

Kely Firmino Bruno

**Análise microscópica da polpa e microbiológica
do canal radicular de dentes permanentes
traumatizados**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Odontologia da Universidade Federal de
Uberlândia, para obtenção do Título de
Mestre em Odontologia, Área de
Concentração em Reabilitação Oral.

Uberlândia
2006

Kely Firmino Bruno

**Análise microscópica da polpa e microbiológica
do canal radicular de dentes permanentes
traumatizados**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Odontologia da Universidade Federal de
Uberlândia, para obtenção do Título de
Mestre em Odontologia, Área de
Concentração em Reabilitação Oral.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Estrela

Banca Examinadora:
Prof. Dr. Carlos Estrela
Prof. Dr. João Carlos Gabrielli Biffi
Profa. Dra. Ana Helena G. de Alencar

Uberlândia
2006

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Odontologia, em sessão pública realizada em 16 de junho de 2006, considerou a candidata Kely Firmino Bruno aprovada.

1. Prof. Dr. Carlos Estrela (Orientador)

2. Prof. Dr. João Carlos Gabrielli Biffi

3. Profa. Dra. Ana Helena Gonçalves de Alencar

É com amor que dedico este trabalho,

à **Deus**, por me dar a vida e todos os meios para nela prosseguir, sempre me guiando e sustentando.

“Eu vos amo, Senhor, minha força!

O Senhor é o meu rochedo, minha fortaleza e meu libertador.” (Salmo 17, 3)

Aos meus pais **Murilo** e **Tânia**, que com o dom incansável do amor e muita dedicação me educam e acompanham desde os primeiros passos. Vocês são motivo de orgulho para mim, fonte de luz e inspiração para a busca de caminhos melhores.

“Ouve, meu filho, a instrução de teu pai,

não desprezes o ensinamento de tua mãe.

Isso será, pois, um diadema de graça para tua cabeça

e um colar para teu pescoço.” (Provérbios 1, 8-9)

Ao meu marido **Samuel**, amor de minha vida, homem precioso, amigo fiel, companheiro único em todos os momentos. Não existem palavras para expressar o quanto lhe sou grata.

“O amor é paciente, é bondoso.

Não tem inveja, não é orgulhoso, não é arrogante, nem escandaloso.

Não busca seus próprios interesses, não se irrita, não guarda rancor.

Não se alegra com a injustiça, mas se rejubila com a verdade.

Tudo desculpa, tudo crê, tudo espera, tudo suporta.

O amor jamais acabará.” (I Coríntios 13, 4-8)

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao Professor Doutor **Carlos Estrela**,

pelo exemplo legado como mestre e ser humano, pela dedicação incansável ao ensino e à pesquisa, pela contribuição valiosa dada à minha formação, pela oportunidade concedida e pela confiança na condução deste trabalho. É um grande orgulho tê-lo como orientador. Muito obrigada!

À Professora Doutora **Ana Helena Gonçalves de Alencar**,

que, com dedicação e paciência, orientou-me desde os primeiros passos na elaboração de um trabalho de pesquisa. Minha eterna gratidão pela confiança em mim depositada, pela motivação constante em toda a caminhada, pela orientação preciosa, pela amizade e pela mão estendida sempre pronta a me ajudar.

AGRADEÇO

À Professora Doutora **Aline de Carvalho Batista,**

que, com dedicação e afinco, esteve sempre presente na realização deste trabalho. Muito obrigada pelo incentivo, pelos ensinamentos, pela presteza e amizade.

À Professora Doutora **Fabiana Cristina Pimenta,**

pela evidente competência, disponibilidade e dedicação dispensadas à realização deste trabalho. Muito obrigada por sua valiosa colaboração.

Ao Professor Dr. **Hugo Alexandre de Sousa,**

pelos ensinamentos transmitidos que muito contribuíram para minha formação, pelo incentivo, pela presteza e pelas sábias sugestões referentes a este trabalho.

À Professora Doutora **Isabel Yoko Ito,**

que não mediu esforços para nos ajudar. Receba um agradecimento especial pela disposição e pelo tempo precioso dispensado à avaliação microscópica das lâminas.

AGRADECIMENTOS

Aos meus avós **Mário** e **Laura**, pessoas iluminadas por Deus, que, com amor e zelo, me acolheram e cuidaram de mim enquanto estive em Uberlândia. Não há palavras que expressem minha gratidão.

À minha irmã **Kênia** e meu afilhado **Guilherme**, que, com carinho e dedicação, estão sempre presentes, apoiando-me aonde quer que eu vá.

A toda minha família pelo amor, incentivo, compreensão e alegria.

À família do meu marido, em especial ao Sr. **Oto** e D. **Divina**, pelo carinho, incentivo e apoio incondicionais ao longo desta caminhada.

A todos os funcionários, professores e colegas do Curso de Mestrado, pela gentil acolhida, pela agradável convivência e pelos sábios ensinamentos que muito contribuíram para minha formação.

Às minhas amigas **Marina**, **Edilene** e **Sue Ellen**, pela lealdade, compreensão e ajuda durante todo esse tempo.

A todos os integrantes do Projeto de Pesquisa e Extensão **Lugar de dente é na boca** da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Goiás e, em especial, à Dra. **Cláudia Daniela M. Portilho**, com quem compartilho esta vitória.

Àqueles que contribuíram para realização desse sonho, muito obrigada!

AGRADECIMENTOS INSTITUCIONAIS

À Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia, na pessoa do Digníssimo Diretor Prof. Dr. **Alfredo Júlio Fernandes Neto**.

Ao Curso de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia por meio de seu Coordenador Prof. Dr. **Carlos José Soares** e seu antecessor Prof. Dr. **João Carlos Gabrielli Biffi**.

À Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Goiás, na pessoa do Digníssimo Diretor Prof. Dr. **Gersinei Carlos de Freitas**.

SUMÁRIO

RESUMO	11
ABSTRACT	13
1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DA LITERATURA	21
2.1 NECROSE PULPAR APÓS TRAUMATISMO DENTÁRIO	21
2.2 MICROSCOPIA DO TECIDO PULPAR DE DENTES TRAUMATIZADOS	34
2.3 MICROBIOTA DO CANAL RADICULAR DE DENTES TRAUMATIZADOS	41
3 PROPOSIÇÃO	45
4 MATERIAL E MÉTODOS	46
4.1 PROCEDIMENTOS CLÍNICOS	46
4.2 PROCESSAMENTO MICROBIOLÓGICO	53
4.2.1 ISOLAMENTO E CONTAGEM MICROBIANA	53
4.2.2 IDENTIFICAÇÃO PRESUNTIVA	53
4.3 PROCESSAMENTO LABORATORIAL	54
4.3.1 PREPARO DAS AMOSTRAS	54
4.3.2 ANÁLISE MICROSCÓPICA	55
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	58
5 RESULTADOS	59
5.1 AVALIAÇÃO CLÍNICA E RADIOGRÁFICA	59
5.2 ANÁLISE MICROSCÓPICA	60

5.3	AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA	65
5.4	CORRELAÇÃO ENTRE OS CRITÉRIOS CLÍNICOS E RADIOGRÁFICOS E OS ACHADOS MICROSCÓPICOS E MICROBIOLÓGICOS	65
6	DISCUSSÃO	68
6.1	DA METODOLOGIA	68
6.2	DOS RESULTADOS	74
7	CONCLUSÃO	85
	REFERÊNCIAS	86
	ANEXOS	97
	ANEXO 1	98
	ANEXO 2	100
	ANEXO 3	101
	ANEXO 4	103
	ANEXO 5	105
	ANEXO 6	107
	ANEXO 7	108

RESUMO

O presente estudo teve como objetivos analisar microscopicamente a polpa de dentes humanos permanentes traumatizados com diagnóstico clínico de necrose pulpar, avaliar a presença de microrganismos no canal radicular e correlacionar critérios clínicos e radiográficos com achados microscópicos e microbiológicos. Foram selecionados 20 dentes com coroa íntegra que sofreram traumatismo aos tecidos periodontais, nos quais, durante o acompanhamento clínico e radiográfico, foi diagnosticada a necrose pulpar. Em cada dente foram realizadas a coleta microbiológica do canal radicular e a remoção do tecido pulpar que foi submetido às técnicas de coloração de Hematoxilina e Eosina e Brown e Brenn. As análises descritivas e estatísticas (Análise de diagnóstico, Teste de Wilcoxon e Teste de Regressão Linear) possibilitaram as seguintes observações: dos 20 dentes traumatizados, 3 não apresentaram tecido pulpar suficiente que permitisse avaliação microscópica e 17 apresentaram-se com polpas necróticas; em 12 das 17 amostras de polpas pôde ser verificada, pelo método de Brown e Brenn, a presença de microrganismos; a avaliação microbiológica detectou desenvolvimento microbiano em 17 canais radiculares (85,0%), com predominância de bactérias anaeróbias facultativas; nenhum dos critérios clínicos utilizados foi patognomônico (100,0%) para o diagnóstico de necrose pulpar nos dentes traumatizados, sendo os testes de sensibilidade pulpar térmicos relativos ao calor (90,0%) e ao frio (85,0%) e o teste de percussão vertical (75,0%) os que apresentaram maior sensibilidade; o teste de percussão vertical demonstrou alta sensibilidade (80,0%) na detecção de microrganismos presentes no canal radicular; tanto a condição do espaço

periodontal apical quanto o tempo decorrido do traumatismo até a intervenção endodôntica não mostraram correlação estatisticamente significativa com o número de microrganismos presentes no canal radicular dos dentes traumatizados, com exceção dos estreptococos bucais, cujo número revelava-se maior à medida que aumentava o tempo transcorrido. Concluiu-se que dos 20 dentes traumatizados com diagnóstico clínico de necrose pulpar, 3 dentes não apresentaram polpa para permitir análise microscópica e 17 apresentaram amostras de polpas necróticas ao exame microscópico; 85,0% apresentaram microrganismos no canal radicular e pôde-se observar uma correlação positiva entre os critérios clínicos e radiográficos utilizados para o diagnóstico de necrose pulpar com os achados microscópicos e microbiológicos.

Palavras-chave: traumatismo, necrose pulpar, microbiologia, microscopia.

ABSTRACT

The present study had the purpose of analysing microscopically the pulp tissue of human traumatized teeth with clinical diagnosis of pulp necrosis, evaluating the presence of microorganisms in the root canal and correlating clinical and radiographic criteria with microscopic and microbiologic findings. Twenty teeth were selected with intact crown that had injury in the periodontal tissues and that during the follow-up of the pulp condition, by clinic and radiographic evaluations, the pulp necrosis was clinically diagnosed. Microbiologic collect was performed in the root canal and the pulp tissue extirpated was stained with hematoxylin and eosin for microscopical evaluation and the adjacent slide stained to the Brown and Brenn method. The statistic and descriptive analyses (Analyse of diagnosis, Wilcoxon`s Test and Linear Regression Test) enabled the following observations: from 20 traumatized teeth 3 did not present enough pulp tissue to have a microscopic evaluation performed and 17 showed pulp necrosis; in 12 out of 17 pulps the presence of microorganisms could be conformed by Brown and Brenn method; the microbiological evaluation presented microbial development in 17 root canals (85,0%), with predominance of facultative anaerobics; none of clinical criteria used were pathognomonic (100,0%) to the diagnosis of the pulp necrosis in the traumatized teeth. Testings that showed more sensibility were termic pulp testing relative to hot (90,0%), relative to cold (85,0%) and the vertical percussion testing (75,0%); this last one also showed high sensibility (80,0%) in observing present microorganisms in the root canal; either the apical periodontal space condition (normal or increased) or the period of time the injury until the endodontic intervention

did not show statistically significant correlation to the number of present microorganisms in the root canal, except the *buccal streptococcus*, which number showed bigger as the time increased. It was conclude that among the 20 traumatized teeth with clinical diagnosis of pulp necrosis, 3 did not show pulp to allow a microscopic exam and 17 showed necrotic pulps in the microscopic exam; 85,0% showed microorganisms in the root canal and a positive correlation was observed between the clinic and radiographic criteria used to the pulp necrosis diagnosis with microscopic and microbiologic findings.

Key-words: traumatism, pulp necrosis, microbiology, microscopy.

1 INTRODUÇÃO

Os traumatismos dentários têm representado um desafio freqüente na clínica odontológica. Em países onde o controle da incidência de cárie se tornou efetivo, eles constituem o maior problema de saúde bucal entre os jovens. Estudos epidemiológicos realizados na Dinamarca revelaram a alarmante prevalência de 50,0% de traumatismos dentários entre os escolares de Copenhague, ao demonstrarem que uma de cada duas crianças até 14 anos já havia sofrido algum tipo de traumatismo ocorrido na dentição decídua ou permanente (Andreasen & Ravn, 1972). Na Suécia, verificou-se que os mesmos constituem o segundo tipo de traumatismo mais comum em crianças na idade pré-escolar (Sörensen, 1997). No Brasil, embora não existam dados epidemiológicos nacionais sobre traumatismo dentário, alguns estudos têm sido publicados baseados em populações de determinadas regiões. Em escolares de Belo Horizonte, foi encontrada uma prevalência de traumatismo dentário de 13,6% aos 12 anos de idade (Côrtes et al., 2001) e em escolares de Florianópolis, essa prevalência foi de 18,9% para esta mesma faixa etária (Traebert et al., 2003).

As principais causas destes traumatismos variam consideravelmente e incluem traumatismos iatrogênicos, quedas na infância, agressões físicas, colisões, esportes, acidentes automobilísticos, torturas, retardo mental, epilepsia e uso de drogas (Andreasen & Andreasen, 2001). Essa etiologia é, portanto, multifatorial e atinge grupos vulneráveis e específicos em diversas faixas etárias, porém a maior prevalência na dentição permanente é registrada aos 12 anos de idade e os incisivos centrais

superiores são os dentes mais atingidos (Bastos, 1996; Andreasen & Andreasen, 2001; Andreasen, 2003; Côrtes & Bastos, 2004).

Os traumatismos dentários resultam em lesões às estruturas pulpare e periodontais que, em última instância, comprometem a estética e a função do aparelho estomatognático, além de representarem um sério problema de ordem emocional e psicológica para o paciente (Andreasen & Ravn, 1972; Andreasen, 1985; Bastos, 1996; Andreasen & Andreasen, 1992; Côrtes & Bastos, 2004). As principais alterações pulpare decorrentes de traumatismos são: necrose, obliteração e reabsorção do canal radicular, sendo a primeira a mais freqüente (Bastos, 1996; Andreasen & Andreasen, 2001; Andreasen, 2003).

A necrose pulpar parece estar diretamente relacionada com os traumatismos de luxação (Skieller, 1960; Magnusson & Holm, 1969; Andreasen, 1970; Andreasen & Andreasen, 2001) e foi relatada por Andreasen (1970) em uma freqüência de 52,0% nos casos de luxações extrusivas, intrusivas e subluxações. Stalhane & Hedegard (1975), ao estudarem 1.132 dentes traumatizados, registraram que a necrose pulpar ocorreu em 54,0% dos dentes luxados e 11,6% dos dentes subluxados. Outros estudos também registraram a necrose pulpar como a complicação mais freqüente pós-traumatismo, variando de 37,0% após subluxações (Rock & Grundy, 1981) a 98,0% após luxações extrusivas em dentes com rizogênese completa (Dumsha & Hovland, 1982). Considerando todos os tipos de traumatismos, Haaviko & Rantanen (1976) relataram necrose pulpar em 42,3 % dos casos.

O desenvolvimento da necrose pulpar em dentes traumatizados é determinado por três fatores: a *presença de microrganismos*, capaz de comprometer os processos de revascularização e regeneração pulpar (Côrtes & Bastos, 2004), o *tipo de traumatismo*,

que está associado ao dano causado ao complexo pulpo-periodontal, e o *estágio de desenvolvimento radicular*, que se relaciona com a capacidade de reparo (Andreasen, 1970; Andreasen & Vestergaard-Pedersen, 1985; Feiglin, 1996; Robertson, 1998; Andreasen, 2003).

A concussão e a subluxação significam traumatismos com agressão mínima ao periodonto e à polpa, portanto, apresentam risco limitado de desenvolver necrose pulpar. Em contrapartida, este risco é aumentado nas avulsões e nas luxações extrusiva, lateral e intrusiva por causarem danos maiores à polpa, ao ligamento periodontal e ao osso alveolar (Andreasen, 1970; Rock & Grundy, 1981; Andreasen & Vestergaard-Pedersen, 1985). Dentes com rizogênese incompleta apresentam risco diminuído de desenvolver necrose pulpar em relação aos dentes com rizogênese completa em virtude da maior possibilidade de revascularização pulpar (Andreasen & Vestergaard-Pedersen, 1985; Andreasen & Andreasen, 1985; Bastos, 1996; Robertson, 1998; Andreasen, 2003; Côrtes & Bastos, 2004).

O conhecimento dos fatores que determinam a necrose pulpar é importante, já que eles podem determinar o prognóstico e influenciar a terapia a ser adotada imediata ou tardiamente em dentes traumatizados. Nos casos em que o dano ao suprimento neurovascular da polpa é severo (avulsão e luxação intrusiva) e o ápice é fechado (rizogênese completa), estudos afirmam ser a necrose pulpar o único resultado esperado (Robertson, 1998; Andreasen & Andreasen, 2001; Andreasen, 2003). Nos demais casos, a necrose pulpar também pode ocorrer, entretanto não é previsível, por isso necessita ser diagnosticada o quanto antes.

O diagnóstico da necrose pulpar em dentes traumatizados é necessário e requer uma intervenção endodôntica precoce para que se obtenha prognóstico mais favorável.

Todavia, este diagnóstico é limitado e pode apresentar falhas, uma vez que ainda não existe precisão nem padronização dos métodos de diagnóstico para determinação da condição pulpar após traumatismo dentário. Os exames clínicos e radiográficos atualmente disponíveis são imprecisos, cronologicamente isolados e não padronizados, além de refletirem somente alguns parâmetros do processo de reparo (Andreasen, 1985; Bastos, 1996; Andreasen, 2003; Cohenca et al., 2003).

Em 1985, Andreasen sugeriu os seguintes critérios para o diagnóstico de necrose pulpar pós-traumatismo: ausência de resposta aos testes de sensibilidade pulpar, escurecimento progressivo da coroa, radiolucidez periapical, paralização da rizogênese ou resposta positiva ao teste de percussão vertical. Entretanto, para Jacobsen (1980) estes critérios eram relativos e poderiam ter significados diferentes ao longo do período pós-traumatismo.

Mediante a realização de novos estudos, Andreasen (1989) observou que a ausência de resposta aos testes de sensibilidade pulpar após traumatismo não estaria necessariamente associada à necrose. A explicação para tal achado residiria no fato de que as provas de sensibilidade pulpar indicam a situação do contingente sensorial da polpa e não do seu suprimento sangüíneo, responsável pela nutrição e pelo metabolismo pulpar. Como, após um traumatismo, a revascularização é um processo mais rápido e eficiente do que a recuperação dos feixes nervosos, o resultado pode ser um dente com vitalidade, mas insensível.

As alterações de coloração da coroa também não parecem ser indicativas de necrose pulpar. Para Andreasen (1989), com a hemorragia intrapulpar pós-traumática, poderia haver o extravasamento de eritrócitos e dos subprodutos de sua decomposição para o tecido adjacente, que poderiam ser vistos através do esmalte e da dentina,

tornando a coroa rósea ou acinzentada. Uma vez restabelecida a circulação normal da área, esses subprodutos poderiam ser removidos e a coroa recuperar sua coloração original.

A presença de áreas radiolúcidas localizadas no periápice de dentes luxados pode ser erroneamente associada à necrose pulpar, visto que o exame radiográfico mostra o resultado final da atividade osteoclástica adjacente à superfície radicular, mas não o contexto em que ocorrem. Essas áreas podem ser indicativas de estágios intermediários do reparo pulpar (Andreasen, 1986).

Todas essas dificuldades de diagnóstico são mais críticas no período logo após os traumatismos, em que existe o risco do aparecimento da reabsorção inflamatória e a necessidade estética e funcional demanda um pronto tratamento restaurador, protético ou mesmo ortodôntico, o que depende, mormente, da definição da condição pulpar. Neste contexto, estudos têm sido realizados com o intuito de elucidar os fenômenos envolvidos no desenvolvimento da necrose pulpar após traumatismo dentário (Andreasen & Vestergaard-Pedersen, 1985; Andreasen, 1988; Robertson, 1998; Andreasen, 2003).

Em 1988, Andreasen realizou uma avaliação histobacteriológica de polpas extirpadas sob diagnóstico de necrose pulpar após traumatismo dentário, valendo-se dos seguintes critérios diagnósticos: alteração de coloração da coroa, ausência de resposta ao teste de sensibilidade pulpar elétrico, resposta positiva ao teste de percussão vertical ou alteração radiográfica. Verificou que 9,0% a 14,0% dessas polpas tinham potencial para reparo, portanto, não deveriam ter sido removidas.

