

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA**

SIMONE DI SALVO MASTRANTONIO

**AVALIAÇÃO IN VITRO DA DENTINA REMANESCENTE APÓS
REMOÇÃO QUÍMICO-MECÂNICA DO TECIDO CARIADO EM
DENTES DECÍDUOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas – Área de Odontopediatria, da Faculdade de Odontologia de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista, para obtenção do título de Doutor em Odontopediatria.

Orientadora: Profa. Dra. Lourdes Aparecida
Martins dos Santos Pinto

**Araraquara
2011**

Mastrantonio, Simone Di Salvo

Avaliação in vitro da dentina remanescente após remoção químico-mecânica do tecido cariado em dentes decíduos / Simone Di Salvo Mastrantonio. – Araraquara: [s.n.], 2011.

87 f. ; 30 cm.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Odontologia

Orientadora: Profa Dra. Lourdes Aparecida Martins dos Santos
Pinto

1. Cárie dentária 2. Dente decíduo 3. Microscopia confocal
4. Histologia 5. Microscopia eletrônica de varredura 6. Dureza
I. Título

SIMONE DI SALVO MASTRANTONIO

**AVALIAÇÃO IN VITRO DA DENTINA REMANESCENTE APÓS
REMOÇÃO QUÍMICO-MECÂNICA DO TECIDO CARIADO EM
DENTES DECÍDUOS**

COMISSÃO JULGADORA

TESE PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE DOUTOR

Presidente e Orientador: Profa. Dra. Lourdes Aparecida Martins dos Santos Pinto

2º Examinador: Profa. Dra. Rita de Cássia Loiola Cordeiro

3º Examinador: Profa. Dra. Alessandra Nara de Souza Rastelli

4º Examinador: Profa. Dra. Maria Cristina Borsatto

5º Examinador: Prof. Dr. Fábio Luiz Ferreira Scannavino

Araraquara, 28 de março de 2011.

Dados Curriculares

SIMONE DI SALVO MASTRANTONIO

NASCIMENTO	05/11/1977
NATURALIDADE	São Carlos - SP
FILIAÇÃO	José Luiz Roberti Mastrantonio Antonina Di Salvo Mastrantonio
1997-2000	Curso de Graduação na Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
2002-2004	Curso de Especialização em Odontopediatria no Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais Universidade de São Paulo (HRAC/USP)
2005-2007	Curso de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas, área de concentração Odontopediatria, nível Mestrado, na Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
2007-2011	Curso de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas, área de concentração Odontopediatria, nível Doutorado, na Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

AGRADECIMENTOS

A **DEUS**, pelo dom da vida, pela sua presença em todos os momentos da minha caminhada, me concedendo sabedoria, paciência e força para atingir meus ideais.

À **Profa. Tuka**, pela valiosa e precisa orientação na realização deste trabalho. Pela atenção, confiança em mim depositada, paciência e disponibilidade em todos os momentos que necessitei. Pessoa extremamente competente, exemplo de dedicação ao ensino e à pesquisa.

À **Profa. Dra. Lizeti Toledo de Oliveira Ramalho** pela atenção, disposição e ensinamentos transmitidos durante a realização da parte histológica deste estudo.

Aos meus pais, **José Luiz e Antonina**, que me apoiaram e incentivaram nos momentos difíceis e me auxiliaram sempre que necessário para que eu pudesse realizar mais esta conquista.

Aos meus irmãos, **Renato e Sabrina**, pelo carinho, apoio e companheirismo.

Ao meu esposo **Renato**, pelo amor, apoio, compreensão e paciência.

A todos os meus **familiares**, pelo carinho, apoio e incentivo.

À **Faculdade de Odontologia de Araraquara-UNESP**, na pessoa de seu Diretor Prof. Dr. José Cláudio Martins Segalla e de sua vice-diretora, Profa. Dra. Andréia Affonso Barretto Montandon.

À **Coordenadora do Curso de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas**, da Faculdade de Odontologia de Araraquara-UNESP, Profa. Dra. Josimeri Hebling Costa, que sempre se mostrou atenciosa e pronta para ajudar.

Ao **Departamento de Clínica Infantil** da Faculdade de Odontologia de Araraquara-UNESP representado pela chefe de Departamento Profa. Dra. Lídia Parsekian Martins e vice-chefe Prof. Dr. Fábio César Braga de Abreu e Lima.

Aos **Professores da Disciplina de Odontopediatria** da Faculdade de Odontologia de Araraquara-UNESP: Ângela Cristina Cilense Zuanon, Cyneu Aguiar Pansani, Elisa Maria Aparecida Giro, Fábio César Braga de Abreu e Lima, Josimeri Hebling Costa, Lourdes Aparecida Martins dos Santos Pinto e Rita de Cássia Loiola Cordeiro, pelos conhecimentos transmitidos, amizade e atenção durante todos esses anos.

Aos **funcionários do Departamento de Clínica Infantil** da Faculdade de Odontologia de Araraquara-UNESP: Dulce, Sônia, Thania, Cristina, Márcia, Odete, Pedrinho, Totó, pela ajuda e atenção durante todo o curso.

Ao **Departamento de Morfologia** da Faculdade de Odontologia de Araraquara-UNESP representado pela chefe de Departamento Profa. Dra. Ana Maria Minarelli Gaspar por permitir a utilização do Laboratório de Histologia e o equipamento de microscopia óptica.

À **Profa. Dra. Eunice Teresinha Giampaolo** do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese, da Faculdade de Odontologia de Araraquara-UNESP, por permitir a utilização do microdurômetro.

À **Profa. Dra. Maria Cristina Borsatto**, por sua generosidade, receptividade e assistência sempre que se fez necessário durante o uso do Laboratório de Pesquisa pertencente ao Departamento de Clínica Infantil, Odontologia Preventiva e Social da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto-USP.

Ao **Prof. Dr. Roy Edward Larson**, responsável pelo Laboratório Multiusuário de Microscopia Confocal do Departamento de Biologia Celular e Molecular e Bioagentes Patogênicos da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP e em especial ao **Prof. Dr. Lenaldo Branco Rocha**, pela atenção e disposição em me ajudar.

Ao **Núcleo de Apoio a Pesquisa/Microscopia Eletrônica Aplicada a Pesquisa Agropecuária – ESALQ/USP**, por permitir a utilização do laboratório do microscópio eletrônico de varredura.

Ao **Departamento de Engenharia de Materiais da UFSCar** e em especial ao Diego e Vítor pela realização das análises de MEV e EDS.

Aos **funcionários da Secretaria de Pós-Graduação** da Faculdade de Odontologia de Araraquara-UNESP, Alexandre, Flávia, Mara e Rosângela, pela atenção e pelo atendimento sempre eficiente e cordial.

Aos **funcionários da Biblioteca** da Faculdade de Odontologia de Araraquara-UNESP: Adriano, Ceres, Eliane, Inês, Maria Helena, Marley, Odete e Silvia, pela disponibilidade e atenção.

Às **amigas de Mestrado e Doutorado**: Cármen, Michele, Nancy e Juliana, pela amizade e pelos momentos de alegria e dificuldade compartilhados.

Aos **colegas de Pós-Graduação em Odontopediatria**: Amanda, Ana Luisa, Ana Paula, Beatriz, Camila Fávero, Camila Fragelli, Cristiane, Débora, Elcilaine, Fabiano, Hérica, Juliana, Letícia, Luciana, Marcela, Márcia, Marcos, Margareth, Marília, Natália e Thalita, pela amizade e agradável convívio.

À **Sra. Giana Coelho**, da TrollDental, que gentilmente nos forneceu o gel Carisolv e a cureta da MediTeam para a realização deste trabalho.

À **CAPES**, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pelo apoio financeiro.

A todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Sumário

Resumo.....	10
Abstract.....	11
INTRODUÇÃO	12
PROPOSIÇÃO	18
CAPÍTULO 1	19
CAPÍTULO 2	40
CAPÍTULO 3	58
CONSIDERAÇÕES FINAIS	75
REFERÊNCIAS	77
ANEXOS.....	84

Mastrantonio SS. Avaliação in vitro da dentina remanescente após remoção químico-mecânica do tecido cariado em dentes decíduos [Tese de Doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2011.

Resumo

As características físicas, químicas e morfológicas da dentina remanescente foram analisadas após a remoção químico-mecânica e mecânica do tecido cariado. Molares decíduos cariados extraídos foram seccionados no centro da lesão de cárie, no sentido mesio-distal, em duas metades semelhantes e os espécimes gerados foram divididos em 3 grupos de acordo com o método utilizado para remoção do tecido cariado: grupo CS (CarisolvTM), grupo PC (Papacárie[®]) e grupo BR (Broca). Foram realizadas as análises em microscopia confocal (MC), microscopia óptica de luz (MO), microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectrometria de energia dispersiva (EDS) e microdureza (MD). Na análise da MC observou-se que o método químico-mecânico removeu menos tecido cariado e a análise histológica evidenciou maior preservação da estrutura dentinária. No MEV/EDS, após a remoção químico-mecânica do tecido cariado, a dentina remanescente apresentou reduzido conteúdo de cálcio, porém a superfície dentinária apresentava-se mais irregular e livre de lama dentinária. A microdureza da dentina após a remoção do tecido cariado foi semelhante, independente do método utilizado. Os resultados deste estudo mostraram que o método químico-mecânico é mais conservador na remoção do tecido cariado.

Palavras-chave: Cárie dentária; dente decíduo; microscopia confocal; histologia; microscopia eletrônica de varredura; dureza.

Mastrantonio SS. In vitro evaluation of remaining dentine after chemomechanical caries removal in deciduous teeth [Tese de Doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2011.

Abstract

The physical, chemical and morphological characteristics of the remaining dentine were analysed after chemomechanical and mechanical caries removal. Extracted carious deciduous molars were sectioned mesiodistally through the center of the carious lesion into two similar halves. The specimens were divided into three groups according to the method used for caries removal: CS group (Carisolv™), PC group (Papacárie®) and CB group (conventional bur). The specimens were analysed under confocal laser scanning microscopy (CLSM), light microscopy (LM), scanning electron microscopy (SEM), energy dispersive analysis of x-rays (EDS) and microhardness (MH). After chemomechanical caries removal, under CLSM the remaining dentine showed less carious tissue and more dentine structure preserved in the histological analysis. SEM/EDS analysis showed the remaining dentine after chemomechanical carious removal presented reduced calcium content with irregular surface and smear layer free. Regardless the method used for caries removal the microhardness of the dentine was similar. The results showed that chemomechanical method was more conservative in the removal of carious tissue.

Keywords: Dental caries; deciduous tooth; confocal microscopy; histology; Scanning Electron Microscopy, hardness.

INTRODUÇÃO

A cárie dentária pode ser definida como uma doença bacteriana dos tecidos calcificados do dente, caracterizada pela desmineralização do seu conteúdo inorgânico, seguido da decomposição da matriz orgânica (Chu, Edward¹⁶, 2008). Devido a desmineralização que ocorre durante o desenvolvimento da cárie, há uma considerável redução do conteúdo mineral e conseqüentemente um decréscimo das propriedades mecânicas do tecido dentário remanescente (Angker et al.², 2004; Banerjee, Boyde⁵, 1998; Hosoya et al.²⁵, 2000).

Na lesão de cárie em dentina podem ser identificadas duas camadas distintas, diferenciadas macroscopicamente por suas características de resistência ao corte e coloração (Fusayama²², 1979). Micro-estruturalmente a camada mais superficial apresenta-se infectada, com extensa desmineralização e fibrilas de colágeno desnaturadas, não passíveis de remineralização. A segunda camada, imediatamente adjacente, denominada dentina afetada ou contaminada, caracteriza-se por desmineralização moderada, com fibrilas de colágeno sadias e presença de prolongamentos odontoblásticos, sendo biologicamente recuperável (Fusayama²², 1979; Kuboki et al.³¹, 1977; Ohgushi, Fusayama³⁶, 1975). Esta capacidade de reparação da dentina afetada estimulou o desenvolvimento do método de remoção químico-mecânica do tecido cariado, que consiste na aplicação de um produto sobre a dentina infectada, facilitando sua remoção e preservando o tecido dentinário afetado (Ammari, Moliterno¹, 2005; Beeley et al.⁹, 2000; Habib et al.²⁴, 1975; Maragakis et al.³³, 2001). Esta ação seletiva é explicada pela ausência de uma antiprotease plasmática no tecido infectado, a alfa

1-antitripsina, presente nos tecidos sadios e que impede a ação proteolítica do agente químico (Bertassoni, Marshall¹⁰, 2009; Bussadori et al.¹¹, 2005).

O hipoclorito de sódio a 5% foi a primeira substância utilizada na remoção química do tecido cariado, por ser um agente proteolítico não específico que dissolve material orgânico (Habib et al.²⁴, 1975). Entretanto se mostrou instável e agressivo aos tecidos sadios. Na tentativa de eliminar as propriedades negativas foi incorporado ao hipoclorito de sódio uma solução tampão de Sorensen (hidróxido de sódio, cloreto de sódio e glicina), que se tornou conhecida como GK 101. Este produto atuava no rompimento das pontes de hidrogênio do colágeno parcialmente degradado pela lesão de cárie, facilitando sua remoção (Habib et al.²⁴, 1975; Kronman et al.³⁰, 1977). Para aumentar a velocidade da reação, adicionou-se ácido aminobutírico à fórmula. O novo sistema, resultante deste acréscimo, denominado GK 101-E ou N-monocloroaminobutirato (NMAB), foi patenteado nos Estados Unidos e aprovado na década de 80 pela Food and Drug Administration (FDA), tornando-se conhecido como sistema Caridex^{TM*} (Maragakis et al.³³, 2001). Apesar da sua eficácia, o CaridexTM apresentava limitações na prática clínica, caracterizada pela remoção tecidual lenta (10 a 15 minutos), grande volume de solução empregada (200 - 500ml), curto prazo de validade, alto custo e necessidade de aquecimento, resultando em insucesso comercial, com sua retirada do mercado (Ericson et al.¹⁹, 1999; Maragakis et al.³³, 2001).

* National Patent Medical Products Inc., New Brunswick, NJ, USA

Na década de 90, foi desenvolvido na Suécia o Carisolv^{TM**}, um gel composto por solução de hipoclorito de sódio e três aminoácidos (ácido glutâmico, leucina e lisina), com ação semelhante ao CaridexTM. Os três aminoácidos reagem com o hipoclorito de sódio, neutralizando o efeito agressivo do mesmo nos tecidos sadios (Ericsson et al.¹⁹, 1999; Yazici et al.⁴⁵, 2003). Para aumentar a eficácia do CarisolvTM, sua formulação original foi modificada, alterando-se a concentração do hipoclorito de sódio, de 0,5% para 0,95% e foi retirado o corante eritrosina que, em alguns casos, provocou o manchamento da estrutura dentária (Fure, Lingström²¹, 2004; Rahman et al.⁴², 2005).

