



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
MESTRADO EM ODONTOLOGIA

**PRISCILA BRUNA GONÇALVES LACERDA**

**INFLUÊNCIA DA AÇÃO DOS PROBIÓTICOS ASSOCIADOS COM A  
FOTOBIMODULAÇÃO NO PROCESSO DE REPARO APÓS O REIMPLANTE  
DENTÁRIO**

Presidente Prudente – SP  
2021

PRISCILA BRUNA GONÇALVES LACERDA

**INFLUÊNCIA DA AÇÃO DOS PROBIÓTICOS ASSOCIADOS COM A  
FOTOBIMODULAÇÃO NO PROCESSO DE REPARO APÓS O REIMPLANTE  
DENTÁRIO**

Dissertação apresentada à Pró- Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Faculdade de Odontologia de Presidente Prudente, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre – Área de Concentração: Clínica Odontológica.

Orientadora:  
Profa. Dra. Christine Men Martins

Presidente Prudente – SP  
2021

D74 L131i	<p>Lacerda, Priscila Bruna Gonçalves Influência da ação dos probióticos associados com a Fotobiomodulação no processo de reparo após o reimplante dentário \ Priscila Bruna Gonçalves Lacerda ; orientadora Christine Men Martins. – Presidente Prudente, 2021. 49 f.: il.</p> <p>Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente Prudente, SP, 2021. Bibliografia.</p> <p>1. Probióticos. 2. Reimplante Dentário. 3. Fotobiomodulação. 4. Tratamento. I. Martins, Christine Men, orient. I. Título.</p>
--------------	---

Catalogação - Bibliotecária Jakeline Margaret de Queiroz Ortega - CRB 8/6246

**PRISCILA BRUNA GONÇALVES LACERDA**

**INFLUÊNCIA DA AÇÃO DOS PROBIÓTICOS ASSOCIADOS COM A  
FOTOBIMODULAÇÃO NO PROCESSO DE REPARO APÓS O REIMPLANTE  
DENTÁRIO**

Dissertação apresentada à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Faculdade de Odontologia de Presidente Prudente, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre – Área de Concentração: Clínica Odontológica.

Presidente Prudente, 10 de setembro de 2021.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientadora: Prof.ª Dr.ª Christine Men Martins  
Universidade do Oeste Paulista - Unoeste  
Presidente Prudente - SP

---

Prof.ª Dr.ª Carolina dos Santos Santinoni  
Universidade do Oeste Paulista - Unoeste  
Presidente Prudente - SP

---

Prof.ª Dr.ª Juliana Yuri Nagata  
Universidade Federal de Sergipe  
Aracajú, SE

## **AGRADECIMENTOS**

Um trabalho de mestrado é uma longa viagem, que inclui uma trajetória permeada por inúmeros desafios, tristezas, incertezas, alegrias e muitos percalços pelo caminho, mas apesar do processo solitário a que qualquer investigador está destinado, reúne contributos de várias pessoas, indispensáveis para encontrar o melhor rumo em cada momento da caminhada. Trilhar este caminho só foi possível com o apoio, energia e força de várias pessoas, a quem dedico especialmente este projeto de vida. Especialmente à minha orientadora, Professora Doutora Christine Men Martins, que sempre acreditou em mim, agradeço a orientação exemplar pautada por um elevado e rigoroso nível científico, um interesse permanente e fecundo, uma visão crítica e oportuna, um empenho inexcedível e saudavelmente exigente, os quais contribuíram para enriquecer, com grande dedicação, passo por passo, todas as etapas subjacentes ao trabalho realizado. Aos meus pais pelo apoio incondicional, agradeço a enorme compreensão, generosidade e alegria com que me brindou constantemente, contribuindo para chegar ao fim deste percurso. E claro, à minha filha, Laura, que amo incondicionalmente e que veio dar um novo colorido à minha vida, espero doravante compensá-lo das horas de atenção e brincadeira que lhe devo. Foi o meu grande estímulo nesta caminhada. Por fim, o meu profundo e sentido agradecimento a todas as pessoas que contribuíram para a concretização desta dissertação, estimulando-me intelectual e emocionalmente.

## **RESUMO**

### **Influência da ação dos probióticos associados com a Fotobiomodulação no processo de reparo após o reimplante dentário**

