPESH:

Aprovado

PARECER:

Tendo em vista o exposto, somos de parecer favorável à aprovação do referido projeto.

O TCLE deve ser explicado detalhadamente ao paciente.

Informamos que o parecer dos relatores foi aprovado, em reunião deste Comitê na data de 27 de abril de 2009.

EMENDA:

Conforme documento dirigido ao Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFSC, datado de novembro de 2009 e assinado pelas pesquisadoras Dra. Mabel Cordeiro e Thaisa Triches, responsáveis pelo projeto protocolado sob número 096/09, registra-se aqui que foram realizadas no referido projeto as alterações solicitadas pelo Comitê, sem alterar em nada a adequação já demonstrada pela pesquisa aos aspectos éticos, segundo a legislação exposta na Resolução CNS/MS 196/96 e suas complementares. Tais mudanças dizem respeito ao título do Projeto, ao número de amostras a serem investigadas e ao preparo e processamento dessas amostras, todas elas especificadas no documento



**UNIVERSIDADE FEDERAL
DE SANTA CATARINA**

**Pró-Reitoria de Pesquisa e Extensão
Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos - CEPESH**

Campus Prof. João David Ferreira Lima - CEP 88040-900
Trindade - Florianópolis - Santa Catarina - Brasil | www.cep.ufsc.br / +55 (48) 3721-9206

PARECER CONSUBSTANCIADO - PROJETO N° 096/09

entregue.

Informamos que o parecer dos relatores foi aprovado *all referendum* na data de 30 de novembro de 2009.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'W. Portela de Souza', written over a horizontal line.

Prof^o Washington Portela de Souza
Coordenador do CEPESH

Fonte: CONEP/ANVS - Resoluções 196/96 e 251/97 do CNS.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'J. Souza', written over a horizontal line.

8.3 APÊNDICE C – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA
DISCIPLINA DE ODONTOPEDIATRIA**

INFORMAÇÃO E CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO PARA PESQUISA

Meu nome é Thaisa Cezária Triches e estou desenvolvendo a pesquisa intitulada **“Eficácia do preparo químico-mecânico pelas Técnicas UFSC e preconizada por Guedes-Pinto na redução do conteúdo microbiano de canais radiculares de dentes decíduos com necrose pulpar - Estudo *in vivo*”**.

O objetivo desta pesquisa é estudar se o tratamento de canal feito nos dentes de leite de seu(sua) filho(a) está tendo o resultado esperado após a sua realização. Para isto, será necessário apenas recolher pequenas quantidades de amostras bacterianas, e isto não traz risco, desconforto ou dor ao(à) seu(sua) filho(a).

A participação do(a) seu(sua) filho(a) irá permitir que se avalie o que vem sendo feito pelos dentistas da Clínica da UFSC e que melhorias sejam realizadas, proporcionando aos pacientes da UFSC uma melhor qualidade de vida.

O(s) dente(s) de seu filho(a) não será(ão) extraído(s) para se fazer esta pesquisa. Se você tiver alguma dúvida em relação ao estudo ou não quiser mais que seu(sua) filho(a) faça parte do mesmo, pode entrar em contato pelo telefone (48) _____ e falar com a dentista _____. Se você estiver de acordo em participar, esclarecemos que as amostras coletadas dos dentes serão utilizadas somente neste trabalho, não servindo para nenhuma outra pesquisa biológica ou genética.

Nome da criança: _____

Nome do responsável: _____

RG: _____ Telefone: _____

Notação Dental: _____

Declaro estar ciente que estou autorizando a utilização do órgão dental para finalidade de pesquisa, e estar ciente, também, que a criança e o responsável não terão qualquer benefício ou remuneração pela participação na presente pesquisa.

Assinatura do pai e/ou responsável pela criança

Florianópolis, ____/____/____

Assinatura do pesquisador

Assinatura do orientador

8.4 APÊNDICE D – Ficha de coleta de dados dos pacientes



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
MESTRADO ÁREA DE CONCENTRAÇÃO ODONTOPEDIATRIA

“EFICÁCIA DO PREPARO QUÍMICO-MECÂNICO PELAS TÉCNICAS
UFSC E PRECONIZADA POR GUEDES-PINTO NA REDUÇÃO DO
CONTEÚDO MICROBIANO DE CANAIS RADICULARES DE DENTES
DECÍDUOS COM NECROSE PULPAR – ESTUDO *in vivo*”

NOME: _____ N° PRONTUÁRIO: _____

D.N.: ___/___/___ IDADE: ___ SEXO: F () M () DATA: ___/___/___

ACHADOS CLÍNICOS

N° dente	N° faces envolvidas (cárie)	Restauração	Comunicação pulpar c/ ambiente bucal	Abscesso submucoso
_____	_____ (M) (D) (O) (L) (V) (P)	() Ausente () Presente	() Ausente () Presente	() Ausente () Presente

Fístula	Mobilidade aumentada (s/ rel. esfoliação)	Dor (semana da consulta)	Sensibilidade (semana da consulta)	N° e Localização canais
() Ausente () Presente	() Ausente () Presente	() Ausente () Presente	() Ausente () Presente	_____ () Único () M-V-Sup. () D-V-Sup. () Palatino () M-V-Inf. () M-Lingual () D-V-Inf. () D-Lingual

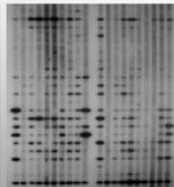
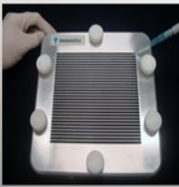
ACHADOS RADIOGRÁFICOS

Lesão perirradicular	Reabsorção radicular	Qtd. reabs. rad.	Caracs. reab. rad	Posição germe permanente rel. raízes
() Ausente () Presente	() Ausente () Presente	_____	() Fisiológ. () Patológ. () Simétr. () Assimétr.	() Sobreposto () Tangencian. () Afastado das raízes

TRATAMENTO ENDODÔNTICO

Protocolo	Comprimento aparente (mm)	Comprimento trabalho (mm)		
() Téc. UFSC () Téc. G-P	() Único () M-V-Sup. () D-V-Sup. () Palatino () M-V-Inf. () M-Lingual () D-V-Inf. () D-Lingual	() Único () M-V-Sup. () D-V-Sup. () Palatino () M-V-Inf. () M-Lingual () D-V-Inf. () D-Lingual		

OBSERVAÇÕES RELEVANTES



9. Anexos

9.1 ANEXO A - Protocolo da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) para tratamento endodôntico de dentes decíduos

ROCHA, M. J. C. Tratamento endodôntico em dentes decíduos comprometidos por cárie. *In: Livro Anual do Grupo de Professores de Ortodontia e Odontopediatria*: 2001. Anais. Belo Horizonte: Furmac; 2001. v.10. p.28-30.

CARDOSO, M. **Avaliação longitudinal dos tratamentos de dentes decíduos traumatizados realizados na Universidade Federal de Santa Catarina – Brasil**, Florianópolis: 2001. Dissertação (Mestrado em Odontologia – Área de Concentração Odontopediatria) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

Técnica de tratamento

A intervenção endodôntica em dentes decíduos necrosados é realizada diante dos seguintes sinais clínicos e/ou radiográficos: presença de fístula, abscesso submucoso ou subcutâneo, mobilidade não condizente com o processo fisiológico de rizólise, escurecimento dental (geralmente acompanhado de outro sinal ou sintoma), rarefação óssea periapical ou da região de furca e reabsorção radicular patológica.

Os tratamentos endodônticos pelo Protocolo UFSC são realizados no mínimo em 3 sessões e no máximo em 5 sessões, em média.

Anestesia e Isolamento do campo operatório:

Após a seleção do caso e diagnóstico (Fig. 15A-B), a anestesia é realizada no dente a ser tratado endodonticamente, em virtude de poder haver sensibilidade em algum dos canais radiculares, ou para facilitar a colocação do dique de borracha. Para tal, a mucosa é seca com jato de ar e o anestésico tópico aplicado no local com gaze ou algodão durante dois minutos, mantendo-se o local seco durante o procedimento. Após verificar clinicamente a rugosidade da mucosa, as anestésias pterigomandibular e/ou infiltrativa são realizadas com o auxílio de seringa Carpule e agulha curta ou extra-curta.

Para o isolamento absoluto do campo operatório, anestesia do tipo transpapilar e/ou palatina, são aplicadas para a instalação do grampo ou amarrilho com fio dental.

Acesso endodôntico (1ª sessão):

Antes de dar início à abertura endodôntica, a radiografia de diagnóstico (Fig. 15B) é analisada, observando a conformação da câmara pulpar. Após a anestesia e o isolamento absoluto (Fig. 15C), inicia-se a remoção do tecido cariado com curetas e brocas esféricas em baixa-rotação, e o acesso à câmara pulpar é realizado com uma broca diamantada esférica, número 2, montada em caneta de alta-rotação (Fig. 15D-E), sob refrigeração contínua. Com esta broca, o elemento dental é perfurado até alcançar a câmara pulpar, algumas vezes proporcionando a sensação de “cair no vazio”.

A forma de conveniência para a abertura é executada com a mesma broca esférica utilizada na abertura e com a broca Endo-Z, também montada em caneta de alta-rotação (Fig. 15F), sob refrigeração de água e ar, até que todo o teto da câmara pulpar seja removido e a entrada dos canais seja visualizada (Fig. 15G).

