

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO-NÍVEL MESTRADO
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO CLÍNICA ODONTOLÓGICA
DENTÍSTICA/CARIOLOGIA

Linha de pesquisa
Biomateriais e técnicas terapêuticas em odontologia

ESTUDO DA VIABILIDADE BACTERIANA EM DENTINA CARIADA
SELADA

Luciana Bitello Firmino
Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Marisa Maltz

Porto Alegre, Dezembro de 2011.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO-NÍVEL MESTRADO
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO CLÍNICA ODONTOLÓGICA
DENTÍSTICA/CARIOLOGIA**

Linha de pesquisa

Biomateriais e técnicas terapêuticas em odontologia

Estudo da Viabilidade Bacteriana em Dentina Cariada Selada

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em odontologia como parte dos requisitos obrigatórios para obtenção do título de Mestre em Clínica Odontológica em Dentística/Cariologia.

Luciana Bitello Firmino

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Marisa Maltz

Porto Alegre, Dezembro de 2011.

“Você deve ser a transformação que deseja ver no mundo.”

Mahatma Ghandi

DEDICATÓRIA

A *Deus* por me dar forças para sempre seguir em frente, por nunca ter me deixado desistir e por me dar todas as oportunidades para chegar aonde cheguei.

Aos *meus amados pais*. Muito obrigada pelos valores que vocês me transmitiram! Com o amor que vocês sempre me deram me fizeram ser quem eu sou! Se um dia eu for um terço dos pais que me foram estarei plenamente satisfeita! Muito obrigada pelas puxadas de orelhas e pelos castigos, pois estes me ajudaram a criar responsabilidade e a trilhar meu caminho. Obrigada pelo amor incondicional e pela confiança que sempre depositaram em mim. Com vocês, sei que sempre posso ir mais longe! Amo vocês!

Ao meu querido noivo *Rafael*. Meu amor, não tenho palavras pra te descrever meu agradecimento. Tu és um exemplo de pessoa pra mim. A tua sabedoria já me ajudou a melhorar como pessoa, mas sei que preciso melhorar um pouquinho mais. Obrigada por sempre ter compreendido minha ausência e me dar forças para seguir em frente. Trilhar uma vida contigo faz tudo parecer mais fácil! Te amo!

Às minhas irmãs *Karina, Kátia, Lisiane e Tatiane*, que suportaram meu mau-humor quase constante e minha ausência no dia-a-dia e em muitos momentos importantes. Obrigada por sempre me entenderem e confiarem em mim! Vocês me ajudaram nesta conquista! Amo vocês!

Aos meus *sobrinhos, tios, tias, padrinhos, primos, cunhados e avô Manoel*, obrigada por sempre estarem comigo e compartilharem todas as alegrias e tristezas! Ter uma família como vocês não tem preço! Sou muito afortunada por poder conviver com pessoas tão especiais. Muito obrigada pelas palavras de apoio que sempre recebi de vocês! Esta conquista é nossa!

À minha avó *Eloá* pela minha criação, por me ajudar a criar meus valores e me apoiar em todas minhas decisões. Por sempre incentivar a crescer. Tu és uma das grandes motivadoras desta conquista. Obrigada por tudo vó! Te amo!

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora, professora Dra. *Marisa Maltz* por ter me acolhido e adotado. Por todas as oportunidades concedidas e pelos momentos de aprendizado, orientação e conhecimento. Por ter me apoiado nas minhas decisões profissionais. Obrigada pela sua dedicação, paciência e colaboração durante a execução deste trabalho.

A minha co-orientadora e amiga *Clarissa Cavalcanti Fatturi Parolo*. Muito obrigada pelas palavras de carinho e perseverança que sempre me passaste. Tu és um exemplo pra mim como professora, amiga, pessoa. Se um dia eu tiver um pouquinho das tuas qualidades serei muito grata a Deus, pois és uma das pessoas mais sábias que conheço. Muito obrigada por tudo!

A minha grande amiga *Roberta Garcia*! Beta, passar mais esta etapa da minha vida tendo tua companhia fez tudo ficar mais fácil! Muito obrigada por ter me apoiado e sempre estado ao meu lado. Agradeço a Deus por ter me proporcionado te conhecer, pois és uma pessoa muito especial pra mim, uma irmã. Espero que continuemos sempre juntas e continuemos trabalhando pertinho! Te amo!

A minha querida *Fezinha*! Fê, só por ter convivido contigo já valeu a pena ter feito o mestrado! Muito obrigada pelos diversos momentos de alegria, carinho e felicidade que me proporcionaste! Tu és uma pessoa muito especial para mim e que espero que esteja sempre ao meu lado!

À minha grande amiga *Caren Serra Bavaresco*. Foste tu a incentivadora desta empreitada. Se hoje passo por este momento, é graças a ti! Muito obrigada por tudo que me ensinaste ao longo de toda minha trajetória. És um exemplo pra mim. Trabalhar contigo foi e é um prazer!

A minha querida bolsista *Vanessa Kern Soares* pela dedicação total que sempre apresentou na realização deste trabalho. Muito obrigada pelos finais-de-semana que passamos juntas! Ter você de companhia facilitou todo meu trabalho. Te admiro muito e torço pelo teu sucesso! Foi um prazer ter trabalhado contigo!

Às queridas *Bruna Mua*, *Camila Nascimento* e *Lucélen Fontoura* pelo carinho que me acolheram e pela amizade que me cativaram. Queridas, espero que não perdamos o contato! Foi um prazer ter conhecido vocês!

Às professoras da Cariologia e Microbiologia: *Lina*, *Iriana* e *Sandra*, muito obrigada pelo conhecimento que me foi transmitido, pelas palavras de carinho e incentivo recebidos ao longo desta caminhada. Foi muito bom ter convivido com vocês.

À professora *Juliana*, pelas palavras de apoio durante o meu processo de aprendizado; por ter me ajudado a refletir e nunca desistir! Obrigada por ter aceitado participar da minha banca!

Às laboradoras *Tânia Peres* e *Luísa Mercado*. Muito obrigada pela ajuda disponibilizada durante a realização do meu trabalho. A eficiência de vocês me ajudou a chegar mais longe!

Aos meus colegas do laboratório *Alessandra Damo*, *Nailê Teixeira*, *Luana Alves*, *Júlio Zenkner* e *Maurício Moura*, pela convivência, carinho e ajuda disponibilizada durante o mestrado.

Às minhas *grandes amigas* desde o período da escola e as da faculdade por entenderem minha ausência em muitos momentos importantes e por estar tão distante. Saibam que apesar da distância física, vocês estão no meu coração! Amo vocês!

À toda *família do meu noivo*, que sempre compreenderam a minha ausência em muitos eventos familiares e me deram apoio na minha escolha!

Aos meus colegas da *turma de mestrado 2009-2011*. Obrigada pelos momentos de descontração e parceria. Foi um prazer ter convivido com vocês!

À professora *Maria Beatriz Ferreira*, muito obrigada por todas as palavras de apoio, a ajuda disponibilizada em todos os aspectos, mas principalmente pelo carinho com que sempre me acolheu! Tu és uma pessoa maravilhosa!

Aos meus *colegas* de trabalho da *Prefeitura* e do *Conceição*, principalmente os da Odonto, muito obrigada por sempre me darem força, entenderem meus momentos de ausências e me incentivarem a continuar. É uma honra trabalhar ao lado de pessoas como vocês!

Ao *grupo da Igreja Nossa Senhora da Imaculada Conceição*, por me darem força nos momentos de fraqueza e por todas as orações que me ajudaram a chegar aonde cheguei! A vocês devo esta conquista! Muito obrigada!

Aos meus queridos *pacientes* pelo interesse, participação e colaboração para o desenvolvimento dessa pesquisa. Esta conquista se deve a vocês! Obrigada!

À *CAPES* pelo auxílio financeiro.

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| Antecedentes e Justificativas | 11 |
| A doença cárie dentária | |
| Caracterização das lesões de cárie em dentina | 11 |
| Aspectos clínicos e histopatológicos da lesão de cárie dentinária | 13 |
| Microbiologia das lesões de cárie dentinárias | 14 |
| Tratamento invasivo da lesão de cárie | |
| Tratamento Restaurador Convencional | 15 |
| Tratamento Expectante | 16 |
| Remoção Parcial de Tecido Cariado..... | 18 |
| Objetivos | 22 |
| Objetivo geral..... | 22 |
| Objetivos específicos | 22 |
| Artigo Científico | 23 |
| Considerações Finais | 40 |
| Referências | 42 |
| Anexo A - Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa | 49 |
| Apêndice A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido | 50 |

LISTA DE ABREVIATURAS

UFRGS Federal University of Rio Grande do Sul

RTF Reduced transport fluid medium

MS Mitis Salivarius agar

MSB Mitis Salivarius agar supplemented with 20% sucrose, 0.2 units/ml bacitracin and 1% potassium telurite

BHI Brain Heart Infusion agar

CFU Colony-forming units

CCR Complete caries removal

PCR Partial caries removal

RESUMO

Na literatura não existe consenso em relação à quantidade de dentina cariada que deve ser removida durante o preparo cavitário. Desta forma, este estudo teve como objetivo comparar os microorganismos remanescentes após a remoção total de tecido cariado e selamento e a remoção parcial de tecido cariado e selamento. Molares permanentes com lesões de cárie primárias ativas localizadas no terço médio da dentina e apresentando polpa vital foram divididos aleatoriamente em dois grupos: grupo teste - remoção parcial de tecido cariado (n=18), ou grupo de controle - remoção total de tecido cariado (tratamento restaurador convencional) (n=18). Os desfechos analisados foram a quantificação microbiana e a frequência de isolamento microbiano. Amostras de dentina foram obtidas com duas brocas de baixa rotação estéreis n° 4, após a remoção da cárie e após 3 meses de proteção com cimento de hidróxido de cálcio e selamento das cavidades com cimento de ionômero de vidro. As amostras foram armazenadas em um recipiente estéril contendo 1,2 ml de RTF e submetidas a diluições decimais. Análises microbiológicas foram realizadas para *Streptococcus spp.*, estreptococos do grupo mutans, *Lactobacillus spp.* e contagem total de anaeróbios. Antes do selamento, uma maior contagem de microrganismos foi detectada no grupo teste, em comparação ao grupo controle. No grupo de teste, uma redução significativa foi encontrada, após o selamento, na contagem de anaeróbios totais, *Streptococcus spp.* e *Lactobacillus spp.* Após 3 meses de selamento, não foi detectada diferença no crescimento microbiano entre os grupos para qualquer um dos microrganismos estudados. Portanto, a semelhança observada entre a infecção microbiana após a escavação convencional e remoção parcial de tecido cariado sugere que não há necessidade de realizar a remoção total do tecido cariado baseada em critérios clínicos convencionais de dureza.

Palavras-chave

Remoção de tecido cariado, Cáries dentinárias, Ensaio clínico, Dentes permanentes, Microbiologia.