O objetivo do presente estudo foi avaliar a associação da fotobiomodulação para o tratamento da superfície e uso de probióticos como meio de estocagem no processo de reparo dos tecidos dentais após o reimplante tardio. Cinquenta ratos foram divididos em 5 grupos e tiveram seus incisivos centrais superiores direitos extraídos e tratados, de acordo: Grupo Controle Negativo, dentes imersos em soro fisiológico por 30 min; Grupo Leite, dentes imersos em leite por 30 min; Grupo LLLT, dentes imersos em soro fisiológico por 30 min e, após esse período, os dentes foram fotobiomodulados; Grupo Probiótico, dentes imersos em *Bifidumbacterium HN019* por 30 min; Grupo Probiótico + LLLT, dentes imersos em probiótico por 30 min e, após esse período, os dentes foram fotobiomodulados. Após, os dentes foram reimplantados e passados 60 dias os animais foram eutanasiados e parâmetros inflamatórios, reabsortivos e reparatórios foram analisados histologicamente e a quantidade e qualidade de fibras colágenas foram avaliados histoquimicamente. A avaliação histológica mostrou que o grupo Probiótico + LLLT teve um infiltrado inflamatório com intensidade e extensão expressivos e presença de reabsorções radiculares, resultados semelhantes aos dos demais grupos ( $p>0.05$ ). A quantidade de fibras colágenas maduras foi maior do que as imaturas para todos os grupos ( $p<0.05$ ) e não houve diferença estatisticamente significante entre os grupos avaliados ( $p>0.05$ ). A associação da fotobiomodulação com o probiótico pode ser um protocolo de tratamento alternativo para reimplante dentário tardio, especialmente por ser semelhante ao grupo Leite, tratamento tradicionalmente recomendado. Dentro das limitações do trabalho e de acordo com os parâmetros estudados, conclui-se que os tratamentos empregados podem ser promissores por apresentarem resultados semelhante ao grupo Leite, podendo ser promissores. No entanto, mais estudos devem ser realizados para suas indicações clínicas.

**Palavras-chave:** Reimplante dentário, Probióticos, Terapia com luz de baixa intensidade, Avulsão dentária.

## ABSTRACT

### **Influence of the action of probiotics associated with Photobiomodulation in the repair process after dental reimplantation**

The aim of the present study was to evaluate the association between photobiomodulation for surface treatment and the use of probiotics as a storage media in the repair process of dental tissues after late reimplantation. Fifty rats were divided into 5 groups and had their upper right central incisors extracted and treated, as follows: Negative Control Group, teeth immersed in saline solution for 30 min; Milk Group, teeth immersed in milk for 30 min; LLLT Group, teeth immersed in saline solution for 30 min and, after, teeth were photobiomodulated; Probiotic Group, teeth immersed in *Bifidumbacterium HN019* for 30 min; Probiotic + LLLT Group, teeth immersed in probiotic for 30 min and, after, teeth were photobiomodulated. The teeth were reimplanted and after 60 days the animals were euthanized and inflammatory, reabsorptive and reparative parameters were histologically analyzed. Quantity and quality of collagen fibers were evaluated histochemically. Histological evaluation showed that the Probiotic + LLLT group had an inflammatory infiltrate with expressive intensity and extension and presence of root resorptions, results similar to those of the other groups ( $p>0.05$ ). The amount of mature collagen fibers was greater than the immature ones for all groups ( $p<0.05$ ) and there was no statistically significant difference between the evaluated groups ( $p>0.05$ ). The association of photobiomodulation with probiotics can be an alternative treatment protocol for late tooth replantation, especially because the similar results to Milk group, traditionally recommended treatment. Within the limitations of the work and according to the parameters studied, it is concluded that the treatments used can be promising because they presented results similar to the Milk group. However, further studies should be carried out for its clinical indications.

**Key words:** Tooth replantation, Probiotics, Low-level light therapy; tooth avulsion.

## **SUMÁRIO**

1 INTRODUÇÃO .....	8
2 MATERIAIS E MÉTODOS .....	10
3 RESULTADOS .....	16
4 DISCUSSÃO .....	28
REFERÊNCIAS .....	32
ANEXO – NORMAS <i>DENTAL TRAUMATOLOGY</i> .....	36



## 1 INTRODUÇÃO

Avulsão dentária é um tipo severo e frequente de traumatismo dentário, caracterizada pela completa exarticulação do dente levando à danos à múltiplos tecidos.<sup>1,2</sup> Como consequências imediatas da avulsão, tem-se a deterioração das células do periodonto e da polpa pela falta de suprimento sanguíneo e contaminação bacteriana.<sup>1,2</sup> No alvéolo são observadas a ocorrência de áreas de necrose, exsudato inflamatório e formação de coágulos sanguíneos no espaço do ligamento periodontal.<sup>1,2</sup>

O tratamento de escolha para a avulsão dentária é o reimplante no alvéolo. Quando realizado de maneira imediata, o processo de reparo é mais favorável.<sup>1-3</sup> Quanto maior for o tempo em que o dente permanece fora do alvéolo, mais difícil será o reestabelecimento da saúde dos tecidos dentários danificados, portanto o reimplante tardio apresenta taxas de sucesso inferiores e dependente do tempo extra-alveolar, da integridade das células do ligamento periodontal e da polpa e do meio de estocagem do dente avulsionado.<sup>3,4</sup>

A principal consequência do reimplante dentário é a ocorrência da reabsorção radicular, que pode ocorrer através de dois mecanismos: inflamatória e por substituição.<sup>14</sup> No primeiro caso, a contaminação bacteriana e a necrose induz o processo inflamatório e a presença de mediadores da atividade osteoclástica local, sendo mais agressivo tanto ao dente quanto ao osso alveolar.<sup>5</sup> No outro tipo de reabsorção, o ligamento periodontal necrótico não tem mais função, desaparecem as estruturas essenciais para a proteção da superfície radicular contra a instalação das unidades de remodelação óssea.<sup>5</sup> A raiz permanece exposta ao osso circundante e ocorre anquilose dental. Por conseguinte, o dente passa a participar do processo de remodelação fisiológica contínua (reabsorção e substituição) do osso alveolar.<sup>5</sup> Dessa forma, a raiz é gradualmente substituída por osso.<sup>5</sup>