Em 2003, no Brasil, foi lançado o Papacárie^{®***}, um gel constituído pela papaína, uma enzima retirada da casca do mamão, a qual possui atividade bactericida, bacteriostática e anti-inflamatória (Bussadori et al.¹¹, 2005; Pereira et al.³⁸, 2004). O produto apresenta ainda em sua composição o anti-séptico cloramina (composto de cloro e amônia) e o azul de toluidina, um corante fotossensível com propriedades antimicrobianas, que substituiu o corante verde de malaquita, presente na composição inicial do produto (Bussadori et al.¹¹, 2005). O Papacárie[®] atua no rompimento da ligação entre as fibrilas de colágeno da dentina cariada, deixando intacta a dentina sadia, que por não estar desmineralizada e não ter fibrilas de colágeno expostas, não sofre a ação do produto (Bertassoni, Marshall¹⁰, 2009; Bussadori et al.¹², 2008).

O método químico-mecânico para remoção de cárie tem sido reportado como mais confortável que a utilização de instrumentos rotatórios e

** MediTeam AB, Sävedalen, Sweden

*** Fórmula & Ação, São Paulo, Brasil

frequentemente não requer a utilização de anestesia local, sendo uma alternativa promissora em Odontopediatria, principalmente para pacientes ansiosos ou portadores de necessidades especiais (Beeley et al.⁹, 2000; Carrillo et al.¹⁴, 2008; Nadanovsky et al.³⁵, 2001).

Tradicionalmente, a remoção do tecido cariado é realizada com o auxílio de brocas adaptadas a motores de baixa e alta rotação. Este método é associado ao ruído, aquecimento, vibração e desconforto, além da remoção de estrutura dentária sadia (Anusavice, Kincheloe³, 1987; Corrêa et al.¹⁷, 2007). Os critérios utilizados para identificação e remoção do tecido cariado são a análise visual e a sensação tátil (Kidd et al.²⁹, 1996). Entretanto, estes critérios são subjetivos e não definem com exatidão quanto de dentina cariada deve ser removido, o que muitas vezes, pode conduzir a uma sobre-extensão do preparo cavitário (Corrêa et al.¹⁷, 2007; Magalhães et al.³², 2006).

A dureza da dentina é considerada um indicador da efetividade do tratamento, uma vez que está associada com a relativa mineralização da dentina, auxiliando o dentista a distinguir entre o tecido altamente infectado (amolecido) e a dentina afetada (dentina dura) (Banerjee et al.⁶, 2010; Hossain et al.²⁶, 2003; Iost et al.²⁷, 1995; Sakoolnamarka et al.⁴⁴, 2005). Clinicamente, não é possível confirmar se a superfície dentinária remanescente está mineralizada e qual sua extensão (Mendonça et al.³⁴, 2002). Neste sentido, a avaliação da presença de íons cálcio pode ser utilizada como indicador do nível de mineralização da dentina (Arvidson et al.⁴, 2002; Hossain et al.²⁶, 2003; Yip et al.⁴⁶, 1995).

Considerando que o método químico-mecânico preserva a dentina afetada, é importante conhecer as características da dentina remanescente, quanto à autofluorescência (Banerjee et al.⁷, 2000), características histológicas (Cederlund et al.¹⁵, 1999; Flückiger et al.²⁰, 2005; Jawa et al.²⁸, 2010; Peric, Markovic³⁹, 2007), mineralização (Arvidson et al.⁴, 2002; Hossain et al.²⁶, 2003; Pai et al.³⁷, 2009; Sakoolnamarka et al.⁴⁴, 2005; Yip et al.⁴⁶, 1995), características morfológicas (Banerjee et al.⁸, 2000; Cajazeira, Santos¹³, 2007; Corrêa et al.¹⁸, 2008; Gurbuz et al.²³, 2008; Peric, Markovic³⁹, 2007; Pinheiro et al.⁴⁰, 2004) e microdureza (Corrêa et al.¹⁷, 2007; Flückiger et al.²⁰, 2005; Hosoya et al.²⁵, 2000; Hossain et al.²⁶, 2003; Magalhães et al.³², 2006; Prabhakar et al.⁴¹, 2009; Reis et al.⁴³, 2003; Sakoolnamarka et al.⁴⁴, 2005), para definir as condições clínicas desta dentina que está indicada a receber o tratamento restaurador.

PROPOSIÇÃO

OBJETIVO GERAL

O objetivo deste estudo foi avaliar as características físicas, químicas e morfológicas da dentina remanescente de dentes decíduos após a remoção do tecido cariado utilizando o CarisolvTM, o Papacárie[®] e a broca.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Capítulo 1 – Quantificar a remoção de dentina cariada pelo método químico-mecânico.

Capítulo 2 – Avaliar a quantidade de Ca e P presente na dentina remanescente e a morfologia desta superfície dentinária.

Capítulo 3 – Avaliar a microdureza do tecido remanescente.

**ESTUDO DA REMOÇÃO QUÍMICO-MECÂNICA DO TECIDO
CARIADO EM DENTES DECÍDUOS**

Capítulo 1

Resumo

A quantidade de tecido cariado e as características histológicas da dentina remanescente foram analisadas após a remoção químico-mecânica e mecânica do tecido cariado. Trinta e três molares decíduos cariados extraídos foram seccionados no centro da lesão de cárie, no sentido méso-distal, gerando dois espécimes por dente, que foram analisados em microscópio confocal (MC). Na seqüência, os 66 espécimes foram distribuídos entre 3 grupos, de acordo com o método de remoção do tecido cariado: grupo CS (CarisolvTM), grupo PC (Papacárie[®]) e grupo BR (Broca). Após a remoção do tecido cariado foi realizada uma segunda análise em MC e espécimes representativos de cada grupo foram processados para avaliação histológica. As áreas das imagens antes e após a remoção do tecido cariado foram calculadas em mm² e a diferença obtida representou a quantidade de tecido removido. A análise dos dados aplicando o teste de Kruskal-Wallis ao nível de significância de 5% evidenciou que a quantidade de tecido cariado removido foi maior no grupo BR (66,29±14,26%), estatisticamente diferente quando comparado com os grupos CS (40,25±14,50%) e PC (40,74±23,88%). Pode-se concluir que o método químico-mecânico removeu menos tecido cariado e histologicamente foi observado maior preservação da estrutura dentinária, podendo ser considerado um método mais conservador do que a broca.

Palavras-chave: Cárie dentária; dentina; dente decíduo; microscopia confocal; histologia.

Abstract

The amount of carious tissue and histological characteristics of the remaining dentine were analyzed after chemomechanical and mechanical caries removal. Thirty-three extracted carious deciduous molars were sectioned mesiodistally through the center of the carious lesion into two similar halves that were analyzed by confocal laser scanning microscopy (CLSM). Subsequently, the 66 specimens were distributed among 3 groups according to the method used for caries removal: CS group (CarisolvTM), PC group (Papacárie[®]) and CB group (conventional bur). After caries removal, a second analysis was performed using CLSM and representative specimens of each group were processed for histological evaluation. The areas of the images before and after caries removal were calculated in mm² and the difference represented the amount of tissue removed. Data analysis applying the Kruskal-Wallis test at a significance level of 5% showed that the amount of carious tissue removed was higher in CB group (66,29±14,26%), statistically different when compared with CS group (40,25±14,50%) and PC group (40,74±23,88%). It can be concluded that the chemomechanical method removed less carious tissue and histologically it was observed more preserved dentine structure and could be considered more conservative than conventional bur.

Keywords: Dental caries; dentine; deciduous tooth; confocal microscopy; histology.

INTRODUÇÃO

O tratamento conservador da cárie dentária indica a remoção da camada de dentina infectada, irreversivelmente desnaturada e não remineralizável e a preservação da camada afetada, passível de remineralização e reparação^{19,21-22}. Assim, a diferenciação entre estas camadas é clinicamente relevante com o objetivo de evitar a remoção desnecessária de estrutura dentária^{8,15}.

A dureza, a textura e a cor da dentina cariada são os principais parâmetros utilizados pelos clínicos para diferenciar a dentina infectada da afetada durante a remoção do tecido cariado^{4,18,23}. A dentina infectada caracteriza-se por consistência amolecida, coloração amarelada, aspecto umedecido, contém alta concentração de bactérias e fibras colágenas degradadas por ácidos e enzimas proteolíticas produzidas pelas bactérias¹⁵. A dentina afetada, ainda que superficialmente apresente certo grau de desmineralização, tem consistência endurecida com aspecto seco e coloração mais acastanhada. Sua matriz orgânica apresenta-se intacta e com número reduzido de bactérias^{1,7,20}.

Tradicionalmente a remoção do tecido cariado tem sido realizada com o uso de brocas adaptadas a motores de baixa e alta rotação. Este método, embora seja efetivo, apresenta algumas desvantagens como a dificuldade em se estabelecer exatamente quanto de dentina cariada deve ser removido e a freqüente presença de dor e desconforto durante o preparo cavitário¹¹. Com o objetivo de suprir estas dificuldades foi proposto o método químico-mecânico, que é menos invasivo e mais seletivo que o tradicional, pois remove apenas a dentina

infectada^{10,32}. Embora este método remova o tecido cariado mais lentamente, tem tido uma boa aceitação entre os pacientes pediátricos, reduzindo a ansiedade e o medo¹⁰⁻¹¹.

Apesar do crescente número de pesquisas sobre o método químico-mecânico^{13,17,23,31}, pouco se conhece sobre a quantidade de tecido cariado remanescente. O processo carioso afeta as propriedades ópticas da dentina, intensificando sua fluorescência³. A dentina cariada possui uma propriedade chamada autofluorescência, resultante da presença de cromóforos²⁷. A autofluorescência é causada pela perda mineral e uma interação entre moléculas da matriz modificada e bactérias presentes na dentina infectada³. Tecidos emissores de sinal fluorescente são identificados em microscopia confocal, que tem sido utilizada para validar a extensão e a remoção de dentina cariada^{2,5-6}. As vantagens do microscópio confocal incluem um exame não-destrutivo, sem necessidade de procedimentos de processamento e seccionamento do dente, fatores que minimizam os artefatos técnicos, além de possibilitar a obtenção de imagens em diferentes profundidades^{12,28-29}.

Assim sendo, o objetivo deste estudo foi quantificar, em microscopia confocal, a remoção de dentina cariada pelo método químico-mecânico e ilustrar histologicamente o aspecto da dentina remanescente.

MATERIAL E MÉTODO

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP-SP sob o protocolo nº 05/09 (Anexo 1).

Após obtenção do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 2), foram coletados 33 molares decíduos cujos critérios para inclusão na amostra foram: cavidade de cárie em dentina nas faces oclusal e/ou proximal e extração indicada por estar em processo de esfoliação e seus sucessores permanentes apresentarem 2/3 de formação radicular ou por motivos ortodônticos. Os critérios de não inclusão foram: presença de reabsorção interna da câmara coronária e dente com lesão de cárie que havia atingido a polpa.

Após a exodontia, os dentes foram limpos com soro fisiológico para remoção dos resíduos do tecido gengival, colocados em recipientes individuais e imediatamente armazenados a -20°C sem adição de solução para evitar possíveis alterações químicas, físicas ou ópticas na dentina^{13,25}.

Para o descongelamento, os dentes foram mantidos em temperatura ambiente (25°C) por pelo menos uma hora. Para evitar a desidratação e manter o ambiente úmido, uma gaze umedecida com água destilada foi colocada no interior de cada recipiente que abrigava os dentes¹².

Os 33 dentes foram seccionados no centro da lesão de cárie, no sentido mesio-distal, utilizando-se a máquina metalográfica ISOMET 1000 (ISOMET Buehler Ltd., Lake Bluf, Il, EUA) equipada com disco diamantado, sob

refrigeração constante. Cada dente gerou dois espécimes, num total de 66. Inicialmente os espécimes foram analisados em microscópio confocal (Leica TCS SP2, Carl Zeiss, Oberkochen, Germany) com lente objetiva de 2,5X (Figura 1A). A imagem de cada lesão de cárie foi capturada e salva digitalmente para futura comparação. Na seqüência, os espécimes foram distribuídos aleatoriamente entre 3 grupos (n = 22) e o tecido cariado foi removido utilizando a técnica estabelecida para cada grupo, tendo sido realizada por um único operador (Tabela 1).

Tabela 1 - Grupos experimentais segundo o método de remoção do tecido cariado

Grupos experimentais	Métodos de remoção
Grupo CS	Remoção químico-mecânica com Carisolv™
Grupo PC	Remoção químico-mecânica com Papacárie®
Grupo BR	Broca esférica de aço no baixa rotação

No grupo CS, o Carisolv™ (MediTeam AB, Sävedalen, Sweden) foi preparado de acordo com as instruções do fabricante e depositado na cavidade de cárie. Após 40 segundos, a superfície amolecida foi removida com cureta específica nº 3 (Mediteam, Sävedalen, Sweden). A cavidade foi lavada, seca e o procedimento repetido uma vez.

No grupo PC, o Papacárie® (Fórmula & Ação, São Paulo, Brasil) foi utilizado de acordo com as instruções do fabricante, depositando-se o gel na dentina cariada por 40 segundos e em seguida, foi realizada a remoção do tecido amolecido com cureta sem corte (S.S. White, Rio de Janeiro, Brasil). Após

lavagem e secagem da cavidade, o gel foi reaplicado uma vez e o procedimento repetido.

Nos espécimes do grupo BR foi utilizado motor de baixa-rotação (Kavo do Brasil Ind. Com. Ltda, Joinville, Santa Catarina, Brasil) com broca esférica de aço (KG Sorensen, Barueri, São Paulo, Brasil), de diâmetro compatível com o tamanho da cavidade, sendo que as brocas foram trocadas após quatro preparos cavitários. O critério clínico para o limite da remoção do tecido cariado foi o utilizado em estudos prévios, com a completa remoção da dentina amolecida, deixando a dentina clara e dura ou a dentina escura que é sentida como firme (“couro duro”) quando testada com uma sonda exploradora^{18,23-24}.

Na seqüência, os 66 espécimes foram analisados novamente no microscópio confocal (Figura 1B).