Necropulpectomia:

Quando clinicamente constata-se que há necrose pulpar, o Formocresol diluído 1:5 é utilizado como medicação prévia, devido às suas propriedades antibacteriana, bactericida, anti-séptica e fixação pulpar. Uma “bolinha” de algodão esterilizada levemente umedecida com o medicamento é colocada na câmara pulpar, próximo à entrada do canal (Fig. 15H). A finalidade é promover uma neutralização prévia do conteúdo séptico do canal radicular. A abertura é então selada com Cimento de Ionômero de Vidro (Fig. 15I). O curativo permanece por um período de 48 horas a sete dias, sendo então removido, e o procedimento de odontometria realizado.

Exploração/Odontometria (2ª sessão):

A radiografia inicial ou de diagnóstico (Fig. 15B) é levada a um negatoscópio e o dente decíduo a ser tratado medido com o auxílio de uma régua para a obtenção do Comprimento Aparente do Dente (CAD).

Os pontos de referência utilizados são a borda incisal (dentes anteriores) ou a face oclusal (dentes posteriores) do dente decíduo, até:

- o vértice radicular (na ausência de contato ou superposição com o germe do dente permanente ou de reabsorção fisiológica ou patológica);

- reabsorção fisiológica ou patológica da raiz, até o ponto de superposição radicular de maior radiopacidade;

- ou até a linha imaginária que passa pela incisal (dente permanente anterior) ou oclusal (dente permanente posterior) quando da superposição anterior da raiz decídua sobre a coroa do germe do dente permanente, ou a presença dos pré-molares entre as raízes dos molares decíduos, respectivamente.

Por ser o CAD, medido na radiografia, um valor impreciso, retiram-se 2mm desta medida e assim obtém-se o Comprimento de Trabalho para Exploração (CTEx). Portanto, $CTEx = CAD - 2mm$.

Com essa medida, deve-se calibrar uma lima Flexo-File (FF), número 15 de 21mm, introduzi-la no canal (Fig. 16A) e realizar uma nova radiografia (Fig. 16B). Nesta, o instrumento pode ficar aquém, coincidir ou ficar além do ponto de referência apical (vértice da raiz, reabsorção ou germe do dente permanente).

Quando fica aquém, deve-se medir a distância da ponta do instrumento ao ponto de referência apical (segmento AB) e somar ao CTEx. Obtém-se, assim, o Comprimento Real do Dente (CRD). Portanto, $CRD = CTEx + AB$.

Pode ocorrer a coincidência do CTEx com o ponto de referência apical (o vértice radicular ou a reabsorção ou o germe do dente permanente). Nestes casos, o CRD é igual ao CTEx. Assim, $CRD = CTEx$.

Quando o instrumento calibrado com o CTEx ultrapassa o ponto de referência apical, o CRD será igual ao CTEx, porém subtraindo-se o segmento AB que ultrapassou. Neste caso, $CRD = CTEx - AB$.

Quando, devido ao comportamento da criança, a odontometria não é possível nas primeiras consultas, o preparo químico-mecânico do canal é realizado com o CTEx que é determinado pelo CAD na radiografia menos 2mm ($CTEX = CAD - 2mm$), levando em consideração os mesmos pontos de referência apical. Logo que o comportamento da criança melhora, a odontometria é realizada.

Esvaziamento do canal:

Após a medicação prévia com Formocresol (1ª sessão) e a odontometria (2ª sessão), o esvaziamento do canal é realizado com limas Flexo-File ou Hedström calibradas no CRD (determinado na odontometria) (Fig. 16C-E). Para tanto, são realizados movimentos de preparo endodôntico (“modelagem”) sempre acompanhados de irrigação com hipoclorito de sódio 1% (Fig. 16F), procurando levar a solução

irrigadora o mais próximo do ponto de referência apical, porém sem travar o instrumento nas paredes radiculares.

Preparo químico-mecânico do canal:

O preparo químico-mecânico em dentes decíduos visa apenas o alisamento e a limpeza das paredes do canal. Portanto, o preparo químico-mecânico do canal é a continuação do esvaziamento, sendo que limas Flexo-File, calibradas no CRD são utilizadas para preparar o canal (Fig. 16C-E). A amplitude do preparo depende do calibre do canal anatômico, do estado patológico da polpa e do tempo que o dente permaneceu aberto na cavidade bucal (grau de infecção). A cinemática dos instrumentos deve seguir uma ação circunferencial, tangenciando as paredes do canal radicular. Geralmente, os canais dos dentes anteriores superiores e caninos são preparados até no máximo a lima FF número 40, enquanto os demais variam entre número 35 e 40. O preparo é sempre alternado com irrigação/aspiração (Fig. 16F), devendo ser as limas sempre limpas com gaze umedecida em solução de hipoclorito de sódio 1%, quando removidas do canal.

Substâncias irrigadoras/aspiração:

Todo o preparo do canal, esvaziamento e preparo químico-mecânico, é realizado em conjunto com a irrigação/aspiração. Esta tem o intuito de remover os detritos encerrados no interior do canal radicular, sejam eles restos pulpares, materiais do meio bucal ou aqueles decorrentes do preparo (raspas de dentina); reduzir o número de bactérias existentes quando em canais contaminados; e, facilitar a ação modeladora dos instrumentos endodônticos ao manter as paredes dentinárias hidratadas. Portanto, a solução irrigadora busca a limpeza, a desinfecção e a lubrificação. Utiliza-se a solução de hipoclorito de sódio 1% (Solução de Milton), devido às suas propriedades de limpeza, poder antimicrobiano, baixa tensão superficial, capacidade de neutralizar produtos tóxicos e dissolver o tecido orgânico, além do poder de ação desodorizante.

Curativo de demora com Hidróxido de Cálcio:

Após secagem do canal com pontas de papel absorvente (Fig. 16G), este é preenchido com medicação intracanal. O medicamento eleito para o curativo de demora é o hidróxido de cálcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$), manipulado com propilenoglicol, na proporção 2:1 (Fig. 16H), em uma

placa de vidro com espátula, esterilizadas, até a consistência de “massa de vidraceiro” (Fig. 16I). O hidróxido de cálcio é levado ao interior do canal utilizando limas Flexo-File número 30, calibradas no CRD e/ou broca Lentulo, cortada e calibrada no CRD – 1mm (Fig. 16J-L). Constata-se a presença do medicamento, radiograficamente (Fig. 16M), devido à radiopacidade semelhante à dentina.

O hidróxido de cálcio é utilizado devido às suas propriedades antimicrobiana, pH alcalino, sendo reabsorvido facilmente e não causando reação de corpo estranho.

Quando não é possível secar completamente o canal, utiliza-se pasta de hidróxido de cálcio em propilenoglicol, adicionando uma pequena porção de Iodofórmio, sendo levado ao canal também com auxílio de limas Flexo-File e Lentulo calibradas.

Nos casos em que o selamento é perdido entre as consultas ou, por algum outro motivo, o canal tenha sido exposto ao meio bucal, um novo curativo de Formocresol é realizado, permanecendo por 48 horas a sete dias e todo o processo de esvaziamento, “modelagem”, irrigação e curativo com hidróxido de cálcio é refeito.

O selamento provisório da abertura endodôntica, entre as consultas, é sempre realizado com Cimento de Ionômero de Vidro.

Obturação do canal radicular (3ª sessão):

Após anestesia e isolamento absoluto do campo operatório, a obturação é realizada removendo o selamento de Cimento de Ionômero de Vidro com broca esférica diamantada montada em caneta de alta-rotação (Fig. 17A-B), sob refrigeração com água e ar. O canal é limpo com lima Flexo-File número 30 calibrada no CRD (Fig. 17C) e irrigado com hipoclorito de sódio 1% (Fig. 17D).

Após o canal estar limpo e completamente seco (Fig. 17E-F), cimento de óxido de zinco e eugenol é manipulado com espátula, na proporção 1:1 (Fig. 17G), em uma placa de vidro, ambas esterilizadas, em uma consistência levemente mais fluida (Fig. 17H) do que é manipulado para a obturação de dente permanente. O calibre da broca Lentulo é selecionado um a dois “números” inferior ao último instrumento utilizado no preparo químico-mecânico, cortada em 16mm, calibrada com cursores 1mm aquém do CRD (Fig. 17I), e o cimento é levado ao canal com o micro-motor no sentido horário (Fig. 18A). Quando se verifica o refluxo do cimento na câmara pulpar (Fig. 18B), realiza-se uma condensação vertical com auxílio de uma “bolinha” de

algodão seca e estéril (Fig. 18C). Radiografia periapical é realizada antes do selamento coronal para verificar a qualidade da obturação (Fig. 18D). Caso seja necessário complementar o cimento no conduto radicular, este é realizado com lima Flexo-File número 30 para não haver extravasamento. Após a confirmação radiográfica da qualidade da obturação, a câmara pulpar e a entrada do canal são limpas com “bolinha” de algodão estéril embebida em álcool (Fig. 18E-F) e é realizado o selamento coronal com Cimento de Ionômero de Vidro (Fig. 18G). Na consulta seguinte, o acesso endodôntico é restaurado com Resina Composta (Fig. 18H) após rebaixamento do Cimento de Ionômero de Vidro da câmara pulpar.

Material obturador (Cimento de óxido de zinco e eugenol):

A obturação do canal radicular é realizada com cimento a base de óxido de zinco e eugenol, que apresenta boa capacidade seladora, baixa permeabilidade, estabilidade dimensional, adesividade adequada, baixa solubilidade, baixa desintegração e o tempo de trabalho é de aproximadamente 24 horas.

O eugenol é importante por suas propriedades antibacteriana, antisséptica, analgésica, anti-inflamatória e cicatrizante.