A fim de mimetizar a ocorrência de reabsorções radiculares, diversos meios de estocagem para dentes avulsionados e tratamentos de superfície radicular estão sendo estudados, embora ainda não existe uma única solução que preencha requisitos para ser considerado como o meio ideal para armazenamento temporário de dentes avulsionados, e, portanto, pesquisas sobre este campo deve continuar.<sup>6,7,8</sup>

Sabe-se da importância de se manter o dente em meio úmido a despeito de seco para a manutenção da viabilidade celular.<sup>1-8</sup> O meio recomendado pela Associação Internacional de Traumatismo Dentário é o uso do leite por um período de até 6 horas, por ter pH compatível, ser de fácil acesso e baixo custo para aquisição, possuir fatores de crescimento.<sup>1-8</sup> Ainda assim, reabsorções radiculares são relatadas.

Os probióticos são suplementos alimentares, de microrganismos vivos que podem melhorar a saúde do indivíduo, evitando a colonização de bactérias patogênicas por manter um equilíbrio na flora intestinal, assim como bucal.<sup>9,10</sup> A secreção de compostos antimicrobianos e o combate de diversas doenças gastrointestinais como por exemplo, a intolerância a lactose, podem ser enumeradas como ações dos probióticos.<sup>9,10</sup> Avanços em relação aos seus benefícios nos casos de doenças bucais tem sido realizados como na cárie dentária e doença periodontal.<sup>9,10</sup>

Além disso, pesquisas atuais avaliaram o efeito do probiótico como meio de estocagem temporária antes do reimplante dentário.<sup>11,12</sup> Caglar e colaboradores (2010) compararam o número de células do ligamento periodontal viáveis quando expostas à solução salina balanceada de Hank (HBSS), soro fisiológico, solução probiótica de *Lactobacillus reuteri* e leite.<sup>11</sup> Foi observado que todos meios de estocagem apresentaram potencial semelhante na preservação da vitalidade do ligamento periodontal.<sup>11</sup> Continuando a linha de pesquisa, Caglar e colaboradores (2015) avaliaram o iogurte probiótico de *Bifidobacterium animalis* (DN 173010) e, em semelhança ao estudo anterior, o probiótico foi considerado um meio de estocagem efetivo e promissor.<sup>12</sup> No entanto, o método utilizado possui limitações que necessitam ser superados com outros estudos.<sup>11,12</sup>

Outro passo a ser considerado no tratamento do dente avulsionado antes do reimplante é o tratamento de superfície.<sup>2,13</sup> Algumas substâncias foram estudadas e indicadas para esse fim, especialmente o fluoreto de sódio.<sup>13</sup> No entanto a literatura atual é controversa sobre a realização ou não do tratamento de superfície e o guia de 2019 da Associação Internaciona de Traumatologia Dentária aponta para apenas para a remoção de debris e contaminação visível por meio de agitação ativa do dente no meio de estocagem fisiológico ou com uma gaze embebida em soro.<sup>2</sup> Não obstante, consequencias danosas são relatadas em decorrência do reimplante e deve-se pensar em formas de superá-las. Dentro desse contexto, recentemente, a fotobiomodulação foi sugerida para esse fim pois as reações bioquímicas alteram o metabolismo celular resultando em estimulação do reparo tecidual com benefícios antiálgico, anti-inflamatório e regenerativo.<sup>14,15</sup>

Em estudos prévios, a fotobiomodulação apresentou baixas taxas de reabsorção radicular inflamatória externa, anquilose e inflamação demonstrados.<sup>14,16</sup> de Carvalho e colaboradores (2016) extraíram dentes de ratos e, antes do reimplante, os irradiaram a laser das superfícies radiculares e entrada do alvéolo ( $k = 780$  nm;  $P = 70$  mW;  $DE = 21$  J / cm<sup>2</sup>).

Foram observados efeitos biomodulativos positivos no reparo alveolar e nenhuma reabsorção inflamatória da raiz após 60 dias.<sup>14</sup> Em 2017, de Santana e colaboradores avaliaram o efeito da fototerapia a laser ( $\lambda$  780 nm) reparadora na polpa dentária dentes de ratos avulsionados e reimplantados e foi constatado um aumento na espessura da camada de dentina reacional, além de polpa dentária celular e vascularizada, sem sinal de inflamação.<sup>16</sup>

Em função das características promissoras desses dois tratamentos (probiótico e fotobiomodulação), a hipótese testada no presente estudo é que a associação deles pode ser benéfica e superior ao leite, a fim de aumentar as taxas de sucesso após o reimplante dentário, e esses dados são inéditos na literatura atual. Dessa forma, o propósito deste estudo foi avaliar a associação da fotobiomodulação para o tratamento da superfície e uso de probióticos como meio de estocagem no processo de reparo dos tecidos dentais após o reimplante tardio.