Na maioria dos estudos sobre traumatismo dentário, o rompimento do feixe vâsculo-nervoso tem sido descrito como a causa da necrose pulpar, todavia sabe-se que

esse quadro é favorecido pela presença de microrganismos, os quais podem comprometer definitivamente os processos de revascularização e de regeneração do tecido pulpar isquêmico após lesões por luxação (Côrtes & Bastos, 2004). De acordo com Bergenholtz (1974), em dentes traumatizados com câmara pulpar intacta, a necrose pulpar pode permanecer com ausência de microrganismos por longo período de tempo bem como mostrar-se infectada. Algumas hipóteses têm sido fornecidas para explicar como os microrganismos alcançariam o tecido pulpar desses dentes: difusão da bactéria pelo fluxo sangüíneo, pelo ligamento periodontal para canais laterais e forame apical e/ou pelos túbulos dentinários nos casos de fraturas coronárias (Grossman, 1967; Bergenholtz, 1974; Taklan, 1974). Portanto, seja qual for a origem destes microrganismos em dentes traumatizados, sua identificação é de grande valia no estabelecimento da necrose pulpar. Todavia, a maioria dos estudos sobre traumatologia dentária é de natureza meramente clínica e os que fornecem análises microscópicas e microbiológicas do tecido pulpar de dentes traumatizados são escassos e sugestivos, o que caracteriza a necessidade de novas pesquisas.

Soma-se à esse fato, a dificuldade encontrada na clínica diária de se realizar o diagnóstico preciso da necrose pulpar em dentes traumatizados, devido a limitação e não padronização dos métodos de diagnóstico disponíveis para determinação da condição pulpar, o que fundamenta também a realização de novos estudos .

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 NECROSE PULPAR APÓS TRAUMATISMO DENTÁRIO

Andreasen (1970) avaliou como fatores que podem desencadear complicações pós-traumáticas em dentes permanentes a necrose pulpar, a obliteração do canal radicular, a reabsorção radicular e a perda de suporte ósseo marginal. O pesquisador selecionou 189 dentes permanentes luxados sem fraturas coronárias complicadas, sem fraturas radiculares e periodontite marginal, que foram agrupados de acordo com o tipo de luxação: subluxação, luxação intrusiva e luxação extrusiva. Os pacientes receberam tratamento inicial quando foram coletados os seguintes dados: idade do paciente no momento do traumatismo, sexo, tipo de traumatismo, número de dentes traumatizados, localização do dente, presença de fratura coronária não complicada e/ou fratura alveolar, laceração da gengiva e estágio de formação radicular. Os dentes que haviam sofrido deslocamento foram reposicionados. Nos exames de retorno e acompanhamento, os seguintes dados clínicos foram registrados: posição, teste de mobilidade e de percussão, alteração de coloração da coroa, testes de sensibilidade pulpar térmico (bastão de gelo e guta-percha) e elétrico (*Siemens Sirotest*) e profundidade de bolsa periodontal. Exame radiográfico também foi realizado. Uma análise multivariável foi aplicada para determinar a relação entre fatores clínicos e o desenvolvimento de necrose pulpar, de obliteração pulpar, de reabsorção radicular progressiva e de perda de suporte ósseo marginal. O período de observação variou de 1 a 12 anos e os resultados demonstraram que a necrose pulpar foi registrada em 98 dentes (52,0%) e esteve

significativamente relacionada com o tipo de luxação e com o estágio de desenvolvimento radicular. A menor frequência foi encontrada nas subluxações e em dentes com rizogênese incompleta; a maior, nas luxações intrusivas e em dentes com rizogênese completa. Os resultados levaram-no a concluir, em primeiro lugar, que complicações após traumatismos dentários podem ocorrer e, entre elas, a necrose pulpar é a mais comum; em segundo, que o tipo de luxação é preponderante no prognóstico de dentes traumatizados.

Apesar do aparecimento de complicações pós-traumáticas, o dente traumatizado pode permanecer vital ou readquirir sua vitalidade. No intuito de determinar o tempo necessário para se predizer a vitalidade de dentes após traumatismo dentário, Barkin (1973) realizou um trabalho utilizando 31 dentes permanentes traumatizados, sendo 22 com rizogênese incompleta e 9 com rizogênese completa. Esses dentes foram agrupados em cinco categorias de acordo com a classificação de Ellis. O exame clínico inicial avaliou: sintomas do paciente, presença de dor, resposta aos testes de sensibilidade pulpar térmicos (calor e frio) e elétrico, resposta ao teste de percussão e presença de deslocamento e mobilidade. O exame radiográfico também foi realizado para determinar o estágio de desenvolvimento radicular, a integridade da raiz e a extensão do deslocamento. Todos esses dentes foram tratados de acordo com suas necessidades no momento do trauma e então acompanhados em intervalos de seis semanas, três meses e um ano, através dos mesmos exames clínico e radiográfico realizados inicialmente. Ao final deste período, 90,9% dos dentes com rizogênese incompleta e 80,9% dos dentes com rizogênese completa se encontravam vitais. Houve uma variação nas respostas aos testes realizados no início e seis semanas após o traumatismo, entretanto, depois de três meses, o padrão de vitalidade pareceu estar

estabelecido. Assim, de acordo com o estudo, nenhum padrão para prever a vitalidade do dente traumatizado pôde ser estabelecido nos primeiros três meses; os dentes com vitalidade após esse período tenderam a permanecer vitais e, a partir de três meses do traumatismo, usando o tempo como fator único, na maioria dos casos, pôde ser feita uma predição segura sobre a vitalidade futura do dente.

Rock et al. (1974) investigaram a relação existente entre traumatismo e necrose pulpar em incisivos permanentes, para isso, selecionaram 801 dentes com rizogênese incompleta e completa. No tratamento emergencial, dentes com fratura coronária sem exposição pulpar foram forrados com pasta de hidróxido de cálcio e selados com cimento de óxido de zinco e eugenol. Os dentes com fratura coronária e exposição pulpar foram tratados com pulpotomia, nos casos de rizogênese incompleta, e com pulpectomia nos casos de rizogênese completa, sendo estes últimos descartados do estudo. No acompanhamento, os dentes foram avaliados segundo os seguintes critérios: presença de dor, fratura coronária ou radicular, mobilidade, alteração de cor e sensibilidade pulpar. Esta foi verificada através do teste elétrico pelo qual as leituras permitiram classificar os dentes em: vitais, não vitais e de vitalidade duvidosa, quando a resposta obtida estava próxima do máximo estímulo do teste elétrico. O período de acompanhamento foi de dois a sete anos. Os resultados mostraram as seguintes conclusões: o melhor prognóstico de manutenção de sensibilidade pulpar ocorreu nos dentes que apresentaram resposta positiva ao teste elétrico no primeiro atendimento; a resposta negativa ao teste elétrico no primeiro atendimento não foi indicativa de necrose pulpar, visto que alguns dentes readquiriram a sensibilidade após algum tempo do traumatismo; a probabilidade de necrose pulpar foi aumentada em dentes que apresentaram mobilidade no primeiro atendimento; a chance de sobrevivência pulpar foi

maior em crianças mais jovens, na idade de 6 a 8 anos e o tratamento de dentes fraturados dentro de um mês forneceu melhor chance de sobrevivência pulpar do que nos casos em que foi protelado por mais tempo.

Jacobsen (1980) avaliou 134 incisivos permanentes traumatizados com a finalidade de determinar critérios diagnósticos de necrose pulpar após traumatismo dentário. A classificação foi feita de acordo com o tipo de traumatismo ocorrido nesses dentes: fratura coronária sem exposição pulpar, subluxação com ou sem fratura coronária não complicada, luxação com ou sem fratura coronária não complicada (intrusão, extrusão e luxação lateral) e avulsão com subsequente reimplante. Também, de acordo com o desenvolvimento radicular, foram classificados em dentes com forame apical amplamente aberto e com forame apical parcialmente fechado ou estreito. Todos os pacientes receberam atendimento no prazo de um a dois dias após o traumatismo, quando foram realizados: teste de sensibilidade pulpar elétrico, exame radiográfico pela técnica do paralelismo, contenção nos casos de luxação extrusiva, lateral e subluxação, espera de reerupção espontânea nos casos de luxação intrusiva, reimplante no período de 10 minutos a 2 horas após avulsão e proteção pulpar com hidróxido de cálcio nos casos de fraturas coronárias profundas. Foi assegurado acompanhamento em intervalos de tempo regulares, de acordo com a severidade do traumatismo e os sinais e sintomas registrados na visita anterior. A condição pulpar foi avaliada por meio de teste de sensibilidade pulpar elétrico, teste de percussão, avaliação da mobilidade e da coloração do dente e exame radiográfico a fim de verificar o desenvolvimento radicular e as alterações periapicais. O diagnóstico de necrose pulpar nestes dentes baseou-se nos seguintes registros: resposta negativa ao teste elétrico e alterações radiográficas (76 dentes), resposta negativa ao teste elétrico e alteração de cor da coroa (45 dentes),

apenas resposta negativa ao teste elétrico (9 dentes) e resposta positiva ao teste elétrico e alterações radiográficas (4 dentes). O aparecimento de reabsorção radicular inflamatória confirmou o diagnóstico de necrose em todos os dentes reimplantados e em 13 dos 16 intruídos. O autor chegou às seguintes conclusões: exames freqüentes devem ser realizados para avaliar a resposta ao teste de sensibilidade pulpar elétrico; a presença de alterações periapicais e de cor devem ser esperadas como sinais decisivos de necrose; em dentes reimplantados e intruídos, o fator de diagnóstico mais importante foi a reabsorção radicular inflamatória; a maioria dos casos de necrose pulpar (87,0%) foi registrada em quatro meses nos dentes que sofreram traumatismos aos tecidos periodontais.

Rock & Grundy (1981) realizaram um estudo para determinar os efeitos da luxação e da subluxação no prognóstico de dentes permanentes traumatizados. Foram selecionados 517 incisivos permanentes luxados e subluxados, entre os quais 53,0% (272) não apresentaram fraturas coronárias, 5,0% (26) apresentaram fratura de esmalte, 41,6% (215) apresentaram fratura envolvendo dentina e apenas 4 tiveram exposição pulpar. No exame inicial, 56,0% dos dentes (290) responderam positivamente ao teste elétrico, 27,0% (138) não responderam e em 17,0% (89) o teste não foi realizado. Esses dentes receberam tratamento inicial de acordo com suas necessidades individuais e foram acompanhados por no mínimo dois anos através de exames clínico e radiográfico. Ao final do estudo, 37,0% dos dentes (192) se apresentaram definitivamente não vitais e foram submetidos ao tratamento endodôntico; 16,0% (83) apresentaram obliteração pulpar e 7,0% (37) apresentaram reabsorção radicular externa. Dos dentes luxados, 53,0% necessitaram de tratamento endodôntico em contraste a 32,0% dos dentes subluxados. Necrose pulpar ocorreu mais freqüentemente em pessoas de maior idade

(40,0%) em oposição às crianças (29,0%). Diante dos resultados, puderam afirmar que as principais complicações ocorridas após o traumatismo dentário foram necrose pulpar, obliteração pulpar e reabsorção radicular; dentes luxados mostraram mais complicações que dentes subluxados e dentes de crianças acima de 9 anos foram mais susceptíveis à necrose pulpar do que dentes de crianças mais jovens.

O prognóstico de dentes permanentes traumatizados com relação ao desenvolvimento de necrose pulpar também foi estudado por Andreasen & Vestergaard-Pedersen (1985). Para a investigação selecionaram 637 dentes, que foram divididos em cinco grupos de acordo com o tipo de luxação: concussão, subluxação, luxação extrusiva, luxação lateral e intrusão. Cada grupo foi avaliado de acordo com o estágio de desenvolvimento radicular: ápice aberto e ápice fechado. Outras variáveis também foram consideradas no intuito de verificar sua relação com o desenvolvimento de necrose pulpar: idade do paciente, grau de deslocamento do dente, procedimento de reposição, tipo de contenção, presença de restaurações, presença de dor e antimicrobianoterapia. Estabeleceram como critérios para diagnóstico de necrose pulpar as mudanças de coloração da coroa, a radiolusência periapical e a ausência de sensibilidade pulpar ao teste elétrico. Observaram que o prognóstico para todas as categorias de luxação, exceto para concussão, foi significativamente pior para os pacientes com idade maior no momento do traumatismo. Foi verificada uma tendência para um pior prognóstico nos casos em que o dente traumatizado apresentava restaurações ou em que o número de dentes traumatizados no mesmo arco era maior. Para subluxação e luxação lateral, um prognóstico significativamente melhor foi visto quando estes dentes responderam positivamente ao teste elétrico no momento do traumatismo. Procedimento de redução, tipo de fixação e terapia antibiótica não tiveram

nenhum efeito na cicatrização pulpar após o traumatismo. Somente duas variáveis analisadas separadamente - a idade do paciente e o estágio de desenvolvimento radicular - pareceram ter influência na ocorrência de necrose pulpar. Os autores observaram ainda que, quando o tipo de luxação e o estágio de desenvolvimento radicular foram levados em conta, o efeito dos demais fatores foi insignificante. A concussão e a subluxação apresentaram risco limitado de desenvolver necrose pulpar. Em contrapartida, as luxações extrusiva, lateral e intrusiva apresentaram risco aumentado. Dentes com ápice aberto apresentaram risco reduzido de necrose pulpar, enquanto os dentes com ápice fechado apresentaram risco aumentado. A necrose pulpar ocorreu dentro de três meses após concussão, um ano após subluxação e luxação extrusiva e cerca de dois anos após luxação lateral e intrusiva. Os resultados levaram à identificação dos dois principais fatores que parecem explicar o desenvolvimento de necrose pulpar após traumatismos de luxação: a extensão do dano ao complexo pulpo-periodontal, representada pelo tipo de luxação, e a capacidade de reparo, representada pelo estágio de desenvolvimento radicular.

Andreasen et al. (1986) realizaram um estudo em dentes permanentes luxados com a finalidade de determinar a relação existente entre as dimensões pulpares e o desenvolvimento de necrose pulpar. Selecionaram e acompanharam por dez anos 226 dentes que apresentavam luxações laterais, extrusivas e intrusivas. Além de classificados quanto ao tipo de traumatismo, os dentes foram agrupados de acordo com o estágio de seu desenvolvimento radicular: *incompletos* (dentes com 1/4, 1/2, 3/4 do comprimento da raiz e ápice parcialmente aberto à aberto) e *completos* (comprimento da raiz completo e ápice fechado). Toda a amostra foi submetida a exames clínicos e radiográficos iniciais e exames posteriores de acompanhamento para diagnóstico de

necrose pulpar. Este último foi realizado segundo alterações radiográficas, alteração de coloração do dente e ausência de resposta ao teste elétrico. Mediante exame radiográfico, a largura pulpar consistiu no diâmetro do canal pulpar radiográfico (forame apical). O comprimento pulpar foi definido como o comprimento máximo do corno pulpar até o forame apical. Os resultados mostraram, para as três categorias de luxação, que o aumento do diâmetro pulpar reduziu a frequência de necrose pulpar. O maior desenvolvimento desse tipo de necrose, após luxações extrusivas e laterais, ocorreu nos dentes em que o diâmetro apical era menor que 1,5 mm. Após luxação intrusiva, um aumento no diâmetro acima de 0,7 mm a 1,2 mm correspondeu a um desenvolvimento radicular incompleto, resultando no decréscimo da frequência de necrose pulpar. A sobrevivência pulpar tendeu a ser inversamente relacionada com a distância do forame apical ao corno pulpar, provavelmente em virtude da relação inversa entre o comprimento pulpar e o diâmetro pulpar. Entretanto, essa distância não foi significativa quando o diâmetro apical foi levado em conta. O prognóstico para dentes com luxação lateral e extrusiva foi melhorado com a largura pulpar, contudo, como a amostra era pequena, a relação exata entre dimensão pulpar e sobrevivência pulpar não pôde ser conclusiva e, para luxação intrusiva, somente o estágio de desenvolvimento radicular foi significante. Desse modo, concluiu-se que a distância entre o forame apical e o corno pulpar (comprimento pulpar) não foi importante para predizer a sobrevivência pulpar em dentes traumatizados quando o diâmetro do forame apical (largura pulpar) foi levado em consideração e, ainda, que a sobrevivência pulpar, após traumatismos de luxação, mostrou-se dependente do estágio de desenvolvimento radicular.

A cicatrização pulpar, após traumatismos de luxação, foi avaliada por Andreasen, em 1989, ao estudar 637 dentes que sofreram traumatismos de luxação classificados em cinco categorias: concussão, subluxação, luxação extrusiva, luxação lateral e luxação intrusiva. Toda a amostra recebeu tratamento inicial conforme cada caso e foi acompanhada mediante análise clínica e radiográfica. Durante o período de acompanhamento, três padrões de cicatrização pulpar foram observados para os dentes luxados: sobrevivência pulpar, obliteração pulpar e necrose pulpar. A sobrevivência pulpar foi caracterizada por dentes que apresentaram normalidade na coloração da coroa, manutenção da sensibilidade e ausência de alterações radiográficas. A obliteração pulpar foi classificada como *parcial* quando a parte coronária da polpa não estava totalmente visível, enquanto a parte radicular estava marcadamente estreita mas ainda visível; como *total* quando todo o canal radicular não estava visível. A necrose pulpar foi diagnosticada segundo os seguintes critérios: coloração acinzentada da coroa, perda da sensibilidade pulpar e radioluscência periapical. Ocasionalmente esteve relacionada com a sensibilidade à percussão ou com dor espontânea. Os resultados mostraram que o risco de necrose pulpar foi menor nos dentes com concussão e subluxação do que nos dentes com luxações extrusivas, laterais e intrusivas. Dentes com rizogênese incompleta tiveram um risco diminuído de necrose pulpar quando comparados com dentes com rizogênese completa. E dentes que utilizaram contenção com condicionamento ácido e resina também apresentaram menor risco de necrose pulpar do que dentes contidos com bandas ortodônticas e resina acrílica. Dessas observações, concluiu-se que: a ocorrência de necrose pulpar foi determinada pelo tipo de traumatismo, pelo estágio de desenvolvimento radicular e pelo tipo de contenção utilizada e a alteração de coloração da coroa, a ausência de sensibilidade pulpar e as alterações radiográficas podem

representar estágios intermediários do reparo pulpar que retornará à normalidade após um ano, não sendo, pois, patognomônicos para o diagnóstico de necrose pulpar após traumatismo dentário.

Crona-Larsson et al. (1991) também avaliaram a cicatrização pulpar em 171 dentes permanentes após traumatismo dentário. A amostra foi selecionada e avaliada segundo o estágio de desenvolvimento radicular, o tipo de traumatismo, o intervalo de tempo decorrido entre o traumatismo e o tratamento, e o tipo de tratamento indicado. O estágio de desenvolvimento radicular foi verificado radiograficamente e definido como *completo*, quando apresentou comprimento de raiz completo e ápice fechado, e *incompleto*, quando apresentou ápice aberto. O tipo de traumatismo foi definido conforme o tipo de luxação: subluxação, luxações extrusivas, laterais e intrusivas, avulsão e suas associações com fraturas coronárias com e sem exposição pulpar, fraturas radiculares ou a combinação das duas. O intervalo de tempo entre o traumatismo e o tratamento foi assim classificado: menor que 1 hora e 30 minutos, de 1 hora e 30 minutos a 24 horas e acima de 24 horas. O tratamento incluiu redução ou não, contenção com prazo variável (menos de 10 dias, de 10 a 21 dias ou mais de 21 dias), uso de antisséptico bucal, antimicrobianos, tratamento do canal radicular ou exodontia. A resposta ao teste de sensibilidade pulpar também foi avaliada juntamente com a alteração de coloração da coroa, a obliteração do canal pulpar, a necrose pulpar, a radiolusência periapical e a reabsorção radicular externa. O período de observação desses dentes foi de um a sete anos. Os resultados mostraram que a associação com fraturas coronárias não complicadas ou radiculares sem deslocamento do fragmento coronário não interferiu na cicatrização. Ao contrário, deslocamentos do fragmento coronário ou fraturas coronárias complicadas sempre resultaram em distúrbios de

cicatrização, os quais foram registrados em 60 dentes (35,0% do total). A alteração de coloração da coroa, observada em 8,0% da amostra, foi significativamente mais comum em traumatismos de luxação (22,0%) do que nas subluxações (3,0%). Obliteração do canal radicular foi um achado pouco freqüente (3,0%). A necrose pulpar, registrada em 28,0% de toda a amostra, foi mais comum em dentes luxados (66,0%) do que em dentes subluxados (15,0%). A maioria dos dentes extruídos e avulsionados desenvolveu necrose pulpar (80,0% e 82,0% respectivamente), vindo em seguida os dentes intruídos (44,0%) e com luxação lateral (33,0%). Todos os dentes associados a fraturas coronárias complicadas desenvolveram necrose pulpar. As radioluscências periapicais foram detectadas em 11,0% da amostra, estando presentes em 38,0% dos dentes com polpa necrótica. Metade dos dentes traumatizados foi tratada até 1 hora e 30 minutos após a ocorrência do trauma e 78,0% dentro de 24 horas, não havendo diferenças na cicatrização. A maioria dos dentes (63,0%) foi contida por menos de dez dias e não houve diferença na cicatrização pós-traumática com relação à duração da contenção. Prescrição de bochechos com clorexidina e/ou antimicrobianos também não mostraram efeito benéfico adicional na cicatrização. Apresentaram complicações de cicatrização apenas 19,0% dos dentes com desenvolvimento radicular incompleto e 51,0% dos dentes com desenvolvimento radicular completo. Ausência de resposta aos testes de sensibilidade pulpar foi verificada em 59 dentes (35,0%) durante o período de observação. A maioria das respostas negativas foi detectada nas primeiras duas semanas após o traumatismo, todas dentro de um ano e 15 desses dentes (25,0%) recuperaram a sensibilidade. A análise desses resultados levou os autores às seguintes conclusões: o tratamento para dentes traumatizados é freqüentemente baseado em diagnóstico incerto; o prognóstico verdadeiro para dentes traumatizados é obscuro; mais estudos são

necessários para avaliar métodos de diagnóstico, tratamento e suas influências na cicatrização da dentição traumatizada.

