

**Título: Identificação de patógenos (bactérias) presentes na porção apical de dentes com tratamento endodôntico adequado e portadores de periodontite**

**Autor(es)** Flávio F. R. Alves; Henrique dos Santos Antunes; Isabela N Rôças; José Freitas Siqueira Júnior

**E-mail para contato:** antunesendo@gmail.com

**IES:** UNESA

**Palavra(s) Chave(s):** PCR Real time, Pulverização Criogênia, periodontite apical, Fracasso endodôntico

#### **RESUMO**

A maioria dos estudos realizados sobre a microbiota dos sistema de canais radiculares de dentes tratados endodônticamente são desenvolvidos apenas coletando microorganismos do canal principal, não distinguindo regiões nem incorporando, na análise, a complexa anatomia desse sistema. Além disso, a maior parte fornece apenas dados de prevalência. Este estudo foi concebido para avaliar as contagens totais de bactérias, a presença, os níveis de abundância relativa de patógenos endodônticos exclusivamente na região apical do sistema de canais radiculares associada com periodontite apical em dentes com tratamentos endodônticos adequados e fracasso. As amostras para análise microbiológica molecular foram obtidas durante a cirurgia perirradicular. A lesão apical foi curetada e colocada em solução de formol tamponado a 10% para exame histopatológico. A apicectomia foi realizada utilizando uma broca Zekrya de 28mm esterilizada (FG, Maillefer, Ballaigues, Suíça), sob irrigação salina estéril. Os fragmentos radiculares apicais foram colocados em tubos Falcon de 15 mL esterilizados e em seguida, imediatamente congelados a 20°C. Os espécimes foram descongelados e submetidos à desinfecção externa. As raízes tiveram a sua porção externa desinfetada duplamente com a aplicação sequencial de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 2,5% de NaOCl e 5% de tiosulfato de sódio em toda superfície externa, com o auxílio de bolinhas de algodão esterilizadas, exceto nas áreas próximas ao forame. Um triturador criogênico modelo 6750 (Spex, Metuchen, NJ, EUA) operado na temperatura do nitrogênio líquido foi usado para pulverizar criogenicamente cada fragmento radicular. Uma vez que os fragmentos apicais podem variar de tamanho, amostras de pó de raiz foram pesados para permitir a análise de dados como o número de células bacterianas por 100 mg de pó de raiz. Em seguida, o pó foi suspenso em solução tampão TE. O DNA das amostras de raízes pulverizadas foi extraído usando QIAamp DNA mini Kit (Qiagen, Valencia, CA, EUA) seguindo o protocolo para tecidos recomendado pelo fabricante. O volume final de DNA de cada amostra clínica foi de 200µL. Para realizar a quantificação bacteriana, será utilizado PCR Real time quantitativo (qPCR) baseado na amplificação do gene do 16S rRNA. Dos 27 fragmentos coletados, 21 positivos para bactérias. Espécie Streptococcus foi a mais predominante (76%) seguido por membros do filo Actinobacteria (52%) e Pseudoramibacter alactolyticus (19%) Espécie Streptococcus, membros do filo Actinobacteria e P. alactolyticus foram os mais prevalentes na região apical do sistema de canais de dentes com fracasso endodôntico e periodontite apical.