## 2 MATERIAL E MÉTODO

### *Princípios éticos na pesquisa*

A pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE, sob protocolo de número 5811, respeitandose os princípios éticos da experimentação animal estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal, o guia ARRIVE (Animal Research: Reporting of in vivo Experiments) e a legislação em vigor.

### *Animais*

Cinquenta ratos machos (*Rattus norvegicus albinus*, Wistar) com o peso variando entre 250 e 300g foram divididos em 5 grupos com 10 animais por grupo. Os ratos foram adquiridos e mantidos no biotério central da Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE, Presidente Prudente, São Paulo, Brasil).

Antes e após o procedimento cirúrgico os animais receberam ração sólida (Ração Ativada Produtor-Anderson & Clayton S. A.) e água *ad libitum*. No período de jejum (1 hora) que antecedeu o procedimento cirúrgico, os animais foram mantidos apenas com água.

### *Exodontia - procedimento cirúrgico simulando a avulsão dentária*

Para o procedimento cirúrgico nos animais, foi administrado por via intramuscular Cloridrato de Xilazina (Coopazine – Coopers Brasil Ltda, Cotia, SP, Brasil) e Cloridrato de Cetamina (Vetaset - Fort Dodge, São Paulo, SP, Brasil) nas dosagens de 0,05mg e 0,075mg para cada 100g de peso corporal, respectivamente, para a obtenção do efeito anestésico.

Uma vez imobilizado o animal, realizou-se a anti-sepsia da porção anterior da maxila com PVPI (Riodeine – Ind. Farmac Rioquímica Ltda), sindesmotomia, luxação e extração do incisivo superior direito com auxílio de instrumental especialmente adaptado.

Os dentes foram divididos de forma aleatória em 5 grupos. Grupo Controle, no qual os dentes extraídos permaneceram imersos em soro fisiológico por 30 minutos. Grupo Probiótico no qual os dentes foram extraídos e imersos em Probiótico *Bifidumbacterium HN019* por 30 minutos. Grupo LLLT no qual os dentes extraídos e imersos em soro fisiológico por 30 minutos e, após esse período, os dentes foram fotobiomodulados. Grupo Probiótico + LLLT no qual os dentes extraídos e estocados em probiótico *Bifidumbacterium HN019* por 30

minutos e, após esse período, os dentes foram fotobiomodulados. Grupo Leite no qual os dentes extraídos foram imersos em leite por 30 minutos.

### *Fotobiomodulação*

Para os grupos que foram irradiados com o laser, utilizou-se o seguinte protocolo:<sup>14</sup> as superfícies radiculares mesiais e distais com a ponta posicionada a 3,5cm de distância da superfície a ser irradiada foram tratadas com laser de diodo de onda contínua com arseniato de gálio-alumínio (GaAlAr) emitido a 780 nm (luz visível), 70 mW de potência de saída pelo modo de ondas contínuas, com 8,4 j/cm<sup>2</sup> de densidade de energia (fluência) por ponto e, portanto, 16,8 j/cm<sup>2</sup> de densidade de energia (fluência) por sessão e com um tempo total de irradiação de 320s. As feridas alveolares também foram tratadas com um laser de diodo de onda contínua com arseniato de gálio-alumínio (GaAlAr) emitido a 780 nm (luz visível), 70 mW de potência de saída pelo modo de ondas contínuas, com 4,2 j/cm<sup>2</sup> de fluência por ponto/sessão e com um tempo total de irradiação de 60s. A irradiação foi realizada em uma única aplicação pontual no modo de contato no terço médio da superfície palatina da ferida alveolar.

### *Tratamento endodontico*

Na sequência realizou-se a remoção da papila dentária com uma lâmina de bisturi #15c (Swann Morton, Sheffield, no Reino Unido) e a limpeza do canal radicular via retrógrada com o auxílio das limas tipo flexofile #15, #20 e #25 (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça), a irrigação abundante do canal radicular com solução salina e a colocação da pasta de hidróxido de cálcio manipulada manualmente com propilenoglicol.

### *Reimplante dentário*

Após o cumprimento desses passos os dentes foram reimplantados em seus respectivos alvéolos e não houve a necessidade de colocação de esplintagem flexível (16). Após o reimplante, todos os animais receberam dose única de 20.000 UI de penicilina G benzatina (Fontoura Weyth) por via intramuscular e 3mg/kg de Cloridrato de Tramadol (Tramal, Laboratórios Pfizer LTDA, Guarulhos, São Paulo, Brasil) por 3 dias.

### *Eutanásia e preparação das peças para análise*

Sessenta dias após o reimplante, os animais foram submetidos à eutanásia por meio da sobre dose anestésica de Tiopental Sódico (Syntec, USA) na dosagem de 100150mg/Kg para cada animal na cavidade peritoneal. A maxila direita contendo o dente reimplantado foi separada da esquerda na linha mediana usando-se um escaravelho. Um corte na porção distal do 3º molar possibilitou a obtenção do espécime, que foi fixado em solução de formalina neutro a 4% (Merck, São Paulo, Brasil) por sete dias; lavado em água corrente por 24 horas e descalcificado com solução de EDTA à 10% com pH 7,0 (Titriplex III, Merck, São Paulo, Brasil). Após a descalcificação, realizou-se a macroscopia das peças com o objetivo de orientar de forma a obter cortes no sentido longitudinal e as peças foram imersas em parafina. Três cortes longitudinais semiseriados de 4µm de espessura foram corados com Hematoxilina e Eosina para a análise histomorfológica. Os cortes foram avaliados e o corte que continha toda a extensão radicular e a cavidade pulpar, bem como a coroa foi selecionado para a análise.