Em 1998, Robertson realizou um estudo retrospectivo para avaliar a frequência de sobrevivência pulpar após traumatismo dentário. A amostra foi composta de 198 pacientes que sofreram traumatismo na dentição permanente, os quais foram acompanhados por um período de 15 anos. No exame inicial, a história do traumatismo foi revista e avaliou-se grau de mobilidade do dente, alteração de coloração da coroa, resposta ao teste de sensibilidade pulpar, profundidade da bolsa periodontal e presença de restaurações. Os resultados mostraram que a sobrevivência pulpar foi maior nos dentes com fratura coronária não complicada (98,0%) do que nos dentes com luxação (47,0%). Nestes, a sobrevivência pulpar foi mais freqüente nos dentes sem deslocamento, concussão e subluxação (67,0%) do que nos dentes com deslocamento, luxações extrusivas, laterais e intrusivas (50,0%). Ainda, a sobrevivência pulpar foi de 71,0% nos dentes com ápice aberto em oposição a 53,0% em dentes com ápice fechado. Diante dos resultados, o autor concluiu que a sobrevivência pulpar foi comum após luxações, tendo sido encontrada em todas as categorias de danos pulpares pequenos e moderados, enquanto a necrose pulpar foi mais freqüente nos dentes que sofreram traumatismos severos e nos dentes com ápice fechado; o tratamento adequado das fraturas coronárias reduziu a ocorrência de necrose pulpar.

Andreasen (2003) realizou uma revisão da literatura sobre o prognóstico à longo prazo de dentes traumatizados, publicada em um artigo no qual discutiu critérios clínicos e radiográficos convencionais para o diagnóstico de necrose pulpar após traumatismo dentário. Mediante os estudos analisados, observou que o risco de necrose pulpar após traumatismo tem sido determinado por dois fatores: o estágio de

desenvolvimento radicular e a extensão do traumatismo. Assim, o menor risco de necrose pulpar foi visto após concussão e subluxação de dentes com ápices abertos (diâmetro do forame apical maior que 0,7 mm) e o maior risco foi verificado após luxação intrusiva de dentes com ápices fechados. Os critérios diagnósticos convencionais para verificação do estado pulpar (alteração de coloração, perda de sensibilidade pulpar e alteração radiográfica) podem refletir certos parâmetros de cicatrização. Estes parâmetros são baseados empiricamente em achados clínicos e radiográficos após cáries dentárias e técnicas restauradoras dentárias em que a polpa tem um suprimento neurovascular intacto apicalmente. Nessas situações, agressão química ou bacteriana pode, a longo prazo, levar à alteração irreversível. Em contrapartida, após traumatismos de luxação, a polpa intacta é presumivelmente privada do seu suprimento neurovascular instantaneamente. Na ausência de infecção, eventos pós-traumatismo podem indicar reparo e regeneração. Neste contexto, todos os critérios diagnósticos abordados, com exceção da sensibilidade à percussão, podem representar sinais tanto de cicatrização pulpar como de necrose pulpar.

Cohenca et al. (2003) apresentaram um relato de caso clínico demonstrando falhas nos critérios diagnósticos de necrose pulpar em dentes traumatizados. Um paciente de 15 anos de idade sofreu subluxação no incisivo central superior esquerdo. Decorridos quatro meses do traumatismo, o dente apresentou-se clinicamente assintomático, com ausência de sensibilidade à percussão e palpação, porém com alteração de cor, respostas negativas aos testes de sensibilidade pulpar frio e elétrico e radiograficamente com radiolusência periapical. Mediante esses achados, o diagnóstico de necrose pulpar foi aceito e o paciente agendado para terapia endodôntica. Quando o mesmo retornou após um mês para realização do tratamento, uma melhora acentuada na

coloração do dente foi notada. Assim, novos testes de sensibilidade pulpar frio e elétrico foram realizados, resultando em respostas positivas. O dente permanecia assintomático e com ausência de sensibilidade à percussão e à palpação. Radiograficamente, foi observada evidência de remodelação óssea apical, indicando que houve uma reabsorção apical transitória. Na presença destes achados, nenhum tratamento foi realizado e indicou-se protocolo de acompanhamento. Após cinco meses, o paciente foi novamente examinado e o dente havia recuperado sua coloração normal, permanecia assintomático e respondendo normalmente aos testes de sensibilidade pulpar. O exame radiográfico mostrou evidência de remodelação óssea e radicular. Concluíram, portanto, que os métodos de diagnóstico de necrose pulpar disponíveis não são decisivos e conclusivos em dentes que sofreram traumatismo dentário e, se houver dúvida quanto ao adequado retorno do paciente para acompanhamento, a terapia endodôntica deve ser o tratamento de escolha.

2.2 MICROSCOPIA DO TECIDO PULPAR DE DENTES TRAUMATIZADOS

Arwill et al. (1967) realizaram um estudo microscópico para verificar as reações pulpares em dentes permanentes traumatizados e correlacioná-las com os dados clínicos encontrados. Para a investigação 25 polpas de incisivos permanentes foram coletadas sob diagnóstico de necrose pulpar, após o registro dos seguintes dados clínicos: tempo decorrido do trauma à extirpação pulpar, tipo de traumatismo (luxação, deslocamento, fratura), teste de percussão, achados radiográficos, teste de sensibilidade pulpar elétrico, teste de mobilidade, tonalidade do dente e cultura bacteriana no momento da extirpação pulpar. Essas polpas foram submetidas à coloração de Mayer,

Hansen, Bock e Heidenhain. Os resultados demonstraram que a coloração do dente alternou do rosa ao cinza, mudança esta que pareceu estar diretamente relacionada com o tempo decorrido desde o trauma até a extirpação pulpar. De acordo com as observações histológicas, os espécimes mostraram alteração de tecido pulpar normal para hialinizado e 14 polpas foram consideradas necróticas. Concluíram os estudiosos que a hemorragia pulpar, após traumatismo, causou distúrbios nutricionais, hialinização do tecido, alteração na coloração do dente e a presença de bactérias agravou a condição pulpar e dificultou o prognóstico, resultando em necrose pulpar.

Stanley (1978) estudou o infarto isquêmico da polpa após traumatismo dentário. Na pesquisa 150 polpas, com intervalo de tempo decorrido desde o traumatismo variando de 20 horas a 10 anos, foram extirpadas para análise de alterações degenerativas. Dos 150 dentes avaliados, 79 apresentaram escurecimento ou alteração de cor, 64 não responderam aos testes de sensibilidade pulpar ao calor e ao frio, em intervalos de tempo após o trauma de 10 dias a 5 anos, e 69 apresentaram alterações radiográficas. As polpas foram classificadas quanto à coloração no momento da extirpação pulpar: vermelha ou hemorrágica (2 dias a 10 anos), branca (14 dias a 7 anos), marrom (25 dias a 5 anos), rosa (14 a 102 dias), amarela (21 a 90 dias) e cinza (5 dias a 1 ano). Da amostra, cinco polpas foram descritas como necróticas, isquêmicas, degeneradas ou atróficas. Após a análise microscópica, foi observado um fenômeno de degeneração pulpar com diferentes graus e estágios. Polpas com intervalo de tempo pequeno após o trauma apresentaram tecido normal e celular no terço apical, tecido dilatado com vasos congestos e hemorragia no terço médio e sinais de necrose no terço coronário. Nesses casos, como os eritrócitos estavam confinados nos vasos, nenhuma coloração rósea ou escarlate foi vista. As polpas com um intervalo de tempo maior

decorrido desde o trauma apresentaram-se “secas” e “mumificadas”, os eritrócitos saíram dos vasos e se desintegraram e os núcleos das células, em sua maioria, estavam contraídos, desintegrados ou haviam desaparecido. O contorno dos vasos, a bainha dos nervos e os odontoblastos persistiram, entretanto só puderam ser visualizados através da Técnica de Masson para colágeno. Somente 13 polpas apresentaram microrganismos quando foi empregado o método de Brown e Brenn. Os resultados conduziram às seguintes conclusões: o infarto é um foco de necrose isquêmica produzido pela ruptura do suprimento sangüíneo após traumatismo dentário; infarto é um termo grosseiro, enquanto necrose é um termo microscópico e indica morte celular, podendo ou não apresentar bactérias; o infarto isquêmico da polpa é variável e pode apresentar alterações degenerativas em diferentes estágios.

Cipriano & Walton (1986) avaliaram a incidência e as características do infarto isquêmico pulpar em dentes permanentes traumatizados. A pesquisa foi feita em 42 polpas removidas destes dentes, obedecendo-se os seguintes critérios: ausência de fratura coronária ou exposição pulpar, ausência de sintomas significantes e/ou patologia periapical e respostas negativas ao teste elétrico e/ou à estimulação térmica. Cada polpa removida foi fixada, dissecada ao meio e as partes coradas pela Técnica de Hematoxilina e Eosina para avaliação da estrutura pulpar e, pelo Tricrômico de Masson, para avaliação do colágeno. Um grupo controle de dentes extraídos com finalidade ortodôntica também foi estabelecido, cujas polpas foram extirpadas e preparadas da mesma forma que nos dentes traumatizados. Toda a amostra e o grupo controle foram primeiramente examinados com o uso de microscópio óptico, de acordo com os critérios definidos por Stanley (1978) para o infarto isquêmico: alterações no conteúdo de colágeno, presença de eritrócitos no tecido, vasos sangüíneos e fibras nervosas

“fantasmas”, degeneração nuclear e coloração eosinofílica na amostra. Somente 5 das 42 polpas analisadas foram qualificadas como tendo infarto isquêmico com áreas de necrose e inflamação, núcleos alterados, elementos neurais e vasos pouco discerníveis e perda de colágeno. Apenas as polpas alteradas foram então avaliadas no microscópio eletrônico e apresentaram sinais de necrose, padrões de degeneração celular e nuclear, relativa avascularização, degeneração dos elementos neurais e desorganização do colágeno. Diante destes achados, eles concluíram que o infarto isquêmico em polpas traumatizadas não ocorreu freqüentemente e nelas foi encontrada uma variedade de alterações estruturais indicativas de degeneração.

Com o objetivo de correlacionar achados clínicos e radiográficos com a condição microscópica e bacteriológica de polpas extirpadas de dentes permanentes traumatizados, Andreasen (1988) realizou um estudo histobacteriológico. Foram selecionados 66 incisivos permanentes que apresentavam coroa intacta e ausência de cárie, de restauração ou de fratura. Para o diagnóstico de necrose pulpar, os dentes foram avaliados por meio de exames clínicos e radiográficos. Os critérios clínicos observados foram alteração de coloração da coroa e sensibilidade ao teste elétrico e à percussão. A condição radiográfica de cada dente foi descrita como: *normal*, se o espaço do ligamento periodontal não excedesse 0,2 mm na largura medida a partir do ápice radicular até a proximal da lâmina dura; *espaço do ligamento periodontal expandido*, quando medisse de 0,3 mm a 0,9 mm; *radiolusência*, se o espaço do ligamento periodontal fosse maior que 1,0 mm e *reabsorção inflamatória*. Dos 66 dentes selecionados, 28 apresentaram autólise total e 38 tiveram suas polpas extirpadas e submetidas aos exames histológico (técnica de hematoxilina e eosina) e bacteriológico (método de Brown e Brenn modificado por Taylor). Microscopicamente, os espécimes

foram avaliados de acordo com o conteúdo de colágeno e a presença de elementos neurais, vasos sangüíneos e sinais de necrose. A presença e a distribuição de bactérias coradas também foram registradas de acordo com as seguintes possibilidades: ausência de bactérias em todos os cortes; bactérias presentes no sítio de amputação; bactérias localizadas perifericamente (plexo vascular subodontoblástico); bactérias localizadas centralmente nos vasos sangüíneos e difundidas no estroma pulpar. De acordo com a análise histobacteriológica, as polpas foram classificadas em relação ao seu potencial de reparo: *improvável*, quando as polpas apresentaram bactérias coradas, autólise total ou sinais de necrose; *questionável*, quando as polpas não apresentaram bactérias coradas, entretanto alguns elementos celulares remanescentes apresentaram sinais de necrose; *provável*, quando as polpas não apresentaram bactérias coradas e o estroma pulpar mostrou preservação dos núcleos celulares e sinais de revascularização. Os resultados levaram às seguintes conclusões: em dentes traumatizados, a perda de sensibilidade pulpar, a alteração de coloração da coroa e a sensibilidade à percussão não refletiram o estado pulpar com relação ao grau de infecção (ausência ou presença de bactérias), entretanto, dentes com polpas necróticas infectadas demonstraram maior sensibilidade à percussão do que dentes com polpas não infectadas e com estroma pulpar; 9,0% a 14,0% das polpas analisadas apresentaram potencial para regeneração e não deveriam ter sido extirpadas e, até o momento, não existem sinais patognômicos para o diagnóstico de necrose pulpar após traumatismos dentários.

Feiglin (1996) realizou uma análise retrospectiva de casos clínicos com a finalidade de verificar a resposta pulpar aos traumatismos dentários. Para tanto, as respostas pulpares foram divididas em três grupos:

- a) polpas com prognóstico muito ruim e requerendo terapia endodôntica logo após o traumatismo; dos 79 dentes estudados, todos necessitaram de intervenção;
- b) polpas com prognóstico duvidoso e requerendo terapia endodôntica no prazo de 18 a 24 meses após o traumatismo; dos 48 dentes estudados, 27 necessitaram de intervenção;
- c) polpas com prognóstico muito bom raramente requerendo terapia endodôntica; dos 52 dentes estudados, apenas 2 necessitaram de intervenção.

Em todos os grupos os dentes foram avaliados, em vários intervalos de tempo, por meio de teste de sensibilidade pulpar elétrico, tecnologia analítica com *scanner* de vitalidade e radiografias periapicais. Dentes sintomáticos ou com sinais definitivos de necrose pulpar foram abertos para a realização da terapia endodôntica e em seis casos houve a remoção de suas polpas, que foram coradas pela técnica de Hematoxilina e Eosina para serem estudadas no microscópio óptico. No primeiro caso clínico, o dente 21 sofreu uma fratura de esmalte e dentina sem exposição pulpar associada à subluxação. A porção fraturada do dente foi imediatamente restaurada com resina, com avaliação após oito semanas e após cinco meses. Neste último período, uma lesão periapical foi observada e a intervenção endodôntica foi realizada. Microscopicamente, o conteúdo do canal radicular mostrou-se totalmente necrótico. No segundo caso, os dentes 11 e 21 sofreram luxação extrusiva. Após 18 meses, mostraram-se não vitais pelo teste de sensibilidade pulpar e pelo exame radiográfico, tendo sido indicada a endodontia. No exame microscópico, o dente 11 apresentou a maioria do conteúdo pulpar necrótico, permanecendo vital apenas no ápice. O conteúdo pulpar do dente 21

mostrou-se totalmente necrótico. No terceiro caso, o dente 11 sofreu subluxação e, após cinco meses, o paciente permanecia com desconforto e exigiu que algo fosse feito por seu dente, quando foi indicada a intervenção endodôntica. Microscopicamente, a polpa coronária estava completamente necrótica, ao passo que a polpa radicular apresentou ausência de células inflamatórias, tendo sido difícil estabelecer diferenças entre esta polpa e uma polpa normal. No quarto caso, o dente 21 também sofreu subluxação. Após 18 meses ele apresentou sintomatologia dolorosa, não respondeu aos testes de sensibilidade e, no exame radiográfico, apresentou estreitamento do canal radicular, sendo indicada a endodontia. O exame microscópico sugeriu hiperemia pulpar e possibilidade de mudanças necrobióticas. No quinto caso, o dente 11, apresentando ápice aberto, sofreu fratura de esmalte e dentina associada à luxação lateral. Após dois anos e três meses, o ápice do dente estava totalmente formado, embora não respondesse aos testes de sensibilidade pulpar. A terapia endodôntica não foi indicada. No sexto caso, o dente 21 sofreu concussão. Após dez anos de acompanhamento, o dente mantinha a vitalidade e apresentava-se normal ao exame radiográfico, com exceção do canal radicular que se tornara mais estreito com o decorrer dos anos. Uma polpa de um dente similar a este foi avaliada por exame microscópico e mostrou-se composta de tecido fibroso, com alguns fibroblastos e ausência de células inflamatórias. Os resultados mostraram que a necrose pulpar esteve intimamente relacionada com o tipo de traumatismo - quanto mais severo maior é o dano ao suprimento vascular - e com o estágio de desenvolvimento radicular - quando o ápice está aberto é maior o potencial de reparo. E, ainda, que o aspecto microscópico do tecido pulpar não coincidiu com os sintomas do paciente; dentes que apresentaram obliteração pulpar lenta demonstraram excelente prognóstico, não requerendo intervenção endodôntica, e dentes traumatizados

devem ser acompanhados por no mínimo cinco anos e tratados assim que mudanças adversas ocorrerem.

2.3 MICROBIOTA DO CANAL RADICULAR DE DENTES TRAUMATIZADOS

Arwill et al. (1967) realizaram avaliação microbiológica do canal radicular de dentes permanentes traumatizados. A cultura bacteriana foi realizada em 14 dentes no momento da extirpação pulpar. Diante dos resultados constataram que quatro dentes (28,6%) apresentaram cultura positiva; o teste de sensibilidade pulpar foi negativo na maioria dos dentes e em todos com crescimento bacteriano; a coloração do dente alternou do rosa ao cinza e esta mudança pareceu estar diretamente relacionada com o tempo decorrido do trauma à extirpação pulpar; a presença de bactérias agravou a condição pulpar e dificultou o prognóstico, resultando em necrose pulpar.

Ainda em 1967, Grossman realizou um estudo para determinar a origem de microrganismos em dentes hígidos traumatizados. Para isso sete cães e três macacos foram selecionados e submetidos ao teste microbiológico da superfície dos dentes e da saliva, que indicou que o microrganismo teste, *Serratia marcescens*, não era um habitante comum de suas microbiotas gengival ou salivar. Posteriormente, uma suspensão deste microrganismo foi aplicada na gengiva vestibular e forçada para dentro do sulco gengival e um peso de metal foi solto na superfície vestibular de cada dente induzindo um traumatismo. A abertura coronária dos mesmos foi realizada sob isolamento absoluto, seguida de remoção do tecido pulpar com lima e coleta microbiológica do canal radicular com o uso de cones de papel. Cada dente foi selado com material temporário, que não inibia o crescimento do *S. marcescens*, e sofreu

reintervenção após 9, 35, 44, 50 e 54 dias para determinar o perfil microbiológico através dos períodos de tempo. Em sete casos, amostras de sangue foram retiradas de uma veia no intuito de verificar uma possível bacteremia transitória. Os resultados mostraram crescimento do microrganismo testado na cultura obtida do tecido pulpar logo após o traumatismo. Depois de nove dias o tecido pulpar mostrou-se necrosado e com presença do microrganismo, que também foi isolado após 35, 44, 50 e 54 dias. Em apenas uma das amostras de sangue analisadas foi possível isolar a *S. marcescens*. Assim, o microrganismo teste foi hábil para atingir o tecido pulpar e o canal radicular de dentes traumatizados através do sulco gengival e danos à gengiva marginal. O fato sugere que, durante o traumatismo, vasos sangüíneos são rompidos permitindo a entrada de microrganismos pela circulação colateral e, às vezes, pela sistêmica.

Bergenholtz (1974) analisou a presença de microrganismos em dentes traumatizados necrosados. Foram selecionados 84 dentes traumatizados, os quais foram agrupados de acordo com a extensão de danos aos tecidos periodontais e com a aparência clínica da coroa. Foram classificados no primeiro grupo os que apresentaram concussão e subluxação, luxação com deslocamento e avulsão. No segundo grupo, os intactos (sem restaurações, sinais de cárie ou perda de estrutura), restaurados ou com lesões de cárie e fraturados com exposição de dentina. Do ponto de vista radiográfico, foram analisados de acordo com os critérios de Brynolf (1969) apresentando: espaço periodontal apical intacto (normal), espaço periodontal apical alargado, mas com preservação da continuidade da lâmina dura, destruição periapical com perda da continuidade da lâmina dura e reabsorção radicular lateral externa. Foram excluídos deste estudo dentes que apresentavam perda de osso marginal, bolsa periodontal, fratura radicular ou na região cervical e envolvimento com fraturas mandibulares. Os dentes

receberam tratamento endodôntico em vários intervalos de tempo após o trauma: 14 a 90 dias, 90 a 360 dias, 1 a 2 anos, mais de 2 anos. A coleta microbiológica foi realizada no momento da abertura do dente utilizando-se cone de papel esterilizado. Os resultados mostraram a presença de bactérias em 64,0% da amostra. A microbiota do canal radicular foi mista com predominância de microrganismos anaeróbios como os *Bacterioides*, *Corynebacterium*, *Peptostreptococcus* e *Fusobacterium*. A composição da microbiota não variou com o tipo de traumatismo nem com a aparência clínica da coroa. Na maioria dos dentes com fratura de coroa e exposição de dentina, avulsionados, com destruição periapical e reabsorção radicular lateral externa foram detectados microrganismos, e estes também se mostraram aumentados em dentes com um intervalo de tempo maior entre o traumatismo e o tratamento endodôntico. Ainda, dentes com espaço periodontal apical normal ou alargado com preservação da continuidade da lâmina dura não mostraram desenvolvimento bacteriano. Concluiu-se que: a necrose pulpar pode permanecer sem microrganismos por longo período de tempo bem como mostrar-se infectada; a existência de um tecido necrótico aumenta o risco de infecção pulpar e uma correlação positiva pode ser estabelecida entre a infecção do canal radicular e a aparência radiográfica da região periapical.