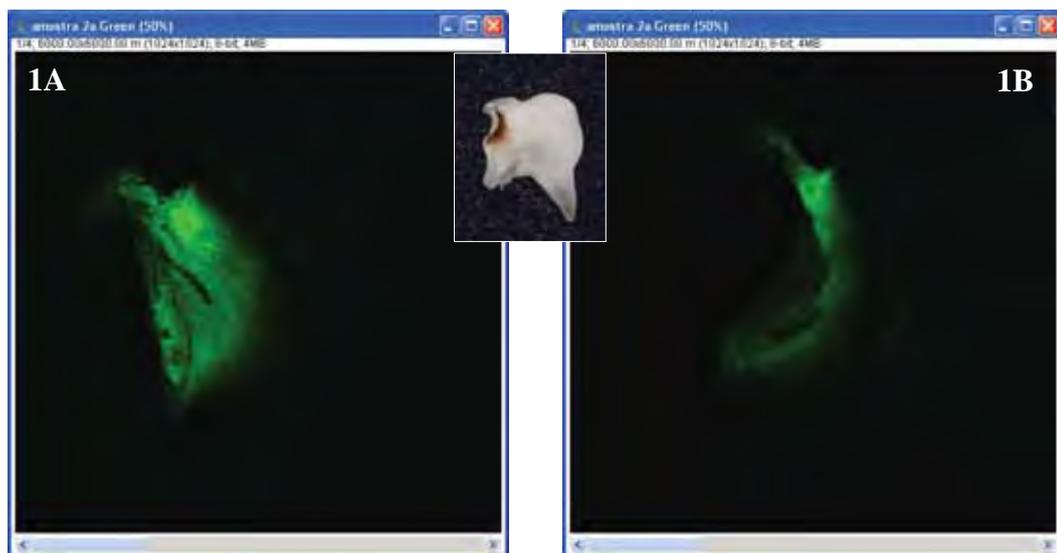


FIGURA 1 - IMAGENS OBTIDAS NO MICROSCÓPIO CONFOCAL ANTES (A) E APÓS (B) A REMOÇÃO DO TECIDO CARIADO.

As áreas das imagens antes e após a remoção foram calculadas em mm^2 utilizando o software “Image J” e as diferenças obtidas, convertidas em porcentagem, representou a quantidade de tecido cariado removido (Figura 2). Aos dados obtidos foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis ao nível de significância de 5%.

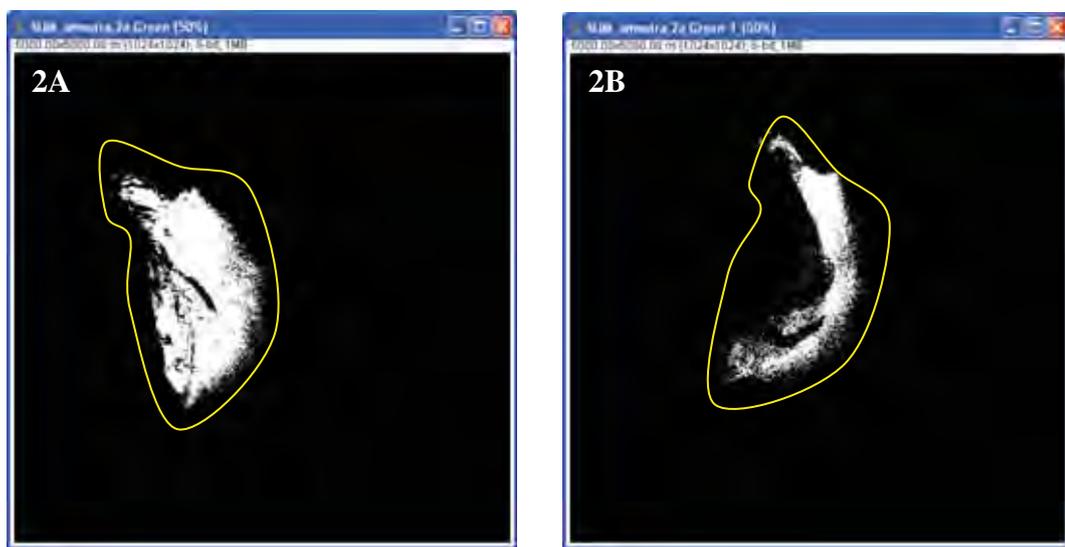


FIGURA 2 - ANÁLISE DAS IMAGENS NO SOFTWARE “IMAGE J” ANTES (A) E APÓS (B) A REMOÇÃO DO TECIDO CARIADO.

Espécimes representativos de cada grupo foram desmineralizados, desidratados em soluções crescentes de etanol, incluídos em parafina e seccionados em cortes histológicos de $6\mu\text{m}$ ao longo eixo do dente. As lâminas foram coradas com Hematoxilina e Eosina (H/E) e Brown e Brenn (B/B) para análise em microscópio óptico (Olympus BX51, Japão). As imagens das lâminas foram fotografadas e transferidas para o computador por meio de uma câmera digital (Olympus CAMEDIA C5060, Japão) acoplada ao microscópio.

RESULTADO

Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 2. A análise dos dados evidenciou que a quantidade de tecido cariado removido foi maior no grupo BR, estatisticamente diferente quando comparado com os grupos CS e PC.

Tabela 2 - Porcentagem de tecido cariado removido de acordo com o grupo

Espécime	Grupo CS	Grupo PC	Grupo BR
1	36,53	40,47	88,47
2	34,64	97,28	61,33
3	21,88	52,92	81,51
4	17,48	51,13	51,39
5	35,83	48,01	60,63
6	47,45	21,58	87,09
7	62,25	22,96	49,91
8	49,59	14,77	89,83
9	52,74	43,20	68,56
10	43,25	75,34	57,06
11	50,38	48,67	69,72
12	26,49	37,39	44,13
13	28,70	27,28	81,29
14	59,58	10,92	56,66
15	32,48	28,83	79,19
16	23,23	17,20	56,69
17	32,47	37,89	60,74
18	31,46	74,39	41,83
19	61,08	28,50	73,82
20	26,04	82,10	59,72
21	43,86	15,54	62,65
22	68,00	19,84	76,23
Média/DP	40,25±14,50 ^a	40,74±23,88 ^a	66,29±14,26 ^b

* letras diferentes = diferença estatística

A análise histológica foi realizada sobre a dentina adjacente à cavidade de cárie que se apresentou autofluorescente na microscopia confocal.

Nos espécimes do grupo CS corados pela H/E, o assoalho da cavidade apresentou-se irregular com túbulos dentinários desorganizados e presença de resíduos (Figura 3). Na coloração B/B observaram-se túbulos dentinários dilatados e preenchidos por bactérias no seu interior (Figura 4).



FIGURA 3 - CORTE HISTOLÓGICO DE DENTE DO GRUPO CS (H/E - 25X).



FIGURA 4 - CORTE HISTOLÓGICO DE DENTE DO GRUPO CS (B/B - 25X).

Na análise dos espécimes do grupo PC na coloração H/E, o assoalho cavitário apresentara os túbulos dentinários preservados e a dentina mais distante tem aspecto de normalidade (Figura 5). Na coloração B/B, observou-se bactérias no interior dos túbulos dentinários (Figura 6).

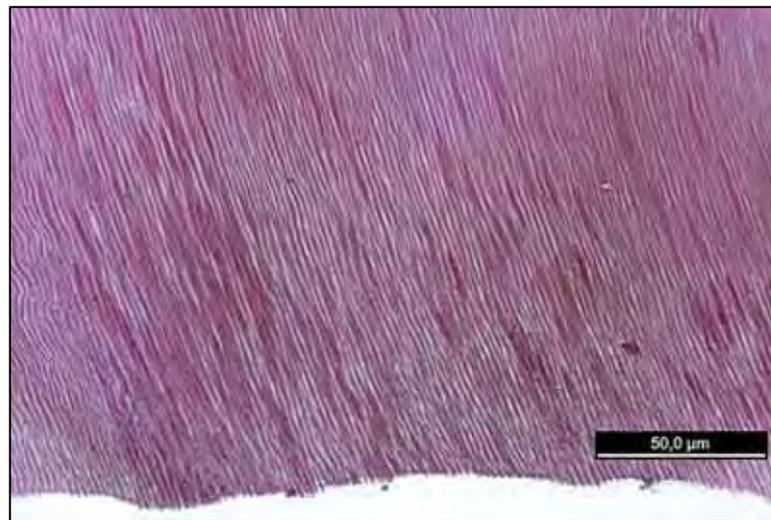


FIGURA 5 - CORTE HISTOLÓGICO DE DENTE DO GRUPO PC (H/E – 25X).

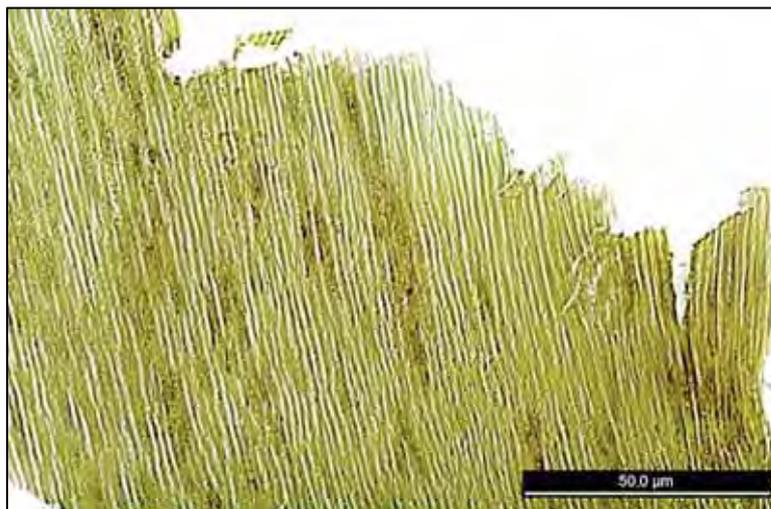


FIGURA 6 - CORTE HISTOLÓGICO DE DENTE DO GRUPO PC (B/B – 25X).

Nos espécimes do grupo BR na coloração H/E, o contorno da cavidade apresentou-se mais regular, sem fragmentos, nem resíduos no assoalho cavitário e com prolongamentos odontoblásticos cortados (Figura 7). As paredes proximais da cavidade estavam planas e sem irregularidades e os túbulos dentinários dilatados e com bactérias no seu interior (Figura 8).

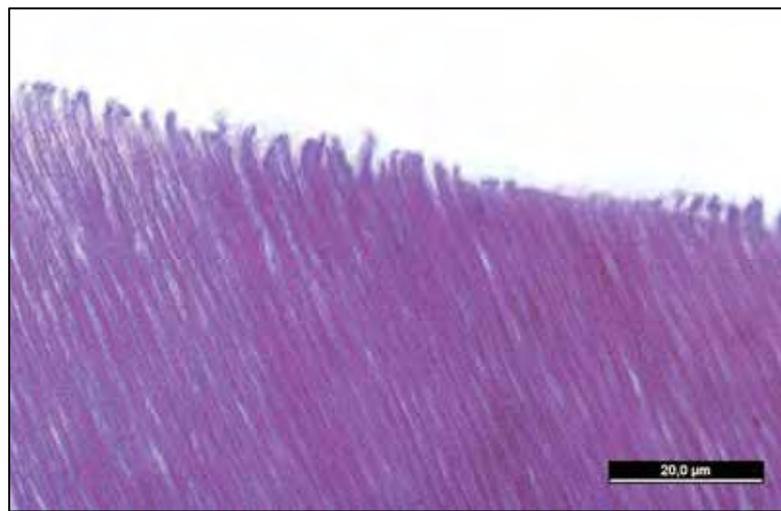


FIGURA 7 - CORTE HISTOLÓGICO DE DENTE DO GRUPO BR (H/E – 40X).



FIGURA 8 - CORTE HISTOLÓGICO DE DENTE DO GRUPO BR (B/B – 12,5X).

DISCUSSÃO

Tradicionalmente a remoção do tecido cariado tem sido realizada com métodos exclusivamente mecânicos, que embora sejam efetivos, são geralmente associados à dor e desconforto¹⁰. A broca remove facilmente o tecido cariado alcançando rapidamente os túbulos dentinários, que por meio da estimulação dos processos odontoblásticos pode provocar dor²².

Para minimizar os efeitos indesejáveis da remoção do tecido cariado com instrumentos rotatórios foram desenvolvidos métodos alternativos que reforçam as características conservadoras da Odontologia moderna^{4,30}, com destaque para a remoção químico-mecânica do tecido irreversivelmente comprometido pelo processo carioso^{8,22}.

O mecanismo de ação dos produtos disponíveis no mercado para remoção químico-mecânica do tecido cariado, o CarisolvTM e o Papacárie[®], baseia-se em seus componentes ativos, hipoclorito de sódio e papaína, respectivamente. Estes são agentes proteolíticos, capazes de dissolver o material orgânico da dentina desorganizada previamente exposta pela ação bacteriana (dentina infectada), facilitando sua remoção e preservando o tecido subjacente remineralizável (dentina afetada)^{4,10}. Esta ação seletiva é explicada pela ausência de uma antiprotease plasmática no tecido infectado, a alfa 1-antitripsina, presente nos tecidos sadios e que impede a ação proteolítica⁹⁻¹⁰.

O parâmetro mais utilizado pelos cirurgiões-dentistas para identificação da dentina infectada é a cor, dureza e textura do tecido cariado, critérios subjetivos e que dependem da percepção e experiência do profissional^{4,12,18,20}.

No entanto, a autofluorescência deste tecido pelo microscópio confocal se mostrou um método confiável para validação da presença de tecido cariado^{5-6,14}. Assim, optamos por este método de análise uma vez que oferece a possibilidade de delimitar a lesão de cárie de dentina em uma alta resolução sem a aplicação de corantes, o que poderia gerar tendências para a decisão do operador durante a remoção do tecido cariado^{5,12,29}.

Segundo Banerjee et al.³ (2004), a desmineralização do processo cariioso expõe matriz dentinária e a interação desta matriz com a bactéria pode gerar o cromóforo responsável pelo sinal de autofluorescência. Embora a dentina afetada também seja acometida pela ação de bactérias, nesta ocorrem apenas mudanças estruturais inorgânicas (desmineralização), não havendo a interação proteolítica bacteriana dentro da matriz, o que resulta em ausência de sinal de autofluorescência nesta camada⁶.

Neste estudo foram utilizadas lesões de cárie natural, fato que não permitiu a padronização de todas as variáveis de interferência tais como: idade do paciente, forma, tamanho e estágio da atividade da lesão. No entanto, as características das lesões presentes nos dentes selecionados são as que encontramos com maior frequência na clínica odontopediátrica.

A comparação das áreas das imagens antes e após a remoção do tecido cariado evidenciou que a broca (grupo BR) removeu em média 20% mais tecido

cariado do que os métodos químicos. Nossos resultados demonstraram que a broca é o método mais invasivo, sendo o grupo que apresentou menor quantidade de tecido cariado remanescente, concordando com o trabalho de Celiberti et al.¹² (2006), embora seja considerado um método não conservador⁴.

Apesar da extensa remoção realizada pela broca, foi possível identificar tecido cariado remanescente em todos os espécimes. Este fato não corrobora com os achados de Celiberti et al.¹², que consideraram os preparos realizados pela broca sobre extensões. Deve-se ressaltar que no referido estudo a área do tecido cariado removido foi calculada em uma sobreposição de imagens obtidas em microscopia confocal e óptica, ao passo que em nosso estudo as medidas foram realizadas diretamente no microscópio confocal. É importante ressaltar ainda que a determinação da quantidade de tecido cariado a ser removido é determinada por critérios subjetivos que dependem da experiência e habilidade do operador.