Mais três cortes longitudinais semi-seriados de 4µm de espessura foram corados com coloração de vermelho Picrosírus. Os cortes histológicos após deparafinadas, foram hidratadas e imersas em solução de sirius F3BA em ácido pícrico aquoso por 1 hora. As secções coradas foram lavadas em dois banhos de solução de ácido acético a 0,5% por 1 minuto. Após desidratação, as secções protegidas com meio de montagem e lamínula de vidro.

### *Avaliação histológica*

A análise microscópica foi realizada com o auxílio de microscópio óptico (Olympus CX31- Tokyo-Japan) por um avaliador calibrado. Foram avaliadas as características do ligamento periodontal, o osso alveolar, cimento e dentina do terço médio e apical da região palatina.<sup>17</sup> Na região cervical, foram avaliados apenas os eventos histológicos inserção epitelial e intensidade do processo inflamatório, devido ao trauma causado pelo processo de extração dentária.<sup>17</sup> As imagens foram digitalizadas e analisadas com o auxílio do programa Leica Las Interactive Measurements (Série Las 13870, Leica Mikrosysteme Vertrieb GMBH – DSA, Alemanha).

Um escore de 1 a 4 foi atribuído para a inserção epitelial, organização do ligamento periodontal, reabsorção radicular, reparo radicular, reabsorção óssea e anquilose.<sup>17</sup> O escore 1 representa o melhor resultado, os escores 2 e 3 ocupam a posição intermediária e o escore 4

representa o pior resultado. A avaliação foi descrita no trabalho de Correa e colaboradores em 2017.<sup>17</sup>

Para avaliação da inserção epitelial, os escores foram os seguintes: 1- junção cimento-esmalte; 2- abaixo da junção cimento-esmalte; 3- bem abaixo da junção cimento-esmalte (perto do terço médio da raiz); e 4- ausência de epitélio juncional.

A intensidade do processo inflamatório foi baseado no critério descrito por Wolfson and Seltzer em 1975. 1- ausência ou presença ocasional de células inflamatórias; 2- pequeno número de células inflamatórias (até 10 células por campo com uma amplificação de 400x); 3- número moderado de células inflamatórias (de 11 à 15 células por campo com uma amplificação de 400x); e 4- grande número de células inflamatórias (>50 células por campo com uma amplificação de 400x).

Os escores para a extensão do processo inflamatório atribuídos da seguinte forma: 1- ausência ou presença ocasional de células inflamatórias; 2- processo inflamatório restrito ao tecido conjuntivo da parte interna do epitélio; 3- processo inflamatório que se estende apicalmente a uma pequena porção do tecido conjuntivo subjacente ao tecido conjuntivo da porção interna do epitélio gengival; e 4- processo inflamatório atingindo a proximidade da crista óssea alveolar.

Para a organização do ligamento periodontal, os escores foram os seguintes: 1- fibras periodontais inseridas no osso e no cimento ao longo de todo o comprimento do ligamento; 2- fibras periodontais inseridas no osso e no cimento por 2/3 do comprimento do ligamento; 3- fibras periodontais inseridas no osso e no cimento por 1/3 do comprimento do ligamento; e 4- ausência de fibras do ligamento periodontal inserida no osso e no cimento.

Os mesmos critérios empregados para a área de inserção epitelial foram utilizados para a intensidade do processo inflamatório do ligamento periodontal. A extensão do processo inflamatório no ligamento periodontal foi atribuída de acordo com os escores: 1- ausência ou presença ocasional de células inflamatórias; 2- processo inflamatório somente na porção apical ou coronária do ligamento periodontal ou pequena área lateral; 3- processo inflamatório que afeta mais de 1/2 do ligamento periodontal lateral da raiz do dente; e 4 - processo inflamatório que afeta todo o ligamento periodontal.

Os escores atribuídos para reabsorções radiculares ativas ou inativas foram: 1- ausência de reabsorção radicular ou reabsorção reparada; 2- áreas de reabsorção inativa (ausência de células clásticas); 3- pequenas áreas de reabsorção ativa; e 4- áreas extensas de reabsorção ativa.

Reparo em áreas de reabsorção radicular foi pontuado em escores da seguinte forma: 1- ausência de reabsorção ou deposição de cimento recém formado em todas as áreas de reabsorção; 2- deposição de cimento recém formado em 1/2 ou mais das áreas de reabsorção; 3- deposição de cimento recém formado em menos de 1/2 das áreas de reabsorção; e 4- ausência de deposição de cimento recém formado nas áreas de reabsorção.