Proservação dos canais obturados:

A preservação deve ser realizada a cada 6 meses através de exames clínicos e radiográficos, até o irrompimento do dente permanente, e os intervalos de tempo estão diretamente relacionados com o risco do paciente à doença cárie dental e indiretamente ao risco do tratamento endodôntico (bio ou necropulpectomia). Nas consultas de preservação são observados na radiografia se houve reparo da lesão perirradicular pré-existente, o não aparecimento de lesão perirradicular, se a reabsorção radicular do dente tratado está semelhante à do contralateral, de acordo com a cronologia dental do paciente e se o tratamento não está interferindo no irrompimento do sucessor permanente. Ao exame clínico observa-se mobilidade não condizente aos processos fisiológicos de rizólise e esfoliação dental, percussão, condições dos tecidos mole circundantes, além da qualidade da higiene bucal. Também, deve-se questionar o paciente sobre episódios de dor relacionados ao dente tratado endodonticamente.

FIGURAS DO PROTOCOLO UFSC

Figura 15 – Protocolo UFSC para tratamento endodôntico de dentes decíduos (1ª sessão)

A – Exame clínico inicial do dente decíduo com necrose pulpar, comprometido por lesão cariosa, com presença de abscesso submucoso.

B – Exame radiográfico periapical inicial para diagnóstico do dente decíduo portador de necrose pulpar, com presença de extensa lesão cariosa e lesão na região de furca.

C – Isolamento absoluto do dente com dique de borracha, após anestesia.

D – Remoção da restauração provisória e acesso à câmara pulpar com broca diamantada esférica de número 2 em alta-rotação.

E – Remoção do tecido cariado com broca esférica em baixa-rotação.

F – Acesso completo à câmara pulpar e ao canal radicular com broca Endo-Z em alta-rotação.

G – Visualização da entrada dos canais radiculares.

H - Aplicação do Formocresol diluído 1:5 com bolinha de algodão estéril próximo à entrada dos canais radiculares, como medicação prévia

I – Restauração provisória com Cimento de Ionômero de Vidro, após aplicação do Formocresol.

Figura 15

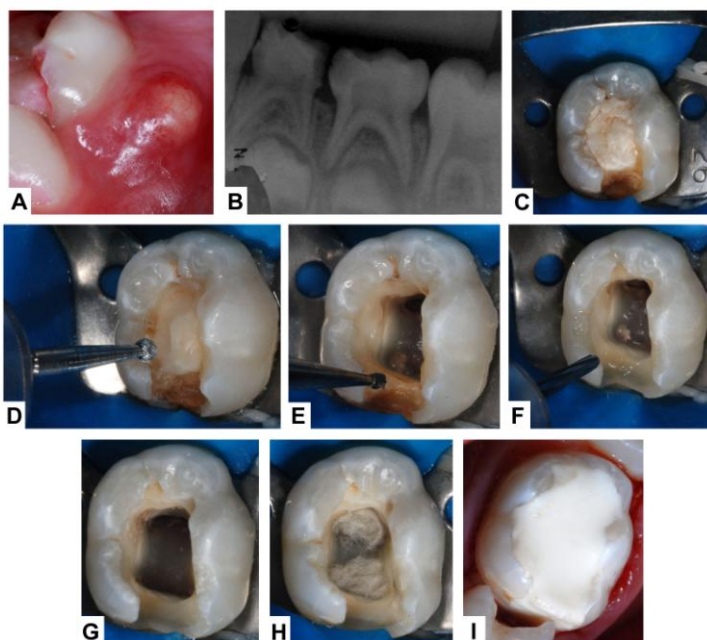


Figura 16 – Protocolo UFSC para tratamento endodôntico de dentes decíduos (2ª sessão)

A - Odontometria dos canais com limas endodônticas no comprimento aparente do dente.

B – Radiografia periapical de odontometria.

C – Preparo químico-mecânico dos canais radiculares no comprimento de exploração com lima endodôntica Flexo-File de número 20, seguindo o protocolo UFSC.

D - Preparo químico-mecânico dos canais radiculares no comprimento de exploração com lima endodôntica Flexo-File de número 25, seguindo o protocolo UFSC.

E - Preparo químico-mecânico dos canais radiculares no comprimento de exploração com lima endodôntica Flexo-File de número 30, seguindo o protocolo UFSC.

F – Irrigação com solução de hipoclorito de sódio 1% durante o preparo químico-mecânico, concomitante com aspiração.

G – Secagem dos canais com pontas de papel absorvente.

H - Proporção 2:1 de Hidróxido de cálcio e Propilenoglicol para preparo do curativo de demora.

I – Curativo de demora de Hidróxido de cálcio e Propilenoglicol manipulado em consistência de “massa”.

J – Lentulo calibrada 1mm aquém do comprimento de exploração.

K – Preenchimento dos canais radiculares com curativo de demora de Hidróxido de cálcio e Propilenoglicol através de uma Lentulo.

L – Preenchimento dos canais radiculares com curativo de demora de Hidróxido de cálcio e Propilenoglicol.

M – Exame radiográfico periapical para verificação da presença do curativo de demora de Hidróxido de cálcio e Propilenoglicol, após selamento coronário provisório com Cimento de Ionômero de Vidro.

Figura 16

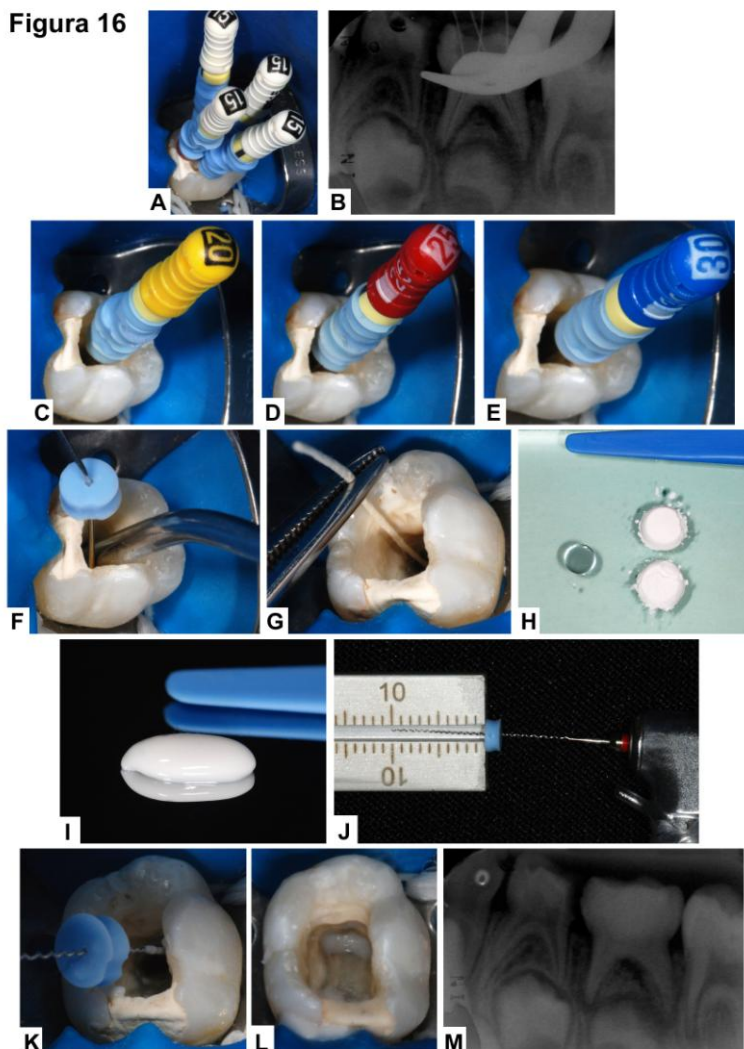


Figura 17 – Protocolo UFSC para tratamento endodôntico de dentes decíduos (3ª sessão)

A – Remoção da restauração provisória de Cimento de Ionômero de Vidro e acesso à entrada dos canais radiculares com broca esférica em alta-rotação, após anestesia e isolamento absoluto.

B – Visualização da entrada dos canais radiculares preenchidos com curativo de demora de Hidróxido de cálcio e Propilenoglicol.

C – Remoção do curativo de demora de Hidróxido de cálcio e Propilenoglicol com lima endodôntica Flexo-File de número 30.

D – Remoção do curativo de demora de Hidróxido de cálcio e Propilenoglicol com irrigação de hipoclorito de sódio 1% concomitante com aspiração.

E – Secagem dos canais radiculares por sucção.

F – Secagem dos canais radiculares com pontas de papel absorvente.

G - Proporção 1:1 de óxido de zinco e eugenol para preparo do cimento para obturação.

H – Cimento de óxido de zinco e eugenol manipulado em consistência mais fluida.

I – Lentulo calibrada 1mm aquém do comprimento de exploração.

Figura 17

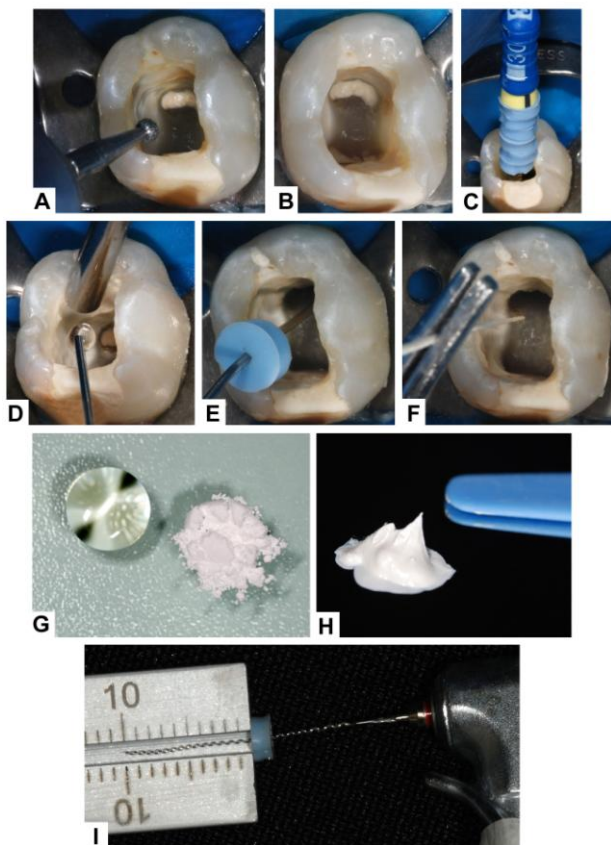


Figura 18 – Protocolo UFSC para tratamento endodôntico de dentes decíduos (3ª sessão)

A - Preenchimento dos canais radiculares com cimento de óxido de zinco e eugenol através de uma Lentulo.