ABSTRACT

In the literature there is no consensus on the amount of carious dentin to be removed during the cavity preparation. Thus, this study aimed to compare the remaining microorganisms after complete caries removal and sealing to partial caries removal and sealing. Permanent molars with active primary carious lesions located in the middle third of dentin and vital pulp were randomly divided into two groups of 18: test group - partial caries removal, or control group – complete caries removal (conventional restorative treatment). The outcomes analyzed were microbial quantification and frequency of microbial isolation. Dentin samples were obtained with two sterile n° 4 round burs after caries removal and after 3 months of protection with calcium hydroxide cement and sealing of the cavities with glass ionomer cement. The samples were stored in a sterile container with 1.2 ml of RTF and submitted to decimal dilutions. Microbiological analyses were performed to the *Streptococcus spp.*, Mutans streptococci, *Lactobacillus spp.* and total anaerobes counts. Before sealing, a higher microorganism counts were detected in the test group compared to the control group. In the test group, significant reduction was found after sealing in the total anaerobes count, *Streptococcus spp.* and *Lactobacillus spp.* After 3 months of sealing, no difference was detected in microbial growth between groups for any of the microorganisms studied. Therefore, the observed similarity between the microbial infection after conventional excavation and partial caries removal suggests that there is no need to perform complete caries removal based on conventional clinical criteria of hardness.

Key-words

Caries removal, Dentine caries, Clinical trial, Permanent teeth, Microbiology.

ANTECEDENTES E JUSTIFICATIVAS

Cárie dentária

A cárie dentária continua a afetar todas as faixas etárias e a ser a maior responsável por perdas dentárias em muitos países, inclusive no Brasil (Chauncey, Glass *et al.*, 1989; Baelum, Luan *et al.*, 1997; Brasil, 2004). Apresenta-se como perda de minerais dentários resultantes da dissolução por ácidos bacterianos (produzidos a partir do metabolismo da sacarose e outros carboidratos)(Loesche, 1996). É caracterizada como uma dissolução química localizada da superfície dentária. A cárie dental ocorre em presença de placa bacteriana, e, na ausência de tratamento, pode progredir até atingir a destruição total dos tecidos mineralizados e, conseqüente, perda do dente (Fejerskov O., 2008).

Em 1954, Orland e colaboradores, em estudo objetivando definir claramente a relação causal da doença cárie utilizando-se de “animais livres de germes”, demonstraram que mesmo ingerindo uma dieta altamente cariogênica, a doença cárie não se desenvolvia sem a presença de microrganismos cariogênicos (Orland, Blayney *et al.*, 1954). A presença de bactérias que iniciem a doença é considerada o fator etiológico primário (Fejerskov e Manji, 1990). Entretanto, este não pode ser considerado o único fator desencadeador deste processo.

Ao metabolizarem açúcares provenientes da dieta, estas bactérias produzem ácidos que irão interferir nas trocas iônicas nas interfaces dente e placa/saliva. Qualquer fator capaz de influenciar os processos metabólicos, tais como a composição e espessura do biofilme, a taxa de secreção e composição salivares, a dieta e a concentração de íon

fluoreto nos fluidos orais, irá contribuir para determinar a probabilidade de uma perda mineral, e a taxa com que isso ocorre. Além disso, os fatores modificadores tais como o comportamento, educação, conhecimento e atitudes podem influenciar no desenvolvimento ou não de uma lesão cariosa (Fejerskov e Manji, 1990).

Caracterização da lesão de cárie dentinária

Quando a lesão de cárie atinge a junção amelo-dentinária, iniciasse a desmineralização subsequente da dentina, correspondendo à porção mais profunda do esmalte afetado pela cárie (Bjørndal e Mjör, 2001). Com a progressão da lesão de cárie, a contínua perda mineral pode resultar na formação de uma cavidade. Quando a lesão apresenta-se cavitada e inacessível ao controle mecânico do biofilme, o procedimento restaurador se faz necessário a fim de paralisar a atividade do processo carioso no local. Durante a abordagem invasiva da lesão cariosa, a remoção de dentina necrótica e desmineralizada infectada é realizada (Bjørndal e Mjör, 2001) com o intuito de impedir a progressão da lesão e de restaurar a integridade dentária (Kidd, 2004). Quando a lesão cariosa atinge as porções mais internas da dentina, o acúmulo e o crescimento bacteriano nessa região continuam, sendo a concentração bacteriana variável de acordo com a porção de dentina analisada (Consolaro, 1996).

Aspectos clínicos e histopatológicos da lesão de cárie dentinária

A dentina, após a exposição às massas microbianas, rapidamente é decomposta devido à ação dos ácidos e enzimas proteolíticas. Histologicamente, a lesão de cárie dentinária pode ser dividida, no sentido superfície-polpa, em cinco regiões: (1) zona de destruição e desorganização total, constituída por uma dentina necrótica; (2) zona de desmineralização avançada ou superficial; (3) zona de invasão bacteriana, caracterizada pela presença de microorganismos no interior dos túbulos dentinários; (4) zona de desmineralização inicial ou profunda, promovida por produtos bacterianos, como ácidos e enzimas, provenientes da zona de invasão bacteriana e (5) zona de esclerose dentinária (Consolaro, 1996). Entretanto, devido à dificuldade de distinção clínicas destas camadas, Fusayama (1979), propôs o estabelecimento de duas camadas de dentina cariada notavelmente diferentes em relação às suas características morfológicas, bioquímicas, bacteriológicas e fisiológicas: (1) Zona infectada ou de destruição, representada pela camada mais externa da lesão cariosa, altamente contaminada, amolecida, amarelada e não passível de remineralização; (2) Zona afetada ou contaminada, representada pela dentina mais profunda, menos contaminada, de consistência ligeiramente endurecida ou coriácea, mais escura e passível de remineralização (Fusayama, 1979). O número e o tipo de microorganismos existentes nestas duas camadas também são diferentes: a dentina afetada caracteriza-se por conter muito pouca ou nenhuma bactéria (10^5 bactérias por grama, correspondendo a 0,1% das bactérias da zona infectada), sendo estas, em geral, acidogênicas; a zona infectada, entretanto, apresenta bactérias proteolíticas em abundância (10^8 bactérias por grama), correspondendo à zona de degradação do colágeno (Ostrom, 1984). Além das camadas

descritas anteriormente, na porção mais profunda da lesão cariosa encontra-se um tecido com maior conteúdo mineral, denominado zona hipermineralizada ou de esclerose tubular. As alterações iniciais da dentina envolvem a deposição de uma dentina peritubular altamente mineralizada que reduz o diâmetro dos túbulos, podendo, inclusive, ocluí-los (Bjørndal e Mjör, 2001). Simultaneamente, frente ao desenvolvimento de uma agressão intensa ao tecido dentário, ocorre a produção de dentina terciária ou reacional subjacente à localização da dentina afetada. Quanto maior a atividade da lesão, mais irregular a estrutura da dentina terciária formada (Bjørndal e Mjör, 2001). Estes processos se desenvolvem como respostas à agressão e representam uma tentativa de proteção do complexo dentino-pulpar frente à cárie.

Microbiologia da lesão de cárie dentinária

Os colonizadores iniciais constituem uma parte altamente selecionada da microflora oral, estando formada principalmente pelas bactérias *S. sanguinis*, *S. mitis* e *S. oralis* biovar 1, independentemente do tipo de superfície do dente analisada (esmalte ou raiz) (Nyvad e Kilian, 1990). Juntas, estas três espécies de estreptococos correspondem a 95% do total de estreptococos e 56% da microflora total inicial. Com o passar do tempo, ocorre a mudança de uma placa dominada por *Streptococcus* para uma placa dominada por *Actinomyces*, correspondendo à sucessão microbiana (Loesche e Syed, 1978).

As lesões iniciais de mancha branca apresentam um aumento na proporção e em números absolutos de estreptococos do grupo mutans. Quando a lesão progride para o estágio de cavitação, estes microorganismos penetram nos cristais do esmalte. Além

disso, bactérias cariogênicas secundárias, como os lactobacilos, aparecem como um resultado da seleção de microorganismos acidúricos na placa. Quando a lesão atinge o estágio clínico avançado, as condições podem ser tais que estreptococos do grupo mutans não podem mais sobreviver, e só os espécimes cariogênicos secundários como os lactobacilos e organismos oportunistas podem ser encontrados.

Estudos recentes têm recuperado cepas de estreptococos não-mutans (Van Houte, 1994; Van Ruyven, Lingström et al., 2000), por exemplo, *S. mitis*, *S. gordonii*, *S. anginosus* e *S. oralis* (De Soet, Nyvad et al., 2000) que podem ser tão acidogênicas e acidúricas como alguns estreptococos mutans (Nyvad e Kilian, 1990). Estas espécies poderiam desempenhar um importante papel na adequação do ambiente para espécies acidúricas como estreptococos mutans e lactobacilos.

Tratamento invasivo da lesão de cárie

Tratamento Restaurador Convencional

A lesão de cárie, por sua característica dinâmica, deve ter seu tratamento baseado no controle da atividade de doença do paciente. O tratamento restaurador representa apenas uma parte do plano de tratamento da doença. Seu objetivo é a substituição da estrutura dentária perdida. As principais indicações do tratamento restaurador são: redução de sintomatologia dentinária, impossibilidade de controle mecânico de biofilme, restabelecimento da função ou da estética e proteção da estrutura dentária. O tratamento restaurador convencional é baseado na remoção total de tecido cariado. Black (1908)

propôs a confecção de preparos cavitários a serem realizados seguindo critérios clínicos de dureza e coloração da dentina (Black, 1908). O objetivo desta técnica é assegurar a longevidade da restauração através da eliminação das bactérias presentes no tecido contaminado e de princípios mecânicos de retenção (Brännström, Gola *et al.*, 1980). Estudos que avaliaram a presença microbiana após confecção do preparo cavitário revelaram que, apesar da remoção completa de tecido amolecido, bactérias ainda podem estar presentes e serem seladas sob restaurações, sem que resulte em insucesso clínico das mesmas (Macgregor e Batty, 1956; Lager, Thornqvist *et al.*, 2003). Cabe ressaltar que a prática atual da remoção de tecido cariado retira mais do que a massa bacteriana presente, inclusive removendo uma maior quantidade de esmalte e de dentina sadios remanescentes (Bjørndal e Mjör, 2001; Bjørndal, Reit *et al.*, 2010).