Ainda em 1974, Taklan também analisou a presença de microrganismos em dentes traumatizados necrosados. Os 50 dentes permanentes anteriores com câmara pulpar intacta foram selecionados segundo os seguintes critérios: dentes que sofreram traumatismo dentário, que não responderam aos testes elétrico e térmico, com ausência de fratura coronária e cáries extensas e, radiograficamente, com ausência de fratura radicular ou rarefação óssea periapical. Cada dente foi aberto para a realização do tratamento endodôntico e a coleta microbiológica do canal radicular foi feita por meio

de cones de papel esterilizados. Os resultados demonstraram que os microrganismos estavam presentes em todos os casos (100,0%), perfazendo um total de 94 bactérias, das quais o maior grupo isolado foi o de estreptococos aeróbios (34 isolados), seguido do grupo da vielonela (16 isolados) e do grupo dos coliformes (15 isolados), além de outros microrganismos identificados. A origem deles foi relacionada com a entrada pelo sulco gengival e pela circulação sistêmica, tendo em vista a similaridade destes microrganismos encontrados no canal radicular com aqueles comumente encontrados na boca.

A microbiota de dentes necrosados com integridade coronária e radicular também foi estudada por Le Goff et al. (1997). Selecionaram 20 dentes unirradiculados que apresentavam alteração de cor, resposta negativa ao teste de sensibilidade pulpar e patologia periapical sem comunicação com a cavidade bucal por fístula, caracterizando necrose pulpar, cuja etiologia foi considerada de natureza traumática. Cada dente foi aberto para realização do tratamento endodôntico, sob isolamento absoluto, e a coleta microbiológica do canal radicular foi realizada utilizando-se três cones de papel absorvente esterilizados, mantidos um por vez no canal por 30 segundos. Dos 20 dentes selecionados, 18 mostraram culturas positivas (90,0%). Ao todo 84 bactérias foram isoladas das 18 amostras positivas com uma média de 4,3 espécies por canal radicular, 81,0% dos microrganismos se revelaram anaeróbios estritos e 19,0% anaeróbios facultativos. As espécies mais comumente encontradas foram *Bacterioides gracilis*, *Propionibacterium acnes*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella buccae* e *Eubacterium lentum*. Estes resultados vieram confirmar a existência de uma microbiota endodôntica que é predominantemente anaeróbia, mesmo em dentes com câmara pulpar intacta.

3 PROPOSIÇÃO

O presente estudo teve como objetivos analisar microscopicamente a polpa de dentes humanos permanentes traumatizados com diagnóstico clínico de necrose pulpar, avaliar a presença de microrganismos no canal radicular e correlacionar critérios clínicos e radiográficos com achados microscópicos e microbiológicos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 PROCEDIMENTOS CLÍNICOS

Este trabalho teve início após a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (ANEXO 1), quando foram selecionados pacientes provenientes do Projeto de Pesquisa e Extensão “Lugar de dente é na boca” e do III Curso de Atualização em Traumatismo Dentário da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Goiás.

Para este trabalho foram selecionados 20 dentes que sofreram traumatismo aos tecidos periodontais, avaliados segundo os critérios definidos por Andreasen & Andreasen (2001):

1. Concussão: ausência de deslocamento verificada nos exames clínico e radiográfico, ausência de mobilidade anormal e resposta positiva ao teste de percussão.
2. Subluxação: ausência de deslocamento constatada nos exames clínico e radiográfico, presença de mobilidade anormal e resposta positiva ao teste de percussão.
3. Luxação extrusiva: deslocamento do dente no sentido axial, em direção oclusal, e conseqüente aumento do espaço do pericemento, conforme o exame radiográfico, e presença de mobilidade anormal.

4. Luxação lateral: deslocamento do dente em outro sentido que não o axial, em direção palatina ou vestibular. Radiograficamente observa-se o aumento do espaço do ligamento periodontal.
5. Luxação intrusiva: deslocamento do dente para dentro do osso alveolar.
6. Avulsão: deslocamento completo do dente para fora de seu alvéolo.

Os critérios de inclusão desses dentes no estudo foram: traumatismo aos tecidos periodontais, coroa intacta, ausência de edema e de fístula. No exame radiográfico, o dente deveria apresentar normalidade nas estruturas ósseas, ausência de fratura radicular, de lesão periapical, de bolsa periodontal, de reabsorções e de obliteração pulpar.

Os pacientes selecionados para esse estudo receberam atendimento inicial, em que foram realizados os exames clínico e radiográfico e o tratamento imediato. Todos os pacientes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO 2), concordando em participar do estudo. Posteriormente foram convocados para retornos periódicos para acompanhamento e uma vez realizado o diagnóstico clínico de necrose pulpar, o dente foi submetido à intervenção endodôntica e avaliação microscópica do tecido pulpar e microbiológica do canal radicular.

Coletaram-se os seguintes dados clínicos no atendimento inicial e durante o período de acompanhamento:

a) coloração da coroa: avaliada segundo critérios sugeridos por Jacobsen (1980) e Andreasen & Andreasen (1985):

- normal
- amarelada

- rósea

- acinzentada

b) resposta aos testes de sensibilidade pulpar (TSP) térmicos e elétrico (positiva ou negativa):

- calor: utilizou-se bastão de guta percha aquecido, que foi aplicado no centro da face vestibular do dente em questão (previamente lubrificado com vaselina), sob isolamento relativo, e fez-se a anotação do tempo de resposta em segundos;

- frio: utilizou-se o gás refrigerante Endofrost – 50°C (Roeko, Langenau – Alemanha), que foi aplicado no centro da face vestibular do dente em questão, sob isolamento relativo, e fez-se a anotação do tempo de resposta em segundos;

- teste elétrico: foi utilizado o aparelho *Endoanalyser* (Kerr, Michigan – EUA), colocando-se a ponta do eletrodo no centro da face vestibular lubrificada com flúor gel, sob isolamento relativo, e o resultado foi anotado;

c) resposta aos testes de percussão vertical (TPV) e horizontal (TPH) (positiva ou negativa)

d) dor à palpação (ausente ou presente)

e) sintomatologia (ausente ou presente)

f) mobilidade (normal ou aumentada)

Todos esses dados clínicos também foram coletados dos dentes contralaterais aos traumatizados (20 dentes), com o objetivo de verificar o padrão de resposta em dentes não traumatizados.

O exame radiográfico foi realizado com posicionador de radiografia para adulto (Indusbelo, Londrina-PR) e filme radiográfico Insight (Kodak, Eastman - EUA), em um mesmo aparelho de radiografia, garantindo-se tensão e intensidade de correntes constantes. A análise das radiografias ocorreu em ambiente de luz indireta, em momento diferente do exame clínico. Máscaras especiais de papel cartão preto foram confeccionadas para permitir melhor visualização da radiografia no negatoscópio. No exame inicial e durante o acompanhamento, a coleta dos dados radiográficos pretendia verificar:

a) o estágio de rizogênese, tendo como base a medida do diâmetro interno do canal radicular na sua porção mais apical (maior ou igual a 0,7mm - rizogênese incompleta; menor que 0,7mm - rizogênese completa), realizada com paquímetro como proposto por Andreasen & Vestergaard-Pedersen (1985);

b) a complementação da rizogênese nos dentes com rizogênese incompleta;

c) a condição do espaço periodontal apical com base nos critérios descritos por Brynolf (1969):

- espaço periodontal apical normal;
- espaço periodontal apical alargado com preservação da continuidade da lâmina dura.

O tempo decorrido do traumatismo até a intervenção endodôntica também foi anotado. Apenas os dentes com rizogênese completa, que sofreram avulsão dentária, receberam indicação para intervenção endodôntica no período de 15 dias pós-traumatismo. Para os demais dentes, uma vez diagnosticada clinicamente a necrose pulpar, por meio de avaliação clínica e radiográfica, indicou-se o tratamento endodôntico (Figura 1). Cada dente selecionado foi isolado com dique de borracha e

recebeu anti-sepsia com solução de hipoclorito de sódio a 1,0% (Probem, Catanduva - SP). A abertura coronária foi realizada restringindo-se apenas à trepanação da câmara pulpar. A seguir, fez-se a coleta microbiológica do canal radicular mediante a utilização de cones de papel absorvente autoclavados (Tanari, Manacapuru - AM) de número 20. Para cada dente foram utilizados três cones de papel. Cada cone foi introduzido no canal radicular com pinça esterilizada e mantido por 30 segundos até ser removido e colocado em tubo de ensaio, identificado com o número do paciente, contendo solução de tampão fosfato de Sørensen (PBS) (Figura 2). A amostra coletada foi então encaminhada ao Departamento de Microbiologia, Imunologia, Parasitologia e Patologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás para processamento microbiológico.

Concluída a abertura coronária, obteve-se o comprimento de trabalho provisório - média do comprimento médio do dente com o comprimento desse na radiografia inicial, diminuído em 2,0 mm (Estrela, 2004 a). A remoção do tecido pulpar, quando presente, foi realizada com lima do tipo Hedström (Maillefer, Suíça), de calibre compatível com o canal radicular, segundo o comprimento de trabalho provisório (Figura 3). O tecido pulpar removido foi colocado sobre papel cartolina autoclavado e dispensado em recipiente contendo formol a 10,0% tamponado, identificado com o número do paciente, para posterior análise microscópica, que foi realizada no Laboratório de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Goiás.

O dente foi, então, devidamente preparado segundo o protocolo de tratamento endodôntico para dentes traumatizados do Projeto de Pesquisa e Extensão Lugar de dente é na boca, da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Goiás. A

medicação intracanal utilizada foi o hidróxido de cálcio (Biodinâmica, Ibiporã - PR) associado à água destilada, que permaneceu no canal radicular por 15 dias. Após este período, o canal radicular foi preenchido com Calen (SS White, Rio de Janeiro - RJ) e acompanhado a cada três meses, por meio de exames clínico e radiográfico, até ser indicada sua obturação.

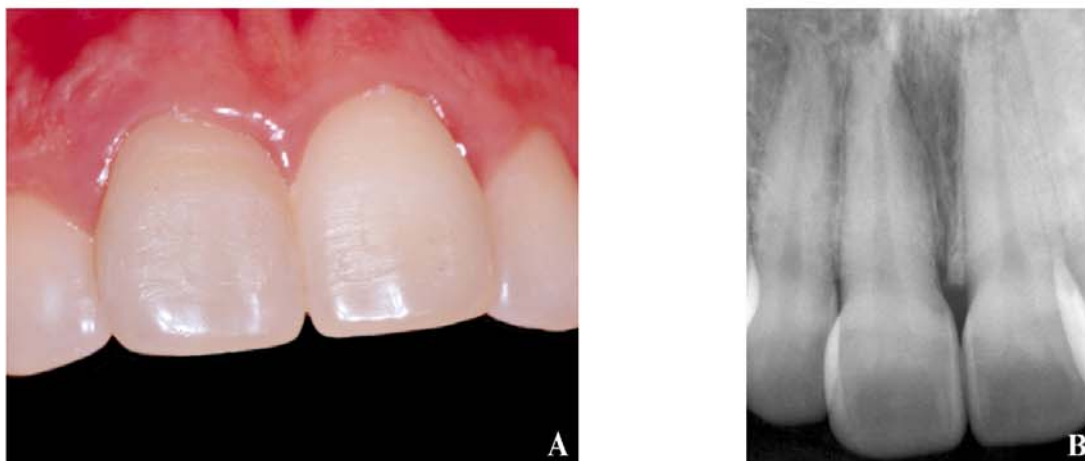


Figura 1 - Imagem clínica (A) e radiográfica (B) do dente 11 após traumatismo de subluxação

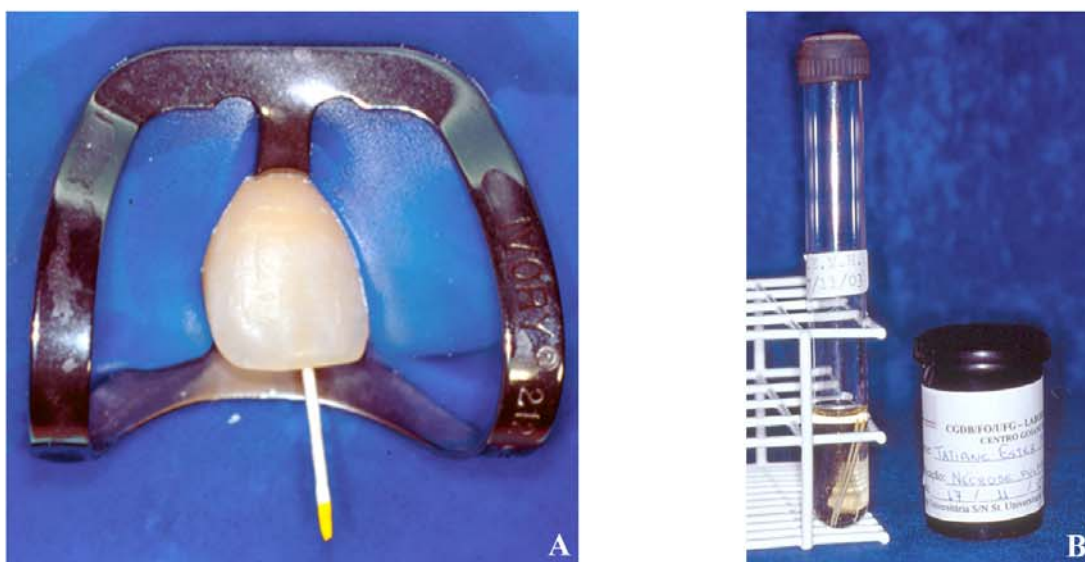


Figura 2 - Coleta microbiológica do canal radicular do dente 11 com cone de papel absorvente (A) e acondicionamento em solução de tampão fosfato de Sorensen (B)

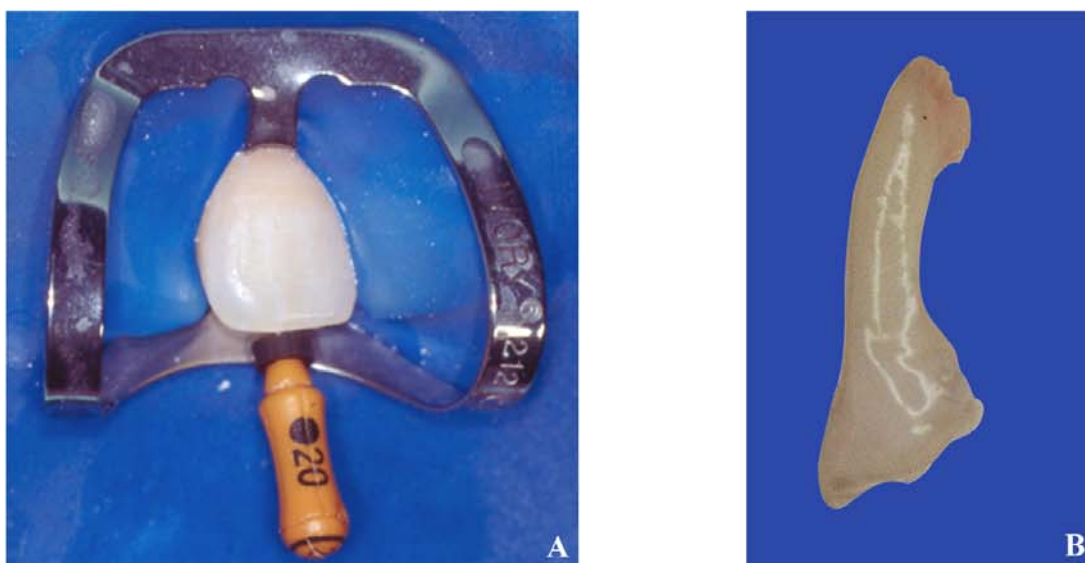


Figura 3 - Remoção do tecido pulpar do dente 11 com lima Hedstroem (A). Polpa retirada (B)

4.2 PROCESSAMENTO MICROBIOLÓGICO

4.2.1 ISOLAMENTO E CONTAGEM MICROBIANA

A determinação do número de unidades formadoras de colônias (ufc) de bactérias foi efetuada pela semeadura do material coletado dos canais radiculares por meio de cones de papel antes da remoção do tecido pulpar. As amostras foram diluídas em solução de fosfato de Sørensen (PBS) e semeadas pela técnica de gota (50,0µL) de acordo com Westergren & Krasse (1978), em ágar chocolate (contagem de bactérias totais), ágar mitis salivarius (contagem de estreptococos bucais) e ágar SB20 (contagem de estreptococos do grupo mutans) (ANEXO 3). As placas de Petri semeadas foram incubadas em jarros de anaerobiose (microaerofilia) a 37°C por até 96 horas.

Após o período de incubação, as colônias desenvolvidas foram contadas de acordo com as características macroscópicas, com o auxílio de estereomicroscópio.

4.2.2 IDENTIFICAÇÃO PRESUNTIVA

As colônias com diferentes características macroscópicas foram submetidas à coloração de Gram para a determinação do morfotipo. A identificação presuntiva dos isolados foi realizada de acordo com Koneman et al. (2001).

Colônias com morfologia sugestiva de estafilococos (colônias lisas, redondas, cremosas, coloração variando de acinzentada a amarelada) foram submetidas à coloração de Gram. Aquelas colônias caracterizadas como cocos Gram positivos, isolados ou em cachos, foram repicadas em tubos de ágar simples inclinados e estocadas a uma temperatura de 4°C para posterior identificação.

A prova da catalase teve como objetivo diferenciar estafilococos de estreptococos. As colônias microbianas suspeitas foram repicadas em ágar infusão de cérebro e coração (estafilococos) e ágar mitis salivarius (estreptococos bucais) por 24 a 48 horas a 37°C. Após esse período, com o auxílio de uma agulha de platina, uma porção da colônia foi transferida para uma lâmina de vidro limpa e numerada, contendo uma gota de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) a 3,0%. A prova foi considerada positiva quando houve produção sustentada de bolhas de gás ou efervescência.

4.3 PROCESSAMENTO LABORATORIAL

4.3.1 PREPARO DAS AMOSTRAS

Em ambiente laboratorial, as amostras de polpas removidas foram examinadas para se verificar coloração, consistência, forma e tamanho. O processamento das mesmas foi realizado em aparelho histotécnico automatizado (OMA-DM20), onde foram desidratadas em bateria crescente de álcool, diafanizadas em xilol e imersas em parafina líquida, assumindo a forma de blocos. Cortes seriados de 5,0µm de espessura foram obtidos mediante a utilização de um micrótomo (Leica–RM2155) e os mesmos

foram colocados sobre lâmina histológica e, em seguida, submetidos a procedimentos de coloração. As lâminas foram coradas pela técnica de rotina Hematoxilina e Eosina - H.E. (ANEXO 4) e pelo método de Brown e Brenn - B.B. (ANEXO 5), preconizados nos protocolos técnicos do Laboratório de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Goiás, e montadas utilizando-se resina para montagem histológica Permount® e lamínulas 24x60.

4.3.2 ANÁLISE MICROSCÓPICA

A interpretação dos cortes teciduais foi realizada com a utilização de microscópico trinocular (Axiostar Plus-Carl Zeiss).

Os cortes corados em H.E. possibilitaram o estudo das possíveis alterações morfológicas e dos processos inflamatórios relacionados com as polpas dos dentes traumatizados. Estas foram avaliadas de acordo com a hialinização do colágeno, a presença de vasos sanguíneos, de núcleos celulares, de filetes nervosos e calcificações. Como controle da técnica e parâmetro de comparação das características microscópicas de um tecido pulpar normal, foram utilizadas dez polpas de pré-molares hígidos extraídos por finalidade ortodôntica (Figura 4). Após a exodontia desses dentes, o terço apical foi removido cuidadosamente com alveolótomo, e o dente acondicionado em recipiente contendo formol a 10,0% tamponado (Figura 5). Depois de ser fixada a polpa, foram realizados sulcos perpendiculares ao longo eixo do dente, como se fossem anéis, com uma broca diamantada cilíndrica de número 4219 em alta rotação. Os fragmentos foram luxados com o auxílio de um cinzel e removidos com pinça clínica, permitindo a retirada da polpa íntegra (Figura 6), a qual foi colocada sobre papel cartolina

autoclavado e dispensada em recipiente contendo formol a 10,0% tamponado para posterior análise microscópica.

Para identificação de colônias e/ou biofilmes microbianos, foram utilizados os cortes corados pelo método de Brown e Brenn.