B – Refluxo do cimento de óxido de zinco e eugenol na câmara pulpar.

C – Condensação vertical do material obturador com uma bolinha de algodão seca estéril.

D – Exame radiográfico periapical para verificar a qualidade da obturação.

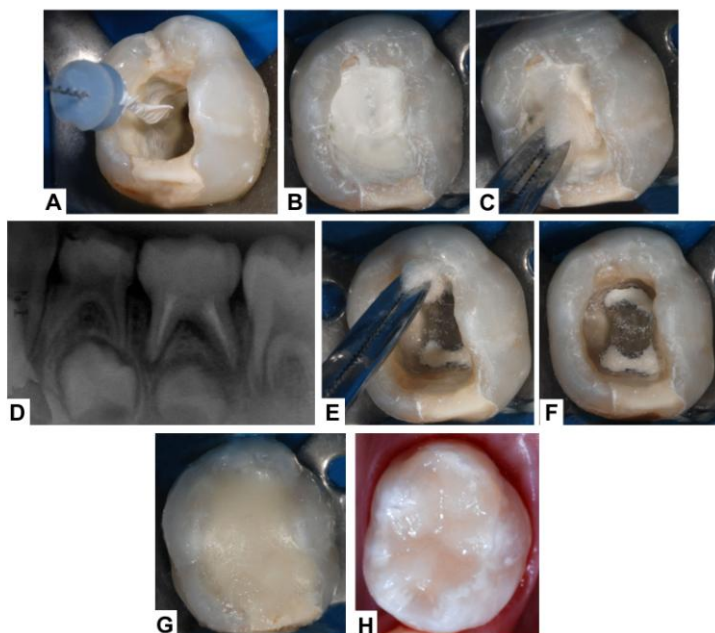
E – Limpeza da câmara pulpar e das entradas dos canais com bolinha de algodão estéril embebida em álcool.

F - Câmara pulpar limpa e obturação dos canais radiculares com cimento de óxido de zinco e eugenol.

G – Selamento coronário provisório com Cimento de Ionômero de Vidro.

H – Restauração definitiva com Resina Composta (4ª sessão).

Figura 18



9.2 ANEXO B - Tratamento endodôntico de dentes decíduos com polpa mortificada - Técnica preconizada por Guedes-Pinto para pulpectomia

GUEDES-PINTO, A. C; PAIVA, J. G; BOZZOLA, J. R. Tratamento endodôntico de dentes decíduos com polpa mortificada. **Rev Ass Paul Cirurg Dent**, v.35, n.3, p.240-245, 1981.

GUEDES-PINTO, A. C. **Odontopediatria**. 7 ed. São Paulo, Santos, 2006. cap. 31. p. 553-573.

Técnica de tratamento

Os passos técnicos são simples e visam apenas a limpeza dos canais, exigindo apenas uma única consulta.

Anestesia e Isolamento do campo operatório:

Após a seleção do caso e diagnóstico (Fig. 19A-C), a anestesia é realizada no dente a ser tratado endodonticamente, em virtude de poder haver sensibilidade em um ou mais canais radiculares, ou para facilitar a colocação do dique de borracha. Para tal, a mucosa é seca com jato de ar e o anestésico tópico aplicado no local com gaze ou algodão durante dois minutos, mantendo o local seco durante o procedimento. Após verificar clinicamente a rugosidade da mucosa, as anestésias pterigomandibular e/ou infiltrativa são realizadas com o auxílio de seringa Carpule e agulha curta ou extra-curta.

Para o isolamento absoluto do campo operatório, anestesia do tipo transpapilar e/ou palatina, são aplicadas para a instalação do grampo ou amarrilho com fio dental.

Acesso endodôntico:

Antes de dar início à abertura endodôntica, a radiografia de diagnóstico (Fig. 19C) é analisada, observando a conformação da câmara pulpar. Após a anestesia e o isolamento absoluto (Fig. 19D), inicia-se a remoção do tecido cariado com curetas e brocas esféricas em baixa-rotação, e o acesso à câmara pulpar é realizado com broca diamantada esférica, de número 2, montada em caneta de alta-rotação (Fig. 19E), sob refrigeração constante. Com esta broca, o elemento dental é perfurado até alcançar a câmara pulpar, algumas vezes proporcionando a sensação de “cair no vazio”.

A forma de conveniência para a abertura é executada com a mesma broca esférica utilizada na abertura e com a broca Endo-Z, também montada em caneta de alta-rotação (Fig. 19F), sob refrigeração de água e ar, até que todo o teto da câmara pulpar seja removido.

Obedecendo a todos os princípios que regem a abertura endodôntica de dentes decíduos, promove-se o esvaziamento do conteúdo necrótico da câmara coronária, seguido de irrigação com Líquido de Dakin até a visualização da entrada dos canais (Fig. 19G).

Condutometria:

A condutometria deve ser bem criteriosa devido ao germe do permanente. A partir da radiografia inicial ou de diagnóstico (Fig. 19C), traçar uma “linha imaginária” sobre os pontos de referência, que são a borda incisal (dentes anteriores) ou a face oclusal (dentes posteriores) do dente decíduo, até:

- o ápice radicular (na ausência de contato ou superposição com o germe do dente permanente ou de reabsorção fisiológica ou patológica);

- reabsorção fisiológica ou patológica da raiz, até o ponto de superposição radicular de maior radiopacidade;

- ou até a linha imaginária que passa pela incisal (dente permanente anterior) ou oclusal (dente permanente posterior) quando da superposição anterior da raiz decídua sobre a coroa do germe do dente permanente, ou a presença dos pré-molares entre as raízes dos molares decíduos, respectivamente.

O Comprimento de Trabalho (CT) se dá recuando uma lima endodôntica 1mm aquém (Fig. 19H) dos pontos de referência utilizados, pois assim estará sempre dentro dos limites de segurança.

Preparo químico-mecânico:

Após a localização dos condutos, leva-se ao interior dos canais o ENDO-C-PREP com uma lima endodôntica, que a seguir é ativado pelo gotejamento contínuo de pequena quantidade de Líquido de Dakin (Fig. 19I), através de uma seringa estéril e agulha fina, obtendo-se a eferescência da mistura (Fig. 19J). Inicia-se então, o preparo químico-mecânico dos canais com limas endodônticas Flexo-File de 21mm calibradas em série previamente organizada, conforme o caso, visando a remoção da maior quantidade possível do tecido necrosado/contaminado

do interior do canal radicular. Assim, após a utilização do instrumento inicial, usam-se ainda mais duas limas de maior calibre (Fig. 19K-M).

A qualquer fase do tratamento, quando se perceber a diminuição de efervescência, colocam-se mais gotas de Líquido de Dakin. Da mesma forma, quando a solução ficar mais diluída e, praticamente, esgota-se o efeito de efervescência, coloca-se mais ENDO-C-PREP. O efeito de efervescência não pode desaparecer durante o preparo do canal radicular.

O processo de limpeza chega ao fim quando, após o uso do último instrumento, as substâncias químicas colocadas na cavidade (ENDO-C-PREP mais Líquido de Dakin) se mostram de cor branca, isto é, sem qualquer turvação, demonstrando, claramente, que o dente está limpo. Esta limpeza com as limas deve sempre se proceder, inicialmente, nas paredes externas, pois na interna há risco de maior reabsorção.

Passa-se, então, à irrigação final com detergente Tergensol, tomando-se o cuidado de levar a solução na porção mais apical dos canais. A irrigação deve ser concomitante com a aspiração feita com sugador (Fig. 20A). Para isso, coloca-se a agulha de irrigação no canal e a de sucção, na câmara pulpar. Terminada a irrigação, a secagem do canal é feita por sucção com uso de sugador e agulhas hipodérmicas (Fig. 20B), para remoção do maior volume de líquido, seguida pelo uso de pontas de papel absorvente (Fig. 20C), para complementação.

Substâncias irrigadoras/aspiração:

Todo o preparo químico-mecânico do canal é realizado em conjunto com a irrigação/aspiração. Esta tem o intuito de remover os detritos encerrados no interior do canal radicular, sejam eles restos pulpares, materiais do meio bucal ou aqueles decorrentes do preparo (raspas de dentina); reduzir o número de bactérias existentes quando em canais contaminados; e, facilitar a ação modeladora dos instrumentos endodônticos ao manter as paredes dentinárias hidratadas. Portanto, a solução irrigadora busca a limpeza, a desinfecção e a lubrificação. Utiliza-se o Líquido de Dakin (solução de hipoclorito de sódio 0,5%, tamponada com bicarbonato de sódio), devido à sua propriedade de limpeza, poder bactericida e pouca irritabilidade aos tecidos periapicais; ENDO-C-PREP (10% de Peróxido de uréia; 15% de Tween 80; 75% de Carbowax – veículo), devido às suas propriedades de limpeza, antissepsia, desinfecção, ação antimicrobiana, pouca irritabilidade aos

tecidos vivos e capacidade de aumentar a permeabilidade dentinária; e Tergensol (detergente), portador das propriedades de baixa tensão superficial, umectação, absorção e emulsão, promovendo rápido molhamento da superfície dental, englobando partículas graxas, deslocando-as das superfícies e mantendo-as em suspensão, evitando o seu depósito nas porções apicais do canal radicular, além de sua irrigação final diminuir a ação irritante dos medicamentos, removendo traços destes, do interior do canal radicular.