Tratamento Expectante

Em dentes com lesão profunda de cárie, existe o risco de exposição do tecido pulpar, quando da remoção de todo tecido cariado pelo critério clínico de dureza. Quando a exposição ocorre na presença de tecido cariado, esta apresenta prognóstico desfavorável (Barthel, Rosenkranz *et al.*, 2000; Bjørndal, Reit *et al.*, 2010). Com o intuito de reduzir o índice de exposição pulpar, propôs-se a técnica do tratamento expectante, que vem sendo amplamente estudada (Leksell, Ridell *et al.*, 1996; Bjørndal, Larsen *et al.*, 1997; Bjørndal e Thylstrup, 1998; Bjørndal e Larsen, 2000; Bjørndal, Reit *et al.*, 2010; Bjørndal, 2011). A técnica consiste na remoção total de tecido cariado realizado em duas etapas. Na primeira etapa realiza-se a remoção da dentina infectada e

desorganizada e promove-se o selamento temporário da cavidade. Na segunda etapa realiza-se a remoção da dentina contaminada remanescente após o selamento. Esta técnica está indicada para casos nos quais a remoção completa da dentina cariada em sessão única aumentaria as chances de comprometimento da integridade pulpar. O tratamento expectante objetiva paralisar a progressão da lesão e permitir a formação de dentina terciária previamente à escavação completa (Kidd, 2004). A escavação final é facilitada pelo resultado do selamento, uma vez que a dentina cariada remanescente torna-se escurecida e endurecida, reduzindo o risco de exposição acidental (Bjørndal, 2002).

Estudo realizado por Leksel e colabores (1996) demonstrou que 40 % dos dentes com lesão profunda de cárie, em que a remoção completa de tecido cariado foi realizada, sofreram exposição pulpar, contrastando com os 17,5 % de dentes com exposição, submetidos ao tratamento expectante (Leksell, Ridell *et al.*, 1996). Bjørndal e Thylstrup (1998), em estudo avaliando tratamento expectante realizado por clínicos, obtiveram 5 casos de exposição pulpar, correspondendo a 5,31% do total de casos (Bjørndal e Thylstrup, 1998). Bjørndal e colaboradores (2010), em estudo comparando remoção total de tecido cariado (RTTC) e tratamento expectante (TE), obtiveram um índice de exposição pulpar de 28,9% no grupo RTTC e de 17,5% no grupo TE (Bjørndal, Reit *et al.*, 2010). Como tratamentos frente à exposição pulpar existem os tratamentos conservadores da polpa (capeamento pulpar direto (Barthel, Rosenkranz *et al.*, 2000) e pulpotomia (Bjørndal, Reit *et al.*, 2010)) ou o tratamento radical (endodontia). Estes tipos de tratamento reduzem ou anulam o prognóstico de sobrevivência pulpar.

Estudo realizado por Barthel e colaboradores (2000), analisando 123 casos de exposição pulpar tratados por capeamento pulpar direto, apresentou índices de sucesso aos 5 anos de 37% e aos 10 anos de 13% (Barthel, Rosenkranz *et al.*, 2000). No estudo de Bjørndal *et al.* (2010), os casos com exposição pulpar (n=51), após escavação de dentina cariada, foram tratados através das técnicas de capeamento pulpar direto (CPD) e pulpotomia parcial (PP). Após 1 ano de acompanhamento, os índices de sucesso foram de 31.8% para CPD e de 34.5% para PP, não havendo diferença significativa entre estes dois tratamentos em relação à sobrevivência pulpar (Bjørndal, Reit *et al.*, 2010). Observa-se, portanto, que esses procedimentos têm baixas taxas de sucesso (Barthel, Rosenkranz *et al.*, 2000; Bjørndal, Reit *et al.*, 2010), sendo necessária a endodontia no caso de falha de tratamento. No Brasil, o acesso dos usuários a níveis mais especializados de atenção odontológica ainda é restrito, o que dificulta a realização do tratamento endodôntico e reduz o prognóstico do elemento dental.

Remoção Parcial de Tecido Cariado

Objetivando a manutenção da vitalidade pulpar de dentes com lesão profunda de cárie, têm sido proposta uma abordagem alternativa: trata-se da remoção parcial do tecido cariado e a manutenção proposital da dentina desmineralizada remanescente sob a restauração (Maltz, De Oliveira *et al.*, 2002; Kidd, 2004; Orhan, Oz *et al.*, 2008). Análises clínicas demonstram a transformação da dentina amarelada e amolecida em um tecido reacional, endurecido e escurecido, após o isolamento da cavidade do ambiente bucal e confecção de restauração (Bjørndal, Larsen *et al.*, 1997; Bjørndal e Thylstrup, 1998; Bjørndal e Larsen, 2000; Maltz, De Oliveira *et al.*, 2002; Maltz, Oliveira *et al.*,

2007). Radiograficamente, observa-se ganho mineral na dentina subjacente à proteção pulpar (Maltz, De Oliveira *et al.*, 2002; Oliveira, Carminatti *et al.*, 2006; Maltz, Oliveira *et al.*, 2007; Alves, Fontanella *et al.*, 2010) e, quanto à avaliação da microbiota remanescente, este tipo de tratamento propicia uma drástica redução do número de bactérias viáveis após a reabertura da cavidade (Mertz-Fairhurst, Schuster *et al.*, 1979a; Bjørndal, Larsen *et al.*, 1997; Bjørndal e Larsen, 2000; Maltz, De Oliveira *et al.*, 2002; Pinto, De Araújo *et al.*, 2006; Wambier, Dos Santos *et al.*, 2007), além da redução dos níveis de contaminação bacteriana em túbulos dentinários (Massara, Alves *et al.*, 2002). A literatura tem demonstrado que o selamento de lesões cariosas é capaz de controlar a progressão das mesmas apenas pelo seu isolamento do ambiente bucal, independentemente da permanência de bactérias presentes nas cavidades (Loesche e Syed, 1978; Mertz-Fairhurst, Schuster *et al.*, 1979b; Mertz-Fairhurst, Schuster *et al.*, 1986; Mertz-Fairhurst, Curtis *et al.*, 1998; Maltz, De Oliveira *et al.*, 2002; Franzon, Casagrande *et al.*, 2007; Maltz, Oliveira *et al.*, 2007).

Fisher realizou a quantificação da frequência de isolados microbianos após o selamento da dentina cariada em dois estudos (Fisher, 1966; 1969). No primeiro, após dois a 14 meses de selamento, observou crescimento bacteriano na maioria dos dentes (86% após 2 meses e 72% após 14 meses) (Fisher, 1966). Em 1969, acompanhando dentes permanentes por um período superior a dois anos, visualizou crescimento bacteriano de lactobacilos e estreptococos em 80% da amostra. Apesar destes achados, o autor ressaltou que o processo carioso parece progredir muito lentamente ou não progredir abaixo das restaurações (Fisher, 1969).

Independentemente de bactérias permanecerem viáveis após selamento das cavidades, há alteração estrutural da microflora remanescente. Estudos que avaliaram

qualitativamente a microbiota presente em lesões de cárie dentinária demonstraram haver uma alteração da microbiota presente na lesão inicial e após o período de selamento. Bjørndal e colaboradores (2000) verificaram a alteração de uma microflora prevalente de bacilos gram + (70% do total de UFC), sendo o gênero lactobacilos o mais prevalente. Após o selamento, a microflora total apresentou redução, e a frequência e proporção de lactobacilos foi substancialmente reduzida (Bjørndal e Larsen, 2000). Paddick e colaboradores (2005) apresentaram redução significativa da quantidade total de microorganismos isolados. Entretanto, em relação à quantidade total de estreptococos, houve um aumento significativo após o selamento, sendo a espécie *S. oralis* a que apresentou o maior aumento. Além disso, a contagem total de *A. naeslundii* também apresentou aumento (Paddick, Brailsford *et al.*, 2005).

Poucos estudos comparam a remoção total de tecido cariado (RTTC) com a remoção parcial de tecido cariado (RPTC) e selamento. Lula e colaboradores (2009) realizaram estudo objetivando a análise microbiológica de dentes decíduos submetidos às técnicas de RTTC e RPTC. Após o período de selamento (3-6 meses), não encontraram diferença significativa no nível de colonização microbiana apresentado pelos dentes submetidos às duas técnicas. Além disso, neste estudo, o grupo RTTC apresentou um aumento da contagem bacteriana de estreptococos e bactérias totais, após o período de selamento. Em relação à dentição permanente, Orhan e colaboradores (2008) realizaram estudo utilizando as técnicas RTTC e RPTC. Sua avaliação demonstrou que no grupo de RPTC, após o período de selamento (3 meses), há redução significativa na contagem bacteriana. Entretanto, neste estudo, não foi realizada uma análise entre os grupos RTTC e RPTC imediatamente após o selamento, o que dificultou a visualização do efeito da remoção parcial ao longo do período de avaliação.

Frente aos resultados expostos, torna-se importante a realização de mais estudos que comparem as duas técnicas em termos de análise microbiológica, a fim de se obter afirmações mais conclusivas sobre este assunto. No desenvolvimento deste estudo, optamos por trabalhar com lesões de cárie que não são profundas. As razões que nos levaram a optar por esta decisão foram: (1) não seria adequado frente às evidências científicas atuais realizar a remoção total do tecido cariado em lesões profundas nas quais poderia se esperar algum nível de exposição pulpar durante a execução da técnica, uma vez que tal ocorrência reduz o prognóstico de sobrevivência pulpar (Barthel, Rosenkranz *et al.*, 2000); (2) o quanto de dentina cariada precisa ser removido ainda é uma questão discutida, não-conclusiva para qualquer profundidade de lesão cariada (Kidd, 2004). Portanto, à luz das considerações discutidas, o presente trabalho tem como objetivo analisar a viabilidade bacteriana através da técnica de cultivo, uma vez que não há evidência consolidada de estudos que comparem as técnicas de remoção parcial e total de tecido cariado em relação à análise da viabilidade bacteriana em dentes permanentes.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Avaliar o efeito da remoção parcial ou total de tecido cariado e selamento sobre a microbiota da dentina infectada em molares permanentes.

Objetivos específicos

1. Quantificar as bactérias viáveis na lesão de cárie imediatamente após a remoção total de dentina cariada e após três meses de selamento utilizando métodos de cultura microbiana;
2. Quantificar as bactérias viáveis em lesões de cárie imediatamente após a remoção parcial de tecido cariado e após três meses de selamento utilizando métodos de cultura microbiana;
3. Comparar a infecção bacteriana imediatamente após as técnicas de remoção total e parcial de tecido cariado e após três meses de selamento utilizando métodos de cultura microbiana.

ARTIGO

A microbiological study of carious dentine removal in permanent teeth: a randomized clinical trial

A microbiological study of carious dentine removal in permanent teeth: a randomized clinical trial

Luciana Bitello Firmino¹, Vanessa Kern Soares¹, Clarissa Cavalcanti Fatturi Parolo¹, Marisa Maltz¹.

¹Department of Social and Preventive Dentistry, Faculty of Dentistry, Federal University of Rio Grande do Sul, Ramiro Barcelos 2492, Santana, 90035-003, Porto Alegre, Brazil, Tel.+55 51 33085193, Fax.+55 51 33085189, mmaltz@ufrgs.br

Short title: A microbiological study of carious dentine removal in permanent teeth

Key words: Caries removal, Dentine caries, Clinical trial, Permanent teeth, Microbiology

Corresponding author:

Professor Marisa Maltz

Department of Social and Preventive Dentistry,

Faculty of Dentistry, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

Rua Ramiro Barcelos, 2492.