A presença de microrganismos na dentina remanescente antes de ser o resultado da ineficácia do método de remoção da dentina cariada, pode estar relacionada com o padrão variável da penetração bacteriana durante o processo carioso²³. Trowbridge²⁶ enfatiza que a análise histológica com frequência mostra bactérias profundamente situadas na dentina sadia, provocando o alargamento de um único túbulo.

No processo de cárie, a morfologia da dentina composta por canalículos dentinários favorece a penetração de microrganismos, que ocorre antes da destruição da matriz dentinária²². Embora no presente estudo a análise histológica tenha ilustrado a presença de microrganismos em todos os grupos, a dentina

remanescente contaminada representa a dentina afetada, pois não apresenta grandes alterações estruturais^{6,16} e segundo Azrak et al.¹ (2004), possui um número significativamente menor de colônias de bactérias quando comparada com a dentina infectada.

Após a remoção químico-mecânica do tecido cariado com CarisolvTM (grupo CS), o assoalho cavitário apresentou-se irregular, fato também observado por Yip et al.³¹ (1999) e Peric, Markovic²³ (2007). Quando comparado com o método tradicional, houve maior preservação de estrutura dentinária nos espécimes tratados com Papacárie[®] (grupo PC) corroborando com os achados de Jawa et al.¹⁷ (2010).

CONCLUSÃO

Baseado nos resultados obtidos pode-se concluir que o método químico-mecânico removeu menos dentina cariada que o método mecânico.

REFERÊNCIAS

1. Azrak B, Callaway A, Grundheber A, Stender E, Willershausen B. Comparison of the efficacy of chemomechanical caries removal (Carisolv) with that of conventional excavation in reducing the cariogenic flora. *Int J Paediatr Dent.* 2004; 14: 182-91.

2. Banerjee A, Boyde A. Autofluorescence and mineral content of carious dentine: scanning optical and backscattered electron microscopic studies. *Caries Res.* 1998; 32: 219-26.
3. Banerjee A, Gilmour A, Kidd E, Watson T. Relationship between *S. mutans* and the autofluorescence of carious dentin. *Am J Dent.* 2004; 17: 233-6.
4. Banerjee A, Kidd EA, Watson TF. In vitro evaluation of five alternative methods of carious dentine excavation. *Caries Res.* 2000; 34: 144-50.
5. Banerjee A, Kidd EA, Watson TF. In vitro validation of carious dentine removed using different excavation criteria. *Am J Dent.* 2003; 16: 228-30.
6. Banerjee A, Sheriff M, Kidd EA, Watson TF. A confocal microscopic study relating the autofluorescence of carious dentine to its microhardness. *Br Dent J.* 1999; 187: 206-10.
7. Banerjee A, Watson TF, Kidd EA. Dentine caries: take it or leave it? *Dent Update.* 2000; 27: 272-6.
8. Beeley JA, Yip HK, Stevenson AG. Chemochemical caries removal: a review of the techniques and latest developments. *Br Dent J.* 2000; 188: 427-30.
9. Bertassoni LE, Marshall GW. Papain-gel degrades intact nonmineralized type I collagen fibrils. *Scanning.* 2009; 31: 253-8.
10. Bussadori SK, Castro LC, Galvão AC. Papain gel: a new chemo-mechanical caries removal agent. *J Clin Pediatr Dent.* 2005; 30: 115-9.
11. Cederlund A, Lindskog S, Blomlöf J. Efficacy of Carisolv-assisted caries excavation. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1999; 19: 464-9.

12. Celiberti P, Francescut P, Lussi A. Performance of four dentine excavation methods in deciduous teeth. *Caries Res.* 2006; 40: 117-23.
13. Flückiger L, Waltimo T, Stich H, Lussi A. Comparison of chemomechanical caries removal using Carisolv or conventional hand excavation in deciduous teeth in vitro. *J Dent.* 2005; 33: 87-90.
14. Foster LV. Autofluorescence – a potential method for the in-vitro validation of carious dentine. *Br Dent J.* 1999; 187: 203.
15. Fusayama T. Two layers of carious dentin: diagnosis and treatment. *Oper Dent.* 1979; 4: 63-70.
16. Iost HI, Costa JH, Rodrigues HH, Rocca RA. Dureza e contaminação bacteriana da dentina após remoção da lesão de cárie. *Rev ABO Nac.* 1995; 3: 25-9.
17. Jawa D, Singh S, Somani R, Jaidka S, Sirkar K, Jaidka R. Comparative evaluation of the efficacy of chemomechanical caries removal agent (Papacarie) and conventional method of caries removal: an in vitro study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* 2010; 28: 73-7.
18. Kidd EA, Ricketts DN, Beighton D. Criteria for caries removal at the enamel-dentine junction: a clinical and microbiological study. *Br Dent J.* 1996; 180: 287-91.
19. Kuboki Y, Ohgushi K, Fusayama T. Collagen biochemistry of the two layers of carious dentin. *J Dent Res.* 1977; 56: 1233-7.

20. Maltz M, Oliveira EF, Fontanella V, Bianchi R. A clinical, microbiologic and radiographic study of deep caries lesions after incomplete caries removal. *Quintessence Int.* 2002; 33: 151-9.
21. Maragakis GM, Hahn P, Hellwig E. Chemomechanical caries removal: a comprehensive review of the literature. *Int Dent J.* 2001; 51: 291-9.
22. Mendonça SMS, Moreira NA, Magalhães CS. Dentina cariada: uma revisão dos métodos e critérios clínicos empregados em sua remoção. *JBD: J Bras Dent Estet.* 2002; 1: 166-74.
23. Peric T, Markovic D. In vitro effectiveness of a chemo-mechanical method for caries removal. *Eur J Paediatr Dent.* 2007; 8: 61-7.
24. Splieth C, Rosin M, Gellissen B. Determination of residual dentine caries after conventional mechanical and chemomechanical caries removal with Carisolv. *Clin Oral Invest.* 2001; 5: 250-3.
25. Strawn SE, White JM, Marshall GW, Gee L, Goodis HE, Marshall SJ. Spectroscopic changes in human dentine exposed to various storage solutions-short term. *J Dent.* 1996; 24: 417-23.
26. Trowbridge HO. Pathogenesis of pulpitis from dental caries. *J Endod.* 1981; 7: 52-60.
27. Van der Veen MH, Bosch JJ. The influence of mineral loss on the auto-fluorescent behaviour of in vitro demineralised dentine. *Caries Res.* 1996; 30: 93-9.

-
28. Watson TF. Applications of confocal scanning optical microscopy to dentistry. *Br Dent J.* 1991; 171: 287-91.
 29. Watson TF, Pilecki P, Cook RJ, Azzopardi A, Paolinelis G, Banerjee A, et al. Operative dentistry and the abuse of dental hard tissues: confocal microscopical imaging of cutting. *Oper Dent.* 2008; 33: 215-24.
 30. Yazici AR, Atilla P, Ozgünaltay G, Müftüoğlu S. In vitro comparison of the efficacy of Carisolv and conventional rotary instrument in caries removal. *J Oral Rehabil.* 2003; 30: 1177-82.
 31. Yip HK, Beeley JA, Stevenson AG. Mineral content of the dentine remaining after chemomechanical caries removal. *Caries Res.* 1995; 29: 111-7.
 32. Zinck JH, McInnes-Ledoux P, Capdeboscq C, Weinberg R. Chemomechanical caries removal – a clinical evaluation. *J Oral Rehabil.* 1988; 15: 23-33.

**MORFOLOGIA E CONTEÚDO MINERAL DA DENTINA
REMANESCENTE APÓS REMOÇÃO DO TECIDO CARIADO**

Capítulo 2

Resumo

O conteúdo mineral e a morfologia da dentina remanescente foram analisados após a remoção do tecido cariado com método químico-mecânico e com a broca. Vinte e quatro molares decíduos cariados extraídos foram seccionados no centro da lesão de cárie, no sentido méso-distal, em duas metades semelhantes, gerando 48 espécimes, que foram divididos em 3 grupos de acordo com o método utilizado para remoção do tecido cariado: grupo CS (CarisolvTM), grupo PC (Papacárie[®]) e grupo BR (Broca). Após a remoção do tecido cariado os espécimes foram analisados em microscopia eletrônica de varredura com espectrometria de energia dispersiva de raio-X (MEV/EDS) para quantificar os elementos Ca e P. A lama dentinária e os túbulos dentinários foram analisados e graduados em escores de 0 a 3. A análise de variância (ANOVA) e o teste de Tukey ao nível de significância de 5% não mostraram diferença estatisticamente significativa na porcentagem de P (CS - $15,91 \pm 0,70$ / PC - $15,64 \pm 1,62$ / BR - $17,53 \pm 1,32$) e na proporção de Ca/P (CS - $1,83 \pm 0,16$ / PC - $1,82 \pm 0,17$ / BR - $1,91 \pm 0,80$). A porcentagem de Ca foi estatisticamente maior no grupo BR (CS - $29,05 \pm 2,70$ / PC - $28,58 \pm 4,34$ / BR - $33,56 \pm 3,71$). O teste de Kruskal-Wallis não mostrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos CS e PC que apresentaram túbulos dentinários abertos e ausência de lama dentinária. Entretanto, o grupo BR foi estatisticamente diferente, apresentando dentina amorfa, lama dentinária e túbulos dentinários ocluídos. Conclui-se que na remoção químico-mecânica do tecido cariado, o tecido remanescente apresentou uma redução no conteúdo de cálcio, porém este método produziu uma superfície dentinária mais irregular e livre de lama dentinária.

Palavras-chave: Cárie dentária; dentina; dente decíduo; microscopia eletrônica de varredura.

Abstract

The mineral content and the morphology of dentine were analyzed after carious tissue removal using chemomechanical methods and low speed conventional bur. Twenty-four extracted carious deciduous molars were sectioned mesiodistally through the center of the carious lesion into two similar halves and divided into 3 groups, according to carious tissue removal method: CS group (CarisolvTM), PC group (Papacárie[®]) and CB group (conventional bur). The energy-dispersive X-ray method and scanning electron microscopic (SEM/EDX) were used to quantify calcium and phosphorus ion content. The smear layer and dentinal tubules were analyzed and graded using score from 0 to 3. Analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test at 5% significant level showed no significant differences in the percentage of P (CS $-15,91 \pm 0,70$ / PC $- 15,64 \pm 1,62$ / CB $- 17,53 \pm 1,32$) and the Ca/P weight ratio (CS $- 1,83 \pm 0,16$ / PC $- 1,82 \pm 0,17$ / CB $- 1,91 \pm 0,80$). The Ca percentage was statistically higher in the CB group (CS $- 29,05 \pm 2,70$ / PC $- 28,58 \pm 4,34$ / CB $- 33,56 \pm 3,71$). Kruskal-Wallis test showed no significant differences between CS and PC groups that presented opened dentinal tubules and no smear layer. Nevertheless, CB group was statistically different presenting amorphous dentine, debris-like smear layer and occluded dentine tubules. The chemomechanical method produced a irregular surface with smear layer free dentine and decreased Ca ion content.

Keywords: Dental caries; dentine; deciduous tooth; Scanning Electron Microscopy.

INTRODUÇÃO

A remoção do tecido cariado é uma fase crítica no preparo cavitário, pois implica na formação da lama dentinária, que além de ocluir os túbulos dentinários, abriga bactérias e resulta em uma superfície com características pouco adequadas para a adesão dos materiais restauradores resinosos^{7,12-13}.

Tradicionalmente, a remoção do tecido cariado é realizada com o uso de brocas adaptadas a motores de baixa e/ou alta rotação. O método mecânico convencional freqüentemente está associado ao ruído, aquecimento, vibração, desconforto e pode contribuir para uma sobre extensão do preparo cavitário^{6,12}.

Desde a década de 70, o método de remoção químico-mecânica do tecido cariado tem sido estudado como uma proposta alternativa^{8,19,26,39-40}. Este tratamento consiste na aplicação de um produto sobre o tecido cariado, que promove o rompimento das fibrilas de colágeno desnaturadas facilitando sua remoção sem alterar a dentina sadia^{19,28}.

A dentina apresenta o cálcio e o fósforo como elementos inorgânicos mais significativos, havendo uma proporção de Ca/P de aproximadamente 2:1^{7,38}. A dentina cariada, por sofrer um processo de desmineralização, apresenta uma considerável redução dos seus componentes minerais. Clinicamente, após a remoção do tecido cariado, não é possível confirmar o grau de mineralização da superfície dentinária remanescente, sendo que o nível de cálcio pode ser utilizado como indicador de mineralização^{2,4,15,38}.

O conteúdo mineral in vitro dos tecidos dentários pode ser analisado por diferentes técnicas: micro Raman spectroscopy^{3,31,33}, backscattered electron-

scanning electron (BSE-SEM)^{1-2,38}, microsonda eletrônica (EPMA)³⁸ e microscopia eletrônica de varredura com espectrometria de energia dispersiva de raio-X (MEV-EDS)^{22-23,30,33}. Dentre estas técnicas destaca-se a EDS, por ser um método rápido e não destrutivo.

A EDS utiliza raios-X característicos, emitidos por uma região da amostra, após bombardeamento por um feixe de elétrons que pode deslocar elétrons de camadas eletrônicas internas dos átomos da amostra. O átomo atingido (átomo ionizado) tende a voltar para o estado fundamental e passa por uma transição. Este estado de transição gera excesso de energia que é acompanhada pela produção de raios-X característicos que permitem a identificação dos íons presentes³⁰.

Assim sendo, o objetivo deste estudo foi avaliar a morfologia estrutural e a quantidade de Ca e P da dentina remanescente após a remoção do tecido cariado utilizando o método químico-mecânico e a broca.

MATERIAL E MÉTODO

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP-SP sob o protocolo nº 05/09 (Anexo 1).

Após obtenção do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 2), foram coletados 24 molares decíduos cujos critérios para inclusão na amostra foram: cavidade de cárie em dentina nas faces oclusal e/ou proximal e extração

indicada por estar em processo de esfoliação e seus sucessores permanentes apresentarem 2/3 de formação radicular ou por motivos ortodônticos . Os critérios de não inclusão foram: presença de reabsorção interna da câmara coronária e dente com lesão de cárie que havia atingido a polpa.

Após a exodontia, os dentes foram limpos com soro fisiológico para remoção dos resíduos do tecido gengival, colocados em recipientes individuais e imediatamente armazenados a -20°C , sem adição de solução para evitar possíveis alterações químicas, físicas ou ópticas na dentina^{16,35}.

Para o descongelamento, os dentes foram mantidos em temperatura ambiente (25°C) por pelo menos uma hora. Para evitar a desidratação e manter o ambiente úmido, uma gaze umedecida com água destilada foi colocada no interior de cada recipiente que abrigava os dentes¹¹.

Os 24 dentes foram seccionados no centro da lesão de cárie, no sentido mesio-distal, utilizando-se a máquina metalográfica ISOMET 1000 (ISOMET Buehler Ltd., Lake Bluf, Il, EUA), gerando dois espécimes por dente, num total de 48, que foram distribuídos aleatoriamente entre 3 grupos ($n = 16$). O tecido cariado foi removido utilizando o método estabelecido para cada grupo, tendo sido realizado por um único operador (Tabela 1).