Obturação do canal radicular:

Após a secagem do canal com pontas de papel absorvente, obtura-se o canal com a Pasta Guedes-Pinto, constituída de partes iguais (1:1:1) (Fig. 20D) de Iodofórmio, Paramonoclorofenol canforado e Rifocort®. Esses componentes são misturados numa placa de vidro com uma espátula até formar uma pasta cremosa de coloração homogênea (Fig. 20E) a qual é levada para o interior dos condutos, no Comprimento de Trabalho, com broca Lentulo (Fig. 20F-G) cortada ou lima endodôntica, no sentido horário, não havendo qualquer inconveniente no extravasamento apical da pasta. Quando da presença de fístula, o extravasamento auxilia no processo de cicatrização. Para evitar a formação de bolhas, deve-se realizar movimentos de limpeza, ou, após introdução do material obturador, fazer pressão com “bolinha” de algodão embebida em álcool (Fig. 20H) para assentar melhor o material, e com outra “bolinha” de algodão embebida em álcool, remove-se o excesso de material da câmara pulpar (Fig. 20I-J).

Finalizando, coloca-se na câmara coronária uma base de guta percha delgada (Fig. 21A-B) e, a seguir, a cavidade coronária é selada provisoriamente com Cimento de Ionômero de Vidro (Fig. 21C). Radiografia periapical é realizada para verificar a qualidade da obturação (Fig. 21D).

Em uma próxima sessão, a restauração provisória deve ser rebaixada e a restauração definitiva com Resina Composta, realizada (Fig. 21E).

Material obturador (Pasta Guedes-Pinto):

A obturação do canal radicular é realizada com a Pasta Guedes-Pinto, que apresenta boa tolerância tecidual junto aos tecidos periapicais e, como já citado, é composta de Iodofórmio, Paramonoclorofenol canforado e Rifocort®.

O Iodofórmio (pó) é importante por suas propriedades antimicrobiana, antisséptica, hemostática, analgésica e por apresentar radiopacidade. O Paramonoclorofenol canforado (líquido – 3 partes de Paramonoclorofenol para 7 partes de cânfora) apresenta propriedades antimicrobiana, antibacteriana, analgésica e baixa toxicidade. Já o Rifocort[®] (pomada – 15mg de Rifamicina S.V. Sódica; 50mg de acetato de Prednisolona), possui poder anti-inflamatório (Prednisolona) e antibiótico (Rifamicina).

Proservação dos canais obturados:

A preservação é fundamental e deve ser realizada a cada 3 meses através de exames clínicos e radiográficos, até a esfoliação do dente decíduo e o irrompimento do dente permanente. Nas consultas de preservação são observados na radiografia se houve reparo da lesão perirradicular pré-existente, o não aparecimento de lesão perirradicular, se a reabsorção radicular do dente tratado está semelhante ao do contralateral, de acordo com a cronologia dental do paciente e, se o tratamento não está interferindo no irrompimento do sucessor permanente. Ao exame clínico observa-se mobilidade não condizente aos processos fisiológicos de rizólise e esfoliação dental, percussão e as condições dos tecidos mole circundantes, além da qualidade da higiene bucal. Também, deve-se questionar o paciente sobre episódios de dor relacionados ao dente tratado endodonticamente.

**FIGURAS DA TÉCNICA PRECONIZADA POR
GUEDES-PINTO**

Figura 19 – Tratamento endodôntico de dentes decíduos com polpa mortificada (Técnica preconizada por Guedes-Pinto – Sessão única)

A – Exame clínico inicial do dente decíduo com necrose pulpar, comprometido por lesão cariosa, com presença de abscesso submucoso.

B – Exame clínico inicial do dente decíduo com necrose pulpar, comprometido por lesão cariosa.

C – Exame radiográfico periapical inicial para diagnóstico do dente decíduo portador de necrose pulpar, com presença de extensa lesão cariosa e lesão na região de furca.

D – Isolamento absoluto do dente com dique de borracha, após anestesia.

E – Remoção do tecido cariado com broca esférica em baixa-rotação e acesso à câmara pulpar com broca diamantada esférica de número 2 em alta-rotação.

F – Forma de conveniência e remoção do teto da câmara pulpar com broca Endo-Z em alta-rotação.

G – Visualização da entrada dos canais radiculares.

H – Lima endodôntica Flexo-File calibrada no comprimento de trabalho do dente, verificado na condutometria.

I - Preparo químico-mecânico dos canais radiculares com limas endodônticas Flexo-File associadas ao ENDO-C-PREP e irrigação com Líquido de Dakin, seguindo a Técnica preconizada por Guedes-Pinto.

J – Efervescência da mistura durante o preparo químico-mecânico dos canais radiculares.

K - Preparo químico-mecânico dos canais radiculares no comprimento de trabalho com lima endodôntica Flexo-File de número 25.

L - Preparo químico-mecânico dos canais radiculares no comprimento de trabalho com lima endodôntica Flexo-File de número 30.

M - Preparo químico-mecânico dos canais radiculares no comprimento de trabalho com lima endodôntica Flexo-File de número 35.

Figura 19

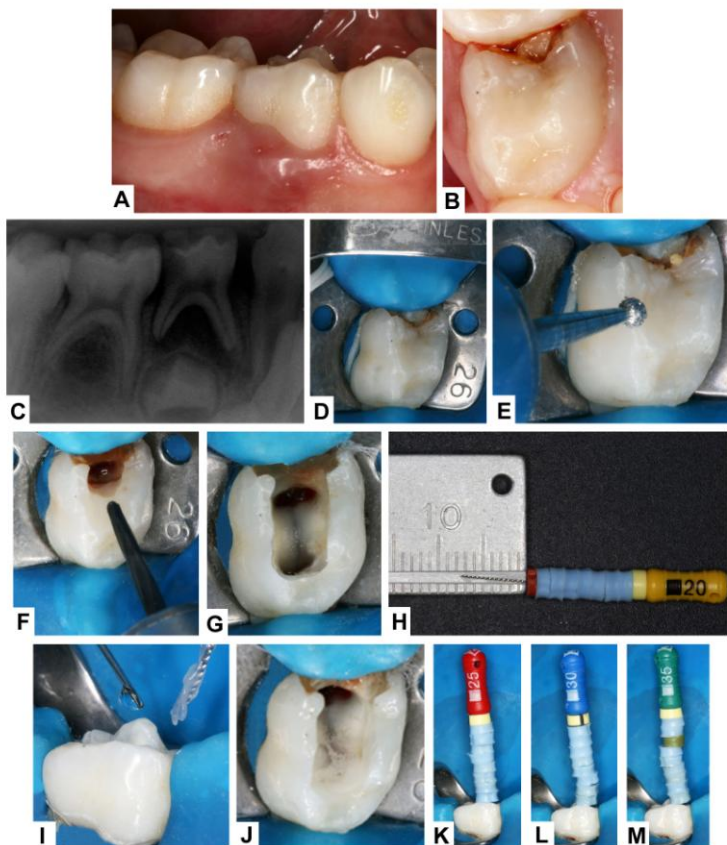


Figura 20 – Tratamento endodôntico de dentes decíduos com polpa mortificada (Técnica preconizada por Guedes-Pinto – Sessão única)

A – Irrigação final com detergente Tergensol, concomitante com aspiração.

B – Secagem dos canais radiculares por sucção.

C – Secagem dos canais radiculares com pontas de papel absorvente.

D - Proporção 1:1:1 de Iodofórmio, Paramonoclorofenol canforado e Rifocort[®] para preparo da Pasta Guedes-Pinto.

E – Pasta Guedes-Pinto manipulada em consistência cremosa, de coloração homogênea.

F – Lentulo calibrada no comprimento de trabalho.

G – Preenchimento dos canais radiculares com a Pasta Guedes-Pinto através de uma Lentulo.

H – Pressão vertical com bolinha de algodão estéril embebida em álcool.

I – Remoção do excesso de material da câmara pulpar com bolinha de algodão estéril embebida em álcool.

J – Câmara pulpar limpa e obturação dos canais radiculares com a Pasta Guedes-Pinto.