CEP 90035-003, Bom Fim, Porto Alegre, RS (Brazil)

Tel. +55 51 3308 5247/5193, Fax +55 51 3316 5002,

E-Mail: marisa.maltz@gmail.com

Declaration of Interests: There are no potential conflicts of interest for any of the authors. The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

Acknowledgments

We thank the support of the National Coordination of Post-Graduate Education (CAPES).

Abstract

In the literature there is no consensus on the amount of carious dentin that should be removed during the cavity preparation. This study aimed to compare the remaining microbial load after complete caries removal and sealing to partial caries removal and sealing. Permanent molars with active primary carious lesions located in the middle third of dentin were randomly divided into two groups of 18: test group - partial caries removal, or control group – complete caries removal (conventional restorative treatment). The outcomes analyzed were microbial quantification and frequency of species isolation. Dentin samples were collected with two sterile n° 4 round burs after caries removal and after 3 months of protection with calcium hydroxide cement and sealing of the cavities with glass ionomer cement. The samples were stored in a sterile container with 1.2 ml of RTF and submitted to decimal dilutions. Microbiological analyses were performed to assess the *Streptococcus spp.*, Mutans streptococci, *Lactobacillus spp.* and total anaerobes counts. Statistical analysis was carried out with Wilcoxon's Test, Mann Whitney Test, McNemar or X^2 Test. The significance level was set at 5%. Before sealing, a higher microorganism counts were detected in the test group compared to the control group. In the test group, significant reduction was found after sealing in the total anaerobes count, *Streptococcus spp.* and *Lactobacillus spp.* After 3 months of sealing, no difference was detected in microbial growth between groups for any of the microorganisms studied. Therefore, the similarity between the microbial infection after conventional excavation and partial caries removal suggests that there is no need to perform complete caries removal based on conventional clinical criteria of hardness.

Key-words

Caries removal, Dentine caries, Clinical trial, Permanent teeth, Microbiology.

Introduction

Conventional restorative treatment suggests complete removal of the infected tissue based on hardness criteria [Maltz et al., 2002]. The aim of this procedure is assurance the longevity of the restoration through the elimination of bacteria [Brännström et al., 1980]. However, the complete caries removal does not render the prepared cavity bacteria-free, and the importance of the remaining bacteria to caries progression is still under discussion [Kidd, 2004].

The presence of microorganisms in inactive as well as active noncavitated lesions shows that bacteria inside dental tissue (enamel and dentin) do not impede the arrestment of the caries process [Parolo and Maltz, 2006]. Dentin contamination is increased after surface breakdown in cavitated lesions [Thylstrup A, 1987]. Studies on the bacteriological content of the cavitated caries lesions after complete caries removal (hardness criteria) had shown that the total counts of bacteria were largely reduced after excavation. However, some bacteria always remain [Lager et al., 2003; Lula et al., 2009; MacGregor A ME, 1956; Orhan et al., 2008; Shovelton, 1968; Whitehead, 1960]. The complete removal of infected tissue is not essential to arrest the cariogenic process [Falster et al., 2002; Maltz et al., 2002; Massara et al., 2002; Mertz-Fairhurst et al., 1998]. Caries lesions after partial removal of carious dentine become arrested if they are isolated from the oral cavity [Falster et al., 2002; Maltz et al., 2002; Massara et al., 2002]. The dentinal microbiota under sealing is subject to more homogeneity of the nutrient supply, as primarily serum proteins [Paddick et al., 2005]. This changes significantly affect the surviving microorganism decreasing the : (a) microbial load in the infected dentine [Besic, 1943; Bjørndal and Larsen, 2000; Bjørndal et al., 1997; Maltz et al., 2002; Mertz-Fairhurst et al., 1979; Pinto et al., 2006; Wambier et al., 2007], (b) microbial diversity [Bjørndal and Larsen, 2000; Paddick et al., 2005], (c) genotypic diversity of the surviving microbiota [Paddick et al., 2005].

It is important to point that complete caries removal does not turns the cavity free of microorganisms. However, the possible persistence of viable bacteria in dentin after the reopening of teeth submitted to partial removal of carious tissue has raised doubts regarding the long-term effectiveness of this treatment [Brännström et al., 1980;

Bergenholtz and Spångberg, 2004; Weerheijm et al., 1999]. No consensus exists regarding the need for reopening the cavity in order to guarantee that all carious dentin is removed before definitive restoration [Bjørndal, 2008; Ricketts et al., 2006].

Therefore, the aim of this randomized clinical trial is to compare the remaining microbial load after complete caries removal and sealing to partial caries removal and sealing.

Materials and Methods

Sample Selection

This study is a double-blind randomized controlled clinical trial designed to test the effect of complete caries removal vs. partial caries removal over the microbial load in permanent molars, using culturing procedures as the outcome. The study was approved by the Ethics Committee of the Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS). The participants, aged 9 to 31 years, or parents/ legally responsible persons received detailed information about the study and signed a free informed consent form. All the participants received dental care at the Faculty of Dentistry (UFRGS).

Sample size calculation showed that 15 patients were needed in each group to detect a 0.25 standard deviation difference in the log count between partial and complete excavation [Maltz et al., 2004] at a two-sided alpha level of 5 % and 80 % power. With an anticipated patient drop-out of 20%, the trial was planned to include at least 18 participants per group (www.lee.dante.br). One tooth was treated in each randomized patient, totalizing 36 cases.

The participant to be included in the sample should have fulfilled the following criteria: permanent molar with active primary occlusal caries lesions located in the middle third of dentin (detected through the interproximal radiographic examination); complete root formation; symptoms and clinical signs associated with pulp tissue without irreversible alterations(positive response to cold test, absence of pain on percussion, absence of spontaneous pain). Exclusion criteria were: radiographic signs

consistent with pulp involvement (thickening of the periodontal ligament or periapical lesion).

The allocation sequences for complete caries removal vs. partial caries removal (1:1) were computer generated (table of random numbers), in blocks of ten. This information was passed on to the examiner (L.B.F.) only at the time of treatment.

Clinical Procedures

The patients were submitted to dental prophylaxis, anesthesia and rubber dam isolation of the operative field. Antisepsis of the rubber dam was performed with 0.05% iodine alcohol before the access to the carious lesion (with spherical or cylindrical carbide bur at high speed). The patient was submitted to the technique of caries removal as previously defined: a) complete caries removal following the clinical criteria of hardness or b) partial caries removal, with complete caries removal from surrounding walls, following the clinical criteria of hardness, and partial caries removal of the pulp wall, by removing the necrotic and disorganized dentin layer. The cavity was washed with sterile saline and dried with sterile swabs. The material was sampled for microbiologic analysis. The lesions were imaginary divided into two halves in a buccolingual direction. After dentine removal, a sample was taken from mesial. The bottom of the cavity was sealed with a calcium hydroxide-containing base material (Dycal, Dentsply). The cavity was sealed with glass ionomer cement (Vitromolar®, DFL). After three months of sealing, patients were re-evaluated at clinical symptoms and pulp sensitivity by cold test (Aerojet, Rio de Janeiro, Brazil) and a microbiologic sample was taken from the distal half of the cavity, being submitted to the same protocol. Glass ionomer base cement was placed on the floor of the cavity and the teeth were restored with an adhesive system (Scotchbond Multi-Purpose- 3M, St. Paul, MN, USA), and a composite resin (Charisma, Kulzer, São Paulo, Brazil).

Microbiological Sampling

Dentin samples were collected by two sterile slowly rotating n° 4 round burs [Bjørndal and Larsen, 2000; Maltz et al., 2002]. Before collection, the burs were dampened in reduced transport fluid medium (RTF) in order to facilitate the impregnation of dentin in the bur. The dentin sample collected was immediately

transferred to a sterile container with 1.2 ml of RTF and glass beads [Syed and Loesche, 1972]. Samples were twice dispersed by sonication for 10 seconds, with a 30 seconds interval, in a high-density ultrasonic processor (Vibra cell TM ®, Sonics & Material Inc., Connecticut - USA) to disperse bacterial aggregates. After this, they were vortexed for 30 seconds and 10-fold serial diluted in RTF. Subsequently, 25 µl aliquots [Westergren, 1978] from the appropriated dilution was plated in duplicate on the following solid media: Brain- Heart Infusion agar (HiMedia, Mumbai, India) supplemented with 5% sheep blood and enriched with k-hemin vitamin (BHI) for total viable microorganisms count . Mitis Salivarius agar and 1% potassium tellurite (MS-Difco-BD, Sparks, Md., USA) for *Streptococcus spp.* count, Mitis Salivarius agar (Difco-BD, Sparks, Md., USA) supplemented with 20% sucrose, 0.2 units/ml bacitracin and 1% potassium telurite (MSB) for mutans streptococci count and Rogosa selective Lactobacillus agar (HiMedia, Mumbai, India) for *Lactobacillus spp.* MS and MSB were incubated under microaerophilic conditions at 37 °C for 48 hours. Rogosa selective *Lactobacillus* agar was incubated anaerobically at 37 °C for 72 hours. BHI plates were incubated anaerobically at 37 °C for 120 hours. After incubation, the number of CFU (colony-forming units) was determined on a plate with 10-50 colonies. The counts in selective media were performed on microorganisms that have characteristic cell morphology. In cases of doubt, two to three characteristic colonies of each culture medium were selected for Gram staining [Sneath et al., 1986]. The counting was performed by a trained and blind examiner.

Statistical analysis

The bacterial counts were expressed at Log₁₀ due to data dispersion. The constant 1 was added up to CFUs, because many samples showed zero counts before and after the experimental period in both groups. Although the data were previously log transformed, they continued showing a non-normal distribution, verified by the Kolmogorov-Smirnov and Shapiro-Wilk test. To compare the CFU counts before and after sealing in each group the Wilcoxon Signed Ranks Test was used. The Mann-Whitney test was used to compare the CFU counts between test and control groups. The McNemar test was used to determine whether there was any difference in the frequency of isolation before and after cavity sealing in each group. Chi-square test was applied to

compare the frequency of bacterial isolation before and after sealing between the two groups. The level of significance for analysis was considered 5%. The software used to analyze the frequency of bacterial isolation was Stata 9.1 software (Stata, College Station, Tex., USA). The others analysis were performed with SPSS version 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Results

From a total of 36 subjects, 2 subjects were lost, both from test group (1 left the trial, and 1 had the temporary filling replaced by another dentist). The final sample consisted of 34 patients, 18 from control group and 16 from test group. During the 3 months of follow-up period, no case presented signs or symptoms consistent with pulp alteration.