Para áreas de reabsorção óssea ativa e inativa, utilizou-se o seguinte sistema de escores: 1- ausência de área de reabsorção; 2- área de reabsorção inativa (ausência de células clásticas); 3- pequenas áreas de reabsorção ativa; e 4- áreas extensas de reabsorção ativa.

Os escores atribuídos para o perímetro das áreas anquilosas foram: 1- ausência de anquilose; 2- pequenas áreas de anquilose; 3- 1/3 da raiz anquilosada; e 4- 2/3 da raiz anquilosada.

As medidas da extensão das áreas de reabsorção radicular realizadas circundando-se todas as áreas reabosrvidas presentes na extensão radicular nos cortes histológicos no aumento de 40x e medidas em  $\mu^2$ .

#### *Avaliação histoquímica*

As lâminas histológicas foram analisadas sob microscopia de luz polarizada. Para isso, uma imagem da região palatina dos dentes foi capturada por meio de uma câmera digital acoplada ao microscópio (Leica ICC50 HD) na magnificação de 4 $\times$  e imagens dos terços cervical, médio e apical foram capturadas na magnificação de 40 $\times$ . O software ImageJ (ImageJ—National Institutes of Health) foi utilizado. Foi realizada a seleção da área de interesse e por meio da função “RGB Measure” conseguiu-se identificar valores para a cor vermelha (R), verde (G), e azul (B). Os valores do verde foram usados para calcular a porcentagem de fibras colágenas maduras e os valores de verde para as imaturas. A avaliação com o vermelho Picrosirius foi descrita no trabalho de Santinoni e colaboradores em 2020.<sup>18</sup>

#### *Análise estatística*

Os testes de normalidade e homogeneidade das variancias foram verificadas. Para os parâmetros histomorfométricos, as diferenças entre os grupos foi determinado pelo teste Kruskal-Wallis, seguido do pós-teste Dunn quando o Kruskal-Wallis sugriu uma diferença estatisticamente significante. Para as porcentagens de fibras colágenas maduras e imaturas, as diferenças entre os grupos foi determinada pelo teste ANOVA, seguido do pós-teste Tukey quando o ANOVA sugeriu uma diferença estatisticamente significante entre os grupos.

### 3 RESULTADOS

#### *Inserção epitelial*

Na tabela 1 estão descritos os escores entre os grupos experimentais para a inserção epitelial e a letra E das figuras 2, 3, 4, 5 e 6 são representativas de cada grupo experimental.

No Grupo Controle, a maioria dos espécimes apresentou área de inserção epitelial bem abaixo da junção cemento-esmalte (perto do terço médio da raiz). A maioria dos espécimes apresentou em seu tecido conjuntivo subjacente um intenso infiltrado inflamatório com presença de grande número de células inflamatórias e grande extensão do processo inflamatório atingindo a proximidade da crista óssea alveolar.

Por sua vez, o Grupo Leite teve a maioria das amostras com inserção epitelial na junção cemento-esmalte ou logo abaixo da junção cemento-esmalte. No critério intensidade do infiltrado inflamatório, apresentou um grande infiltrado inflamatório. No entanto, a extensão do infiltrado inflamatório permeou entre estar restrito ao tecido conjuntivo da parte interna do epitélio (4/10), estender-se apicalmente a uma pequena porção do tecido conjuntivo subjacente ao tecido conjuntivo da porção interna do epitélio gengival (3/10) e atingir a proximidade da crista óssea alveolar (3/10).

No Grupo LLTT, houve predomínio da área de inserção bem abaixo da junção cemento-esmalte. A intensidade do processo inflamatório foi representada por um pequeno número de células inflamatórias, sendo restrito ao tecido conjuntivo da parte interna do epitélio.

O Grupo Probiótico apresentou os espécimes com melhor score de todos os grupos em relação a área de inserção epitelial, sendo na junção cemento-esmalte. Em relação a intensidade e extensão do processo inflamatório ambos apresentaram scores altos, que representam intenso número de células infiltradas estendendo-se até a crista óssea.

Por fim o grupo em que houve a associação entre LLTT e Probiótico observouse uma heterogeneidade entre as amostras para o mesmo parâmetro. Em relação a área de inserção, as amostras tiveram scores distribuídos em inserção na junção cemento-esmalte (3/8), logo abaixo da junção (2/8) e bem abaixo da junção (3/8). Intensidade inflamatória em (3/8) pequeno número de células inflamatórias (até 10 células por campo com uma amplificação de 400x); (2/8) número moderado de células inflamatórias (de 11 à 15 células por campo com uma amplificação de 400x); e (3/8) grande número de células inflamatórias (>50 células por

campo com uma amplificação de 400x). A extensão do processo inflamatório restrito ao tecido conjuntivo da parte interna do epitélio (5/8), e processo inflamatório atingindo a proximidade da crista óssea alveolar (3/8) obtendo o perfil mais equilibrado de todos os grupos em relação a inserção epitelial.

#### *Ligamento periodontal*

Na tabela 2 estão descritos os scores entre os grupos experimentais para o ligamento periodontal e a letra E das figuras 2, 3, 4, 5 e 6 são representativas de cada grupo experimental.