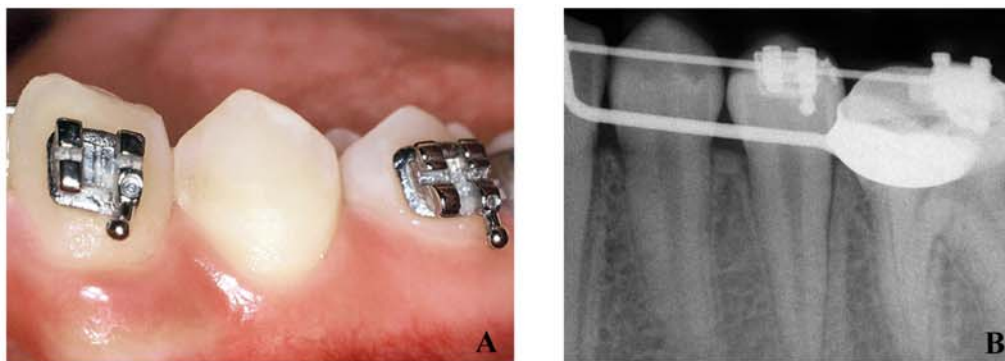


Figura 4 – Imagem clínica (A) e radiográfica (B) do dente 34 a ser extraído por finalidade ortodôntica

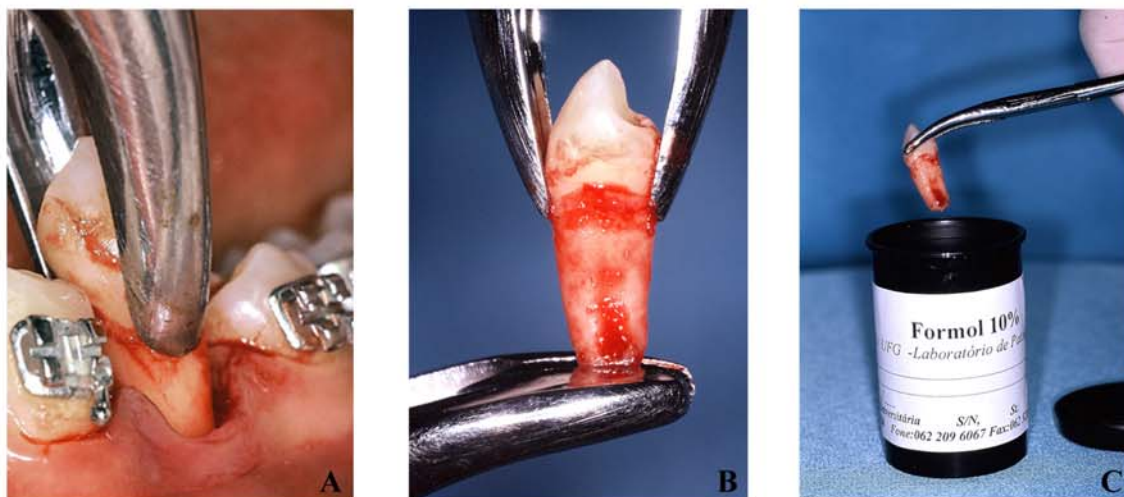


Figura 5 – Exodontia do dente 34 (A). Remoção do terço apical com alveolótomo (B) e acondicionamento em recipiente contendo formol a 10,0% tamponado (C)

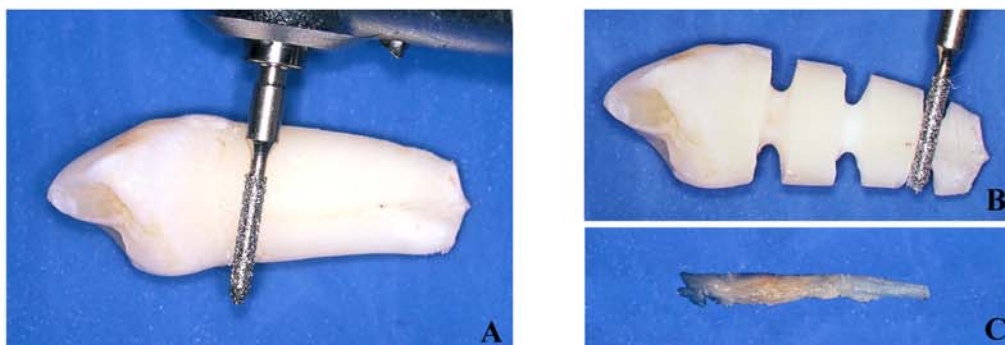


Figura 6 – Realização de sulcos perpendiculares ao longo eixo do dente com broca cilíndrica em alta rotação (A). Dente 34 com sulcos confeccionados (B) e polpa íntegra retirada (C)

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise de diagnóstico foi utilizada para avaliar a sensibilidade, especificidade e acurácia dos critérios clínicos utilizados para o diagnóstico de necrose pulpar em dentes traumatizados, bem como avaliar a sensibilidade, especificidade e acurácia do teste de percussão vertical quanto à presença de microrganismos no canal radicular destes dentes.

O teste de Wilcoxon foi utilizado para avaliar a condição do espaço periodontal apical quanto ao número de microrganismos presentes no canal radicular dos dentes traumatizados.

O teste de Regressão Linear foi utilizado para avaliar o tempo decorrido do traumatismo à intervenção endodôntica quanto ao número de microrganismos presentes no canal radicular dos dentes traumatizados.

Foram considerados significativos todos os testes que apresentaram valores de p menores que 5,0% (0,05).

5 RESULTADOS

5.1 AVALIAÇÃO CLÍNICA E RADIOGRÁFICA

Para o presente estudo, foram selecionados 20 dentes que haviam sofrido lesões traumáticas aos tecidos periodontais (subluxação, luxação extrusiva, luxação lateral e avulsão) e apresentavam integridade coronária, normalidade das estruturas ósseas, ausência de fratura radicular, de lesão periapical, de bolsa periodontal, de reabsorções e obliteração do canal radicular.

Os critérios clínicos utilizados para o diagnóstico de necrose pulpar nos dentes traumatizados foram: alteração de coloração da coroa, resposta negativa aos testes de sensibilidade pulpar térmicos (calor e frio) e elétrico, resposta positiva aos testes de percussão vertical e horizontal, dor à palpação e mobilidade aumentada (ANEXO 6).

Um dos critérios utilizados para definir o diagnóstico radiográfico de necrose pulpar após traumatismo dentário, além da paralização da rizogênese, foi a verificação da condição do espaço periodontal apical. Verificou-se que 5 dentes apresentaram espaço periodontal apical normal e 15, espaço periodontal apical alargado com preservação da continuidade da lâmina dura (ANEXO 6).

O tempo decorrido do traumatismo dentário até a intervenção endodôntica dos dentes traumatizados variou de 15 dias a 31 meses, como pode ser verificado na Tabela 1.

Tabela 1 – Distribuição do número de dentes traumatizados (n = 20) de acordo com o período de tempo decorrido do traumatismo dentário até a intervenção endodôntica

Período de tempo	Número de dentes (%)
15 dias – 3 meses	14 (70,0%)
4 meses – 6 meses	2 (10,0%)
> 7 meses	4 (20,0%)

5.2 ANÁLISE MICROSCÓPICA

As dez polpas do grupo controle apresentaram-se com características de normalidade: tecido conjuntivo altamente celularizado, presença de vasos sangüíneos e filetes nervosos preservados e ausência de calcificações (Figuras 7 e 8).

Dos 20 dentes traumatizados selecionados para este estudo, 3 dentes não apresentaram tecido pulpar ou apresentaram tecido pulpar insuficiente para permitir avaliação microscópica. Os demais dentes tiveram suas amostras de polpas analisadas de acordo com as características microscópicas, a partir da coloração de rotina em Hematoxilina e Eosina.

As amostras de polpas de 3 dentes apresentaram necrose parcial (Figura 9) e as 14 restantes apresentaram necrose total (Figura 10). Nessas pôde-se observar hialinização parcial ou total do colágeno (Figura 11), ausência de vasos sangüíneos (Figura 12), núcleos celulares (Figura 13) e filetes nervosos ou a presença desses em avançado processo degenerativo.

Nas amostras de polpas com necrose parcial, apesar dos fenômenos necróticos e degenerativos serem evidentes em algumas áreas, muitos filetes nervosos ainda

puderam ser observados em algumas partes do tecido pulpar, bem como colágeno, núcleos celulares e vasos sangüíneos. A presença de calcificações foi verificada em ambos os grupos (Figura 14).

Destes 20 dentes traumatizados selecionados para o estudo, 17 tiveram também as amostras de polpas coradas pelo método de Brown e Brenn, visto que, 3 dentes não apresentaram tecido pulpar ou apresentaram tecido pulpar insuficiente para permitir avaliação microscópica. Em 13 amostras pôde ser verificada a presença de microrganismos Gram positivos (Figura 15) e/ou Gram negativos (Figura 16).

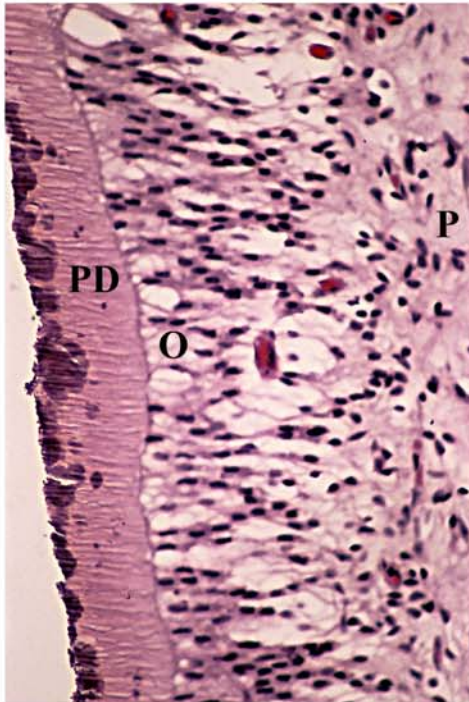


Figura 7 - Polpa com características de normalidade, PD = pré-dentina, O = odontoblastos e P = polpa dentária (H.E., aumento original: 200X)

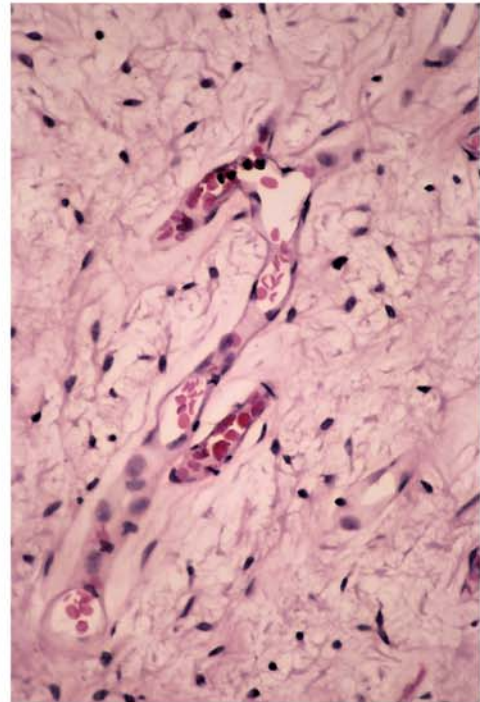


Figura 8 - Polpa com características de normalidade, tecido conjuntivo altamente celularizado e vasos sanguíneos preservados (H.E., aumento original: 400X)

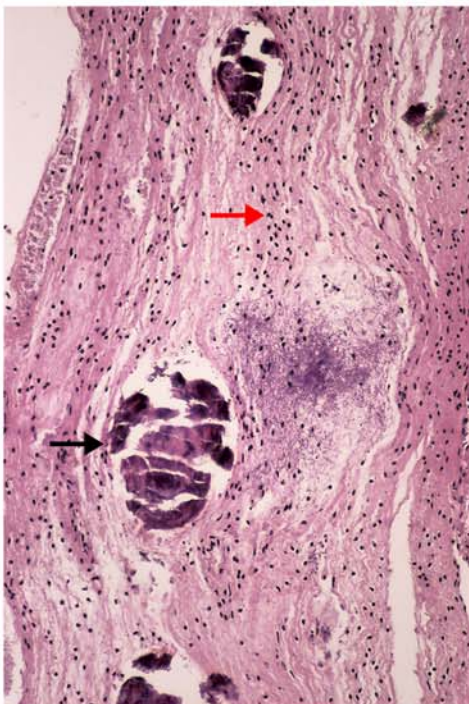


Figura 9 - Polpa com necrose parcial, áreas com núcleos celulares preservados (seta vermelha) e calcificação (seta preta) (H.E., aumento original: 200X)

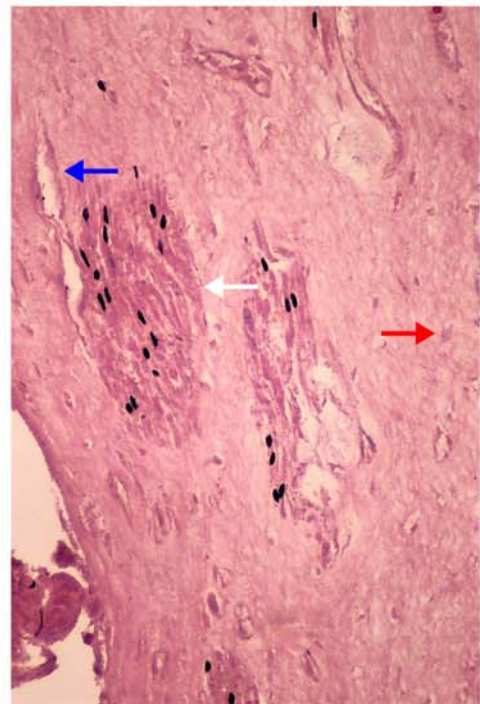


Figura 10 - Polpa com necrose total, vasos sanguíneos (seta azul), núcleos celulares (seta vermelha) e filetes nervosos (seta branca) em degeneração (H.E., aumento original: 400X)

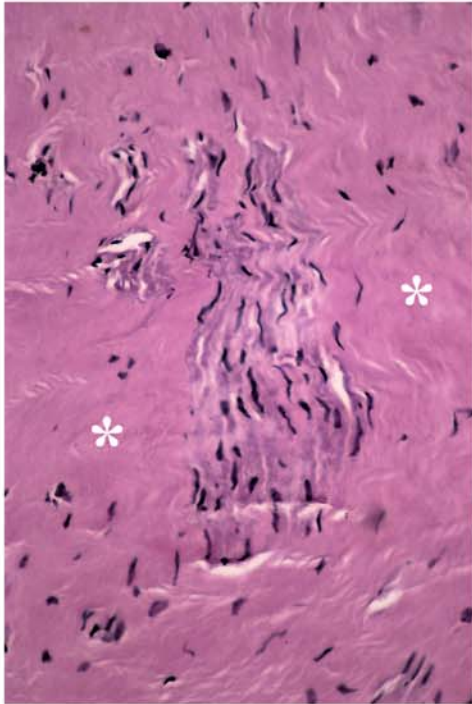


Figura 11 - Polpa necrótica, áreas de hialinização do colágeno (*)
(H.E., aumento original: 200X)

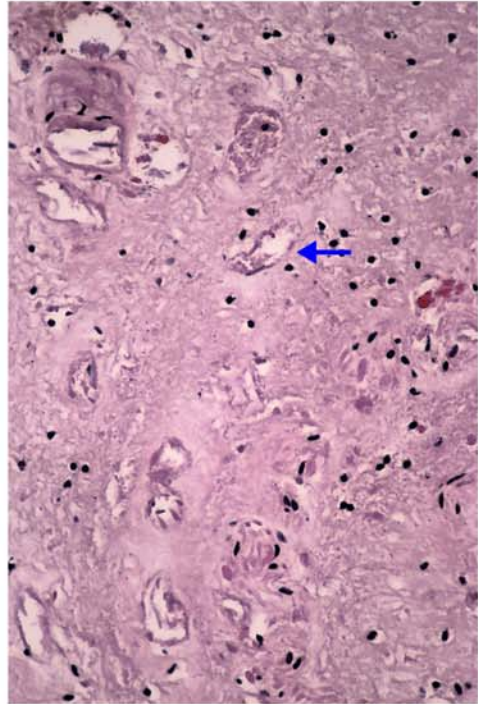


Figura 12 - Polpa necrótica, vasos sanguíneos em degeneração (seta azul)
(H.E., aumento original: 200X)

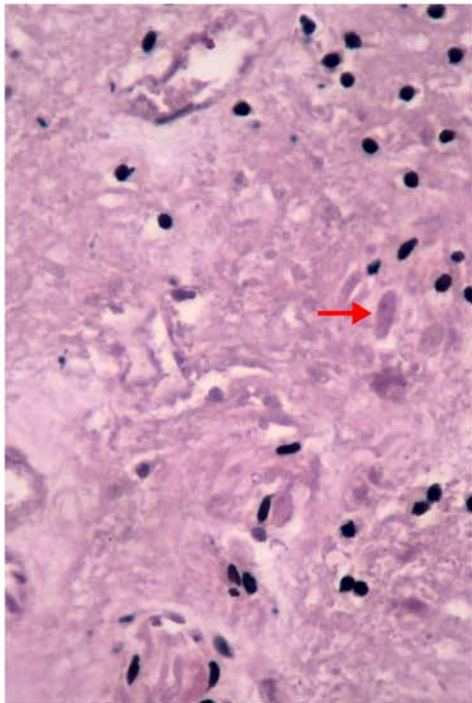


Figura 13 - Polpa necrótica, núcleos celulares em degeneração (seta vermelha)
(H.E., aumento original: 400X)

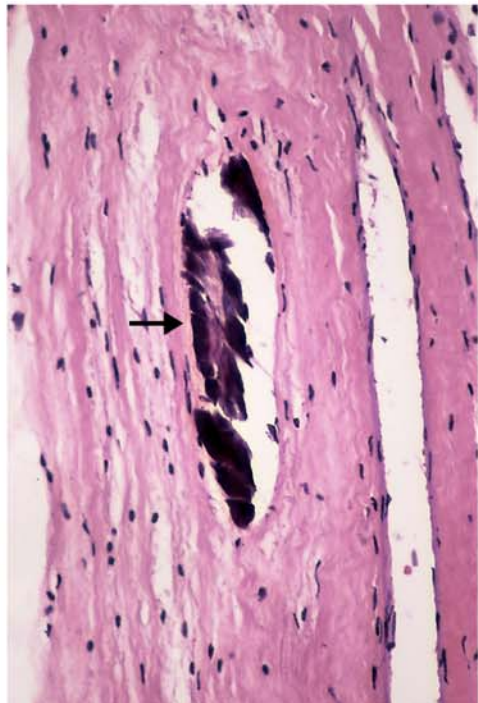


Figura 14 - Polpa necrótica, calcificação (seta preta)
(H.E., aumento original: 200X)

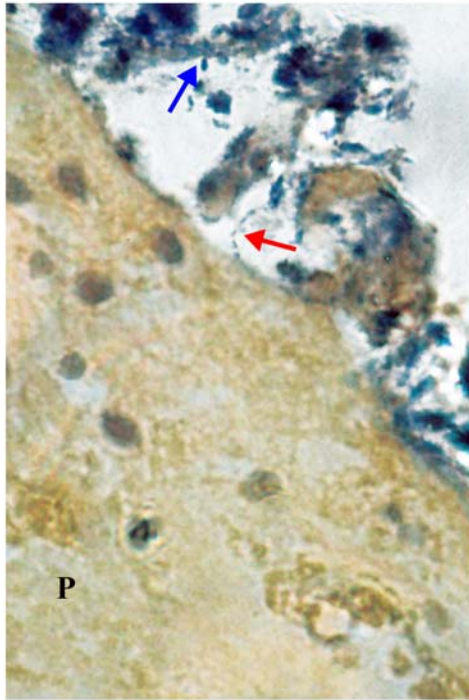


Figura 15 - Polpa necrótica (P), colônias de bactérias Gram positivas (seta azul) e cocos Gram positivos (seta vermelha)
(B.B., aumento original: 1000X)

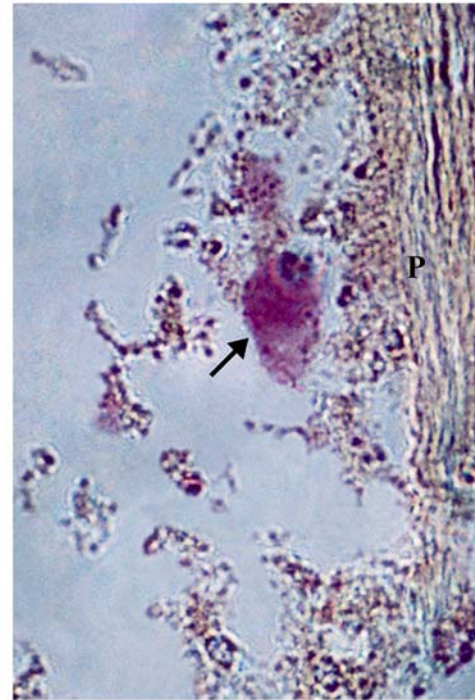


Figura 16 - Polpa necrótica (P), colônias de bactérias Gram negativas (seta preta)
(B.B., aumento original: 400X)

5.3 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA

Das 20 amostras obtidas dos canais radiculares dos dentes traumatizados, em apenas 3 (15,0%) não foi detectado o desenvolvimento microbiano. Os microrganismos isolados dos canais radiculares dos dentes traumatizados infectados foram: *Estreptococos* bucais (31,0%), bactérias anaeróbias facultativas - cocos Gram positivos (CGP), cocos Gram positivos alfa-hemolíticos e bacilos Gram positivos (BGP) alfa-hemolíticos (52,0%), *Staphylococcus sp* (6,7%) e bacilos Gram positivos esporulados (10,3%). Em 12 dentes foi observada a presença de mais de um tipo de microrganismo (ANEXO 7).