Tabela 1 - Divisão dos grupos experimentais, segundo o método de remoção do tecido cariado

Grupos experimentais	Métodos de remoção
Grupo CS	Remoção químico-mecânica com Carisolv™
Grupo PC	Remoção químico-mecânica com Papacárie®
Grupo BR	Broca esférica de aço no baixa rotação

No grupo CS, o CarisolvTM (MediTeam AB, Sävedalen, Sweden) foi preparado de acordo com as instruções do fabricante e depositado na cavidade de cárie. Após 40 segundos, a superfície amolecida foi removida com cureta específica nº 3 (Mediteam, Sävedalen, Sweden). A cavidade foi lavada, seca e o procedimento repetido uma vez.

No grupo PC, o Papacárie[®] (Fórmula & Ação, São Paulo, Brasil) foi utilizado de acordo com as instruções do fabricante, depositando-se o gel na dentina cariada por 40 segundos e em seguida, foi realizada a remoção do tecido amolecido com cureta sem corte (S.S. White, Rio de Janeiro, Brasil). Após lavagem e secagem da cavidade, o gel foi reaplicado uma vez e o procedimento repetido.

Nos espécimes do grupo BR foi utilizado motor de baixa-rotação (Kavo do Brasil Ind. Com. Ltda, Joinville, Santa Catarina, Brasil) com broca esférica de aço (KG Sorensen, Barueri, São Paulo, Brasil), de diâmetro compatível com o tamanho da cavidade, sendo que as brocas foram trocadas após quatro preparos cavitários. O critério clínico para o limite da remoção do tecido cariado foi o utilizado em estudos prévios, com a completa remoção da dentina amolecida, deixando a dentina clara e dura ou a dentina escura que é sentida como firme (“couro duro”) quando testada com uma sonda exploradora^{24,32,34}.

Finalizada a remoção do tecido cariado, todos os espécimes foram fixados com solução de formol a 10% por 48 horas, e então imediatamente imersos em solução tampão de fosfato (pH 7,3) e lavados em água destilada. As amostras foram desidratadas em soluções crescentes de álcool (70, 80, 90 e 100%) por 24

horas em cada solução e secos ao ponto crítico (Critical Point Dryer 030 Balzers). Vinte e quatro espécimes foram metalizados em ouro para análise em microscopia eletrônica de varredura (Philips, modelo XL30 FEG). Imagens obtidas com aumento de 1000X foram codificadas para evitar a identificação dos grupos e examinadas por dois examinadores calibrados por duas vezes em intervalo de uma semana. Um gabarito com imagens representativas de cada escore foi oferecido aos avaliadores (Figuras 1,2,3 e 4) que atribuíram os escores (0 a 3) para avaliação da lama dentinária (adaptado de Menezes et al.²⁹).

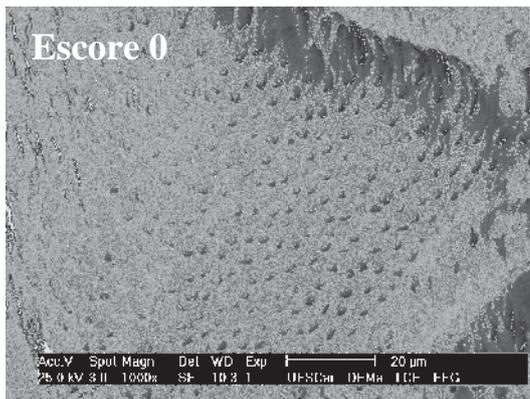


FIGURA 1 - NENHUMA LAMA DENTINÁRIA E TÚBULOS ABERTOS.

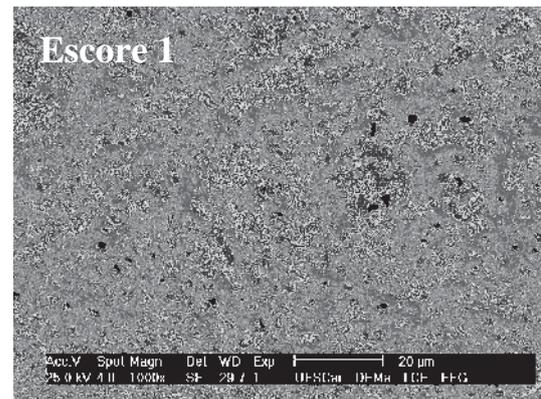


FIGURA 2 - POUCA LAMA DENTINÁRIA E TÚBULOS ABERTOS.

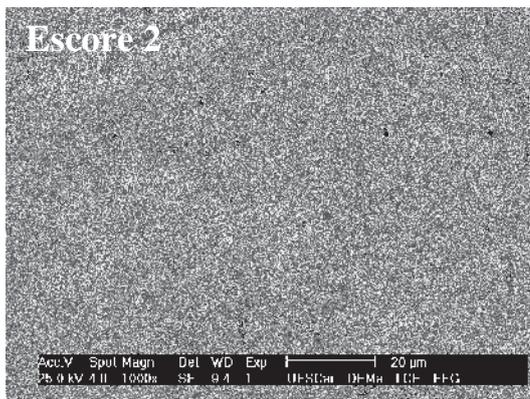


FIGURA 3 - LAMA DENTINÁRIA ESPESSA COM MUITOS TÚBULOS OBSTRUÍDOS.

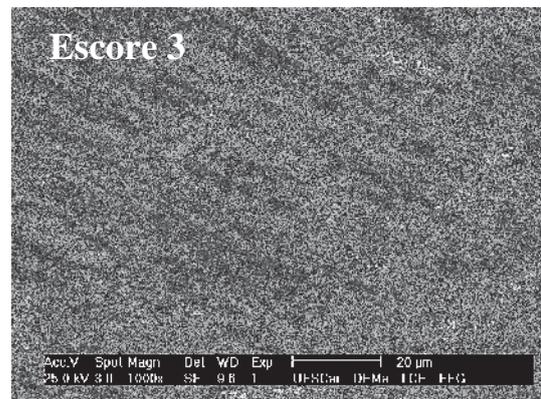


FIGURA 4 - LAMA DENTINÁRIA ESPESSA COM TODOS TÚBULOS OBSTRUÍDOS.

A concordância intra e inter-examinadores foram determinadas pelo coeficiente de correlação de Spearman. Os resultados obtidos foram analisados pelo teste não paramétrico Kruskal-Wallis ao nível de significância de 5%, complementado pelo teste de comparação múltipla de Tukey.

Os outros 24 espécimes foram cobertos com carbono e analisados em microscopia eletrônica de varredura com espectrometria de energia dispersiva de raio-X (MEV-EDS) (Philips-FEG SEM, Philips Electron Optics, Netherlands modelo XL30 FEG) para a quantificação em porcentagem dos elementos Ca e P pelo software ISIS. As medidas foram realizadas na dentina remanescente correspondente a parede pulpar da cavidade e na região correspondente na face oposta para a quantificação dos minerais na porção sadia do dente. Os resultados obtidos foram analisados pelo teste t de Student ao nível de significância de 5%.

RESULTADO

Os resultados das características da superfície dentinária após a remoção do tecido cariado, representado por escores está apresentado na Tabela 2. A concordância intra e inter-examinadores foi de 0.90 e 0.85 respectivamente.

Tabela 2 - Distribuição dos espécimes nos grupos de acordo com o escore

Escores \ Grupos	CS	PC	BR	Total
0	1	3	0	4
1	4	4	0	8
2	3	1	3	7
3	0	0	5	5
Total	8	8	8	24

A análise dos dados pela aplicação do teste de Kruskal-Wallis a 5% demonstrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos tratados. O teste de Tukey evidenciou que os grupos CS e PC foram similares e estatisticamente diferentes do grupo BR.

A porcentagem de Ca e P e a relação Ca/P encontrado no tecido dentinário remanescente estão apresentados na Tabela 3. A aplicação da análise de variância para avaliar os métodos de remoção de cárie e o teste t pareado para comparar a parede pulpar da cavidade tratada com a mesma região do seu respectivo controle demonstrou diferença significativa na quantidade de cálcio, fósforo e na proporção de cálcio e fósforo.

Tabela 3 - Porcentagem de minerais presentes na dentina em cada grupo

Grupos Minerais	CS		PC		BR	
	Tratado	Sadio	Tratado	Sadio	Tratado	Sadio
Ca	29,05±2,70 ^a	36,43±3,82 ^b	28,58±4,34 ^a	39,04±3,23 ^b	33,56±3,71 ^a	37,75±2,74 ^b
P	15,91±0,70 ^a	17,92±0,89 ^b	15,64±1,62 ^a	18,69±0,43 ^b	17,53±1,32 ^a	18,17±0,63 ^b
Ca/P	1,83±0,16 ^a	2,03±0,13 ^b	1,82±0,17 ^a	2,09±0,17 ^b	1,91±0,80 ^a	2,07±0,93 ^b

* letras diferentes = diferença estatística

Nos espécimes tratados com o método de remoção químico-mecânica, os níveis de cálcio e fósforo na dentina remanescente foram frequentemente menores que na camada da dentina remanescente em que o tecido cariado foi removido com a broca. No entanto, apenas a porcentagem de cálcio na dentina remanescente do grupo BR foi estatisticamente maior que nos grupos CS e PC.

DISCUSSÃO

Após a remoção do tecido cariado com a broca, na análise em microscopia eletrônica de varredura, observou-se que a superfície dentinária estava plana, coberta por lama dentinária e com túbulos dentinários obstruídos^{5,17,23,32,34}, características que podem interferir com a adesão, molhamento e penetração dos materiais adesivos^{12,14}.

Quando o tecido cariado foi removido com auxílio do Carisolv™ (grupo CS), a superfície dentinária apresentou-se irregular, porosa e com a maioria dos túbulos dentinários abertos, características também reportadas por outros autores^{5,21-22,32,34}. A lama dentinária estava ausente ou em pequena quantidade, provavelmente como resultado da técnica de remoção, sem os efeitos térmicos e mecânicos, do alto pH do gel^{5,17} e da ação proteolítica do NaOCl²⁰. Entretanto Cederlund et al.¹⁰ quando utilizaram o Carisolv™ para o tratamento de dentes permanentes cariados, encontraram uma superfície lisa, coberta com lama dentinária e a maioria dos túbulos dentinários ocluídos.

Hosoya et al.²¹ reportaram que o Carisolv™ é mais efetivo na remoção da lama dentinária em dentes decíduos, fato que pode ser atribuído às diferenças de mineralização e micromorfologia dentinária (concentração e diâmetro dos túbulos dentinários) entre os dentes decíduos e permanentes.

No grupo PC houve presença mínima de lama dentinária e a maioria dos túbulos estavam abertos, confirmando os achados de Cajazeira et al.⁹ (2007). A cloramina, presente na composição do Papacárie®, pode ter contribuído para a

dissolução da lama dentinária expondo a entrada dos túbulos dentinários³⁶. No entanto, Corrêa et al.¹² (2007) quando analisaram incisivos decíduos cariados tratados com Papacárie[®], observaram dois padrões de dentina remanescente, uma superfície regular, com fissuras, pouca lama dentinária e túbulos abertos em algumas regiões e também uma superfície irregular e rugosa coberta por lama dentinária obliterando os túbulos. A superfície dentinária com muitas irregularidades resultante da remoção do tecido cariado pelo método químico-mecânico^{9,22,32,34} é considerada ideal para os materiais restauradores adesivos¹², possivelmente sem a necessidade de condicionamento ácido³⁷.

Para avaliar o conteúdo mineral da dentina remanescente foi utilizado a EDS por ser uma técnica simples, rápida e não destrutiva. A dentina sadia de cada dente foi utilizada como controle, para evitar interferências como idade do dente e estágio da atividade da lesão.

Na dentina hígida, a porcentagem de Ca ($37,32 \pm 3,25$) e P ($18,25 \pm 0,79$) encontradas foram maiores que as reportadas por Haataja et al.¹⁸ (Ca - 24,8% e P - 13,3%) e Lakomaa, Rytomaa²⁷ (Ca - 29,1% e P - 14,1%).

O conteúdo mineral da dentina remanescente, independente do método de remoção do tecido cariado utilizado, foi estatisticamente menor que na dentina sadia, demonstrando que esta dentina continua desmineralizada³⁸. Entretanto, Hossain et al.²² (2003), quando utilizaram o Carisolv[™] para remoção do tecido cariado em dentes permanentes não encontraram diferença estatística na quantidade de cálcio e fósforo entre as cavidades tratadas com Carisolv[™] e a dentina sadia. Essa diferença encontrada no nosso estudo pode ser explicada em

função da quantidade de tecido cariado removido, uma vez que os critérios de julgamento das características do tecido remanescente são subjetivos e das características próprias da dentina do dente decíduo como: menor número de túbulos dentinários, com menor diâmetro e conseqüentemente há menor quantidade de dentina peritubular (que forma a parede do canalículo), a qual é mais mineralizada que a dentina intercanalicular e no processo de cárie, a dentina peritubular é perdida^{7,25}.

O menor conteúdo de Ca da dentina após o tratamento químico-mecânico quando comparado ao convencional (broca) pode ser atribuído ao fato do método químico-mecânico preservar maior quantidade de dentina desmineralizada. Entretanto, esta diferença não foi encontrada por Arvidsson et al.³ (2002) e Pai et al.³¹ (2010), quando analisaram quimicamente a dentina cariada após o tratamento com o CarisolvTM e a broca.

CONCLUSÃO

Baseado nos resultados deste trabalho pode-se concluir que:

- A morfologia da superfície dentinária remanescente após a remoção químico-mecânica do tecido cariado apresentou-se irregular, com presença mínima ou ausência de lama dentinária e túbulos dentinários abertos.
- O conteúdo de cálcio presente no tecido dentinário remanescente após a remoção químico-mecânica do tecido cariado, independentemente do material utilizado, foi menor do que comparado com a broca.

REFERÊNCIAS

1. Angker L, Nockolds C, Swain MV, Kilpatrick N. Correlating the mechanical properties to the mineral content of carious dentine – a comparative study using an ultra-micro indentation system (UMIS) and SEM-BSE signals. *Arch Oral Biol.* 2004; 49: 369-78.
2. Angker L, Nockolds C, Swain MV, Kilpatrick N. Quantitative analysis of the mineral content of sound and carious primary dentine using BSE imaging. *Arch Oral Biol.* 2004; 49: 99-107.
3. Arvidsson A, Liedberg B, Möller K, Lyvén B, Sellén A, Wennerberg A. Chemical and topographical analyses of dentine surfaces after Carisolv treatment. *J Dent.* 2002; 30: 67-75.
4. Banerjee A, Boyde A. Autofluorescence and mineral content of carious dentine: scanning optical and backscattered electron microscopic studies. *Caries Res.* 1998; 32: 219-26.
5. Banerjee A, Kidd EA, Watson TF. Scanning electron microscopic observations of human dentine after mechanical caries excavation. *J Dent.* 2000; 28: 179-86.
6. Beeley JA, Yip HK, Stevenson AG. Chemochemical caries removal: a review of the techniques and latest developments. *Br Dent J.* 2000; 188: 427-30.
7. Berkovitz BKB, Holland GR, Moxham BJ. Dentina. In: Berkovitz BKB, Holland GR, Moxham BJ. *Anatomia, Embriologia e Histologia Bucal.* São Paulo: Artmed; 2004. p.125-48.