Quando avaliada a organização do ligamento periodontal no Grupo Controle, a maioria dos espécimes apresentou inserção das fibras no osso e cimento ao longo de todo o comprimento do dente. Observou-se um intenso infiltrado inflamatório de células em toda a extensão do ligamento periodontal.

No Grupo Leite, houve uma distribuição maior dos espécimes entre os scores, fibras periodontais inseridas no osso e no cimento ao longo de todo o comprimento do ligamento (4/10); fibras periodontais inseridas no osso e no cimento por 2/3 do comprimento do ligamento (1/10); fibras periodontais inseridas no osso e no cimento por 1/3 do comprimento do ligamento (4/10); e ausência de fibras do ligamento periodontal inserida no osso e no cimento (1/10). Houve um intenso infiltrado inflamatório de células em toda a extensão do ligamento periodontal.

Os espécimes do Grupo LLTT apresentaram fibras periodontais inseridas no osso e no cimento ao longo de todo o comprimento do ligamento, intenso infiltrado de células inflamatórias em toda a extensão do ligamento periodontal.

No Grupo Probiótico, as amostras tiveram scores mais distribuídos, fibras periodontais inseridas no osso e no cimento ao longo de todo o comprimento do ligamento (4/10); fibras periodontais inseridas no osso e no cimento por 2/3 do comprimento do ligamento (2/10); fibras periodontais inseridas no osso e no cimento por 1/3 do comprimento do ligamento (1/10). Quanto ao critério infiltrado inflamatório, pequeno número de células inflamatórias (1/10); número moderado de células inflamatórias (5/10); e grande número de células inflamatórias (4/10). Quanto a extensão, ausência ou presença ocasional de células inflamatórias (1/10); processo inflamatório somente na porção apical ou coronária do ligamento periodontal ou pequena área lateral (4/10); processo inflamatório que afeta mais de 1/2 do ligamento periodontal lateral da raiz do dente (2/10); e processo inflamatório que afeta todo o ligamento periodontal (3/10).

No grupo Probiótico + LLLT houve uma concentração de amostras com ligamento em toda extensão do osso e cimento. O infiltrado inflamatório foi moderado e intenso. A extensão do processo inflamatório afetou mais de 1/2 do ligamento periodontal lateral da raiz do dente ou todo o ligamento periodontal.

#### *Reabsorção radicular, reparo, reabsorção óssea e anquilose*

Na tabela 3 estão descritos os scores entre os grupos experimentais com relação à reabsorção radicular, ao reparo, reabsorção óssea e anquilose e a letra E das figuras 2, 3, 4, 5 e 6 são representativas de cada grupo experimental.

No grupo Controle os espécimes apresentaram os scores distribuídos em pequenas áreas de reabsorção ativa e áreas extensas de reabsorção ativa (4/8). Em relação ao quesito reparo das áreas com reabsorção radicular, os espécimes em sua maioria apresentaram ausência de deposição de cimento recém formado nas áreas de reabsorção (6/8). Quanto a reabsorção óssea, observou-se, na sua maioria, ausência de área de reabsorção (6/8), com apenas 2 amostras apresentando pequenas áreas de reabsorção óssea ativa. Houve ausência de anquilose (5/8) na maioria dos espécimes (5/8). Uma amostra apresentou pequenas áreas de anquilose; outra apresentou 1/3 da raiz anquilosada; e, da mesma forma, uma amostra com 2/3 da raiz anquilosada.

O grupo Leite em relação as reabsorções radiculares, assim como o grupo controle houve distribuição das amostras em pequenas áreas de reabsorção ativa (4/10) e áreas extensas de reabsorção ativa (5/10). Apenas uma amostra não apresentou reabsorção radicular. Em relação ao quesito reparo das áreas com reabsorção radicular, os espécimes em sua maioria apresentaram ausência de deposição de cimento recém formado nas áreas de reabsorção (6/10); 2 amostras apresentaram deposição de cimento recém formado em menos de 1/2 das áreas de reabsorção; uma amostra com deposição de cimento recém formado em 1/2 ou mais das áreas de reabsorção e uma amostra com ausência de reabsorção ou deposição de cimento recém formado em todas as áreas de reabsorção. Quanto a reabsorção óssea observou-se ausência de área de reabsorção (4/10), áreas extensas de reabsorção óssea ativa (4/10) e duas amostras com pequenas áreas de reabsorção óssea ativa. Quando analisado o critério anquilose, observou-se ausência de anquilose na maioria das amostras (5/10); duas com 1/3 da raiz anquilosada e quatro com 2/3 da raiz anquilosada.

Espécimes do grupo LLLT, em relação ao quesito reabsorção radicular observouse predomínio de áreas extensas de reabsorção radicular ativa (5/9), no entanto, 2 amostras com pequenas áreas de reabsorção radicular ativa e 2 amostras apresentaram ausência de

reabsorção radicular ou reabsorção reparada. Quanto ao reparo em áreas de reabsorção radicular, foram observados escores da seguinte forma nas amostras: predomínio de ausência de deposição de cimento recém-formado nas áreas de reabsorção (4/9); presença de deposição de cimento recém-formado em menos de 1/2 das áreas de reabsorção (3/9); e ausência de reabsorção ou deposição de cimento recém-formado em todas as áreas de reabsorção. Houve ausência de áreas de reabsorção óssea em todas amostras, exceto uma que apresentou pequenas áreas de reabsorção ativa. Ausência de anquilose na maioria das amostras (6/9); duas com pequenas áreas de anquilose; e apenas uma amostra com 2/3 da raiz anquilosada.