Comparison of the two groups before sealing showed a higher microorganism counts in the test group compared to the control group: total viable microorganisms count ($p = 0.000$), *Streptococcus spp.* counts ($p = 0.000$) and *Lactobacillus spp.* counts ($p = 0.001$). The count of mutans streptococci was not significantly different ($p = 0,064$) (Figure 1).

Although there was a trend toward a decreased in the number of viable microorganisms in the control group after sealing, it was not significant: total viable microorganisms: $p=0.055$; *Streptococcus spp.*: $p=0.953$; mutans streptococci: $p=1.000$ and *Lactobacillus spp.*: $p=0.086$). In the test group, significant reduction was found in the total viable microorganisms ($p = 0.002$), *Streptococcus spp.* ($p = 0.003$) and *Lactobacillus spp.* ($p = 0.006$) after sealing. There was no difference in the mutans streptococci CFUs ($p = 0.310$) (Figure 1).

After 3 months of sealing, no difference was detected in microbial growth between groups for any of the targeted microorganisms studied (*Streptococcus spp.* counts: $p=0.237$; mutans streptococci counts: $p=0.551$; and *Lactobacillus spp.* counts: $p=0.281$ and for the total viable microbial load: $p= 0.109$; - Figure 1).

The frequency of bacterial isolation before cavity sealing was significantly different between the two groups: total viable microorganisms counts ($p=0.02$),

Streptococcus spp. counts ($p < 0.001$) and mutans streptococci counts ($p = 0.006$). The number of samples with bacterial growth before and after sealing decreased only in the group of partial caries removal for *Streptococcus spp.* ($p = 0.0078$) and *Lactobacillus spp.* ($p = 0.0391$). After sealing, no difference was detected between the two groups for all microorganisms studied (Table 1).

Discussion

The comparison between partial and total removal of caries tissue in this randomized clinical trial improved the evidence concerning the restorative treatment of caries. The complete caries removal does not assure the elimination of all microorganisms. The sealing of cavities submitted to partial caries removal (only infected dentine is removed) resulted in substantial reduction in cultivable flora. After sealing, no difference in the levels of microbial colonization was observed between complete and partial caries removal.

After PCR and sealing, microorganisms were present in low abundance. It was also observed in other studies that analyzed partial caries removal and sealing [Paddick et al., 2005]. Complete caries removal and sealing showed a trend to decreased, different from another study that observed a higher total counts of microorganisms after sealing [Lula et al., 2009]. This fact was explained by the authors as a possible microinfiltration expected for resin composite restorations and the proliferation of bacteria adapted to this specific environment [Lula et al., 2009]. In the present study, the decrease in the amount of microorganisms were similar after the sealing period in both group and it could indicate that there is no need to perform the complete caries removal.

Microorganisms remain viable beneath restorations without apparently causing any detrimental effect to the treatment. The established operative treatment advocates complete caries removal of decayed tissue. In deep carious lesion complete caries removal can lead to pulp exposure with bad prognosis [Barthel et al., 2000; Bjørndal et al., 2010]. Longitudinal and cross-sectional surveys on restorative treatment concluded that secondary or recurrent caries and fracture of restorations are the major reasons for treatment failure. The replacement of direct posterior resin restorations is due to disease

activity of the patient and not to the progression of the lesion under the restoration [Alves et al., 2010; Asghar et al., 2010; Bernardo et al., 2007; Brunthaler et al., 2003; Manhart et al., 2004; Mjör et al., 2000]. The long term evaluation of restorations submitted to partial carious removal showed the same reasons for failure of conventional treatment (complete carious removal) [Alves et al., 2010; Mertz-Fairhurst et al., 1998].

The persistence of microorganism in dentine after PCR raised doubts regarding the longevity of the treatment. A possible selection of cariogenic bacteria could lead to carious progression. Few studies assess the cariogenic potential of microorganisms in carious dentin before and after sealing. In accordance with the literature, mutans streptococci was found in dentine carious lesions before sealing and are related to the progression of the carious process [Loesche and Syed, 1973; Paddick et al., 2005]. In carious lesion, the pH is subject to large perturbations dependent upon the consumption of fermentable carbohydrates which result in rapid acid production and consequent establishment of an acidic environment [Paddick et al., 2005]. This acidic environment is resulting from the presence of acidogenic and aciduric bacteria such as lactobacilli and mutans streptococci. After sealing, cariogenic microorganisms, *Lactobacillus spp.* and mutans streptococci, were practically not detected. This was also observed in other study that compares the effect of sealing infected carious dentine below restorations by conventional isolation and enumeration methods [Bjørndal and Larsen, 2000]. Only others streptococci and gram-positive pleomorphic rods were detected in the final sample [Paddick et al., 2005]. Viable streptococci were detected in the final sample in PCR and CCR, but they were not found in higher number when compared to the initial sample. The results suggest that the surviving bacteria after sealing are less cariogenic than the initial sample.

The microbial changes observed in this study were expected, since the access of exogenous nutrients to the biofilm is blocked and it created a stressful environment for microorganisms, in which only those able to adapt will survive. The lack of external nutrients available for the microbiota to growth is the most obvious environmental change to these remaining microorganisms. Paddick *et al.* showed that only bacteria capable of producing the enzymes required to cleave the terminal sugars from the

glycoproteins were recovered from the dentine after cavity sealing [Paddick et al., 2005]. Moreover, it is interesting to note that in addition to nutritional block, there is a reduction of dentin permeability due to established defense mechanisms (tubular sclerosis and reduced permeability of the dentine will subsequently limit nutrient availability), which can also reduce the microbial access to endogenous nutrients [Paddick et al., 2005]. It is also likely that components of dead bacteria, which did not survive after sealing, may contribute as source of nutrients to those bacteria which survived below the restorations [Paddick et al., 2005].

The stepwise excavation is one technique that involves the PCR, but only in the first step. The objective of this procedure is to arrest lesion progression and allow the formation of tertiary dentine before final excavation, making pulp exposure less likely in deep caries lesion [Kidd, 2004]. After a sealing period, the cavity must be re-opened and further excavation is carried out prior to a definitive restoration [Bjørndal and Larsen, 2000; Bjørndal et al., 1997; Bjørndal et al., 2010; Bjørndal and Thylstrup, 1998; Leksell et al., 1996; Weerheijm et al., 1999]. The common thought is that, if infected tissue remains the carious process may continue, albeit slowly [Kidd, 2004]. This present study shows that there is a substantial reduction in colony-forming-units during the interval of temporary sealing, in accordance with previous studies [Bjørndal and Larsen, 2000; Bjørndal et al., 1997; Maltz et al., 2002; Mertz-Fairhurst et al., 1979; Pinto et al., 2006; Wambier et al., 2007]. The similarity of microbial infection found after cavities sealing submitted to the CCR and PCR suggests that the PCR could be a more conservatory alternative in the treatment of carious lesions. These results suggest that the re-entry after partial caries removal to remove all remaining carious tissue is unnecessary or even prejudicial. This procedure could result in a higher risk of pulp exposure during final excavation [Bjørndal et al., 2010], removes more dental tissue [Bjørndal and Mjör, 2001], have higher costs [Jardim et al., 2011] and a leads to an increased number of appointments. It is also possible that, after the temporary filling placement, the patient does not return to the re-enter appointment and it may reduce treatment prognosis.

The observed similarity between the microbial infection after conventional excavation and partial caries removal suggests that there is no need to perform complete

caries removal based on conventional clinical criteria of hardness. Complete caries removal may lead to over preparations, encouraging excess removal of tissue in the enamel-dentine junction [Kidd, 2004; Kidd et al., 1993], as well as in dentine over the pulp surface.

Acknowledgements

We thank the support of the National Coordination of Post-graduate Education (CAPES).

References

- Alves LS, Fontanella V, Damo AC, Ferreira de Oliveira E, Maltz M: Qualitative and quantitative radiographic assessment of sealed carious dentin: A 10-year prospective study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2010;109:135-141.
- Asghar S, Ali A, Rashid S, Hussain T: Replacement of resin-based composite restorations in permanent teeth. *J Coll Physicians Surg Pak* 2010;20:639-643.
- Barthel CR, Rosenkranz B, Leuenberg A, Roulet JF: Pulp capping of carious exposures: Treatment outcome after 5 and 10 years: A retrospective study. *J Endod* 2000;26:525-528.
- Bergenholtz G, Spångberg L: Controversies in endodontics. *Crit Rev Oral Biol Med* 2004;15:99-114.
- Bernardo M, Luis H, Martin MD, Leroux BG, Rue T, Leitão J, DeRouen TA: Survival and reasons for failure of amalgam versus composite posterior restorations placed in a randomized clinical trial. *J Am Dent Assoc* 2007;138:775-783.
- Besic FC: The fate of bacteria sealed in dental cavities. 1943;22:349-354.
- Bjørndal L: Indirect pulp therapy and stepwise excavation. *J Endod* 2008;34:S29-33.
- Bjørndal L, Larsen T: Changes in the cultivable flora in deep carious lesions following a stepwise excavation procedure. *Caries Res* 2000;34:502-508.
- Bjørndal L, Larsen T, Thylstrup A: A clinical and microbiological study of deep carious lesions during stepwise excavation using long treatment intervals. *Caries Res* 1997;31:411-417.
- Bjørndal L, Mjör IA: Pulp-dentin biology in restorative dentistry. Part 4: Dental caries--characteristics of lesions and pulpal reactions. *Quintessence Int* 2001;32:717-736.
- Bjørndal L, Reit C, Bruun G, Markvart M, Kjaeldgaard M, Näsman P, Thordrup M, Dige I, Nyvad B, Fransson H, Lager A, Ericson D, Petersson K, Olsson J, Santimano E, Wennström A, Winkel P, Gluud C: Treatment of deep caries lesions in adults: Randomized clinical trials comparing stepwise vs. Direct complete excavation, and direct pulp capping vs. Partial pulpotomy. *Eur J Oral Sci* 2010;118:290-297.
- Bjørndal L, Thylstrup A: A practice-based study on stepwise excavation of deep carious lesions in permanent teeth: A 1-year follow-up study. *Community Dent Oral Epidemiol* 1998;26:122-128.
- Brunthaler A, König F, Lucas T, Sperr W, Schedle A: Longevity of direct resin composite restorations in posterior teeth. *Clin Oral Investig* 2003;7:63-70.
- Brännström M, Gola G, Nordenvall KJ, Torstenson B: Invasion of microorganisms and some structural changes in incipient enamel caries. A scanning electron microscopic investigation. *Caries Res* 1980;14:276-284.
- Falster CA, Araujo FB, Straffon LH, Nör JE: Indirect pulp treatment: In vivo outcomes of an adhesive resin system vs calcium hydroxide for protection of the dentin-pulp complex. *Pediatr Dent* 2002;24:241-248.
- Jardim JJ, Decourta R, de Paula LM, Mestrinho H, Maltz M: Cost-effectiveness of stepwise excavation/partial removal of carious dentine in deep caries lesion in Brazil (abstract). 58th ORCA Congress 2011;45:17.
- Kidd EA: How 'clean' must a cavity be before restoration? *Caries Res* 2004;38:305-313.