8. Bussadori SK, Castro LC, Galvão AC. Papain gel: a new chemo-mechanical caries removal agent. *J Clin Pediatr Dent.* 2005; 30: 115-9.
9. Cajazeira MRR, Santos MEO. Análise ultraestrutural da superfície dentinária de molares decíduos submetida a diferentes métodos usados na remoção do tecido cariado. *Pesq Bras Odontoped Clin Integr.* 2007; 7: 265-9.
10. Cederlund A, Lindskog S, Blomlöf J. Efficacy of Carisolv-assisted caries excavation. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1999; 19: 464-9.
11. Celiberti P, Francescut P, Lussi A. Performance of four dentine excavation methods in deciduous teeth. *Caries Res.* 2006; 40: 117-23.
12. Corrêa FN, Rodrigues Filho LE, Rodrigues CR. Evaluation of residual dentin after conventional and chemomechanical caries removal using SEM. *J Clin Pediatr Dent.* 2008; 32: 115-20.
13. Eick JD, Gwinnett AJ, Pashley DH, Robinson SJ. Current concepts on adhesion to dentin. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1997; 8: 306-35.
14. Eick JD, Robinson SJ, Cobb CM, Chappell RP, Spencer P. The dentinal surface: its influence on dentinal adhesion. Part II. *Quintessence Int.* 1992; 23: 43-51.
15. Figures KH, Ellis B, Lamb DJ. Fluoride penetration into dentine abutments in vitro. *Caries Res.* 1990; 24: 301-5.
16. Flückiger L, Waltimo T, Stich H, Lussi A. Comparison of chemomechanical caries removal using Carisolv or conventional hand excavation in deciduous teeth in vitro. *J Dent.* 2005; 33: 87-90.

17. Gurbuz T, Yilmaz Y, Sengul F. Performance of laser fluorescence for residual caries detection in primary teeth. *Eur J Dent.* 2008; 2: 176-84.
18. Haataja J, Pohto P, Kleemola-Kujala E, Hansson L. On the macrominerals of deciduous teeth. *Proc Finn Dent Soc.* 1972; 68: 67-72.
19. Habib CM, Kronman J, Goldman M. A chemical evaluation of collagen and hydroxyproline after treatment with GK-101 (N-chloroglycine). *Pharmacol Ther Dent.* 1975; 2: 209-15.
20. Hannig M. Effect of Carisolv solution on sound, demineralized and denatured dentin – an ultrastructural investigation. *Clin Oral Investig.* 1999; 3: 155-9.
21. Hosoya Y, Marshall SJ, Watanabe LG, Marshall GW. Microhardness of carious deciduous dentin. *Oper Dent.* 2000; 25: 81-9.
22. Hossain M, Nakamura Y, Tamaki Y, Yamada Y, Jayawardena JA, Matsumoto K. Dentinal composition and Knoop hardness measurements of cavity floor following carious dentin removal with Carisolv. *Oper Dent.* 2003; 28: 346-51.
23. Hossain M, Nakamura Y, Tamaki Y, Yamada Y, Murakami Y, Matsumoto K. Atomic analysis and knoop hardness measurement of the cavity floor prepared by Er,Cr:YSGG laser irradiation in vitro. *J Oral Rehabil.* 2003; 30: 515-21.
24. Kidd EA, Ricketts DN, Beighton D. Criteria for caries removal at the enamel-dentine junction: a clinical and microbiological study. *Br Dent J.* 1996; 180: 287-91.
25. Koutsi V, Noonan RG, Horner JA, Simpson MD, Matthews WG, Pashley DH. The effect of dentin depth on the permeability and ultrastructure of primary molars. *Pediatr Dent.* 1994; 16: 29-35.

26. Kronman JH, Goldman M, Habib CM, Mengel L. Electron microscopic evaluation of altered collagen structure induced by N-monochloroglycine (GK-101). *J Dent Res.* 1977; 56: 1539-45.
27. Lakomaa EL, Rytömaa I. Mineral composition of enamel and dentin of primary and permanent teeth in Finland. *Scand J Dent Res.* 1977; 85: 89-95.
28. Maragakis GM, Hahn P, Hellwig E. Chemomechanical caries removal: a comprehensive review of the literature. *Int Dent J.* 2001; 51: 291-9.
29. Menezes AC, Zanet CG, Valera MC. Smear layer removal capacity of disinfectant solutions used with and without EDTA for the irrigation of canals: a SEM study. *Pesqui Odontol Bras.* 2003; 17: 349-55.
30. Oliveira MAHM. Comparação dos aspectos morfológicos e químicos de esmalte e dentina de dentes decíduos e permanentes [tese de doutorado]. Ribeirão Preto: Faculdade de Odontologia da USP; 2009.
31. Pai VS, Nadig RR, Jagadeesh TG, Usha G, Karthik J, Sridhara K. Chemical analysis of dentin surfaces after Carisolv treatment. *J Conserv Dent.* 2009; 12: 118-22.
32. Peric T, Markovic D. In vitro effectiveness of a chemo-mechanical method for caries removal. *Eur J Paediatr Dent.* 2007; 8: 61-7.
33. Sakoolnamarka R, Burrow MF, Swain M, Tyas MJ. Microhardness and Ca:P ratio of carious and Carisolv treated caries-affected dentine using an ultra-micro-indentation system and energy dispersive analysis of x-rays – a pilot study. *Aust Dent J.* 2005; 50: 246-50.

34. Splieth C, Rosin M, Gellissen B. Determination of residual dentine caries after conventional mechanical and chemomechanical caries removal with Carisolv. *Clin Oral Investig.* 2001; 5: 250-3.
35. Strawn SE, White JM, Marshall GW, Gee L, Goodis HE, Marshall SJ. Spectroscopic changes in human dentine exposed to various storage solutions- short term. *J Dent.* 1996; 24: 417-23.
36. Tonami K, Araki K, Mataka S, Kurosaki N. Effects of chloramines and sodium hypochlorite on carious dentin. *J Med Dent Sci.* 2003; 50: 139-46.
37. Wennerberg A, Sawase T, Kultje C. The influence of Carisolv on enamel and dentine surface topography. *Eur J Oral Sci.* 1999; 107: 297-306.
38. Yip HK, Beeley JA, Stevenson AG. Mineral content of the dentine remaining after chemomechanical caries removal. *Caries Res.* 1995; 29: 111-7.
39. Yip HK, Stevenson AG, Beeley JA. Chemomechanical removal of dental caries in deciduous teeth: further studies in vitro. *Br Dent J.* 1999; 186: 179-82.
40. Zinch JH, McInnes-Ledoux P, Capdeboscq C, Weinberg R. Chemomechanical caries removal – a clinical evaluation. *J Oral Rehabil.* 1988; 15: 23-33.

**MICRODUREZA DA DENTINA REMANESCENTE
APÓS REMOÇÃO DO TECIDO CARIADO**

Capítulo 3

Resumo

A microdureza da dentina remanescente foi analisada após a remoção do tecido cariado com o método químico-mecânico e com a broca convencional. Doze molares decíduos cariados extraídos foram seccionados no centro da lesão de cárie, no sentido mesio-distal, em duas metades semelhantes, gerando 24 espécimes, que foram divididos em 3 grupos (n = 8) de acordo com o método utilizado para remoção do tecido cariado: grupo CS (CarisolvTM), grupo PC (Papacárie[®]) e grupo BR (Broca). Os espécimes foram incluídos e a microdureza Knoop foi medida na dentina remanescente a partir do assoalho cavitário e na dentina sadia do lado oposto a partir da junção amelo-dentinária. A análise dos dados aplicando o teste de Kruskal-Wallis ao nível de significância de 5% evidenciou diferença estatisticamente significativa entre a dureza do tecido cariado remanescente e seu controle hígido apenas nas medidas realizadas até 100µm no grupo PC e até 50µm no grupo BR. Comparando os valores no mesmo intervalo nos 3 grupos tratados, só foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos BR e CS no intervalo de 50µm.

Palavras-chave: Cárie dentária; dentina; dente decíduo; dureza.

Abstract

The microhardness of the remaining dentine was analyzed after caries removal using chemomechanical method and conventional bur. Twelve extracted carious deciduous molars were sectioned mesiodistally through the center of the carious lesion into two similar halves, resulting in 24 specimens that were divided into 3 groups (n = 8) according to caries removal method: CS group (Carisolv™), PC group (Papacárie®) and group CB (conventional bur). The microhardness of the remaining dentine was measured in the base of cavity floor and in the opposite healthy dentine at enamel-dentine junction. Data analysis applying the Kruskal-Wallis test at a significance level of 5% showed a statistically significant difference between the microhardness of remaining dentine and its control measured from 0 to 100µm in the PC group and from 0 to 50µm in the CB group. Comparing the microhardness values at the same measure range in all groups there was statistically significant difference only between CB and CS groups in the 50µm distance.

Keywords: Dental caries; dentine; deciduous tooth; hardness.

INTRODUÇÃO

A cárie dentária pode ser definida como uma doença bacteriana dos tecidos calcificados do dente, caracterizada pela desmineralização do seu conteúdo inorgânico, seguido da decomposição da matriz orgânica¹¹.

Em decorrência do desenvolvimento da doença cárie, podem ser identificadas duas camadas distintas na lesão de dentina, diferenciadas macroscopicamente por suas características de resistência ao corte e coloração¹⁵. Micro-estruturalmente, a camada de dentina cariada mais superficial apresenta-se infectada, com extensa desmineralização e fibrilas de colágeno desnaturadas, não passíveis de remineralização, devendo ser removida. A segunda camada, imediatamente adjacente, denominada dentina afetada ou contaminada, caracteriza-se por desmineralização moderada, com fibrilas de colágeno saudáveis e presença de prolongamentos odontoblásticos, sendo biologicamente recuperável^{15,22,25}.

A capacidade de reparação da dentina afetada estimulou o desenvolvimento do método de remoção químico-mecânica do tecido cariado, que consiste na aplicação de um produto sobre o tecido cariado, facilitando sua remoção e preservando a dentina sadia^{1,9,17,24}.

Apesar do crescente número de estudos sobre a remoção da dentina cariada, o critério clínico mais utilizado como guia para a remoção da dentina infectada é a dureza deste tecido^{7,21}. Assim, a análise da microdureza tem sido utilizada como método de avaliação da mineralização dos tecidos dentários, já que

a redução do valor numérico da microdureza apresenta relação linear com a perda mineral^{18,33}.

A avaliação da dureza do tecido remanescente é de fundamental importância porque está associada com a infectividade da dentina cariada, auxiliando o dentista a distinguir entre a dentina infectada (amolecida) e a dentina afetada (dura), sendo um indicador da efetividade do tratamento^{8,21,23}. Assim sendo, o objetivo deste estudo foi avaliar a microdureza da dentina remanescente após a remoção do tecido cariado com o CarisolvTM, Papacárie[®] e a broca.

MATERIAL E MÉTODO

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP-SP sob o protocolo n^o 05/09 (Anexo 1).

Após obtenção do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 2), foram coletados 12 molares decíduos cujos critérios para inclusão na amostra foram: cavidade de cárie em dentina nas faces oclusal e/ou proximal e extração indicada por estar em processo de esfoliação e seus sucessores permanentes apresentarem 2/3 de formação radicular ou por motivos ortodônticos. Os critérios de não inclusão foram: presença de reabsorção interna da câmara coronária e dente com lesão de cárie que havia atingido a polpa.

Após a exodontia, os dentes foram limpos com soro fisiológico para remoção dos resíduos do tecido gengival, colocados em recipientes individuais e

imediatamente armazenados a -20°C sem adição de solução para evitar possíveis alterações químicas, físicas ou ópticas na dentina^{14,32}.

Para o descongelamento, os dentes foram mantidos em temperatura ambiente (25°C) por pelo menos uma hora. Para evitar a desidratação e manter o ambiente úmido, uma gaze umedecida com água destilada foi colocada no interior de cada recipiente que abrigava os dentes¹⁰.

Os doze dentes foram seccionados no centro da lesão de cárie, no sentido mesio-distal, utilizando-se a máquina metalográfica ISOMET 1000 (Buehler Ltda., Lake Bluf, IL, EUA) equipada com disco diamantado, sob refrigeração constante. Cada dente gerou dois espécimes, num total de 24, que foram distribuídos aleatoriamente entre 3 grupos ($n = 8$). O tecido cariado foi removido utilizando o método estabelecido para cada grupo tendo sido realizado por um único operador (Tabela 1).

Tabela 1 - Divisão dos grupos experimentais, segundo o método de remoção do tecido cariado

Grupos experimentais	Métodos de remoção
Grupo CS	Remoção químico-mecânica com Carisolv TM
Grupo PC	Remoção químico-mecânica com Papacárie [®]
Grupo BR	Broca esférica de aço no baixa rotação

No grupo CS, o CarisolvTM (MediTeam AB, Sävedalen, Sweden) foi preparado de acordo com as instruções do fabricante e depositado na cavidade de cárie. Após 40 segundos, a superfície amolecida foi removida com cureta

específica nº 3 (Mediteam, Sävedalen, Sweden). A cavidade foi lavada e seca e o procedimento repetido uma vez.

No grupo PC, o Papacárie® (Fórmula & Ação, São Paulo, Brasil) foi utilizado de acordo com as instruções do fabricante, depositando-se o gel na dentina cariada por 40 segundos e em seguida, foi realizada a remoção do tecido amolecido com cureta sem corte (S.S. White, S.S. White, Rio de Janeiro, Brasil). Após lavagem e secagem da cavidade, o gel foi reaplicado uma vez e o procedimento repetido.

Nos espécimes do grupo BR foi utilizado motor de baixa-rotação (Kavo do Brasil Ind. Com. Ltda, Joinville, Santa Catarina, Brasil) com broca esférica de aço (KG Sorensen, Barueri, São Paulo, Brasil), de diâmetro compatível com o tamanho da cavidade, sendo que as brocas foram trocadas após quatro preparos cavitários. O critério clínico para o limite da remoção do tecido cariado foi o mesmo utilizado em estudos prévios, com a completa remoção da dentina amolecida, deixando a dentina clara e dura ou a dentina escura que é sentida como firme (“couro duro”) quando testada com uma sonda exploradora^{21,27,31}.