Figura 20

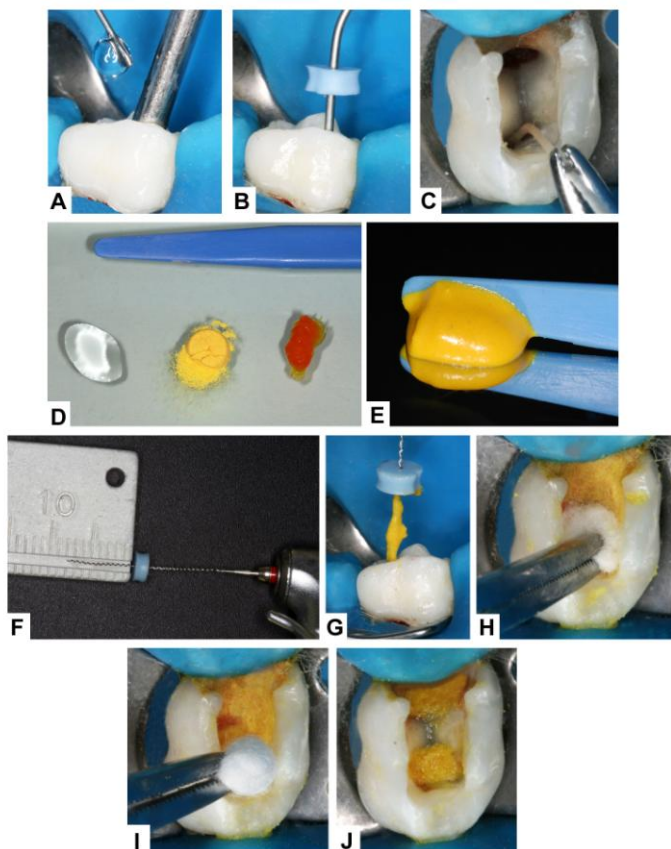


Figura 21 – Tratamento endodôntico de dentes decíduos com polpa mortificada (Técnica preconizada por Guedes-Pinto – Sessão única)

A – Inserção de base delgada de guta percha na câmara pulpar para selamento da obturação.

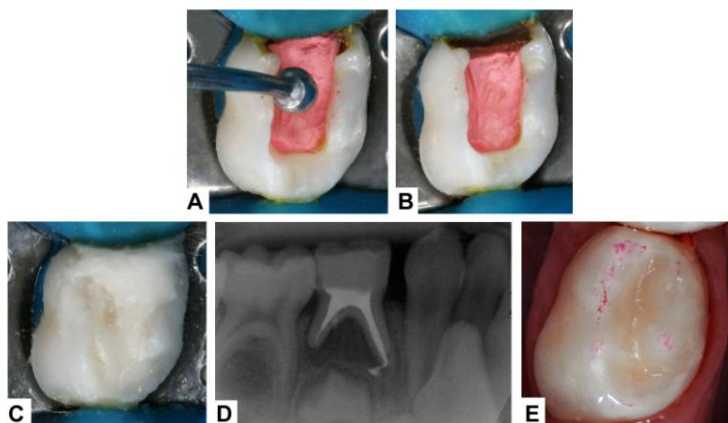
B – Remoção do excesso de guta percha na cervical.

C – Selamento coronário provisório com Cimento de Ionômero de Vidro.

D - Exame radiográfico periapical final para verificação da qualidade da obturação com a Pasta Guedes-Pinto.

E - Restauração definitiva com Resina Composta (2ª sessão).

Figura 21



9.3 ANEXO C - Normas do Periódico *Journal of Endodontics* para publicação dos artigos



AAE The Root Canal Specialists

Guidelines for Publishing Papers in the JOE

Writing an effective article is a challenging assignment. The following guidelines are provided to assist authors in submitting manuscripts.

1. The *JOE* publishes original and review articles related to the scientific and applied aspects of endodontics. Moreover, the *JOE* has a diverse readership that includes full-time clinicians, full-time academicians, residents, students and scientists. Effective communication with this diverse readership requires careful attention to writing style.

2. **General Points on Composition**

Authors are strongly encouraged to analyze their final draft with both software (e.g., spelling and grammar programs) and colleagues who have expertise in English grammar. References listed at the end of this section provide a more extensive review of rules of English grammar and guidelines for writing a scientific article. Always remember that clarity is the most important feature of scientific writing. Scientific articles must be clear and precise in their content and concise in their delivery since their purpose is to inform the reader. The Editor reserves the right to edit all manuscripts or to reject those manuscripts that lack clarity or precision, or have unacceptable grammar. The following list represents common errors in manuscripts submitted to the *JOE*:

a. The paragraph is the ideal unit of organization. Paragraphs typically start with an introductory sentence that is followed by sentences that describe additional detail or examples. The last sentence of the paragraph provides conclusions and forms a transition to the next paragraph. Common problems include one-sentence paragraphs, sentences that do not develop the theme of the paragraph (see also section "c", below), or sentences with little to no transition within a paragraph.

b. Keep to the point. The subject of the sentence should support the subject of the paragraph. For example, the introduction of authors' names in a sentence changes the subject and lengthens the text. In a paragraph on sodium hypochlorite, the sentence, "In 1983, Langeland et al., reported that sodium hypochlorite acts as a lubricating factor during instrumentation and helps to flush debris from the root canals" can be edited to: "Sodium hypochlorite acts as a lubricant during instrumentation and as a vehicle for flushing the generated debris (Langeland et al., 1983)". In this example, the paragraph's subject is sodium hypochlorite and sentences should focus on this subject.

c. Sentences are stronger when written in the active voice, i.e., the subject performs the action. Passive sentences are identified by the use of passive verbs such as "was," "were," "could," etc. For example: "Dexamethasone was found in this study to be a factor that was associated with reduced inflammation", can be edited to: "Our results demonstrated that dexamethasone reduced inflammation". Sentences written in a direct and active voice are generally more powerful and shorter than sentences written in the passive voice.

d. Reduce verbiage. Short sentences are easier to understand. The inclusion of unnecessary words is often associated with the use of a passive voice, a lack of focus or run-on sentences. This is not to imply that all sentences need be short or even the same length. Indeed, variation in sentence structure and length often helps to maintain reader interest. However, make all

words count. A more formal way of stating this point is that the use of subordinate clauses adds variety and information when constructing a paragraph. (This section was written deliberately with sentences of varying length to illustrate this point.)

- e. Use parallel construction to express related ideas. For example, the sentence, "Formerly, Endodontics was taught by hand instrumentation, while now rotary instrumentation is the common method", can be edited to "Formerly, Endodontics was taught using hand instrumentation; now it is commonly taught using rotary instrumentation". The use of parallel construction in sentences simply means that similar ideas are expressed in similar ways, and this helps the reader recognize that the ideas are related.
- f. Keep modifying phrases close to the word that they modify. This is a common problem in complex sentences that may confuse the reader. For example, the statement, "Accordingly, when conclusions are drawn from the results of this study, caution must be used", can be edited to "Caution must be used when conclusions are drawn from the results of this study".
- g. To summarize these points, effective sentences are clear and precise, and often are short, simple and focused on one key point that supports the paragraph's theme.

General Points on the Organization of Original Research Manuscripts

- a. **Please Note:** *Starting in 2009, all abstracts should be organized into sections that start with a one-word title (in bold), i.e., Introduction, Methods, Results, Conclusions, etc., and should not exceed more than 250 words in length.*
- b. **Title Page:** The title should describe the major conclusion of the paper. It should be as short as possible without loss of clarity. Remember that the title is your advertising billboard—it represents your major opportunity to solicit readers to spend the time to read your paper. It is best not to use abbreviations in the title since this may lead to imprecise coding by electronic citation programs such as PubMed (e.g., use "sodium hypochlorite" rather than NaOCl). The author list must conform to published standards on authorship (see authorship criteria in the Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals at www.icmje.org).
- c. **Abstract:** The abstract should concisely describe the purpose of the study, the hypothesis, methods, major findings and conclusions. The abstract should describe the new contributions made by this study. The word limitations (250 words) and the wide distribution of the abstract (e.g., PubMed) make this section challenging to write clearly. This section often is written last by many authors since they can draw on the rest of the manuscript. Write the abstract in past tense since the study has been completed. Three to ten keywords should be listed below the abstract.
- d. **Introduction:** The introduction should briefly review the pertinent literature in order to identify the gap in knowledge that the study is intended to address. The purpose of the study, the tested hypothesis and its scope should be described. Authors should realize that this section of the paper is their primary opportunity to establish communication with the diverse readership of the *JOE*. Readers who are not expert in the topic of the manuscript are likely to skip the paper if the introduction fails to provide sufficient detail. However, many successful manuscripts require no more than a few paragraphs to accomplish these goals.
- e. **Material and Methods:** The objective of the methods section is to permit other investigators to repeat your experiments. The three components to this section are the experimental design, the procedures employed, and the statistical tests used to analyze the results. The vast majority of manuscripts should cite prior studies using similar methods and succinctly describe the particular aspects used in the present study. The inclusion of a "methods figure" will be rejected unless the procedure is novel and requires an illustration for comprehension. If the method is novel, then the authors should carefully describe the method and include validation experiments. If the study utilized a commercial product, the manuscript should state that they either followed manufacturer's protocol or specify any changes made to the protocol. Studies on humans should conform to the Helsinki Declaration of 1975 and state that the institutional IRB approved the protocol and that informed consent was obtained. Studies involving animals should state that the institutional animal care and use committee approved the protocol. The statistical analysis section should describe which tests were used to analyze which dependent measures; p-values should be specified. Additional details may include randomization scheme,

- stratification (if any), power analysis, drop-outs from clinical trials, etc.
- f. **Results:** Only experimental results are appropriate in this section (i.e., neither methods nor conclusions should be in this section). Include only those data that are critical for the study. Do not include all available data without justification, any repetitive findings will be rejected from publication. All Figs./Charts/Tables should be described in their order of numbering with a brief description of the major findings.