- Kidd EA, Joyston-Bechal S, Beighton D: The use of a caries detector dye during cavity preparation: A microbiological assessment. *Br Dent J* 1993;174:245-248.
- Lager A, Thornqvist E, Ericson D: Cultivable bacteria in dentine after caries excavation using rose-bur or carisolv. *Caries Res* 2003;37:206-211.
- Leksell E, Ridell K, Cvek M, Mejåre I: Pulp exposure after stepwise versus direct complete excavation of deep carious lesions in young posterior permanent teeth. *Endod Dent Traumatol* 1996;12:192-196.
- Loesche WJ, Syed SA: The predominant cultivable flora of carious plaque and carious dentine. *Caries Res* 1973;7:201-216.
- Lula EC, Monteiro-Neto V, Alves CM, Ribeiro CC: Microbiological analysis after complete or partial removal of carious dentin in primary teeth: A randomized clinical trial. *Caries Res* 2009;43:354-358.
- MacGregor A ME BI: experimental studies of dental caries. I. The relation of bacterial invasion to softening of the dentin. 1956;101.
- Maltz M, de Oliveira EF, Fontanella V, Bianchi R: A clinical, microbiologic, and radiographic study of deep caries lesions after incomplete caries removal. *Quintessence Int* 2002;33:151-159.
- Maltz M, Henz S, Oliveira EF: A microbiological study of conventional and incomplete dentine caries removal (abstract). *Caries Research* 2004;38.
- Manhart J, Chen H, Hamm G, Hickel R: Buonocore memorial lecture. Review of the clinical survival of direct and indirect restorations in posterior teeth of the permanent dentition. *Oper Dent* 2004;29:481-508.
- Massara ML, Alves JB, Brandão PR: Atraumatic restorative treatment: Clinical, ultrastructural and chemical analysis. *Caries Res* 2002;36:430-436.
- Mertz-Fairhurst EJ, Curtis JW, Ergle JW, Rueggeberg FA, Adair SM: Ultraconservative and cariostatic sealed restorations: Results at year 10. *J Am Dent Assoc* 1998;129:55-66.
- Mertz-Fairhurst EJ, Schuster GS, Williams JE, Fairhurst CW: Clinical progress of sealed and unsealed caries. Part i: Depth changes and bacterial counts. *J Prosthet Dent* 1979;42:521-526.
- Mjör IA, Moorhead JE, Dahl JE: Reasons for replacement of restorations in permanent teeth in general dental practice. *Int Dent J* 2000;50:361-366.
- Orhan AI, Oz FT, Ozcelik B, Orhan K: A clinical and microbiological comparative study of deep carious lesion treatment in deciduous and young permanent molars. *Clin Oral Investig* 2008;12:369-378.
- Paddick JS, Brailsford SR, Kidd EA, Beighton D: Phenotypic and genotypic selection of microbiota surviving under dental restorations. *Appl Environ Microbiol* 2005;71:2467-2472.
- Parolo CC, Maltz M: Microbial contamination of noncavitated caries lesions: A scanning electron microscopic study. *Caries Res* 2006;40:536-541.
- Pinto AS, de Araújo FB, Franzon R, Figueiredo MC, Henz S, García-Godoy F, Maltz M: Clinical and microbiological effect of calcium hydroxide protection in indirect pulp capping in primary teeth. *Am J Dent* 2006;19:382-386.
- Ricketts DN, Kidd EA, Innes N, Clarkson J: Complete or ultraconservative removal of decayed tissue in unfilled teeth. *Cochrane Database Syst Rev* 2006;3:CD003808.
- Shovelton DS: A study of deep carious dentine. *Int Dent J* 1968;18:392-405.

- Sneath B, Vary C, Pavlakis G, Vournakis J: Secondary structure of tetrahymena thermophila 5s ribosomal rna as revealed by enzymatic digestion and microdensitometric analysis. *Nucleic Acids Res* 1986;14:1365-1378.
- Syed SA, Loesche WJ: Survival of human dental plaque flora in various transport media. *Appl Microbiol* 1972;24:638-644.
- Thylstrup A QU: Principal enamel and dentine reactions during caries progression; in Thylstrup A LS, Qvist U (ed): *Dentine reactions in the oral cavity*. Oxford, IRL Press, 1987, pp pp 293–300.
- Wambier DS, dos Santos FA, Guedes-Pinto AC, Jaeger RG, Simionato MR: Ultrastructural and microbiological analysis of the dentin layers affected by caries lesions in primary molars treated by minimal intervention. *Pediatr Dent* 2007;29:228-234.
- Weerheijm KL, Kreulen CM, de Soet JJ, Groen HJ, van Amerongen WE: Bacterial counts in carious dentine under restorations: 2-year in vivo effects. *Caries Res* 1999;33:130-134.
- Westergren G: Transformation of streptococcus sanguis to a rough colonial morphology with an increased ability to adhere. *Arch Oral Biol* 1978;23:887-891.
- Whitehead FIH, Macgregor, A.B. and Marsland, E.A.: Experimental studies of dental caries: Ii. The reallion of bacterial invasion to softening of the dentine in permanent and deciduous teeth. *Br dent j* 1960;108:261-265.

Figure

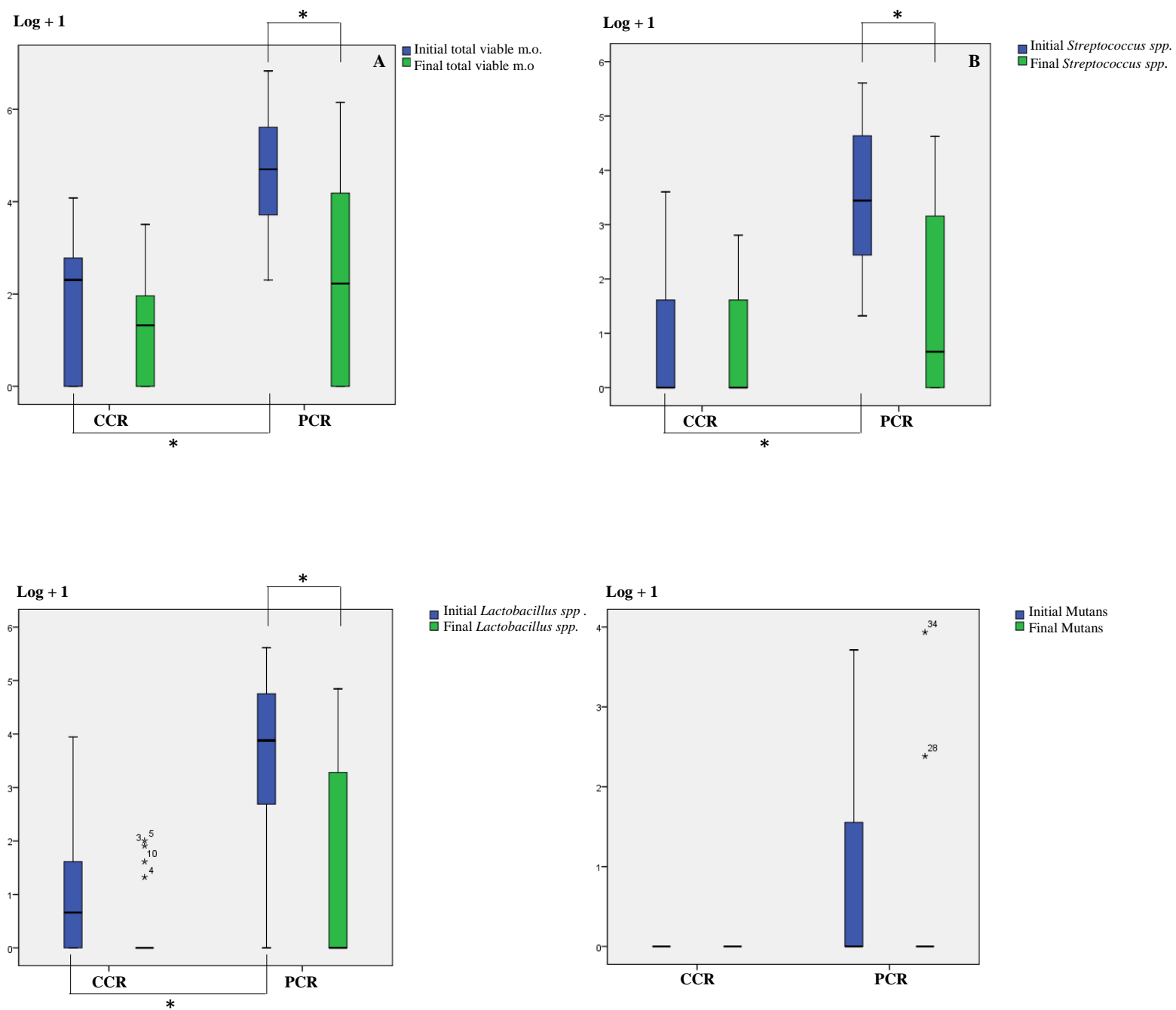


Figure 1. Median and interquartile range of the number of selected bacteria in $\log_{10} + 1$ (CFU) of dentin before and after cavity sealing in patients submitted to complete caries removal (CCR) or partial caries removal (PCR). A: Total viable microorganisms counts; B: *Streptococcus spp.* counts; C: *Lactobacillus spp.* counts; D: Mutans streptococci counts. * $p < 0.05$

Table

| | | Sealing | | |
|---------------------------|-----|------------|-------|---------|
| | | Before | After | p |
| Total microbial load | CCR | 12 | 10 | 0,6875 |
| | PCR | 16 | 11 | 0,0625 |
| | p | 0,02* | 0,497 | |
| <i>Streptococcus spp.</i> | CCR | 7 | 7 | 1 |
| | PCR | 16 | 8 | 0,0078* |
| | p | <0,001* | 0,73 | |
| <i>Lactobacillus spp.</i> | CCR | 9 | 4 | 0,125 |
| | PCR | 13 | 6 | 0,0391* |
| | p | 0,08 | 0,457 | |
| Mutans streptococci | CCR | 0 | 0 | ND |
| | PCR | 6 | 2 | 0,2188 |
| | p | 0,006* | 0,214 | |
| ND: not detected | | * p < 0.05 | | |

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os dentes submetidos à remoção parcial de tecido cariado apresentam uma série de alterações relacionadas ao tempo de selamento: as análises clínicas demonstram a transformação da dentina amarelada e amolecida em um tecido reacional, endurecido e escurecido (Bjørndal, Larsen et al., 1997; Bjørndal e Thylstrup, 1998; Bjørndal e Larsen, 2000; Maltz, De Oliveira et al., 2002; Maltz, Oliveira et al., 2007). Radiograficamente, observa-se ganho mineral na dentina subjacente à proteção pulpar (Maltz, De Oliveira et al., 2002; Oliveira, Carminatti et al., 2006; Maltz, Oliveira et al., 2007; Alves, Fontanella et al., 2010) e, quanto à avaliação da microbiota remanescente, este tipo de tratamento propicia uma drástica redução do número de bactérias viáveis após a reabertura da cavidade (Mertz-Fairhurst, Schuster et al., 1979a; Bjørndal, Larsen et al., 1997; Bjørndal e Larsen, 2000; Maltz, De Oliveira et al., 2002; Pinto, De Araújo et al., 2006; Wambier, Dos Santos et al., 2007), além da redução dos níveis de contaminação bacteriana em túbulos dentinários (Massara, Alves et al., 2002).