Após a remoção do tecido cariado, os espécimes foram incluídos em resina acrílica autopolimerizável, de modo que a área interna a ser analisada permaneceu exposta. Os espécimes foram sequencialmente polidos em politriz rotativa (Buehler Ltda., Lake Bluf, IL, EUA) com lixas abrasivas de óxido de alumínio de granulação 180, 320, 600, 1200 e 2000, complementadas com disco de feltro e pasta diamantada com granulação de 1µm, 3µm e 6µm (Arotec, São Paulo,

Brasil). Posteriormente as amostras foram lavadas em cuba ultra-sônica para remoção de resíduos.

Os espécimes foram submetidos ao teste de microdureza, utilizando um microdurômetro (Buehler Ltd., modelo Micromet 5103) equipado com diamante Knoop, com carga de 25 gramas aplicado sobre a superfície por 10 segundos. Foram realizadas 21 indentações, sendo 3 a cada distância, iniciando-se abaixo do assoalho cavitário e repetidos em 50, 100, 150, 200, 300, 400 e 500 μ m. A distância entre as indentações foi de 100 μ m. As mesmas indentações foram realizadas na dentina hígida, localizada no lado oposto, a partir da junção amelo-dentinária, para análise comparativa (Figura 1).

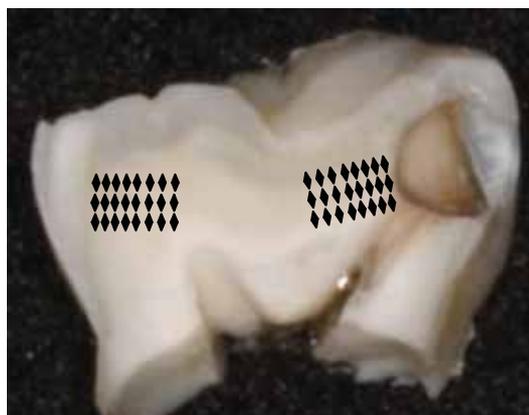


FIGURA 1 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DAS INDENTAÇÕES REALIZADAS NA DENTINA.

RESULTADO

Os resultados encontrados no teste de microdureza Knoop estão representados na Tabela 2.

Tabela 2 - Média e desvio-padrão da microdureza Knoop

Grupos Intervalos	CS		PC		BR	
	Tratado	Sadio	Tratado	Sadio	Tratado	Sadio
inicial	45,5±17,42 ^a	58,6±6,97 ^a	31,85±14,9 ^c	58,19±4,33 ^D	30,7±18,92 ^E	52,2±2,68 ^F
50µm	56,0±18,05 ^{a*}	61,8±7,09 ^a	38,00±18,64 ^c	60,42±5,83 ^D	34,7±20,17 ^{E*}	54,2±2,09 ^F
100µm	60,8±16,60 ^a	65,9±7,33 ^a	45,02±19,46 ^c	65,34±7,32 ^D	39,1±19,44 ^E	57,2±3,39 ^E
150µm	64,0±14,45 ^a	67,3±6,98 ^a	50,64±18,80 ^c	68,24±6,72 ^c	44,8±18,79 ^E	60,6±2,06 ^E
200µm	65,4±12,77 ^a	70,4±5,94 ^a	56,65±18,00 ^c	70,60±6,16 ^c	48,5±17,61 ^E	64,4±2,50 ^E
300µm	69,9±10,03 ^a	70,9±5,76 ^a	62,14±16,39 ^c	73,38±5,90 ^c	52,3±15,53 ^E	65,8±3,60 ^E
400µm	71,8±11,06 ^a	71,9±6,79 ^a	65,28±13,66 ^c	73,45±5,77 ^c	60,1±10,63 ^E	67,5±3,07 ^E
500µm	72,0±8,22 ^a	73,9±10,14 ^a	72,05±13,12 ^c	77,14±5,29 ^c	67,4±7,33 ^E	69,7±4,49 ^E

letras diferentes = diferença estatística entre grupo tratado e sadio

* = diferença estatística no mesmo intervalo entre os grupos

Devido a grande variabilidade dos dados, foi aplicado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ao nível de significância de 5%. A análise dos dados demonstrou diferença estatisticamente significante entre a dureza do tecido cariado remanescente e seu controle hígido apenas nas medidas realizadas a partir do assoalho cavitário (inicial) até 100µm no grupo PC e até 50µm no grupo BR.

Pelo teste de Kruskal-Wallis e teste complementar de Dunn a 5%, comparando os valores de dureza obtidos nos 3 grupos controle houve diferença estatística entre os valores das medidas iniciais e de 50µm com aqueles obtidos nas distâncias de 400µm e 500µm. Quando foi realizada a comparação entre os valores de cada medida dentro do mesmo grupo tratado, não foi observada diferença estatística no grupo CS. Diferença estatisticamente significante foi observada no grupo PC entre a medida inicial e as finais (400 e 500µm) e no grupo BR entre as medidas iniciais (0 e 50µm) e final (500µm).

Com relação aos grupos tratados no mesmo intervalo foi observada diferença estatisticamente significativa apenas entre os grupos BR e CS no intervalo de 50 μ m.

DISCUSSÃO

A dureza da dentina varia em função do seu conteúdo mineral^{3,8}. Devido à desmineralização que ocorre durante o desenvolvimento da cárie dentária, há uma considerável redução do conteúdo mineral e conseqüentemente um decréscimo das propriedades mecânicas do tecido dentário remanescente^{2-3,5,18}, o que explica os menores valores iniciais de microdureza encontrados nos grupos tratados.

Neste estudo foram selecionados molares decíduos por serem os dentes mais propensos à doença cárie²⁸. O fato das lesões de cárie serem naturais não permitiu a padronização de todas as variáveis de interferência como: tamanho, forma e atividade da lesão. Entretanto, foi utilizada a dentina adjacente sadia do lado oposto como grupo controle de cada dente.

O teste de dureza Knoop é amplamente utilizado para avaliação in vitro da dureza da dentina^{12,19,26,30} por ser capaz de fornecer valores de dureza para áreas pequenas⁴. Neste estudo foi realizado a partir da base da cavidade e a distância entre as indentações foi de 100 μ m para compensar as variações existentes entre locais próximos e evitar interferências de uma penetração sobre a outra¹².

Na dentina cariada, a dureza depende da idade da lesão e do estágio de progressão. As lesões ativas tendem a ser amolecidas enquanto que as lesões

crônicas tendem a se tornar duras com o tempo, provavelmente por causa do processo de remineralização³⁰. Fusayama et al.¹⁵ relataram que o valor médio de microdureza da dentina hígida de dentes permanentes é de 70KHN. Enquanto a lesão de cárie crônica apresenta valores entre 61 – 68 KHN e a lesão de cárie aguda apresenta 4,3 – 17 KHN.

Existem diversos estudos que avaliaram a microdureza em dentes permanentes e encontraram na dentina hígida valores que variam de 51,39 a 70 KHN e na dentina cariada ou após sua remoção valores entre 10,64 a 68 KHN^{6,8,14,19,23}, o que demonstra a grande variabilidade entre a dentina sadia e cariada. A variação dos valores de microdureza observados neste estudo indica a heterogeneidade da dentina remanescente¹².

Na dentina sadia observou-se um aumento nos valores da microdureza a partir da junção amelo-dentinária até a distância de 500 μ m. De acordo com Craig, Peyton¹³ a mudança na orientação e densidade dos túbulos da junção amelo-dentinária para a interface pulpar tem um importante papel nas diferenças de dureza encontrada entre as áreas de dentina sadia.

Hosoya et al.¹⁸ (2000), quando avaliaram a microdureza Knoop na dentina hígida de dentes decíduos, encontram valores de 55,4 \pm 17,9, 49 \pm 9,8 e 30,3 \pm 11,2 nas profundidades de 1/3 externo, médio e interno, respectivamente. Ao compararem a microdureza da dentina cariada com a hígida de dentes decíduos, encontraram diferenças significativas, independente da profundidade (terço externo, médio e interno).

A microdureza pode variar em função das diversas regiões de um mesmo dente, não havendo um padrão estabelecido¹³. Alguns autores relataram aumento ou diminuição, dependendo da região analisada^{12,16,18,29}, o que torna difícil a comparação dos resultados.

No presente estudo somente foi observada diferença estatística quando o tecido cariado foi removido pelo Papacárie[®] da medida inicial até a medida realizada a 100µm e até 50µm no grupo onde a broca foi o instrumento utilizado. Esta diferença pode ser explicada pela variedade dos dentes, que apresentam diferentes superfícies dentárias e extensões da lesão de cárie²³.

Embora a literatura indique que os valores de microdureza na dentina remanescente após a remoção do tecido cariado são inferiores àqueles da dentina sadia^{8,14,16,18,20}, os valores de microdureza da dentina tratada com Carisolv[™] foi similar à dentina sadia, semelhante ao resultado reportado por Hossain et al.¹⁹ (2003), que utilizaram dentes permanentes. Estes resultados confirmam o fato do Carisolv[™] não agir sobre o tecido dentinário remanescente ao redor da cavidade.

Fluckiger et al.¹⁴ (2005), quando avaliaram a microdureza Knoop da dentina de molares decíduos cariados após o uso do Carisolv[™] e do instrumento manual encontraram valores similares de microdureza após remoção químico-mecânica e mecânica. Entretanto, no estudo de Phabakar et al.²⁸ (2009), que utilizaram a microdureza Vicker's, observaram valores médios estatisticamente menores no grupo do Carisolv[™] comparado ao grupo da escavação manual. Esta diferença pode ser devido a metodologia utilizada na obtenção da dureza ou no critério utilizado na remoção do tecido cariado.

Os valores de microdureza se elevaram em função da distância da base no grupo do Papacárie® e do Carisolv™, da cavidade, semelhante aos resultados encontrados por Corrêa et al.¹² (2007). No entanto, os valores de microdureza obtidos foram superiores e esta diferença pode ser devido ao fato dos dentes utilizados serem incisivos centrais decíduos, e além disso, a carga utilizada ter sido diferente no grupo tratado e sadio.

Os valores de microdureza do grupo BR foram semelhantes aos reportados por Hossain et al.¹⁹ (2003) quando avaliaram a microdureza da dentina remanescente de dentes permanentes após a remoção do tecido cariado com a broca e encontraram valores de $53,50 \pm 3,65$ KHN.

CONCLUSÃO

A microdureza da dentina após a remoção do tecido cariado foi semelhante independente do método utilizado na sua remoção, exceto na distância de 50µm, onde houve diferença estatisticamente diferente entre o grupo do Carisolv™ e o da broca.

REFERÊNCIAS

1. Ammari MM, Moliterno LFM. Remoção químico-mecânica da cárie: evidências atuais. Rev Bras Odontol. 2005; 62: 125-7.
2. Angker L, Nockolds C, Swain MV, Kilpatrick N. Correlating the mechanical properties to the mineral content of carious dentine – a comparative study using an ultra-micro indentation system (UMIS) and SEM-BSE signals. Arch Oral Biol. 2004; 49: 369-78.

3. Angker L, Swain MV, Kilpatrick N. Micro-mechanical characterisation of the properties of primary tooth dentine. *J Dent.* 2003; 31: 261-7.
4. Anusavice KJ. *Philips – Materiais Dentários.* 11^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005. 800p.
5. Banerjee A, Boyde A. Autofluorescence and mineral content of carious dentine: scanning optical and backscattered electron microscopic studies. *Caries Res.* 1998; 32: 219-26.
6. Banerjee A, Cook R, Kellow S, Shah K, Festy F, Sheriff M, et al. A confocal micro-endoscopic investigation of the relationship between the microhardness of carious dentine and its autofluorescence. *Eur J Oral Sci.* 2010; 118: 75-9.
7. Banerjee A, Kidd EAM, Watson TF. In vitro evaluation of five alternative methods of carious dentine excavation. *Caries Res.* 2000; 34: 144-50.
8. Banerjee A, Sheriff M, Kidd EA, Watson TF. A confocal microscopic study relating the autofluorescence of carious dentine to its microhardness. *Br Dent J.* 1999; 187: 206-10.
9. Beeley JA, Yip HK, Stevenson AG. Chemochemical caries removal: a review of the techniques and latest developments. *Br Dent J.* 2000; 188: 427-30.
10. Celiberti P, Francescut P, Lussi A. Performance of four dentine excavation methods in deciduous teeth. *Caries Res.* 2006; 40: 117-23.
11. Chu CH, Lo EC. Microhardness of dentine in primary teeth after topical fluoride applications. *J Dent.* 2008; 36: 387-91.

12. Corrêa FN, Rocha RO, Rodrigues Filho LE, Muench A, Rodrigues CR. Chemical versus conventional caries removal techniques in primary teeth: a microhardness study. *J Clin Pediatr Dent.* 2007; 31: 187-92.
13. Craig RG, Peyton FA. The microhardness of enamel and dentin. *J Dent Res.* 1958; 37: 661-8.
14. Flückiger L, Waltimo T, Stich H, Lussi A. Comparison of chemomechanical caries removal using Carisolv or conventional hand excavation in deciduous teeth in vitro. *J Dent.* 2005; 33: 87-90.
15. Fusayama T. Two layers of carious dentin: diagnosis and treatment. *Oper Dent.* 1979; 4: 63-70.
16. Fusayama T, Okuse K, Hosada H. Relationship between hardness, discoloration and microbial invasion in carious dentin. *J Dent.* 1966; 45: 1033-46.
17. Habib CM, Kronman J, Goldman M. A chemical evaluation of collagen and hydroxyproline after treatment with GK-101 (N-chloroglycine). *Pharmacol Ther Dent.* 1975; 2: 209-15.
18. Hosoya Y, Marshall SJ, Watanabe LG, Marshall GW. Microhardness of carious deciduous dentin. *Oper Dent.* 2000; 25: 81-9.
19. Hossain M, Nakamura Y, Tamaki Y, Yamada Y, Jayawardena JA, Matsumoto K. Dentinal composition and Knoop hardness measurements of cavity floor following carious dentin removal with Carisolv. *Oper Dent.* 2003; 28: 346-51.

20. Iost HI, Costa JH, Rodrigues HH, Rocca RA. Dureza e contaminação bacteriana da dentina após remoção da lesão de cárie. *Rev ABO Nac.* 1995; 3: 25-9.
21. Kidd EA, Ricketts DN, Beighton D. Criteria for caries removal at the enamel-dentine junction: a clinical and microbiological study. *Br Dent J.* 1996; 180: 287-91.
22. Kuboki Y, Ohgushi K, Fusayama T. Collagen biochemistry of the two layers of carious dentin. *J Dent Res.* 1977; 56: 1233-7.
23. Magalhães CS, Moreira AN, Campos WR, Rossi FM, Castilho GA, Ferreira RC. Effectiveness and efficiency of chemomechanical carious dentin removal. *Braz Dent J.* 2006; 17: 63-7.
24. Maragakis GM, Hahn P, Hellwig E. Chemomechanical caries removal: a comprehensive review of the literature. *Int Dent J.* 2001; 51: 291-9.
25. Ohgushi K, Fusayama T. Electron microscopic structure of the two layers of carious dentin. *J Dent Res.* 1975; 54: 1019-26.
26. Paolinelis G, Watson TF, Banerjee A. Microhardness as a predictor of sound and carious dentine removal using alumina air abrasion. *Caries Res.* 2006; 40: 292-5.
27. Peric T, Markovic D. In vitro effectiveness of a chemo-mechanical method for caries removal. *Eur J Paediatr Dent.* 2007; 2: 61-7.
28. Prabhakar AR, Kaur T, Basappa N. Comparative evaluation of Carisolv in removal of carious dentin in primary molar teeth: in vitro study. *Pesq Bras Odontoped Clin Integr.* 2009; 9: 77-80.