5.4 CORRELAÇÃO ENTRE OS CRITÉRIOS CLÍNICOS E RADIOGRÁFICOS E OS ACHADOS MICROSCÓPICOS E MICROBIOLÓGICOS

Os critérios clínicos utilizados para diagnóstico de necrose pulpar em dentes traumatizados foram avaliados segundo a sensibilidade, a especificidade e a acurácia. A sensibilidade foi verificada nos 20 dentes traumatizados selecionados para o estudo, visto que microscopicamente, todos apresentaram polpa necrótica. A especificidade foi verificada nos 20 dentes contralaterais não traumatizados, com padrão de resposta normal, considerados presumivelmente não necrosados. Dentre os critérios clínicos avaliados, os testes de sensibilidade pulpar ao calor (90,0%) e ao frio (85,0%) e o teste de percussão vertical (75,0%) foram os que apresentaram maior sensibilidade para o diagnóstico de necrose pulpar após traumatismo dentário, bem como maior acurácia 95,0%, 92,5% e 87,5% respectivamente (Tabela 2).

RESULTADOS

Tabela 2 – Análise dos critérios clínicos utilizados para o diagnóstico de necrose pulpar

Análise	Critérios clínicos							
	Alteração de cor	TSP frio (-)	TSP calor (-)	TSP elétrico (-)	TPV (+)	TPH (+)	Dor à palpação	Mobilidade aumentada
Sensibilidade	30,0	85,0	90,0	50,0	75,0	55,0	20,0	50,0
Especificidade	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Acurácia	65,0	92,5	95,0	75,0	87,5	77,5	60,0	75,0

(-): resposta negativa; (+): resposta positiva; TSP: teste de sensibilidade pulpar; TPV: teste de percussão vertical; TPH: teste de percussão horizontal

O teste de percussão vertical foi avaliado quanto à presença de microrganismos em dentes traumatizados, apresentando alta sensibilidade (80,0%) (Tabela 3).

Tabela 3 – Análise do teste de percussão vertical (TPV) em relação à presença de microrganismos no canal radicular

Presença de microrganismo	TPV (+)		TPV (-)	
	n	%	n	%
Não	3	20,0	0	0,0
Sim	12	80,0	5	100,0
Total	15	100,0	5	100,0

Sensibilidade = 80,0% ; Especificidade = 0,0% ; Acurácia = 60,0%; n: número de dentes

A condição do espaço periodontal apical (normal ou alargado) não foi estatisticamente significativa - nível de significância de 5,0% ($p > 0,05$) - em relação ao número de microrganismos presentes no canal radicular, seja para os diferentes tipos de microrganismo ou para todos analisados conjuntamente. Dentes com espaço periodontal apical alargado não apresentaram número de microrganismos significativamente maior do que dentes com espaço periodontal apical normal.

O tempo decorrido do traumatismo dentário até a intervenção endodôntica também não foi estatisticamente significativa - nível de significância de 5,0% ($p > 0,05$)

RESULTADOS

- em relação ao número de microrganismos presentes no canal radicular, quando analisados todos os tipos conjuntamente ($p = 0,591$). Entretanto, na análise isolada de cada tipo de microrganismo, o tempo decorrido do traumatismo dentário até a intervenção endodôntica foi estatisticamente significativa - nível de significância de 5,0% ($p = 0,047$) - em relação ao número de estreptococos bucais isolados no canal radicular, verificando-se um aumento desse número à medida que o tempo também era maior (Figura 17).

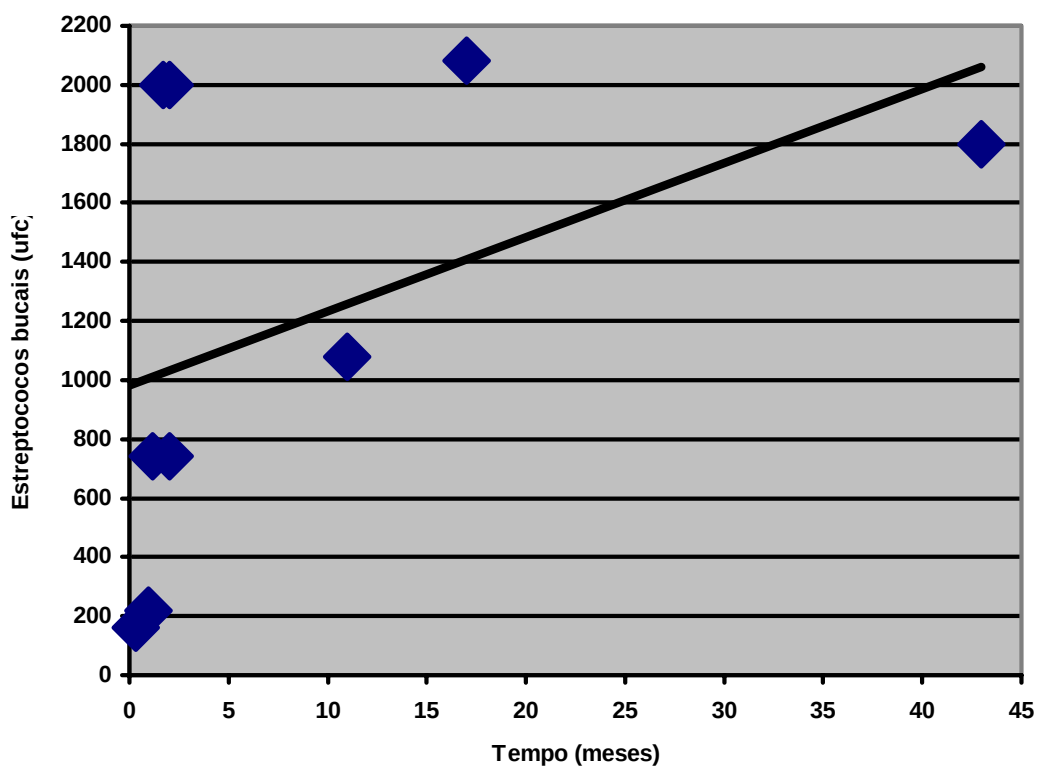


Figura 17 – Gráfico representativo da correlação entre número de unidades formadoras de colônias (ufc) de estreptococos bucais e o tempo decorrido do traumatismo dentário até a intervenção endodôntica

6 DISCUSSÃO

6.1 DA METODOLOGIA

Embora muitos estudos já tenham sido realizados para elucidar os fenômenos envolvidos no desenvolvimento da necrose pulpar após traumatismo dentário, seu diagnóstico ainda é um desafio freqüente na clínica odontológica. Os critérios de diagnóstico atualmente disponíveis são imprecisos, cronologicamente isolados, não padronizados e podem refletir apenas alguns parâmetros do processo de reparo (Andreasen, 1985; Andreasen, 2003). Assim, o êxito almejado no atendimento de pacientes com dentes traumatizados pode ficar comprometido, uma vez que a realização de um plano de tratamento bem estruturado e a decisão sobre o momento correto da intervenção endodôntica dependem de um diagnóstico preciso da condição pulpar. Além disso, os estudos sobre traumatologia dentária que abordam a necrose pulpar em dentes traumatizados (Andreasen, 1970; Barkin, 1973; Rock et al., 1974; Jacobsen, 1980; Andreasen & Vestergaard-Pedersen, 1985; Andreasen et al., 1986, Cohenca et al., 2003), em sua maioria, são retrospectivos, sugestivos e clínicos e não se fazem acompanhar de análise microbiológica ou microscópica do tecido pulpar, o que poderia trazer respostas para muitas dúvidas que ainda persistem.

Para a realização deste estudo, o paciente ou o seu responsável foi informado de todos os procedimentos a serem realizados e de sua participação em uma pesquisa que seria conduzida de acordo com os preceitos da bioética.

Em outubro de 1996, o Conselho Nacional de Saúde publicou a Resolução número 196/96, que se fundamenta nos preceitos da bioética e em diretrizes internacionais da Organização Mundial de Saúde, as quais consideram ser imprescindível que toda pesquisa que envolva seres humanos seja conduzida de acordo com os seguintes princípios e nesta ordem hierárquica: beneficência, autonomia e justiça. O princípio da beneficência consiste em maximizar benefícios e minimizar danos ou prejuízos; o da autonomia reconhece a capacidade de cada indivíduo decidir livremente sobre sua participação ou não na pesquisa que lhe está sendo proposta e, finalmente, o da justiça refere-se à obrigação de tratar cada pessoa com o que é moralmente certo e adequado (Ramos & Grande, 1998).

Para o presente estudo, foram selecionados, segundo critérios definidos por Andreasen & Andreasen (2001), 20 dentes humanos permanentes que sofreram traumatismo aos tecidos periodontais (subluxação – 8 dentes, luxação extrusiva – 3 dentes, luxação lateral – 2 dentes e avulsão – 7 dentes). Não foram formados grupos com número idêntico de amostras porque este estudo não teve como objetivo correlacionar o tipo de traumatismo dentário com o desenvolvimento de necrose pulpar, mas sim, verificar se os critérios clínicos e radiográficos utilizados para o diagnóstico clínico da necrose pulpar nos dentes traumatizados correspondiam à condição microbiológica do canal radicular e microscópica do tecido pulpar.

Com o intuito de verificar a ocorrência de necrose pulpar e a presença de microrganismos no canal radicular de dentes traumatizados com câmara pulpar intacta, foram selecionados dentes com ausência de cárie, de restauração e/ou fratura, as quais poderiam prover possíveis fontes de invasão microbiana ao tecido pulpar (Olgart et al., 1974; Brannstrom & Vojinovic, 1976; Bergenholtz, 1977). Acrescido a esses fatores, os

dentes deveriam estar livres de comprometimento periodontal, pois tem sido demonstrada a similaridade entre a microbiota do canal radicular e das bolsas periodontais, o que possibilitaria aos microrganismos de um sítio alcançarem o outro (Kerekes & Olsen, 1990; Paul & Hutter, 1997; Abou-Rass & Bogen, 1998). Dentes com presença de lesão periapical ou reabsorções também foram excluídos, visto que já foi comprovada, nestes casos, a presença, em grandes quantidades, de bactérias livres no lúmen do canal radicular ou aderidas às suas paredes e, às vezes, penetrando nos túbulos dentinários (Nair, 1987; Ribeiro, 1997). Dentes com canal radicular em processo de obliteração foram excluídos, em razão da comprovada presença de tecido vital responsável pela deposição de tecido mineralizado ao longo das paredes do canal radicular (Andreasen & Andreasen, 2001).

Os critérios utilizados para o diagnóstico clínico da necrose pulpar pautaram-se na literatura existente e consistiram em: alteração de coloração da coroa, ausência de resposta aos testes de sensibilidade pulpar térmico e elétrico, resposta positiva aos testes de percussão vertical e horizontal, dor à palpação, mobilidade aumentada, presença de espaço periodontal apical alargado e paralização da rizogênese (Andreasen, 1970; Barkin, 1973; Rock et al., 1974; Jacobsen, 1980; Andreasen, 1985; Robertson, 1998; Andreasen, 2003). O diagnóstico clínico da necrose pulpar do dente traumatizado só foi realizado mediante a associação de três ou mais critérios clínicos e/ou radiográficos descritos de acordo com estudos de Jacobsen (1980), Andreasen (1988) e Andreasen (2003).

Cada critério clínico foi avaliado segundo a sensibilidade (habilidade de identificar dentes com necrose pulpar), a especificidade (habilidade de identificar dentes com vitalidade pulpar) e a acurácia (padrão geral obtido entre sensibilidade e

especificidade). A sensibilidade foi verificada nos 20 dentes traumatizados selecionados para o estudo, estando todos necrosados. A especificidade foi verificada nos 20 dentes contralaterais aos traumatizados, presumivelmente vitais, com o intuito de investigar um padrão de resposta em dentes não traumatizados. A acurácia foi estabelecida pela associação da sensibilidade nos 20 dentes traumatizados com a especificidade nos 20 dentes contralaterais aos traumatizados.

Os dentes também foram classificados de acordo com o estágio de rizogênese, visto que dentes traumatizados com rizogênese incompleta apresentam risco menor de desenvolver necrose pulpar em virtude da maior possibilidade de revascularização (Andreasen & Vestergaard-Pedersen, 1985; Robertson, 1998; Andreasen, 2003). Esse é um dado importante, pois determina o prognóstico e influencia a terapia a ser adotada nos casos de avulsão selecionados.

A verificação do estágio de rizogênese foi realizada de acordo com o trabalho de Andreasen & Vestergaard-Pedersen (1985), que descreveram a técnica utilizada para medir o diâmetro apical do forame com paquímetro, definindo parâmetros mais precisos. A classificação adotada neste estudo foi, portanto, de rizogênese completa e incompleta, já que a utilização de critérios tais como fechado, meio fechado e aberto, citados em alguns trabalhos (Andreasen, 1970; Barkin, 1973; Crona-Larsson et al., 1991), é muito subjetiva e ampla, está sujeita a interpretações individuais e ocasiona falta de rigor na classificação dos casos. Todavia, Duell (1973) nos alerta para a limitação da técnica de medir o diâmetro apical realizada radiograficamente, pois, o desenvolvimento radicular se dá mais lentamente no sentido vestibulo-lingual do que no sentido mesio-distal. Como a medição é feita neste último sentido, dentes com

rizogênese incompleta podem ser erroneamente classificados como tendo desenvolvimento radicular completo.

O tempo decorrido do traumatismo até a intervenção endodôntica nos dentes selecionados também foi verificado, visto que pouco se sabe a respeito de quando a necrose pulpar pode ser diagnosticada nestes dentes com precisão, assim como não foi ainda definida a periodicidade nem o tempo de controle necessário para o seu diagnóstico (Andreasen, 1989). A verificação desse tempo atende ao objetivo de investigar a existência de correlação entre seu transcurso e o número de microrganismos presentes no canal radicular.

A coleta do material dos dentes traumatizados para a contagem microbiana, ou seja, para a determinação de unidades formadoras de colônias de bactérias foi realizada utilizando-se três cones de papel absorvente esterilizados, seqüencialmente introduzidos no canal radicular durante 30 segundos. O procedimento se baseou em trabalhos realizados por Garber (1963), Engstrom (1966) e Serene & McDonald (1969), nos quais a indicação mais confiável para a coleta com positividade da cultura foi obtida quando da utilização de três cones de papel.

A remoção do tecido pulpar foi realizada com lima tipo Hedström em virtude de sua excelente capacidade de corte, decorrente do ângulo formado pela inclinação dos cones da parte ativa, e por ser empregada na excisão do tecido pulpar de canais radiculares amplos (Estrela, 2004a). O tecido pulpar foi acondicionado em formol tamponado a 10,0% para posterior processamento e análise microscópica.

Os cortes corados em Hematoxilina e Eosina possibilitaram o estudo dos eventos microscópicos. Os critérios estabelecidos para definir necrose pulpar, baseados no estudo de Andreasen (1988), foram: hialinização parcial ou total do colágeno,

ausência de núcleos celulares, de vasos sangüíneos e/ou filetes nervosos ou a presença deles em processo de degeneração.

O método de Brown e Brenn foi aplicado para identificar possíveis colônias e/ou biofilmes microbianos no tecido pulpar dos dentes traumatizados, como nos estudos de Stanley (1978) e Andreasen (1988). A literatura afirma que este método pode se tornar limitado se não forem realizados e analisados todos os cortes da amostra, pois a invasão do tecido necrótico por microrganismos pode ser irregular, e os mesmos estarem presentes nos túbulos dentinários, nas lacunas de cemento celular ou forame apical e portanto, visualizados apenas em alguns cortes (Mjor, 1974; Tronstad et al., 1987; Watts, 1987). Andreasen (1988) alertou também para a dificuldade de visualização, pelo método de Brown e Brenn, de microrganismos Gram negativos no tecido pulpar, os quais dificilmente podem ser diferenciados de células que sofrem autólise ou lise de eritrócitos.

O grupo controle foi composto de pré-molares hígidos unirradiculados extraídos por finalidade ortodôntica, como no estudo de Cipriano & Walton (1986), com o intuito de verificar as características microscópicas referentes a um tecido pulpar de dente não traumatizado. Após exodontia desses dentes, o terço apical foi removido cuidadosamente com alveolótomo para facilitar a penetração da solução de fixação (formol tamponado a 10,0%), de modo similar ao ocorrido nos trabalhos de Yoshida et al. (1996) e Sakurai et al. (1999). Esses autores, entretanto, utilizavam broca esférica em alta rotação para remoção do terço apical. Durante a realização do piloto deste trabalho, observou-se que esta forma de remoção mostrava-se mais complexa e demorada quando comparada à utilização do alveolótomo, que se tornou o instrumento de escolha neste estudo. A remoção do tecido pulpar foi realizada com base nos estudos de Hahn et al.

(1989) e Mangkornkarn et al. (1991), confeccionando-se sulcos perpendiculares ao longo eixo do dente, como se fossem anéis, com uma broca diamantada cilíndrica de número 4219 em alta rotação. Os fragmentos foram luxados com o auxílio de um cinzel e removidos com pinça clínica, o que permitiu a remoção adequada e a manutenção de polpa íntegra.

6.2 DOS RESULTADOS

Dos 20 dentes selecionados para este estudo, 3 não apresentaram tecido pulpar ou apresentaram-no de modo insuficiente para permitir avaliação microscópica. Os demais dentes tiveram suas amostras de polpas analisadas por meio de microscopia óptica, os quais demonstraram necrose parcial (3 dentes) e necrose total (14 dentes), encerrando uma amostra final de 20 dentes (100,0%) necrosados. Resultados esses que se mostraram discordantes dos de Arwill et al. (1967), os quais encontraram, numa amostra de 25 polpas extirpadas de dentes com diagnóstico clínico de necrose pulpar após traumatismo, apenas 56,0% realmente necróticas quando submetidas ao exame microscópico. De maneira similar, os resultados do presente estudo contrastam-se com os de Cipriano & Walton (1986), os quais não conseguiram confirmar microscopicamente o diagnóstico clínico de necrose pulpar após traumatismo em 88,0% dos dentes em uma amostra de 42 polpas. Pode-se ainda contrastar os resultados obtidos dos de Andreasen (1988), que verificou microscopicamente, que, de uma amostra de 66

dentes com diagnóstico clínico de necrose pulpar, entre 9,0% e 14,0% das polpas extirpadas apresentavam potencial de reparo e não deveriam ter sido removidas.

Esta diferença entre os resultados do presente estudo e os relatados na literatura pode ser atribuída, em primeiro lugar, ao ano em que foram realizados os trabalhos, considerando-se a limitação dos métodos de diagnóstico disponíveis na época para determinação da necrose pulpar após traumatismo, e, em segundo lugar, nos trabalhos mais atuais, aos critérios clínicos utilizados para realizar o diagnóstico de necrose pulpar.

No presente trabalho, o período de tempo decorrido do traumatismo até a intervenção endodôntica variou de 15 dias a 31 meses. Os dentes indicados para tratamento em 15 dias foram aqueles avulsionados com rizogênese completa, em que o único resultado esperado era a necrose pulpar (Andreasen, 1989). As polpas extirpadas destes dentes, com intervalo de tempo menor, foram as três que, submetidas ao exame microscópico, apresentaram necrose pulpar parcial. Esse fenômeno de degeneração pulpar em diferentes estágios, de acordo com o tempo, também foi verificado por Stanley, em 1978, através de um estudo microscópico de polpas extirpadas de dentes permanentes traumatizados. Polpas extirpadas com intervalo de tempo menor desde o traumatismo mostraram: tecido pulpar normal e celular no terço apical, tecido com vasos congestos e hemorragia no terço médio e sinais de necrose no terço coronário. Já as polpas extirpadas com intervalo de tempo maior mostraram-se “secas” e “mumificadas”, com a maioria dos núcleos celulares contraídos ou desintegrados.

De acordo com os resultados do presente estudo, em 70,0% dos dentes (14) o diagnóstico clínico da necrose pulpar foi realizado em até três meses. Resultado este concordante com o encontrado por Andreasen (1989) e próximo ao observado por

Jacobsen (1980), que foi de quatro meses. Contrariamente, Barkin (1973) atestou que nenhum padrão para prever a vitalidade do dente traumatizado pode ser feito nos primeiros três meses. Para Andreasen & Vestergaard-Pedersen (1985) e Andreasen (1989), existem diferentes padrões cronológicos para diferentes tipos de traumatismo, podendo a necrose pulpar ocorrer após três meses ou mesmo após dois anos nos casos de luxações lateral e intrusiva, já que muito pouco se sabe sobre a relação entre o período de tempo pós-traumatismo dentário e a sua ocorrência.

O diagnóstico da necrose pulpar em dentes traumatizados corresponde a um dos maiores problemas da traumatologia dentária. No presente estudo, nenhum dos critérios clínicos utilizados foi patognomônico (100,0%) para diagnóstico de necrose pulpar nos dentes que haviam sofrido traumatismo dentário, entretanto, os testes de sensibilidade pulpar térmicos referentes ao calor (90,0%) e ao frio (85,0%) apresentaram uma sensibilidade maior que os demais, até mesmo em relação ao teste de sensibilidade pulpar elétrico (50,0%).

Os resultados acima são concordantes com os de Petersson et al. (1999), que também verificaram que os testes de sensibilidade pulpar térmicos relativos ao calor (86,0%) e ao frio (83,0%) foram mais confiáveis que o teste de sensibilidade pulpar elétrico (72,0%) na detecção de necrose pulpar, entretanto, a amostra estudada (29 dentes) não era proveniente de traumatismo dentário. Novoa (2005) também atestou a superioridade dos testes de sensibilidade pulpar térmicos referentes ao frio e ao calor (87,5%) em relação ao teste de sensibilidade pulpar elétrico (62,5%) no diagnóstico de necrose pulpar de dentes extraídos com finalidade protética ou ortodôntica.