A literatura tem demonstrado que o selamento de lesões cariosas é capaz de controlar a progressão das mesmas apenas pelo seu isolamento do ambiente bucal, independentemente da permanência de bactérias presentes nas cavidades (Loesche e Syed, 1978; Mertz-Fairhurst, Schuster et al., 1979b; Mertz-Fairhurst, Schuster et al., 1986; Mertz-Fairhurst, Curtis et al., 1998; Maltz, De Oliveira et al., 2002; Franzon, Casagrande et al., 2007; Maltz, Oliveira et al., 2007). Cabe ressaltar que, quanto maior o tempo de selamento a que os dentes estão submetidos, melhores serão as respostas frente ao bloqueio da cavidade ao ecossistema bucal (Alves, Fontanella et al., 2010).

Além disso, é conveniente lembrar que este tipo de tratamento é mais conservador, uma vez que preserva maior quantidade de tecido dental. Apesar destas evidências, não existe consenso de quanto de tecido cariado pode ser deixado na cavidade embaixo das restaurações.

A comparação entre a remoção parcial e a total do tecido cariado, neste ensaio clínico randomizado, aumenta as evidências sobre o tratamento restaurador da cárie. A remoção completa do tecido cariado não garante a eliminação de todos os microorganismos. O selamento das cavidades submetidos à remoção parcial de tecido cariado (apenas dentina infectada é removida) resultaram em redução substancial da flora cultivável. Após o período de selamento, nenhuma diferença foi observada nos níveis de colonização microbiana entre os dois grupos de comparação.

A semelhança observada entre a infecção microbiana após a escavação convencional e a remoção parcial de tecido cariado sugere que não há necessidade de realizar a remoção total do tecido cariado baseada em critérios clínicos convencionais de dureza. A remoção de tecido cariado convencional pode levar a um sobrepreparo, favorecendo a remoção excessiva de tecido na junção esmalte-dentina (Kidd, 2004; Kidd et al, 1993.), bem como na dentina localizada na parede pulpar.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, L. S. et al. Qualitative and quantitative radiographic assessment of sealed carious dentin: a 10-year prospective study. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 109, n. 1, p. 135-41, Jan 2010.

ASGHAR, S. et al. Replacement of resin-based composite restorations in permanent teeth. **J Coll Physicians Surg Pak**, v. 20, n. 10, p. 639-43, Oct 2010.

BAELUM, V. et al. A 10-year study of the progression of destructive periodontal disease in adult and elderly Chinese. **J Periodontol**, v. 68, n. 11, p. 1033-42, Nov 1997.

BARTHEL, C. R. et al. Pulp capping of carious exposures: treatment outcome after 5 and 10 years: a retrospective study. **J Endod**, v. 26, n. 9, p. 525-8, Sep 2000.

BERGENHOLTZ, G.; SPÅNGBERG, L. CONTROVERSIES IN ENDODONTICS. **Crit Rev Oral Biol Med**, v. 15, n. 2, p. 99-114, 2004.

BERNARDO, M. et al. Survival and reasons for failure of amalgam versus composite posterior restorations placed in a randomized clinical trial. **J Am Dent Assoc**, v. 138, n. 6, p. 775-83, Jun 2007.

BESIC, F. C. The fate of bacteria sealed in dental cavities., v. 22, p. 349-354, 1943.

BJØRNDAL, L. Buonocore Memorial Lecture. Dentin caries: progression and clinical management. **Oper Dent**, v. 27, n. 3, p. 211-7, 2002 May-Jun 2002.

_____. Indirect pulp therapy and stepwise excavation. **Pediatr Dent**, v. 30, n. 3, p. 225-9, 2008 May-Jun 2008.

_____. Stepwise Excavation may Enhance Pulp Preservation in Permanent Teeth Affected by Dental Caries. **J Evid Based Dent Pract**, v. 11, n. 4, p. 175-7, Dec 2011.

BJØRNDAL, L.; LARSEN, T. Changes in the cultivable flora in deep carious lesions following a stepwise excavation procedure. **Caries Res**, v. 34, n. 6, p. 502-8, 2000 Nov-Dec 2000.

BJØRNDAL, L.; LARSEN, T.; THYLSTRUP, A. A clinical and microbiological study of deep carious lesions during stepwise excavation using long treatment intervals. **Caries Res**, v. 31, n. 6, p. 411-7, 1997.

BJØRNDAL, L.; MJÖR, I. A. Pulp-dentin biology in restorative dentistry. Part 4: Dental caries--characteristics of lesions and pulpal reactions. **Quintessence Int**, v. 32, n. 9, p. 717-36, Oct 2001.

BJØRNDAL, L. et al. Treatment of deep caries lesions in adults: randomized clinical trials comparing stepwise vs. direct complete excavation, and direct pulp capping vs. partial pulpotomy. **Eur J Oral Sci**, v. 118, n. 3, p. 290-7, Jun 2010.

BJØRNDAL, L.; THYLSTRUP, A. A practice-based study on stepwise excavation of deep carious lesions in permanent teeth: a 1-year follow-up study. **Community Dent Oral Epidemiol**, v. 26, n. 2, p. 122-8, Apr 1998.

BLACK, G. V. **Operative dentistry**. Chicago: Medico dental, 1908.

BRASIL. **BRASIL: Projeto sb brasil 2003 -condições de saúde bucal da população brasileira 2002-2003: Resultados principais**. SAÚDE, M. D. 2004.

BRUNTHALER, A. et al. Longevity of direct resin composite restorations in posterior teeth. **Clin Oral Investig**, v. 7, n. 2, p. 63-70, Jun 2003.

BRÄNNSTRÖM, M. et al. Invasion of microorganisms and some structural changes in incipient enamel caries. A scanning electron microscopic investigation. **Caries Res**, v. 14, n. 5, p. 276-84, 1980.

CHAUNCEY, H. H.; GLASS, R. L.; ALMAN, J. E. Dental caries. Principal cause of tooth extraction in a sample of US male adults. **Caries Res**, v. 23, n. 3, p. 200-5, 1989.

CONSOLARO, A. **Cárie dentária: Histopatologia e correlações clínico-radiográficas**. Bauru- FOB USP: 1996.

DE SOET, J. J.; NYVAD, B.; KILIAN, M. Strain-related acid production by oral streptococci. **Caries Res**, v. 34, n. 6, p. 486-90, 2000 Nov-Dec 2000.

FALSTER, C. A. et al. Indirect pulp treatment: in vivo outcomes of an adhesive resin system vs calcium hydroxide for protection of the dentin-pulp complex. **Pediatr Dent**, v. 24, n. 3, p. 241-8, 2002 May-Jun 2002.

FEJERSKOV, O.; MANJI, F. Risk assesment in dental caries. In: (Ed.). **In BADER, J.D.- Risk assesment in denstity.**: Chapel Hill: University of North Carolina Dental College, 1990. p.pp. 215-7.

FEJERSKOV O., N., B., KIDD, E.A.M. Pathology of dental caries. In: EDWINA KIDD BN, V. B. (Ed.). **Dental caries:The disease and its clinical management.**: Blackwell Musksgaard, 2008. p.pp. 20-48.

FISHER, F. J. The viability of micro-organisms in carious dentine beneath amalgam restorations. **Br Dent J**, v. 121, n. 9, p. 413-6, Nov 1966.

_____. The viability of micro-organisms in carious dentine beneath amalgam restorations. An appendix. **Br Dent J**, v. 126, n. 8, p. 355-6, Apr 1969.

FRANZON, R. et al. Clinical and radiographic evaluation of indirect pulp treatment in primary molars: 36 months follow-up. **Am J Dent**, v. 20, n. 3, p. 189-92, Jun 2007.

FUSAYAMA, T. Two layers of carious dentin; diagnosis and treatment. **Oper Dent**, v. 4, n. 2, p. 63-70, 1979.

GOING, R. E. et al. The viability of microorganisms in carious lesions five years after covering with a fissure sealant. **J Am Dent Assoc**, v. 97, n. 3, p. 455-62, Sep 1978.

JARDIM, J. J. et al. Cost-Effectiveness of Stepwise Excavation/Partial Removal of Carious Dentine in Deep Caries Lesion in Brazil (abstract). **58th ORCA Congress**, Kaunas, Lithuania, v. 45, n. 2, p. 17, 2011.

KIDD, E. A. How 'clean' must a cavity be before restoration? **Caries Res**, v. 38, n. 3, p. 305-13, 2004 May-Jun 2004.

KIDD, E. A.; JOYSTON-BECHAL, S.; BEIGHTON, D. The use of a caries detector dye during cavity preparation: a microbiological assessment. **Br Dent J**, v. 174, n. 7, p. 245-8, Apr 1993.

LAGER, A.; THORNQVIST, E.; ERICSON, D. Cultivable bacteria in dentine after caries excavation using rose-bur or carisolv. **Caries Res**, v. 37, n. 3, p. 206-11, 2003 May-Jun 2003.

LEKSELL, E. et al. Pulp exposure after stepwise versus direct complete excavation of deep carious lesions in young posterior permanent teeth. **Endod Dent Traumatol**, v. 12, n. 4, p. 192-6, Aug 1996.

LOESCHE, W. J. Microbiology of Dental Decay and Periodontal Disease. In: S, B. (Ed.). **Medical Microbiology**. 4th edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston, 1996. cap. 99,

LOESCHE, W. J.; SYED, S. A. The predominant cultivable flora of carious plaque and carious dentine. **Caries Res**, v. 7, n. 3, p. 201-16, 1973.

_____. Bacteriology of human experimental gingivitis: effect of plaque and gingivitis score. **Infect Immun**, v. 21, n. 3, p. 830-9, Sep 1978.

LULA, E. C. et al. Microbiological analysis after complete or partial removal of carious dentin in primary teeth: a randomized clinical trial. **Caries Res**, v. 43, n. 5, p. 354-8, 2009.

MACGREGOR, A., MARSLAND, E.A.; BATTY, I. Experimental studies of dental caries. I. The relation of bacterial invasion to softening of the dentin. **British Dental Journal**, v. 101, n. 7, p. 230-235, 1956.