29. Reis A, Bauer JRO, Loguercio AD. Dureza da dentina após remoção de cárie: avaliação de diferentes métodos. *Rev Fac Odontol Univ Passo Fundo*. 2003; 8: 56-61.
30. Sakoolnamarka R, Burrow MF, Swain M, Tyas MJ. Microhardness and Ca:P ratio of carious and Carisolv treated caries-affected dentine using an ultra-micro-indentation system and energy dispersive analysis of x-rays – a pilot study. *Aust Dent J*. 2005; 50: 246-50.
31. Splieth C, Rosin M, Gellissen B. Determination of residual dentine caries after conventional mechanical and chemomechanical caries removal with Carisolv. *Clin Oral Investig*. 2001; 5: 250-3.
32. Strawn SE, White JM, Marshall GW, Gee L, Goodis HE, Marshall SJ. Spectroscopic changes in human dentine exposed to various storage solutions- short term. *J Dent*. 1996; 24: 417-23.
33. Zheng L, Hilton JF, Habelitz S, Marshall SJ, Marshall GW. Dentin caries activity status related to hardness and elasticity. *Eur J Oral Sci*. 2003; 111: 243-52.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O tratamento da cárie dentária vem sendo abordado de forma mais conservadora, devendo-se remover apenas a camada de dentina infectada (Mendonça et al.³⁴, 2002). Os clínicos sempre tiveram dificuldades em distinguir as camadas de dentina cariada e determinar o quanto deve ser removido. Historicamente, os critérios clínicos mais utilizados são a coloração e a resistência ao corte (Fusayama²², 1979, Kidd et al.²⁹, 1996; Yip et al.⁴⁶, 1995). Entretanto, estes critérios são subjetivos e variam de acordo com cada profissional.

Neste estudo, o conjunto de análises procurou evidências científicas para responder a pergunta: “quando interromper a remoção do tecido cariado dentinário e quais critérios clínicos podem auxiliar o Cirurgião-dentista a tomar esta decisão?”.

O método químico-mecânico mostrou-se mais conservador na remoção do tecido cariado e os dois materiais testados (CarisolvTM e Papacárie[®]) apresentaram comportamento semelhante. Entretanto, a broca convencional foi o método mais efetivo.

Os resultados deste trabalho não respondem claramente à pergunta formulada, mas fornece ao clínico informações importantes para que ele possa refletir a respeito de sua prática, optando por um dos métodos de remoção do tecido cariado.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS*

1. Ammari MM, Moliterno LFM. Remoção químico-mecânica da cárie: evidências atuais. *Rev Bras Odontol.* 2005; 62: 125-7.
2. Angker L, Nockolds C, Swain MV, Kilpatrick N. Correlating the mechanical properties to the mineral content of carious dentine – a comparative study using an ultra-micro indentation system (UMIS) and SEM-BSE signals. *Arch Oral Biol.* 2004;49: 369-78.
3. Anusavice KJ, Kincheloe JE. Comparison of pain associated with mechanical and chemomechanical removal of caries. *J Dent Res.* 1987; 66: 1680-3.
4. Arvidsson A, Liedberg B, Möller K, Lyvén B, Sellén A, Wennerberg A. Chemical and topographical analyses of dentine surfaces after Carisolv treatment. *J Dent.* 2002; 30: 67-75.
5. Banerjee A, Boyde A. Autofluorescence and mineral content of carious dentine: scanning optical and backscattered electron microscopic studies. *Caries Res.* 1998; 32: 219-26.
6. Banerjee A, Cook R, Kellow S, Shah K, Festy F, Sheriff M, et al. A confocal micro-endoscopic investigation of the relationship between the microhardness of carious dentine and its autofluorescence. *Eur J Oral Sci.* 2010; 118: 75-9.
7. Banerjee A, Kidd EA, Watson TF. In vitro evaluation of five alternative methods of carious dentine excavation. *Caries Res.* 2000;34: 144-50.

* De acordo com o estilo Vancouver. Disponível no site:
http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

8. Banerjee A, Kidd EA, Watson TF. Scannig electron microscopic observations of human dentine after mechanical caries excavation. *J Dent.* 2000; 28: 179-86.
9. Beeley JA, Yip HK, Stevenson AG. Chemochemical caries removal: a review of the techniques and latest developments. *Br Dent J.* 2000; 188: 427-30.
10. Bertassoni LE, Marshall GW. Papain-gel degrades intact nonmineralized type I collagen fibrils. *Scanning.* 2009; 31: 253-8.
11. Bussadori SK, Castro LC, Galvão AC. Papain gel: a new chemo-mechanical caries removal agent. *J Clin Pediatr Dent.* 2005; 2: 115-9.
12. Bussadori SK, Guedes CC, Hermida Bruno ML, Ram D. Chemo-mechanical removal of caries in an adolescent patient using a papain gel: case report. *J Clin Pediatr Dent.* 2008; 32: 177-80.
13. Cajazeira MRR, Santos MEO. Análise ultraestrutural da superfície dentinária de molares decíduos submetida a diferentes métodos usados na remoção do tecido cariado. *Pesq Bras Odontoped Clin Integr.* 2007; 7: 265-9.
14. Carrillo CM, Tanaka MH, Cesar MF, Camargo MA, Juliano Y, Novo NF. Use of papain gel in disabled patients. *J Dent Child.* 2008; 75: 222-8.
15. Cederlund A, Lindskog S, Blomlöf J. Efficacy of Carisolv-assisted caries excavation. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1999; 19: 464-9.
16. Chu CH, Lo EC. Microhardness of dentine in primary teeth after topical fluoride applications. *J Dent.* 2008; 36: 387-91.

17. Corrêa FN, Rocha RO, Rodrigues Filho LE, Muench A, Rodrigues CR. Chemical versus conventional caries removal techniques in primary teeth: a microhardness study. *J Clin Pediatr Dent.* 2007; 31: 187-92.
18. Corrêa FN, Rodrigues Filho LE, Rodrigues CR. Evaluation of residual dentin after conventional and chemomechanical caries removal using SEM. *J Clin Pediatr Dent.* 2008; 32: 115-20.
19. Ericson D, Zimmerman M, Raber H, Götrick B, Bornstein R, Thorell J. Clinical evaluation of efficacy and safety of a new method for chemo-mechanical removal of caries. A multi-centre study. *Caries Res.* 1999; 33: 171-7.
20. Flückiger L, Waltimo T, Stich H, Lussi A. Comparison of chemomechanical caries removal using Carisolv or conventional hand excavation in deciduous teeth in vitro. *J Dent.* 2005; 33: 87-90.
21. Fure S, Lingström P. Evaluation of the chemomechanical removal of dentine caries in vivo with a new modified Carisolv gel. *Clin Oral Investig.* 2004; 8: 139-44.
22. Fusayama T. Two layers of carious dentin: diagnosis and treatment. *Oper Dent.* 1979; 4: 63-70.
23. Gurbuz T, Yilmaz Y, Sengul F. Performance of laser fluorescence for residual caries detection in primary teeth. *Eur J Dent.* 2008; 2: 176-84.
24. Habib CM, Kronman J, Goldman M. A chemical evaluation of collagen and hydroxyproline after treatment with GK-101 (N-chloroglycine). *Pharmacol Ther Dent.* 1975; 2: 209-15.

25. Hosoya Y, Marshall SJ, Watanabe LG, Marshall GW. Microhardness of carious deciduous dentin. *Oper Dent.* 2000; 25: 81-9.
26. Hossain M, Nakamura Y, Tamaki Y, Yamada Y, Jayawardena JA, Matsumoto K. Dentinal composition and Knoop hardness measurements of cavity floor following carious dentin removal with Carisolv. *Oper Dent.* 2003; 28: 346-51.
27. Iost HI, Costa JH, Rodrigues HH, Rocca RA. Dureza e contaminação bacteriana da dentina após remoção da lesão de cárie. *Rev ABO Nac.* 1995; 3: 25-9.
28. Jawa D, Singh S, Somani R, Jaidka S, Sirkar K, Jaidka R. Comparative evaluation of the efficacy of chemomechanical caries removal agent (Papacarie) and conventional method of caries removal: an in vitro study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* 2010; 28: 73-7.
29. Kidd EA, Ricketts DN, Beighton D. Criteria for caries removal at the enamel-dentine junction: a clinical and microbiological study. *Br Dent J.* 1996; 180: 287-91.
30. Kronman JH, Goldman M, Habib CM, Mengel L. Electron microscopic evaluation of altered collagen structure induced by N-monochloroglycine (GK-101). *J Dent Res.* 1977; 56: 1539-45.
31. Kuboki Y, Ohgushi K, Fusayama T. Collagen biochemistry of the two layers of carious dentin. *J Dent Res.* 1977; 56: 1233-7.
32. Magalhães CS, Moreira AN, Campos WR, Rossi FM, Castilho GA, Ferreira RC. Effectiveness and efficiency of chemomechanical carious dentin removal. *Braz Dent J.* 2006; 17: 63-7.

33. Maragakis GM, Hahn P, Hellwig E. Chemomechanical caries removal: a comprehensive review of the literature. *Int Dent J.* 2001; 51: 291-9.
34. Mendonça SMS, Moreira NA, Magalhães CS. Dentina cariada: uma revisão dos métodos e critérios clínicos empregados em sua remoção. *JBD: J Bras Dent Estet.* 2002; 1: 166-74.
35. Nadanovsky P, Carneiro FC, Mello FS. Removal of caries using only hand instruments: a comparison of mechanical and chemo-mechanical methods. *Caries Res.* 2001; 35: 384-9.
36. Ohgushi K, Fusayama T. Electron microscopic structure of the two layers of carious dentin. *J Dent Res.* 1975; 54: 1019-26.
37. Pai VS, Nadig RR, Jagadeesh TG, Usha G, Karthik J, Sridhara K. Chemical analysis of dentin surfaces after Carisolv treatment. *J Conserv Dent.* 2009; 12: 118-22.
38. Pereira SA, Silva LR, Motta LJ, Bussadori SK. Remoção químico mecânica de cárie por meio do gel Papacárie[®]. *RGO: Rev Gaucha Odontol.* 2004; 52: 385-8.
39. Peric T, Markovic D. In vitro effectiveness of a chemo-mechanical method for caries removal. *Eur J Paediatr Dent.* 2007; 2: 61-7.
40. Pinheiro SL, Aoki CMB, Mendes FM, Bengston NG. Avaliação morfológica da dentina após diferentes métodos de remoção do tecido cariado. *Rev Assoc Paul Dent.* 2004; 58: 363-8.

41. Prabhakar AR, Kaur T, Basappa N. Comparative evaluation of Carisolv in removal of carious dentin in primary molar teeth: in vitro study. *Pesqui Bras Odontopediatria Clin Integr.* 2009; 9: 77-80.
42. Rahman S, Whitworth JM, Dummer PM. Carisolv: an alternative to NaOCl in immature root canals? *Int Endod J.* 2005; 38: 448-55.
43. Reis A, Bauer JRO, Loguercio AD. Dureza da dentina após remoção de cárie: avaliação de diferentes métodos. *Rev Fac Odontol Univ Passo Fundo.* 2003; 8: 56-61.
44. Sakoolnamarka R, Burrow MF, Swain M, Tyas MJ. Microhardness and Ca:P ratio of carious and Carisolv treated caries-affected dentine using an ultra-micro-indentation system and energy dispersive analysis of x-rays – a pilot study. *Aust Dent J.* 2005; 50: 246-50.
45. Yazici AR, Atilla P, Ozgünaltay, Müftüoğlu S. In vitro comparison of the efficacy of Carisolv and conventional rotary instrument in caries removal. *J Oral Rehabil.* 2003; 30: 1177-82.
46. Yip HK, Beeley JA, Stevenson AG. Mineral content of the dentine remaining after chemomechanical caries removal. *Caries Res.* 1995; 29: 111-7.

ANEXOS

Anexo 1 - Certificado de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa.



Anexo 2 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Termo de consentimento livre e esclarecido

Projeto: “Avaliação in vitro da dentina remanescente após remoção químico-mecânica do tecido cariado em dentes decíduos”.

Pesquisador responsável: Lourdes Aparecida Martins dos Santos Pinto

Nome do paciente: _____
idade _____ R.G. _____, endereço _____
_____ n° do prontuário _____
Responsável legal: _____
idade _____, RG _____, endereço _____
_____ grau de parentesco _____

Fui informado que o objetivo desta pesquisa será avaliar a aplicação de diferentes materiais para remoção de cárie em dentes decíduos (de leite) cariados extraídos.

Fui esclarecido, após o exame clínico e radiográfico, que o dente _____ não tem condição de receber tratamento restaurador e conseqüentemente permanecer na cavidade bucal porque está seriamente comprometido por cárie. Estou ciente que todo procedimento cirúrgico envolve a utilização de anestesia e que os riscos, no caso de extração de dente de leite, são a mordedura dos lábios após a anestesia e sangramento. A extração será realizada por estagiário ou aluno de Pós-graduação na Clínica Infantil da Faculdade de Odontologia de Araraquara, sob a orientação e supervisão da professora responsável pela pesquisa, sendo que o procedimento não será cobrado. Em caso de danos decorrentes dos riscos, toda a assistência e o acompanhamento pós-operatório é de responsabilidade do pesquisador responsável pela pesquisa.

Fui esclarecido que tenho plena liberdade para desistir da referida pesquisa, retirando o meu consentimento a qualquer momento, sem sofrer nenhum tipo de penalização, e que posso contactar o pesquisador responsável, Lourdes Aparecida Martins dos Santos Pinto, pelo telefone (16) 3301-6330 para obter quaisquer esclarecimentos ou o Comitê de Ética em Pesquisa, para qualquer informação adicional em relação à pesquisa da qual participo, pelo telefone (16) 3301-6432 ou (16) 3301-6434.

Após ter lido e assinado este termo, autorizo a **DOAÇÃO DO DENTE EXTRAÍDO** _____ para a realização do trabalho citado acima, bem como para a divulgação e publicação em revistas científicas, brasileiras ou estrangeiras, dos dados obtidos na pesquisa. Recebi a garantia de sigilo de minha identidade, assegurando a minha privacidade.

Araraquara, dede 2009.

Assinatura do responsável legal pelo paciente

Assinatura do pesquisador

Autorizo a reprodução deste trabalho.
(Direitos de publicação reservado ao autor)

Araraquara, 28 de março de 2011.

SIMONE DI SALVO MASTRANTONIO