A realização dos testes de sensibilidade pulpar é extremamente útil na estruturação do diagnóstico clínico. Eles são eficazes para testar o estado de

normalidade, de inflamação ou necrose pulpar. Todavia, os resultados desses testes devem ser interpretados com cautela porque a presença de fibras nervosas em dentes com necrose pulpar pode gerar impulsos sensitivos, denotando sensibilidade, mas não, vitalidade pulpar (Estrela, 2004b).

O teste de sensibilidade pulpar ao frio promove diferentes decréscimos na temperatura intrapulpar, estimulando terminações nervosas pulpares a partir das alterações vasculares (vasoconstrição) (Estrela, 2004b). Tem sido descrito que esse teste causa contração do fluido dentinário no interior dos túbulos dentinários, o que resulta em um rápido movimento do fluido e geração de forças hidrodinâmicas. Essas, agem sobre os mecanorreceptores dos nervos delta-A do complexo dentina-polpa desencadeando uma sensação aguda que permanece durante a realização do estímulo térmico (Ford & Patel, 2004). A ausência de resposta a esse teste pode indicar que a polpa dentária está necrosada, uma vez que resposta positiva é indicativa de sensibilidade pulpar (Estrela, 2004b).

O teste de sensibilidade pulpar ao calor também promove alterações vasculares (vasodilatação), estimulando as terminações nervosas. Quando da sua realização, a gutapercha deve ser aquecida com uma chama exposta ou aquecedor elétrico até se tornar macia e brilhante, pois assim alcança a temperatura almejada que é de 150°C (Ford & Patel, 2004). Esse teste não é aplicado como rotina em polpa sugestiva de normalidade, uma vez que pode agravar sua situação, sendo assim indicado em situações nas quais se requer o estabelecimento de um diagnóstico diferencial. Portanto, dentre os testes de sensibilidade térmicos, o frio é mais confiável, rápido e efetivo na avaliação da sensibilidade pulpar; todavia, polpas necrosadas normalmente não apresentam resposta ao calor (Estrela, 2004b). Fato esse relatado no presente estudo, em que o teste de

sensibilidade pulpar ao calor foi o mais preciso (90,0%) no diagnóstico de necrose pulpar dos dentes traumatizados.

Estudando dentes com vitalidade pulpar, Fulling & Andreasen (1976) observaram que o teste de sensibilidade pulpar ao frio (dióxido de carbono) permitiu uma resposta uniforme positiva, independentemente do estágio de rizogênese do dente. Os testes elétricos (*Siemens* e *Bofors*), por sua vez, apresentaram valores aumentados em dentes com rizogênese incompleta. A não-confiabilidade do teste de sensibilidade pulpar elétrico também foi confirmada por Nordenram (1970), Jacobsen (1980) e Andreasen (2003). A explicação para esse fenômeno parece ser a incompleta formação de fibras nervosas próximas da camada odontoblástica e de pré-dentina em comparação com os dentes com rizogênese completa e em oclusão. Os aparelhos disponíveis para o teste elétrico estimulam as fibras A (mielínicas) na junção pulpo-dentinária, as quais atingem sua formação máxima somente cinco anos após irrompimento dos dentes. Decorre daí, provavelmente, a dificuldade de obtenção de respostas ao teste elétrico em dentes com rizogênese incompleta (Fulling & Andreasen, 1976; Seltzer & Bender, 1979; Rock & Grundy, 1981; Pesce, 1990). Em dentes recém-traumatizados, o teste elétrico pode fornecer respostas falso negativas, visto que estimula, essencialmente, as fibras nervosas sensitivas da polpa a produzir resposta, mas não provê informação sobre o suprimento vascular pulpar. Como após um traumatismo dentário o suprimento sanguíneo pulpar se restabelece mais rapidamente do que a inervação, o dente pode ter vitalidade, mas estar insensível (Jacobsen, 1980; Robertson, 1998; Cohenca et al., 2003). Portanto, a capacidade do teste elétrico de estimular a sensibilidade em terminações nervosas não confirma, necessariamente, que o dente possua vitalidade. Em dentes com necrose pulpar, respostas falso positivas também podem ocorrer quando da

utilização do teste elétrico, desde que fibras nervosas estejam ainda presentes em tecidos necróticos, já que essas são as últimas estruturas a entrarem em degeneração (Estrela, 2004b).

No presente trabalho, apesar do teste de sensibilidade pulpar elétrico se mostrar parcialmente confiável (50,0%) para o diagnóstico de necrose pulpar em dentes traumatizados, ele constituiu um critério clínico importante e não subjetivo, uma vez que nos forneceu um valor que pôde ser monitorado.

A alteração de coloração da coroa também não se mostrou confiável (30,0%) para o diagnóstico de necrose pulpar em dentes traumatizados, corroborando com estudos de Andreasen (1989, 2003) e Cohenca et al. (2003), os quais afirmaram que a alteração de coloração da coroa após traumatismo dentário não deve ser esperada como sinal decisivo de necrose pulpar. Segundo Andreasen (1989), essa alteração pode ser transitória, uma vez que é causada pela hemorragia intrapulpar com extravasamento dos eritrócitos e dos subprodutos de sua decomposição, e, havendo o restabelecimento da circulação no período pós-traumatismo, estes podem ser removidos e a coroa retoma sua coloração original. Em contrapartida, alguns autores acreditam que esta alteração de cor após o traumatismo dentário é permanente e que, quando severa, é indicativa de necrose pulpar (Arwill et al., 1967; Jacobsen, 1980).

Resposta positiva ao teste de percussão horizontal (55,0%) e presença de mobilidade (50,0%) não foram tão decisivas para o diagnóstico de necrose pulpar dos dentes traumatizados quanto os testes térmicos e de percussão vertical, mas constituem critérios clínicos a serem avaliados. Já a presença de dor à palpação (20,0%) foi o critério clínico com menor sensibilidade para o diagnóstico de necrose pulpar após traumatismo dentário.

A resposta positiva ao teste de percussão vertical (75,0%) mostrou-se um critério clínico importante para o diagnóstico de necrose pulpar em dentes traumatizados. Apesar de Jacobsen (1980) afirmar que este teste é pouco útil nestes casos, Andreasen (1988, 2003) observou que dentes com polpas necróticas infectadas apresentaram maior sensibilidade à percussão quando comparados a dentes com polpas necróticas não infectadas. Esse dado foi confirmado no presente estudo quando o teste apresentou alta sensibilidade (80,0%) na detecção de microrganismos no canal radicular dos dentes traumatizados, indicando que uma resposta positiva ao teste de percussão vertical estaria associada a uma necrose pulpar com presença de microrganismos.

Estudos de Arwill et al. (1967) e Andreasen (1988) demonstraram não haver correlação estatisticamente significativa entre os critérios clínicos utilizados para diagnóstico de necrose pulpar e a condição microbiológica do canal radicular de dentes traumatizados. Esses autores verificaram que tanto a resposta negativa aos testes de sensibilidade pulpar quanto a alteração de coloração da coroa pós-traumatismo não refletiram a condição pulpar com relação à ausência ou à presença de microrganismos no canal radicular. Pode-se correlacionar esses achados com os resultados obtidos, em que a sensibilidade à percussão vertical foi o único critério clínico que mostrou correlação estatisticamente significativa com polpas necróticas com presença de microrganismos.

Um dos critérios radiográficos utilizados para estabelecer o diagnóstico de necrose pulpar após traumatismo dentário foi a verificação da condição do espaço periodontal apical, o qual, quando alargado, pode indicar uma necrose pulpar com infecção (Bergenholtz, 1974). Entretanto, no presente trabalho, os resultados mostraram que tanto os dentes cujo espaço periodontal apical se encontrava normal quanto os que o

tinham alargado apresentaram microrganismos. E, ainda, dentes com espaço alargado não apresentaram número de microrganismos significativamente maior que aqueles com espaço normal. Esses resultados devem ser analisados com cautela em razão do pequeno número e da ausência de padronização da amostra (5 dentes com espaço periodontal apical normal e 15 com espaço periodontal apical alargado). Todavia, verifica-se uma coincidência com estudos anteriores de MacDonald et al. (1957), Taklan (1974) e Andreasen (1988), os quais não encontraram nenhuma relação aparente entre o aspecto radiográfico e a presença ou ausência de microrganismos no canal radicular. De maneira contrastante, Bergenholtz (1974) encontrou uma correlação positiva entre a aparência radiográfica da área apical e a ocorrência de microrganismos no canal radicular de dentes traumatizados e, ainda, dentes sem alteração no espaço periodontal apical não apresentaram desenvolvimento microbiano.

No presente estudo, das 20 amostras obtidas dos canais radiculares dos dentes traumatizados, em 17 (85,0%) foi detectado desenvolvimento microbiano. Resultado superior ao de Arwill et al. (1967) e Bergenholtz (1974) que verificaram crescimento microbiano em dentes traumatizados de 28,6% e 64,0%, respectivamente, e inferior ao de Taklan (1974) e o de Le Goff et al. (1997), que encontraram desenvolvimento microbiano em dentes traumatizados com câmara pulpar intacta em 100,0% e em 90,0%, respectivamente. Pode-se correlacionar os resultados obtidos com predominância de 52,0% de microrganismos anaeróbios facultativos, com os de Le Goff et al. (1997), mas não condizente com os resultados de Taklan (1974), o qual verificou predominância de estreptococos aeróbios. Esse dado é compreensível e explicável, pois, até a década de 1970, as técnicas de cultura de microrganismos eram predominantemente aeróbias em razão da falta de aperfeiçoamento e do alto custo da

técnica de cultura anaeróbia. A partir dessa época, porém, com a maior facilidade de obtenção de câmaras de anaerobiose e com o aprimoramento das técnicas de cultura microbiana, foram identificadas novas espécies como anaeróbios estritos (Leonardo & Silva, 2005).

Apesar do estudo de Bergenholtz (1974) relatar que o número de microrganismos presentes no canal radicular aumentava com um maior intervalo de tempo decorrido do traumatismo até a intervenção endodôntica, no presente estudo este aumento não foi estatisticamente significativo para o número total de microrganismos isolados, exceto para os estreptococos bucais. Esse fato pode ser explicado pois, após traumatismo dentário com rompimento do suprimento neurovascular pulpar, a polpa pode tornar-se isquêmica e portanto, susceptível à invasão microbiana. Como os estreptococos bucais são os microrganismos mais prevalentes e sempre presentes na cavidade bucal, a colonização do canal radicular por eles se torna facilitada. Ainda, esses microrganismos são hábeis para sobreviver em ambientes com pouco nutriente (Koneman et al., 2001).

Algumas hipóteses têm sido propostas para explicar como os microrganismos alcançariam a câmara pulpar de dentes traumatizados. Para Brown & Rudolph (1957), Grossman (1967) e Taklan (1974), em dentes traumatizados com câmara pulpar intacta, esta origem estaria relacionada com o rompimento de vasos sangüíneos no periodonto, permitindo a entrada de microrganismos pelo sulco gengival, pela circulação colateral ou, às vezes, pela sistêmica. Bergenholtz (1974) também atestou a contaminação microbiana pelo fluxo sangüíneo, pela membrana periodontal para canais laterais e forame apical e pelos túbulos dentinários nos casos de fraturas coronárias associadas ou não às luxações. Love (1996) sugeriu que esta invasão poderia se dar mediante a entrada

de microrganismos através de trincas presentes no esmalte e na dentina de dentes avulsionados. Já Cvek et al. (1990) consideraram, para dentes avulsionados, que os microrganismos provenientes da cavidade bucal ou da superfície radicular, contaminada durante o período extra-alveolar, alcançariam a área apical do dente reimplantado por meio do coágulo sangüíneo presente no alvéolo antes do reimplante ou formado durante a fase inicial do processo de cicatrização, uma vez que o coágulo é um excelente substrato para a proliferação de microrganismos. Dezan Júnior (2001) atestou também que bactérias poderiam atingir o tecido pulpar pela corrente sangüínea durante uma bacteremia. Tal fenômeno é denominado anacorese.

No presente estudo, em 13 amostras de polpas foi verificada a presença de microrganismos pelo método de Brown e Brenn, sendo que em duas dessas amostras este resultado não foi coincidente com a avaliação microbiológica do canal radicular, a qual não detectou desenvolvimento microbiano nesses casos. Esta limitação na comprovação dos resultados pode ser devida a presença de microrganismos anaeróbios estritos, de microrganismos não viáveis ou em número inadequado para serem detectados na cultura microbiana. Entretanto, o método de Brown e Brenn também se mostrou limitado pois comprovou a presença de microrganismos em 13 amostras, resultado inferior ao da avaliação microbiológica que foi de 17 amostras. Este fato pode ser explicado pela realização de um único corte microscópico da polpa, o qual pode não ter sido suficiente para evidenciar microrganismos e ainda, nos três dentes em que não foi possível realizar avaliação microscópica do tecido pulpar, não houve a identificação de microrganismos pelo método de Brown e Brenn. Estes resultados vêm salientar que na ausência de câmaras de anaerobiose para a detecção de anaeróbios estritos, se faz

importante a associação da avaliação microbiológica por meio de cultura microbiana com o método de Brown e Brenn.

Em suma, apesar de alguns estudos terem sido publicados nas últimas décadas sobre as alterações pulpare decorrentes de traumatismo dentário, o diagnóstico da necrose pulpar em dentes traumatizados permanece incerto devido a limitação dos métodos de diagnóstico disponíveis. Todavia, o presente estudo mostrou que um acompanhamento completo e criterioso do dente traumatizado, por meio da associação de três ou mais critérios clínicos e/ou radiográficos bem realizados e interpretados, pode determinar um diagnóstico mais preciso da necrose pulpar, fato este comprovado pelos nossos achados microscópicos e microbiológicos. Não obstante, estamos em consenso com outros autores que, para se chegar a uma compreensão mais abrangente e consolidada da necrose pulpar pós-traumatismo, novos estudos a nível de microscopia e microbiologia de dentes traumatizados, que tragam amostras maiores e metodologias padronizadas, se fazem oportunos e necessários.

7 CONCLUSÃO

De acordo com a metodologia empregada e os resultados obtidos, podem ser destacadas as seguintes conclusões:

1. Dos 20 dentes traumatizados com diagnóstico clínico de necrose pulpar, 3 dentes não apresentaram polpa para permitir análise microscópica e 17 apresentaram amostras de polpas necróticas ao exame microscópico.
2. Dos 20 dentes traumatizados, 85,0% apresentaram microrganismos no canal radicular.
3. Pôde-se observar nos dentes traumatizados uma correlação positiva entre os critérios clínicos e radiográficos utilizados para o diagnóstico de necrose pulpar com os achados microscópicos e microbiológicos.

REFERÊNCIAS

Abou-Rass M, Bogen G. Microorganisms in closed periapical lesions. **Int Endod J**. 1998;31:39-47.

Andreasen FM. Transient apical breakdown and its relation to color and sensibility changes after luxation injuries to teeth. **Endod Dent Traumatol**. 1986;2(1):9-19.

Andreasen FM. Histological and bacteriological study of pulps extirpated after luxation injuries. **Endod Dent Traumatol**. 1988;4(4):170-181.

Andreasen FM. Pulpal healing after luxation injuries and root fractures in the permanent dentition. **Endod Dent Traumatol**. 1989;5(3):111-131.

Andreasen FM. Transient root resorption after dental trauma: the clinician's dilemma. **J Esthet Rest Dent**. 2003;15(2):80-92.

Andreasen FM, Andreasen JO. Diagnosis of luxation injuries: the importance of standardized clinical, radiographic and photographic techniques in clinical investigation. **Endod Dent Traumatol**. 1985;1(5):160-169.

Andreasen FM, Vestergaard-Pedersen B. Prognosis of luxated permanent teeth: the development of pulp necrosis. **Endod Dent Traumatol**. 1985;1(6):207-220.

Andreasen FM, Zhijie Y, Thomsen BL. Relationship between pulp dimensions and development of pulp necrosis after luxation injuries in the permanent dentition. **Endod Dent Traumatol.** 1986;2(3):90-98.

Andreasen JO. Luxation of permanent teeth due to trauma: a clinical and radiographic follow-up study of 189 injured teeth. **Scand J Dent Res.** 1970;78(4):273-286.

Andreasen JO. Challenges in clinical dental traumatology. **Endod Dent Traumatol.** 1985;1(2):45-55.

Andreasen JO, Andreasen FM. Root resorption following traumatic dental injuries. **Proc Finn Dent Soc.** 1992;88:95-114.

Andreasen JO, Andreasen FM. **Texto e atlas colorido de traumatismo dental.** Porto Alegre: Artmed; 2001.

Andreasen JO, Ravn JJ. Epidemiology of traumatic injuries to primary and permanent teeth in a Danish population sample. **Int J Oral Surg.** 1972;1(4):235-239.

Arwill T, Henschen B, Sundwall-Hagland I. The pulpal reaction in traumatized permanent incisors in children aged 9-18. **Odont Tidskrift.** 1967;1:130-147.

Barkin PR. Time as a factor in predicting the vitality of traumatized teeth. **ASDC J Dent Child**. 1973;40(3):188-192.

Bastos JV. **Prognóstico pulpar após lesões traumáticas na dentição permanente: avaliação clínico-radiográfica**. [dissertação] Belo Horizonte: Faculdade de Odontologia/UFMG; 1996.

Bergenholtz G. Microorganisms from necrotic pulp of traumatized teeth. **Odont Revy**. 1974;25(5):347-358.

Bergenholtz G. Effect of bacterial products on inflammatory reactions in dental pulp. **Scand J Dent Res**. 1977;85:122-129.

Brannstrom M, Vojinovic O. Response of dental pulp to invasion of bacteria around three filling materials. **J Dent Child**. 1976;43:15-21.

Brown LR, Rudolph CB. Isolation and identification of microorganisms from unexposed canals of pulp-involved teeth. **Oral Surg**. 1957;10(5):1094-1099.

Brynolf I. A histological and roentgenological study of the periapical region of human upper incisors. **Odont Revy**. 1969;18(6):5-13.

Cipriano TJ, Walton RE. The ischemic infarct pulp of traumatized teeth: a light and electron microscopy study. **Endod Dent Traumatol**. 1986;2(5):196-204.

Cohenca N, Karni S, Rotstein I. Transient apical breakdown following tooth luxation. **Dent Traumatol.** 2003;19(5):289-291.

Côrtes MIS, Marcenes W, Sheiham A. Prevalence and correlates of traumatic injuries to the permanent teeth of schoolchildren aged 9-14 years in Belo Horizonte, Brazil. **Dent Traumatol.** 2001;17(1):22-26.

Côrtes MIS, Bastos JV. Lesões traumáticas na dentição permanente. In: Estrela C. **Ciência Endodôntica.** 1 ed. São Paulo: Artes Médicas; 2004. p.799-918.

Crona-Larsson G, Bjarnason S, Norén JG. Effect of luxation injuries on permanent teeth. **Endod Dent Traumatol.** 1991;7(5):199-206.

Cvek M, Cleaton-Jones P, Austin J, Lownie J, Kling M, Fatti P. Pulp revascularization in reimplanted immature monkey incisors-predictability and effect of antibiotic systemic prophylaxis. **Endod Dent Traumatol.** 1990;6:157-169.

Dezan Júnior E. **Indução experimental de anacorese no periápice de dentes após obturação dos canais. Estudo em cães em região geográfica endêmica para Leishmaniose.** [tese] Bauru: Faculdade de Odontologia de Bauru/USP; 2001.

Duell R. Conservative endodontic treatment of the open apex in three dimensions. **Dent Clin North Am.** 1973;17:125-134.

Dumsha T, Hovland EJ. Pulpal prognosis following extrusive luxation injuries in permanent teeth with closed apexis. **J Endod.** 1982;8(9):410-412.

Engstrom B. The significance of the number of absorvent paper points to positive endodontic cultures. **Odont Revy.** 1966;17:216-221.

Estrela C. Preparo do canal radicular. In: Estrela C. **Ciência Endodôntica.** 1 ed. São Paulo: Artes Médicas; 2004. p.363-413.

Estrela C. Estruturação do diagnóstico endodôntico. In: Estrela C. **Ciência Endodôntica.** 1 ed. São Paulo: Artes Médicas; 2004. p.23-55.

Feiglin B. Dental pulp response to traumatic injuries: a retrospective analysis with case reports. **Endod Dent Traumatol.** 1996;12(1):1-8.

Ford TRP, Patel S. Technical equipment for assessment of dental pulp status. **Endodontic Topics.** 2004;7:2-13.

Fulling HJ, Andreasen JO. Influence of maturation status and tooth type of permanent teeth upon electrometric and thermal pulp testing. **Scand J Dent Res.** 1976;84:286-290.

Garber FN. The quantitative effects on the inoculum of wiping out root canals with paper points prior of taking cultures. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol.** 1963;16:474-483.

Grossman LI. Origin of microorganisms in traumatized, pulpless, sound teeth. **J Dent Res.** 1967;46(3):551-553.

Haaviko K, Rantanen L. A follow-up study of injuries to permanent and primary teeth in children. **Proc Finn Dent Soc.** 1976;72(4):152-162.

Hahn C, Falkler Jr WA, Siegel MA. A study of T and B cells in pulp pathosis. **J Endod.** 1989;15(1):20-25.