Figures: There are two general types of figures. The first type of figure includes photographs, radiographs or micrographs. Include only essential figures, and even if essential, the use of composite figures containing several panels of photographs is encouraged. For example, most photo-, radio- or micrographs take up one column-width, or about 185 mm wide X 185 mm tall. If instead, you construct a two columns-width figure (i.e., about 175 mm wide X 125 mm high when published in the *JOE*), you would be able to place about 12 panels of photomicrographs (or radiographs, etc.) as an array of four columns across and three rows down (with each panel about 40 X 40 mm). This will require some editing on your part given the small size of each panel, you will only be able to illustrate the most important feature of each photomicrograph. Remember that each panel must be clearly identified with a letter (e.g., "A", "B", etc.), in order for the reader to understand each individual panel. Several nice examples of composite figures are seen in recent articles by Chang, et al, (*JOE* 28:90, 2002), Hayashi, et al, (*JOE* 28:120, 2002) and by Davis, et al (*JOE* 28:464, 2002). At the Editor's discretion, color figures may be published at no cost to the authors. However, the Editor is limited by a yearly allowance and this offer does not include printing of reprints.

The second type of figure are graphs (i.e., line drawings) that plot a dependent measure (on the Y axis) as a function of an independent measure (usually plotted on the X axis). Examples include a graph depicting pain scores over time, etc. Graphs should be used when the overall trend of the results are more important than the exact numerical values of the results. For example, a graph is a convenient way of reporting that an ibuprofen treated group reported less pain than a placebo group over the first 24 hours, but was the same as the placebo group for the next 96 hours. In this case, the trend of the results is the primary finding; the actual pain scores are not as critical as the relative differences between the NSAID and placebo groups.

Tables: Tables are appropriate when it is critical to present exact numerical values. However, not all results need be placed in either a table or figure. For example, the following table may not necessary:

% NaOCl	N/Group	% Inhibition of Growth
0.001	5	0
0.003	5	0
0.01	5	0
0.03	5	0
0.1	5	100
0.3	5	100
1	5	100
3	5	100

Instead, the results could simply state that there was no inhibition of growth from 0.001-0.03% NaOCl, and 100% inhibition of growth from 0.03-3% NaOCl (N=5/group). Similarly, if the results are not significant, then it is probably not necessary to include the results in either a table or as a figure. These and many other suggestions on figure and table construction are described in additional detail in Day (1998).

- f. **Discussion:** The conclusion section should describe the major findings of the study.

Both the strength and weaknesses of the observations should be discussed. What are the major conclusions of the study? How does the data support these conclusions? How do these findings compare to the published literature? What are the clinical implications? Although this last section might be tentative given the nature of a particular study, the authors should realize that even preliminary clinical implications might have value for the clinical readership. Ideally, a review of the potential clinical significance is the last section of the discussion.

- g. **References:** The reference style follows Index Medicus and can be efficiently learned from reading past issues of the *JOE*. Citations are placed in parentheses at the end of a sentence or at the end of a clause that requires a literature citation. Do not use superscript for references. Original reports are limited to 35 references. There are no limits in the number of references for review articles.
4. **Page Limitations for Manuscripts in the Category of Basic Science/Endodontic Techniques**
- a. **What is the limitation?** Original research reports in the category of basic science/endodontic techniques are limited to no more than 2,000 words (total for the abstract, introduction, methods, results and conclusions), and a total of three Figs./Charts/Tables. If a composite figure is used (as described above), then this will count as two of the three permitted Figs./Charts/Tables.
 - b. **Does this apply to me?** Manuscripts submitted to the *JOE* can be broadly divided into several categories including review articles, clinical trials (e.g., prospective or retrospective studies on patients or patient records, or research on biopsies excluding the use of human teeth for technique studies), basic science/biology (animal or culture studies on biological research related to endodontics, or relevant pathology or physiology), and basic science/techniques (e.g., stress/strain/compression/strength/failure/composition studies on endodontic instruments or materials). Manuscripts submitted in this last category are the only category subject to these limitations. If you are not sure whether your manuscript falls within this category please contact the Editor by e-mail at jendodontics@uthscsa.edu.
 - c. **Why page limitations?** Most surveyed stakeholders of the *JOE* desire timely publication of submitted manuscripts and an extension of papers to include review articles and other features. To accomplish these goals, we must reduce the average length of manuscripts since increasing the *JOE*'s number of published pages is prohibitively expensive. Although a difficult decision, restricting this one category of manuscripts accomplishes nearly all of these goals since ~40-50% of published papers are in this category.
 - d. **How do I make my manuscript fit these limitations?** Adhering to the general writing methods described in these guidelines (and in the resources listed below) will help to reduce the size of the manuscript. Authors are encouraged to focus on only the essential aspects of the study and to avoid inclusion of extraneous text and figures. The Editor will reject manuscripts that exceed these limitations.
5. **Available Resources:**
- a. Strunk W, White EB. The Elements of Style. Allyn & Bacon, 4th ed, 2000, ISBN 020530902X
 - b. Day R.. How to Write and Publish a Scientific Paper. Oryx Press, 5th ed. 1998. ISBN 1-57356-164-9
 - c. Woods G. English Grammar for Dummies. Hungry Minds:NY, 2001 (an entertaining review of grammar)
 - d. Alley M. The Craft of Scientific Writing. Springer, 3rd edition 1996 SBN 0-387-94766-3.
 - e. Alley M. The Craft of Editing. Springer, 2000 SBN 0-387-98964-1.

9.4 ANEXO D – Produção científica durante o Mestrado

1. Artigos completos publicados

- 1) TRICHES TC, XIMENES FILHO M, CORDEIRO MMR. Influência de fatores genéticos e ambientais no desenvolvimento da cavidade bucal – Relato de caso de gêmeos bivitelinos. **Revista Full Dentistry in Science**. v.2, p.186-192, 2010.
- 2) TRICHES TC, CORDEIRO MMR, SOUZA JGMV, SALTORI EK, FRANÇA BHS. Aceitação dos pais quanto ao uso do Diaminofluoreto de Prata em crianças de 0 a 3 anos de Cascavel/PR. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**. v.9, n.3, p.265-269, 2009.
- 3) CORDERO EB, TRICHES TC, BENFATTI CAM, MAGINI RS, CORDEIRO MMR. Oral rehabilitation with transitional dental implants in a pediatric patient. **Odontología Pediátrica**. v.17, p.9-12, 2009.
- 4) CORDERO EB, TRICHES TC, BENFATTI CAM, MAGINI RS, CORDEIRO MMR. Rehabilitación oral con implantes dentales provisionales en el paciente pediátrico. **Odontología Pediátrica**. v.17, p.5-9, 2009.

2. Artigos submetidos à avaliação para publicação

- 1) BATISTA LRV, TRICHES TC, MOREIRA EAM. Fissura lábio-palatal e desenvolvimento bucal-nutricional: Uma reflexão. **Revista Paulista de Pediatria**. Submitted 2010.
- 2) TRICHES TC, AMBROS TG, FARIAS DCS, CORDEIRO MMR, RATH IBS, BOSCO VL. Direitos Humanos, Autonomia e Vulnerabilidade: Preservação da dignidade humana no desenvolvimento da ciência em saúde. **Revista da ABENO**. Submitted 2009.

3. Produção de Anais

- 1) TRICHES TC, XIMENES FILHO M, CARDOSO M, BOLAN M. Granuloma Piogênico: Relato de caso em paciente

- odontopediátrico. In: Anais do X Congresso Internacional de Odontologia do Paraná – CIOPAR, Curitiba. 2009. p.295.
- 2) DE PAULA LK, TRICHES TC, XIMENES FILHO M, BOLAN M. Tratamento de alveólise e erupção ectópica: Exodontia e expensor de maxila – Relato de caso. In: Anais do X Congresso Internacional de Odontologia do Paraná – CIOPAR, Curitiba. 2009. p.135.
 - 3) VIEIRA DP, TRICHES TC, XIMENES FILHO M, BELTRAME APSCA, GARCIA LP, VIEIRA RS, CORDEIRO MMR. Estão os alunos de Odontologia preparados para o futuro? Qual a sua atitude em relação ao Projeto Genoma Humano? In: Anais do 19º Seminário de Iniciação Científica, Florianópolis. 2009.
 - 4) SANTOS GL, BELTRAME APSCA, TRICHES TC, XIMENES FILHO M, BOLAN M, SILVA DB, VIEIRA RS. Análise da Microinfiltração de Materiais Restauradores Provisórios em Dentes Decíduos. In: Anais do 19º Seminário de Iniciação Científica, Florianópolis. 2009.
 - 5) VIEIRA DP, TRICHES TC, XIMENES FILHO M, BELTRAME APSCA, GARCIA LP, VIEIRA RS, CORDEIRO MMR. Estão os alunos de Odontologia preparados para o futuro? Qual a sua atitude em relação ao Projeto Genoma Humano? In: Anais da 26ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica – SBPqO, Águas de Lindóia. 2009. p.88.
 - 6) SANTOS GL, BELTRAME APSCA, TRICHES TC, XIMENES FILHO M, BOLAN M, SILVA DB, VIEIRA RS. Análise da Microinfiltração de Materiais Restauradores Provisórios em Dentes Decíduos. In: Anais da 26ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica – SBPqO, Águas de Lindóia. 2009. p.42.
 - 7) TRICHES TC, XIMENES FILHO M, BELTRAME APSCA, HILGERT LA, CARDOSO M, VIEIRA RS. Efeito da irrigação endodôntica com hipoclorito de sódio 1% e EDTA 17% em dentes decíduos: análise em microscopia eletrônica de varredura. In: Anais da 26ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica – SBPqO, Águas de Lindóia. 2009. p.196.