MALTZ, M. et al. A clinical, microbiologic, and radiographic study of deep caries lesions after incomplete caries removal. **Quintessence Int**, v. 33, n. 2, p. 151-9, Feb 2002.

MALTZ M, H. S., OLIVEIRA EF. A microbiological study of conventional and incomplete dentine caries removal (abstract). 51th ORCA Congress. **Caries Research**, p. 38, 2004.

MALTZ, M. et al. Deep caries lesions after incomplete dentine caries removal: 40-month follow-up study. **Caries Res**, v. 41, n. 6, p. 493-6, 2007.

MANHART, J. et al. Buonocore Memorial Lecture. Review of the clinical survival of direct and indirect restorations in posterior teeth of the permanent dentition. **Oper Dent**, v. 29, n. 5, p. 481-508, 2004 Sep-Oct 2004.

MASSARA, M. L.; ALVES, J. B.; BRANDÃO, P. R. Atraumatic restorative treatment: clinical, ultrastructural and chemical analysis. **Caries Res**, v. 36, n. 6, p. 430-6, 2002 Nov-Dec 2002.

MERTZ-FAIRHURST, E. J. et al. Ultraconservative and cariostatic sealed restorations: results at year 10. **J Am Dent Assoc**, v. 129, n. 1, p. 55-66, Jan 1998.

MERTZ-FAIRHURST, E. J.; SCHUSTER, G. S.; FAIRHURST, C. W. Arresting caries by sealants: results of a clinical study. **J Am Dent Assoc**, v. 112, n. 2, p. 194-7, Feb 1986.

MERTZ-FAIRHURST, E. J. et al. Clinical progress of sealed and unsealed caries. Part I: Depth changes and bacterial counts. **J Prosthet Dent**, v. 42, n. 5, p. 521-6, Nov 1979a.

_____. Clinical progress of sealed and unsealed caries. Part II: Standardized radiographs and clinical observations. **J Prosthet Dent**, v. 42, n. 6, p. 633-7, Dec 1979b.

MJÖR, I. A.; MOORHEAD, J. E.; DAHL, J. E. Reasons for replacement of restorations in permanent teeth in general dental practice. **Int Dent J**, v. 50, n. 6, p. 361-6, Dec 2000.

NYVAD, B.; KILIAN, M. Comparison of the initial streptococcal microflora on dental enamel in caries-active and in caries-inactive individuals. **Caries Res**, v. 24, n. 4, p. 267-72, 1990.

OLIVEIRA, E. F. et al. The monitoring of deep caries lesions after incomplete dentine caries removal: results after 14-18 months. **Clin Oral Investig**, v. 10, n. 2, p. 134-9, Jun 2006.

ORHAN, A. I. et al. A clinical and microbiological comparative study of deep carious lesion treatment in deciduous and young permanent molars. **Clin Oral Investig**, v. 12, n. 4, p. 369-78, Dec 2008.

ORLAND, F. J. et al. Use of the germfree animal technic in the study of experimental dental caries. I. Basic observations on rats reared free of all microorganisms. **J Dent Res**, v. 33, n. 2, p. 147-74, Apr 1954.

OSTROM, C. A. Cariologia clínica. In: MENAKER, L. (Ed.). **Cáries dentárias: Bases biológicas**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1984. p.p.219-30.

PADDICK, J. S. et al. Phenotypic and genotypic selection of microbiota surviving under dental restorations. **Appl Environ Microbiol**, v. 71, n. 5, p. 2467-72, May 2005.

PAROLO, C. C.; MALTZ, M. Microbial contamination of noncavitated caries lesions: a scanning electron microscopic study. **Caries Res**, v. 40, n. 6, p. 536-41, 2006.

PINTO, A. S. et al. Clinical and microbiological effect of calcium hydroxide protection in indirect pulp capping in primary teeth. **Am J Dent**, v. 19, n. 6, p. 382-6, Dec 2006.

QU, T. A. Principal enamel and dentine reactions during caries progression. In: IN THYLSTRUP A LS, Q. U. E. (Ed.). **Dentine reactions in the oral cavity**. Oxford, IRL Press, 1987. p.293–300.

RICKETTS, D. N. et al. Complete or ultraconservative removal of decayed tissue in unfilled teeth. **Cochrane Database Syst Rev**, v. 3, p. CD003808, 2006.

SHOVELTON, D. S. A study of deep carious dentine. **Int Dent J**, v. 18, n. 2, p. 392-405, Jun 1968.

SNEATH, B. et al. Secondary structure of *Tetrahymena thermophila* 5S ribosomal RNA as revealed by enzymatic digestion and microdensitometric analysis. **Nucleic Acids Res**, v. 14, n. 3, p. 1365-78, Feb 1986.

SYED, S. A.; LOESCHE, W. J. Survival of human dental plaque flora in various transport media. **Appl Microbiol**, v. 24, n. 4, p. 638-44, Oct 1972.

VAN HOUTE, J. Role of micro-organisms in caries etiology. **J Dent Res**, v. 73, n. 3, p. 672-81, Mar 1994.

VAN RUYVEN, F. O. et al. Relationship among mutans streptococci, "low-pH" bacteria, and iodophilic polysaccharide-producing bacteria in dental plaque and early enamel caries in humans. **J Dent Res**, v. 79, n. 2, p. 778-84, Feb 2000.

WAMBIER, D. S. et al. Ultrastructural and microbiological analysis of the dentin layers affected by caries lesions in primary molars treated by minimal intervention. **Pediatr Dent**, v. 29, n. 3, p. 228-34, 2007 May-Jun 2007.

WEERHEIJM, K. L. et al. Bacterial counts in carious dentine under restorations: 2-year in vivo effects. **Caries Res**, v. 33, n. 2, p. 130-4, 1999.

WESTERGREN, G. Transformation of *Streptococcus sanguis* to a rough colonial morphology with an increased ability to adhere. **Arch Oral Biol**, v. 23, n. 10, p. 887-91, 1978.

WHITEHEAD FIH, M., A.B. AND MARSLAND, E.A.: Experimental studies of dental caries: I. The reaction of bacterial invasion to softening of the dentine in permanent and deciduous teeth. **Br dent j**, v. 108, p. 261-265, 1960.

ANEXO 1- APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

UFRGS
UNIVERSIDADE FEDERAL
DO RIO GRANDE DO SUL

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA

Comitê De Ética Em Pesquisa Da Ufrgs

**CARTA DE APROVAÇÃO**

Comitê De Ética Em Pesquisa Da Ufrgs analisou o projeto:

Número: 19218

Título: Estudo da Viabilidade , diversidade e virulência de bactérias após remoção parcial de dentina cariada

Pesquisadores:

Equipe UFRGS:

MARISA MALTZ TURKIENICZ - coordenador de 15/01/2011 até 15/01/2013

CLARISSA CAVALCANTI FATTURI PAROLO - pesquisador de 15/01/2011 até 15/01/2013

Luciana Bitello Firmino - pesquisador de 15/01/2011 até 15/01/2013

Equipe Externa:

Márcia Mayer - pesquisador de 15/01/2011 até 15/01/2013

Comitê De Ética Em Pesquisa Da Ufrgs aprovou o mesmo, em reunião realizada em 30/09/2010 - Sala de Reuniões do Gabinete do Reitor (Ex Salão Vermelho) - Prédio Reitoria, 6º andar, por estar adequado ética e metodologicamente e de acordo com a Resolução 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde.

Porto Alegre, Quinta-Feira, 30 de Setembro de 2010

JOSE ARTUR BOGO CHIES
Coordenador da comissão de ética

APÊNDICE 1- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Faculdade de Odontologia

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Estudo da viabilidade, diversidade e virulência de bactérias após remoção parcial de dentina cariada

1. Objetivo do estudo: Avaliar o efeito de duas técnicas de restauração do dente (remoção parcial e total de tecido cariado), sobre a viabilidade (se permanecem vivas ou não), diversidade (identificação de diferentes bactérias) e virulência (o quanto elas agredem os tecidos dentários) de bactérias associadas à progressão das lesões de cárie em dentina (porção mais interna do dente).

2. Seleção dos indivíduos: Para participar desta pesquisa, você deverá apresentar lesões de cárie em metade de dentina. Os participantes serão divididos aleatoriamente (através de uma tabela) para receber um dos dois tipos de tratamento descritos abaixo.

3. Duração: A participação na pesquisa consiste em duas consultas, com duração de cerca de uma hora. A segunda consulta será realizada após três meses.

4. Procedimentos: O tratamento restaurador será executado em duas etapas. Na primeira consulta, será realizada em um grupo a remoção total de dentina cariada (procedimento convencional) e no outro grupo remoção parcial de dentina cariada (procedimento experimental) e coleta de uma amostra para análise das bactérias presentes na lesão de cárie. Na segunda consulta, será coletada uma amostra de tecido cariado, e então o dente será restaurado definitivamente. Se o dente estiver incluído no grupo de remoção parcial, na segunda consulta será feita a remoção de todo tecido cariado (tratamento padrão) com posterior restauração do dente. Isto significa que todos os dentes receberão tratamento padrão após a segunda coleta de dentina cariada.

5. Importância do estudo: Trata-se de um trabalho de finalidade terapêutica (de tratamento). O tema escolhido se justifica pela importância destas abordagens em lesões de cárie em dentina.

6. Danos: Não existem danos previstos. As duas abordagens têm indicação em odontologia. O material coletado será em pequena quantidade, o que não causará qualquer dano ao remanescente dentário (o que tem de tecido dentário após a remoção da cárie).

7. Benefícios: Participando desta pesquisa você contribui para o conhecimento quanto a técnicas conservadoras de remoção de tecido cariado, o que influenciará na realização das mesmas para o tratamento de lesões profundas de cárie. Além disso, qualquer necessidade clínica básica adicional poderá ser sanada pelos pesquisadores.

8. Confidencialidade: Os dados de identificação serão confidenciais e os nomes reservados. Os dados obtidos serão utilizados somente para este estudo, sendo os mesmos armazenados pelo (a) pesquisador(a) principal durante 5 (cinco) anos e após totalmente destruídos (Resolução 196/96). A participação na pesquisa é totalmente voluntária e o indivíduo tem a liberdade de se recusar a participar ou retirar seu consentimento em qualquer momento do estudo sem nenhum tipo de penalidade. No caso de dúvidas ou acontecimentos associados à pesquisa, o participante poderá entrar em contato com a pesquisadora Luciana Bitello Firmino, através do telefone 3308 5193/81368193 ou com a orientadora deste projeto e pesquisadora principal, Prof^ª. Dr^ª. Marisa Maltz (3308 5247), e terá a garantia de resposta a qualquer pergunta ou informação extra.

Confirmo que entendi a natureza da pesquisa e me disponho a participar voluntariamente.

Assinatura sujeito ou responsável: _____

Menor _____

Pesquisadora principal: _____

Porto Alegre, _____ de _____ de 20____.