Jacobsen I. Criteria for diagnosis of pulp necrosis in traumatized permanent incisors. **Scand J Dent Res.** 1980;88(4):306-312.

Kerekes K, Olsen I. Similarities in the microflora of root canals and deep periodontal pockets. **Endod Dent Traumatol.** 1990;6:1-5.

Koneman EW, Allen SD, Dowell VRJR, Sommers RSHM. **Diagnóstico Microbiológico – texto e atlas colorido.** São Paulo: Artes Médicas; 2001.

Le Goff A, Bunetel L, Mouton C, Bonnaure-Mallet M. Evaluation of root canal bacteria and their antimicrobial susceptibility in teeth with necrotic pulp. **Oral Microbial Immunol.** 1997;12:318-322.

Leonardo MR, Silva LAB. Filosofia do tratamento de canais radiculares. In: Leonardo MR. **Endodontia: tratamento dos canais radiculares - princípios técnicos e biológicos.** 1 ed. São Paulo: Artes Médicas; 2005. p.123-166.

Love RM. Bacterial penetration of the root canal of intact incisor teeth after a simulated traumatic injury. **Endod Dent Traumatol.** 1996;12:289-293.

MacDonald JB, Hare GC, Wood AWS. The bacteriologic status of the pulp chambers in intact teeth found to be non-vital following trauma. **Oral Surg.** 1957;10(6):314-318.

Magnusson B, Holm AK. Traumatized permanent teeth in children, a follow-up II: the crown fractures. **Swed Dent J.** 1969;62(2):61-77.

Mangkornkarn C, Steiner JC, Bohman R, Lindemann RA. Flow cytometric analysis of human dental pulp tissue. **J Endod.** 1991;17(2):49-53.

Mjor IA. The penetration of bacteria into experimentally exposed human coronal dentin. **Scand J Dent Res.** 1974; 82:191-196.

Nair PNR. Light and electron microscopic studies of root canal flora and periapical lesions. **J Endod.** 1987;13:29-39.

Nordenram A. Dental sensitivity to electrical excitation threshold values of caries-free non-filled teeth. **Acta Odontol Scand.** 1970;28:235-242.

Novoa MMH. **Análise comparativa da sintomatologia clínica do dente e a histopatologia do tecido pulpar.** [dissertação] Bauru: Faculdade de Odontologia de Bauru/USP; 2005.

Olgart L, Brannstrom M, Johnson G. Invasion of bacteria into dentinal tubules. Experiments in vivo and in vitro. **Acta Odontol Scand.** 1974;32:61-70.

Paul BF, Hutter JW. The endodontic-periodontal continuum revisited: new insights into etiology, diagnosis and treatment. **J Am Dent Assoc.** 1997;128:1541-1548.

Pesce HF. Avaliação do teste elétrico pulpar quando aplicado nos diferentes grupos dentais. **Odontólogo Moderno.** 1990;17(11):7-9.

Petersson K, Soderstrom C, Kiani-Anaraki M, Lévy G. Evaluation of the ability of thermal and electrical tests to register pulp vitality. **Endod Dent Traumatol.** 1999;15:127-131.

Ramos DLP, Grande RHM. **A ética na pesquisa odontológica**. Informe SBPqO. 1998;1(3):1.

Ribeiro FC. **Distribuição de bactérias nas estruturas mineralizadas de dentes com necrose pulpar e granuloma apical**. [dissertação] Bauru: Faculdade de Odontologia de Bauru/USP; 1997.

Robertson A. A retrospective evaluation of patients with uncomplicated crown fractures and luxation injuries. **Endod Dent Traumatol**. 1998;14(6):245-256.

Rock WP, Gordon PH, Friend LA, Grundy MC. The relationship between trauma and pulp death in incisor teeth. **Br Dent J**. 1974;136(6):236-239.

Rock WP, Grundy MC. The effect of luxation and subluxation upon the prognosis of traumatized incisor teeth. **J Dent Bristol**. 1981;9(3):224-230.

Sakurai K, Ojiki T, Suda H. Co-increase of nerve fibers and HLA-DR-and/or factor-XIIIa-expressing dendritic cells in dentinal caries-affected regions of the human dental pulp: an immunohistochemical study. **J Dent Rest**. 1999;78(10):1596-1608.

Seltzer S, Bender IB. **A polpa dental**. Rio de Janeiro: Editorial Labor Brasil; 1979.

Serene TP, McDonald ED. Endodontic culturing: a statistical study. **J Am Dent Assoc**. 1969;78:1013-1015.

Skieller V. The prognosis for young teeth loosened after mechanical injuries. **Acta Odontol Scand.** 1960;14:21.

Sörensen S. Traumatic oral vs non-oral injuries. **Swed Dent J.** 1997;21(5):55-68.

Stalhane I, Hedegard B. Traumatized permanent teeth in children aged 7-15 years. **Swed Dent J.** 1975;68:157.

Stanley HR. Ischemic infarction of the pulp: sequential degenerative changes of the pulp after traumatic injury. **J Endod.** 1978;4(11):325-335.

Taklan S. A bacteriological study of pulp of intact non-vital teeth. **J Br Endod Soc.** 1974;1:75-77.

Traebert J, Peres MA, Blank V, Boell RS, Pietruza JA. Prevalence of traumatic dental injury and associated factors among 12-year-old school children in Florianópolis, Brazil. **Dental Traumatol.** 2003;19(2):15-18.

Tronstad L, Barnett F, Riso K, Slots J. Extraradicular endodontic infections. **Endod Dent Traumatol.** 1987;3:86-90.

Watts A. Detection of bacteria in sections of pulp and tooth tissue. **Int Endod J.** 1987;20:300.

Westergren G, Krasse B. Evaluation of micromethod for determination of Streptococcus mutans and Lactobacillus infection. **J Clin Microbiol.** 1978;7:82-83.

Yoshida N, Yoshida K, Nakamura H, Iwaku M, Ozawa H. Immunohistochemical localization of HLDA-DR-positive cells in unerupted and erupted normal and carious human teeth. **J Dent Res.** 1996;75(8):1585-1589.

ANEXOS

ANEXO 1 - Aprovação do comitê de ética em pesquisa


UFG



PROTOCOLO Nº 062
101/12053

*Atendeu
Parecer
Aprovado
16/02/2004*

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**

PARECER CONSUBSTANCIADO

I – Identificação:

- Título do projeto: Avaliação microbiológica do canal radicular e análise microscópica do tecido pulpar necrosado após traumatismo dentário.
- Pesquisador Responsável: Kely Firmino Bruno
- Instituição onde será realizado: Faculdade de Odontologia/ UFG
- Data de apresentação ao COEP: 08/12/2003

II – Objetivos:

O trabalho visa a caracterização microbiológica do canal radicular de dentes humanos com necrose pulpar pós luxação, com intuito de melhorar o diagnóstico e possivelmente o tratamento dos indivíduos com esta afecção.

III – Sumário do projeto:

- **Descrição e caracterização da amostra:** serão selecionados 20 pacientes que sofreram lesão traumática por luxação e com suspeita de necrose pulpar de acordo com a coloração da coroa, resposta ao teste de sensibilidade pulpar térmico e elétrico, resposta as provas de percussão vertical e horizontal, resposta à palpação, presença de alteração de volume ou fistula, sintomatologia, mobilidade.
- **Critérios de inclusão e exclusão:** O dente selecionado deverá estar com a coroa intacta, sem cárie, restauração ou fratura, ausência de edema, fistula e mobilidade, não devendo ter comprometimento periodontal.
- **Adequação da metodologia:** A metodologia é considerada adequada e os pesquisadores participantes possuem experiência para condução do projeto.
- **Adequação das condições:** O material coletado será no ambulatório de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da UFG. O isolamento e caracterização dos microrganismos será feita no laboratório de Bacteriologia IPTSP/UFG.

IV – Comentários do relator frente à Resolução CNS 196/96 e complementares em particular sobre:

- Estrutura do protocolo: O protocolo é adequado e claro.
- Análise de riscos e benefícios: A metodologia proposta não apresenta riscos significativos para o sujeito da pesquisa, já que os pacientes receberão o tratamento normalmente e apenas aqueles em

COEP – UFG

PARECER CONSUBSTANCIADO

PROTOCOLO Nº
_____/20____

que for necessária a abertura do dente será feita a coleta microbiológica do material presente no tecido pulpar, não alterando os procedimentos de atendimento e nem prejudicando o prognóstico do caso. Os benefícios serão consedidos a futuros pacientes que poderão contar com um diagnóstico mais preciso da necrose pulpar após um traumatismo dentário.

- Estrutura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido: Adequado e claro
- Forma de obtenção do Termo de Consentimento: Será aplicado no atendimento inicial ao paciente
- Privacidade e confidencialidade: Mencionado apenas no termo de consentimento livre e esclarecido que os trabalhos não terão qualquer indicador da identidade do participante.

V – Parecer do COEP:

Aprovado com a recomendação de detalhar melhor o orçamento e incluir o telefone de contato dos PESQUISADORES no Termo de Consentimento Esclarecido.

VI – Data da reunião: 15/12/2003**Assinatura do relator:****Assinatura do Coordenador/COEP:**

ANEXO 2 - Termo de consentimento livre e esclarecido

TÍTULO DO PROJETO: Avaliação microbiológica do canal radicular e análise microscópica do tecido pulpar após traumatismo dentário

RESPONSÁVEL: Kely Firmino Bruno

Pelo termo de consentimento livre e esclarecido, declaro que:

- Concordei total e plenamente em participar, de livre e espontânea vontade, do grupo de estudo sobre traumatismo dentário.
- Fui devidamente esclarecido que todos os dados referentes ao meu tratamento serão registrados e arquivados, e que farão parte da estatística do grupo de estudo sobre traumatismo dentário.
- É do meu conhecimento que as informações e dados referentes ao meu caso serão utilizados para fins de estudo e aprendizado na confecção de uma Pesquisa Científica, podendo ser apresentada em congressos, publicada em livros, revistas ou outras atividades científicas tanto no país quanto no exterior, respeitando toda a legislação vigente em relação ao assunto.
- É do meu conhecimento que os trabalhos não conterão qualquer indicador da identidade do participante, garantindo plenamente o sigilo quanto a minha privacidade.
- Não houve qualquer tipo de constrangimento ou coação para o preenchimento deste termo de consentimento, tendo me sido dada total liberdade de recusar a participar do grupo a qualquer tempo, sem que seja penalizado de forma alguma.

Qualquer dúvida entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás pelo telefone: (62) 821 – 1075 ou 821 – 1076.

Assinatura do responsável: _____

Eu, _____,

RG: _____, CPF: _____, nº do prontuário: _____,

abaixo assinado, concordo em participar do grupo de estudo sobre traumatismo dentário, como sujeito. Fui devidamente informado e esclarecido pelo responsável do grupo de estudo sobre a utilização dos dados referentes ao meu caso, relacionados à pesquisa e publicação científica. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento / assistência do tratamento.

Assinatura: _____

Telefone do pesquisador responsável: (62) 225- 8415Praça Universitária esq. c/ 1ª Av. s / n – Setor Universitário – Goiânia – Goiás CEP: 74.605 – 220 – Brasil, 55 (62) 521 – 1524, 55 (62) 209 – 6047, Telefax: 55 (62) 223 - 3038

ANEXO 3 – Tipos de ágars utilizados para semeadura do material coletado dos canais radiculares**Ágar Chocolate**

Componente	Fabricante	Quantidade
Ágar Brain Heart infusion	Difco	52,0 g
Água destilada q.s.p.		1000,0 mL

O pó (52,0 g) foi pesado, dissolvido em 1000,0 mL de água destilada e autoclavado a 120° C por 20 minutos. Após a esterilização, o ágar foi resfriado a 45 – 50° C e adicionado 5,0 % de sangue de carneiro. Foi fervido em banho-maria, a 80° C, por 20 minutos e distribuído em placas de Petri de 10 mm x 160 mm, em condições assépticas.

Ágar Mitis salivarius (Ms)

Componente	Quantidade
Tryptose	10,0 g
Proteose peptona número 3	5,0 g
Proteose peptona	5,0 g
Dextrose	1,0 g
Sacarose	50,0 g
Fosfato dipotássico	4,0 g
Azul de tripan	75,0 g
Cristal violeta	0,8 g
Ágar	15,0 g
Água destilada q.s.p.	1000,0 mL

A 90,0 g do produto comercial desidratado Mitis salivarius Ágar (Difco), colocado em balão de Erlenmeyer, foram adicionados 1000,0 mL de água destilada, submetidos à autoclave por 20 minutos a 120 ° C. Após a esterilização e o resfriamento

a cerca de 50° C, o produto foi distribuído em placas de 10 mm x 60 mm, em volumes de 5,0 mL assepticamente.

Ágar Sacarose Bacitracina (SB₂₀)

Componente	Fabricante	Quantidade
Casitona	Difco	15,0 g
Extrato de levedo	Difco	5,0 g
L. Cisteína	Merck	0,2 g
Sulfito de sódio	Reagen	0,1 g
Acetato de sódio	Reagen	20,0 g
Sacarose	Cristalsucar/Copersucar	200,0 g
Ágar	Difco	15,0 g
Água destilada q.s.p.		1000,0 mL
Bacitracina	Interlab	0,2 U/mL

Todos os componentes pesados foram colocados em cálice e dissolvidos em 1000,0 mL de água destilada para obtenção de caldo sacarose (*CaSa*). Paralelamente, o ágar pesado foi colocado em balão de fundo chato e adicionado de caldo sacarose e homogeneizado. A seguir, foi submetido à esterilização a 120° C por 20 minutos em autoclave.

Após a esterilização, foi resfriado a cerca de 50° C e adicionado de 1,0mL da solução de Bacitracina 0,0033 g por 10,0 mL de água destilada em 100,0 mL do meio de cultura, e distribuído em placas de 10 mm x 60 mm, em volumes de 5,0 mL, em condições assépticas.

ANEXO 4 - Soluções e etapas da técnica de Hematoxilina e Eosina (H.E.)**1 SOLUÇÕES****1.1 Hematoxilina de Harris**

Hematoxilina (cristais)..... 5g
Álcool absoluto.....50mL
Alúmen de potássio.....100g
Água destilada.....1000mL
Óxido de mercúrio amarelo.....2,5g

1.2 Eosina

Solução de eosina a 1%
Solução A- Eosina.....1g
Água destilada.....20mL
Após a dissolução adicionar:
Álcool 95%.....80mL
Para usar diluir uma parte de eosina para três partes de álcool 80,0% e adicione 0.5mL de ácido acético glacial por 100mL de solução.

2 ETAPAS DA TÉCNICA DE H.E.**2.1 Desparafinização**

Xilol 1.....	15 minutos
Xilol 2.....	15 minutos
Xilol 3.....	15 minutos

2.2 Hidratação

Álcool absoluto 1.....	2 segundos
Álcool absoluto 2.....	2 segundos
Álcool absoluto 3.....	2 segundos
Álcool 95%.....	2 segundos
Álcool 70%.....	2 segundos
Água corrente.....	5 minutos

2.3 Coloração

Hematoxilina.....	5 minutos
Lavar em água.....	tirar o excesso
Diferenciador.....	10 segundos
Lavar em água corrente.....	10 minutos
Eosina.....	5 minutos

2.4 Desidratação

Álcool 70%.....	2 segundos
Álcool 95%.....	2 segundos
Álcool absoluto 1.....	2 segundos
Álcool absoluto 2.....	2 segundos
Álcool absoluto 3.....	2 segundos
Xilol 1.....	2 segundos
Xilol 2.....	2 segundos
Xilol 3.....	2 segundos

2.5 Montagem das lâminas com os cortes corados com resina Permout e lamínula

ANEXO 5 - Soluções e etapas do método de Brown e Brenn (B.B.)**1 SOLUÇÕES****1.1 Solução de Iodo (Lugol)**

Iodo.....1g
Iodeto de potássio.....2g
Água destilada.....300mL

1.2 Solução de Galego

Formaldeído.....1mL
Ácido acético glacial.....0,5mL
Água destilada.....50mL

1.3 Solução Cristal Violeta

Cristal Violeta.....1g
Álcool etílico.....10mL
Ácido carbólico.....2g
Água destilada.....100mL

1.4 Solução de Fucsina Básica

Fucsina.....0,25g
Água destilada.....100mL

1.5 Solução de Ácido Pícrico

Ácido pícrico.....0,1g
Acetona.....100mL

2 ETAPAS DO MÉTODO DE B.B.

- 2.1 Desparafinizar e hidratar os cortes;
- 2.2 Corar com Hematoxilina de Harris por 5 minutos;
- 2.3 Diferenciar por 20 segundos;
- 2.4 Lavar em água corrente por 5 minutos;
- 2.5 Corar com Solução de Cristal Violeta por 2 minutos;
- 2.6 Remover o excesso e cobrir os cortes com Solução de Lugol por 1 minuto;
- 2.7 Remover o excesso e diferenciar os cortes em éter/acetona;

- 2.8 Lavar em água destilada;
- 2.9 Corar com Solução de Fucsina por 3 minutos;
- 2.10 Lavar em água destilada;
- 2.11 Diferenciar em Solução de Galego por 3 minutos;
- 2.12 Lavar em água destilada;
- 2.13 Lavar em acetona;
- 2.14 Diferenciar em Solução de Ácido Pícrico;
- 2.15 Lavar em acetona;
- 2.16 Lavar em mistura de partes iguais de acetona e xilol por 15 segundos;
- 2.17 Lavar em 5 banhos de xilol;

ANEXO 6 – Critérios clínicos e radiográfico utilizados para o diagnóstico de necrose pulpar nos dentes traumatizados

Dente	CRITÉRIOS CLÍNICOS / RADIOGRÁFICO																	
	Alt. de cor		TSP frio		TSP calor		TSP elétrico		TPV		TPH		Dor à palpação		Mobilidade		Espaço period.	
	Ausente	Presente	+	–	+	–	+	–	+	–	+	–	Ausente	Presente	Normal	Aumentada	Normal	Alargado
1	x			x		x		x	x		x		x			x		x
2	x			x		x		x	x			x	x			x		x
3	x			x		x		x	x			x	x			x		x
4		x		x		x		x		x		x		x	x			x
5	x			x		x	x			x		x	x		x			x
6	x			x	x			x	x		x		x			x		x
7	x			x		x	x		x			x		x	x		x	
8	x			x		x		x	x		x			x	x			x
9	x			x		x		x	x			x	x		x			x
10		x		x		x		x	x		x		x			x		x
11		x		x		x	x		x		x		x		x			x
12	x			x		x	x			x	x		x		x			x
13	x			x		x		x	x		x		x		x		x	
14	x			x		x	x		x			x	x			x	x	
15	x		x		x		x			x		x	x			x		x
16		x		x		x	x		x		x		x			x	x	
17		x	x			x	x		x		x			x		x		x
18	x			x		x		x	x		x		x		x			x
19		x		x		x	x		x		x		x			x	x	
20	x		x			x	x			x		x	x		x			x

TSP: Teste de sensibilidade pulpar

TPV: Teste de percussão vertical

TPH: Teste de percussão horizontal

ANEXO 7 – Distribuição dos dentes traumatizados de acordo com a contagem microbiana em unidades formadoras de colônias (ufc), tipo de microrganismo e tempo decorrido do traumatismo à intervenção endodôntica

Dente	Microrganismo	Contagem no (ufc)	Tempo
1	Estreptococos bucais	1080	11 meses
	Cocos Gram positivos anaeróbios facultativos	4200	
2	Cocos Gram positivos anaeróbios facultativos	480	15 dias
3	Estreptococos bucais	160	15 dias
	Cocos Gram positivos alfa-hemolíticos anaeróbios facultativos	300	
4	Bacilos Gram positivos alfa-hemolíticos anaeróbios facultativos	1200	4 meses
5	Cocos Gram positivos anaeróbios facultativos	140	2 meses e 17 dias
6	Ausente	0	2 meses e 16 dias
7	Ausente	0	9 meses e 16 dias
8	Cocos Gram positivos alfa-hemolíticos anaeróbios facultativos	800	17 dias
	<i>Staphylococcus sp</i>	280	
9	Estreptococos bucais	2080	1 ano e 5 meses
	Cocos Gram positivos alfa-hemolíticos anaeróbios facultativos	40	
10	Estreptococos bucais	220	29 dias
	Cocos Gram positivos alfa-hemolíticos anaeróbios facultativos	760	
11	Estreptococos bucais	740	2 meses
	Cocos Gram positivos anaeróbios facultativos	340	
12	Estreptococos bucais	1800	3 anos e 7 meses
	Cocos Gram positivos alfa-hemolíticos anaeróbios facultativos	320	
13	Estreptococos bucais	2000	2 meses
	Cocos Gram positivos alfa-hemolíticos anaeróbios facultativos	2000	
14	Bacilos Gram positivos esporulados	40	15 dias
15	Bacilos Gram positivos alfa-hemolíticos anaeróbios facultativos	100	18 dias
	Bacilos Gram positivos esporulados	100	
16	Ausente	0	2 meses e 17 dias
17	Estreptococos bucais	740	1 mês e 5 dias
	Cocos Gram positivos anaeróbios facultativos	1480	
18	Estreptococos bucais	2000	1 mês e 22 dias
	Bacilos Gram positivos esporulados	2000	
19	Cocos Gram positivos anaeróbios facultativos	1000	4 meses e 28 dias
20	Bacilos Gram positivos alfa-hemolíticos anaeróbios facultativos	2500	24 dias
	<i>Staphylococcus sp</i>	2000	