- 8) TRICHES TC, CORDERO EB, BENFATTI CAM, MAGINI RS, CORDEIRO MMR. Implantes dentários provisórios como opção de tratamento para pacientes odontopediátricos. In: Anais do 40º Encontro do Grupo Brasileiro de Professores de Ortodontia e Odontopediatria, São Pedro. 2009.
- 9) XIMENES FILHO M, TRICHES TC, BELTRAME APSCA, CARDOSO M. Avaliação da irrigação endodôntica final com EDTA 17% em dentes decíduos: análise em MEV. In: Anais do 40º Encontro do Grupo Brasileiro de Professores de Ortodontia e Odontopediatria, São Pedro. 2009.
- 10) TRICHES TC, XIMENES FILHO M, DE PAULA LK, BOLAN M, VIEIRA RS. Alveólise e Erupção ectópica – Sequelas de infecção em dentes decíduos: Relato de caso. In: Anais do XXII Congresso Brasileiro de Odontopediatria e VII Encontro Sul-Brasileiro de Odontopediatria, Jaraguá do Sul. 2009. p.18.
- 11) TRICHES TC, XIMENES FILHO M, CORDEIRO MMR. Influência de fatores genéticos e ambientais no padrão de desenvolvimento em gêmeos bivitelinos – Relato de caso. In: Anais do XXII Congresso Brasileiro de Odontopediatria e VII Encontro Sul-Brasileiro de Odontopediatria, Jaraguá do Sul. 2009. p.84.
- 12) XIMENES FILHO M, TRICHES TC, SILVA E, VIEIRA RS. Remoção cirúrgica de Mesiodens sob Sedação consciente com Óxido Nitroso: Relato de dois casos clínicos. In: Anais do XXII Congresso Brasileiro de Odontopediatria e VII Encontro Sul-Brasileiro de Odontopediatria, Jaraguá do Sul. 2009. p.93.
- 13) TRICHES TC, SANTOS BZ, FAUST K, CORDEIRO MMR. Inflamação/infecção periapical em dente decíduo e seu efeito nas dentições – Relato de Caso. In: 39º Anais do Encontro do Grupo Brasileiro de Professores de Ortodontia e Odontopediatria, Curitiba. Maringá: Dental Press, 2008. v.39. p.142.
- 14) BELTRAME APSCA, VIEIRA RS, OLIVEIRA J, ALMEIDA ICS, CARDOSO M, BOLAN M, CORDEIRO MMR, AREAL R, TRICHES TC, XIMENES FILHO M. Cuidados com a Saúde Bucal: educação e motivação na sala de espera. In: 7º Anais da SEPEX – Semana de Ensino, Pesquisa e Extensão –

Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.
Florianópolis: UFSC, 2008. v.7.

4. Apresentação de trabalhos

- 1) TRICHES TC, XIMENES FILHO M, CARDOSO M, BOLAN M. (Painel) Granuloma Piogênico: Relato de caso em paciente odontopediátrico. X Congresso Internacional de Odontologia do Paraná – CIOPAR, Curitiba. 2009.
- 2) TRICHES TC, CORDERO EB, BENFATTI CAM, MAGINI RS, CORDEIRO MMR. (Painel) Implantes dentários provisórios como opção de tratamento para pacientes odontopediátricos. 40º Encontro do Grupo Brasileiro de Professores de Ortodontia e Odontopediatria, São Pedro. 2009.
- 3) TRICHES TC, XIMENES FILHO M, CORDEIRO MMR. (Painel) Fatores genéticos e ambientais no desenvolvimento de gêmeos bivitelinos – Relato de caso. IV Congresso Internacional de Odontologia de Santa Catarina – CIOSC, Florianópolis. 2009.
- 4) TRICHES TC, XIMENES FILHO M, BELTRAME APSCA, HILGERT LA, CARDOSO M, VIEIRA RS. (Painel) Efeito da irrigação endodôntica com hipoclorito de sódio 1% e EDTA 17% em dentes decíduos: análise em microscopia eletrônica de varredura. 26ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica – SBPqO, Águas de Lindóia. 2009.
- 5) TRICHES TC, XIMENES FILHO M, DE PAULA LK, BOLAN M, VIEIRA RS. (Painel) Alveólise e Erupção ectópica – Sequelas de infecção em dentes decíduos: Relato de caso. XXII Congresso Brasileiro de Odontopediatria e VII Encontro Sul-Brasileiro de Odontopediatria, Jaraguá do Sul. 2009.
- 6) TRICHES TC, XIMENES FILHO M, CORDEIRO MMR. (Oral) Influência de fatores genéticos e ambientais no padrão de desenvolvimento em gêmeos bivitelinos – Relato de caso. XXII Congresso Brasileiro de Odontopediatria e VII Encontro Sul-Brasileiro de Odontopediatria, Jaraguá do Sul. 2009.
- 7) TRICHES TC, SANTOS BZ, FAUST K, CORDEIRO MMR. (Painel) Inflamação/infecção periapical em dente decíduo e seu efeito nas dentições – Relato de Caso. 39º Encontro do Grupo

Brasileiro de Professores de Ortodontia e Odontopediatria, Curitiba. 2008.

5. Prêmios

- 1) **1º lugar na categoria Painel no XXXI Encontro Acadêmico de Atualização Odontológica da Universidade Federal de Santa Catarina, 2009.**
COMIN LA, STUBINSKI KS, SANTOS BZ, TRICHES TC, CORDEIRO MMR
Potencial das Células-Tronco de Origem Dental na Regeneração de Tecidos do Complexo Craniofacial.
- 2) **2º Lugar na categoria Tema Livre Oral no XXXII Encontro Acadêmico de Atualização Odontológica da Universidade Federal de Santa Catarina, 2009.**
VIEIRA DP, TRICHES TC, XIMENES FILHO M, BELTRAME APSCA, CORDEIRO MMR
Qual a atitude dos estudantes de Odontologia em relação ao Projeto Genoma Humano? Qual a sua importância na prática Odontológica?

6. Participação em eventos

- 1) 40º Encontro do Grupo Brasileiro de Professores de Ortodontia e Odontopediatria, São Pedro – SP, 2009.
- 2) 19º Seminário de Iniciação Científica – UFSC, Florianópolis – SC, 2009.
- 3) X Congresso Internacional de Odontologia do Paraná – CIOPAR, Curitiba – PR, 2009.
- 4) IV Congresso Internacional de Odontologia de Santa Catarina – CIOSC, Florianópolis – SC, 2009.
- 5) 4ª Semana de Ortodontia da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC, 2009.
- 6) 26ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica – SBPqO, Águas de Lindóia – SP, 2009.
- 7) XXXII Encontro Acadêmico de Atualização Odontológica da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC, 2009.

- 8) XXII Congresso Brasileiro de Odontopediatria e VII Encontro Sul-Brasileiro de Odontopediatria, Jaraguá do Sul – SC, 2009.
- 9) XXXI Encontro Acadêmico de Atualização Odontológica da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC, 2009.
- 10) 27º Congresso Internacional de Odontologia de São Paulo – CIOSP, São Paulo – SP, 2009.
- 11) 25ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica – SBPqO, Águas de Lindóia – SP, 2008.
- 12) 39º Encontro do Grupo Brasileiro de Professores de Ortodontia e Odontopediatria, Curitiba – PR, 2008.
- 13) 7ª Semana de Ensino, Pesquisa e Extensão – SEPEX - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC, 2008.

7. Estágios / Supervisões

- 1) Supervisão de estagiários de graduação em Odontologia no Setor de Odontopediatria no Núcleo de Atendimento a Pacientes com Deformidades Faciais da Universidade Federal de Santa Catarina – NAPADF/UFSC, Florianópolis – SC, 2008.

8. Orientações em andamento

- 1) Daniela Peressoni Vieira. Estão os alunos de Odontologia preparados para o futuro? Qual a sua atitude em relação ao Projeto Genoma Humano? Início: 2008. Iniciação científica (Graduando em Odontologia) – Universidade Federal de Santa Catarina.
- 2) Leonardo Koerich de Paula. Tratamento de Alveólise e Erupção Ectópica: Exodontia e Expansor da Maxila – Relato de caso. Início: 2009. (Graduando em Odontologia) – Universidade Federal de Santa Catarina.

9. Orientações concluídas

- 1) Geórgia Linhares dos Santos. Análise de materiais restauradores provisórios quanto a microinfiltração em dentes decíduos. Início: 2008, Término: 2010. Iniciação científica

(Graduando em Odontologia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

- 2) Liz Anie Comin e Ketlin Sartor Stubinski. Potencial das células-tronco de origem dental na regeneração de tecidos do complexo craniofacial. Início: 2009, Término: 2009. Universidade Federal de Santa Catarina.
- 3) Leonardo Koerich de Paula. Alveólise e Erupção ectópica – Sequelas de infecção em dentes decíduos: Relato de caso. Início: 2009, Término: 2009. Universidade Federal de Santa Catarina.
- 4) Emanuely da Silva. Remoção cirúrgica de Mesiodens sob Sedação consciente com Óxido Nítrico: Relato de dois casos clínicos. Início: 2009, Término: 2009. Universidade Federal de Santa Catarina.
- 5) Daniela Peressoni Vieira. Qual a atitude dos estudantes de Odontologia em relação ao Projeto Genoma Humano? Qual a sua importância na prática Odontológica? Início: 2009, Término: 2009. Universidade Federal de Santa Catarina.
- 6) Geórgia Linhares dos Santos. Análise da microinfiltração de materiais restauradores provisórios em dentes decíduos. Início: 2009, Término: 2009. Universidade Federal de Santa Catarina.
- 7) Renata Fagundes e Renata Carvalho. Tratamento de erupção ectópica de um incisivo central superior permanente – Relato de caso clínico. Início: 2009, Término: 2009. Universidade Federal de Santa Catarina.
- 8) Renata Carvalho e Renata Fagundes. Tratamento de erupção ectópica de um incisivo central superior permanente – Relato de caso clínico. Início: 2009, Término: 2009. Universidade Federal de Santa Catarina.

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](#)