No grupo probiótico, os espécimes apresentaram maior concentração de pequenas áreas de reabsorção ativa (4/10); e áreas extensas de reabsorção ativa (4/10). Apenas uma amostra teve ausência de reabsorção radicular e outra com áreas de reabsorção inativa (ausência de células clásticas). Quanto ao reparo, houve predomínio do score 4 (6/10) e score 3 (3/10); apenas uma amostra com score 2. Apresentaram ausência de área de reabsorção óssea (8/10) na maioria das amostras; pequenas áreas de reabsorção ativa em uma amostra e áreas extensas de reabsorção ativa em outra. Os espécimes apresentaram ausência de anquilose (6/10); pequenas áreas de anquilose (3/10); 1/3 da raiz anquilosada (1/10).

O grupo LLLT + Probiótico apresentou as amostras com áreas extensas de reabsorção radicular ativa (7/8) e uma amostra com pequena área com reabsorção ativa, além de ausência de deposição de cimento recém-formado nas áreas de reabsorção (7/8) e apenas um espécime com deposição de cimento recém-formado em menos de 1/2 das áreas de reabsorção. Houve ausência de área de reabsorção óssea em suas amostras. Em relação a anquilose das raízes houve ausência de anquilose (4/8); pequenas áreas de anquilose (1/8); 1/3 da raiz anquilosada (3/8).

TABLE 1: Numeric values of epithelial insertion and scores in five experimental groups

Groups	Control				Milk				LLLT				Probiotics				LLLT+Probiotics			
Scores	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
<b>Histomorphological events</b>																				
<i>Epithelial insertion</i>																				
Area (insertion site)	0/8	2/8	6/8	0/8	6/10	4/10	0/10	0/10	2/9	1/9	6/9	0/9	8/10	1/10	1/10	0/10	3/8	2/8	3/8	0/8
Intensity of inflammatory infiltrate	0/8	0/8	1/8	7/8	0/10	0/10	2/10	8/10	0/9	7/9	2/9	0/9	2//10	0/10	1/10	7/10	0/8	3/8	2/8	3/8
Extent of inflammatory infiltrate	0/8	0/8	2/8	6/8	0/10	4/10	3/10	3/10	0/9	7/9	2/9	0/9	1/10	2/10	0/10	7/10	0/8	5/8	0/8	3/8

TABLE 2: Numeric values of periodontal ligament and scores in five experimental groups

<b>Groups</b>	<b>Control</b>				<b>Milk</b>				<b>LLLT</b>				<b>Probiotics</b>				<b>LLLT+Probiotics</b>			
<b>Scores</b>	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
<b>Histomorphological events</b>																				
<i>Periodontal ligament</i>																				
Organization	7/8	0/8	1/8	0/8	4/10	1/10	4/10	1/10	8/9	0/9	1/9	0/9	4/10	2/10	3/10	1/10	7/8	1/8	0/8	0/8
Intensity of inflammatory infiltrate	0/8	0/8	0/8	8/8	0/10	0/10	0/10	10/10	0/9	1/9	2/9	6/9	0/10	1/10	5/10	4/10	0/8	0/8	4/8	4/8
Extent of inflammatory infiltrate	0/8	0/8	0/8	8/8	0/10	1/10	2/10	7/10	0/9	1/9	1/9	7/9	1/10	4/10	2/10	3/10	0/8	0/8	4/8	4/8

TABLE 3: Numeric values of root resorption, bone resorption, and ankylosis in five experimental groups

Groups	Control				Milk				LLLT				Probiotics				LLLT+Probiotics			
Scores	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
<b>Histomorphological events</b>																				
Active and inactive root resorption	0/8	0/8	4/8	4/8	1/10	0/10	4/10	5/10	2/9	0/9	2/9	5/9	1/10	1/10	4/10	4/10	0/8	0/8	1/8	7/8
Repair of root resorption	0/8	2/8	0/8	6/8	1/10	1/10	2/10	6/10	2/9	0/9	3/9	4/9	0/10	1/10	3/10	6/10	0/8	0/8	1/8	7/8
Bone tissue resorption	6/8	0/8	2/8	0/8	4/10	0/10	2/10	4/10	8/9	0/9	1/9	0/9	8/10	0/10	1/10	1/10	8/8	0/8	0/8	0/8
Bone tissue ankylosis	5/8	1/8	1/8	1/8	5/10	3/10	2/10	0/10	6/9	2/9	0/9	1/9	6/10	3/10	1/10	0/10	4/8	1/8	3/8	<u>0/8</u>

### Área de reabsorção radicular

Na figura 1 está representada a área de reabosrção radicular em  $\mu^2$ . Foram somadas todas as áreas de reabsorção no mesmo dente avaliado e foi feita uma média por grupo. Após análise estatística, não foram observadas diferenças significantes entre os grupos avaliados.

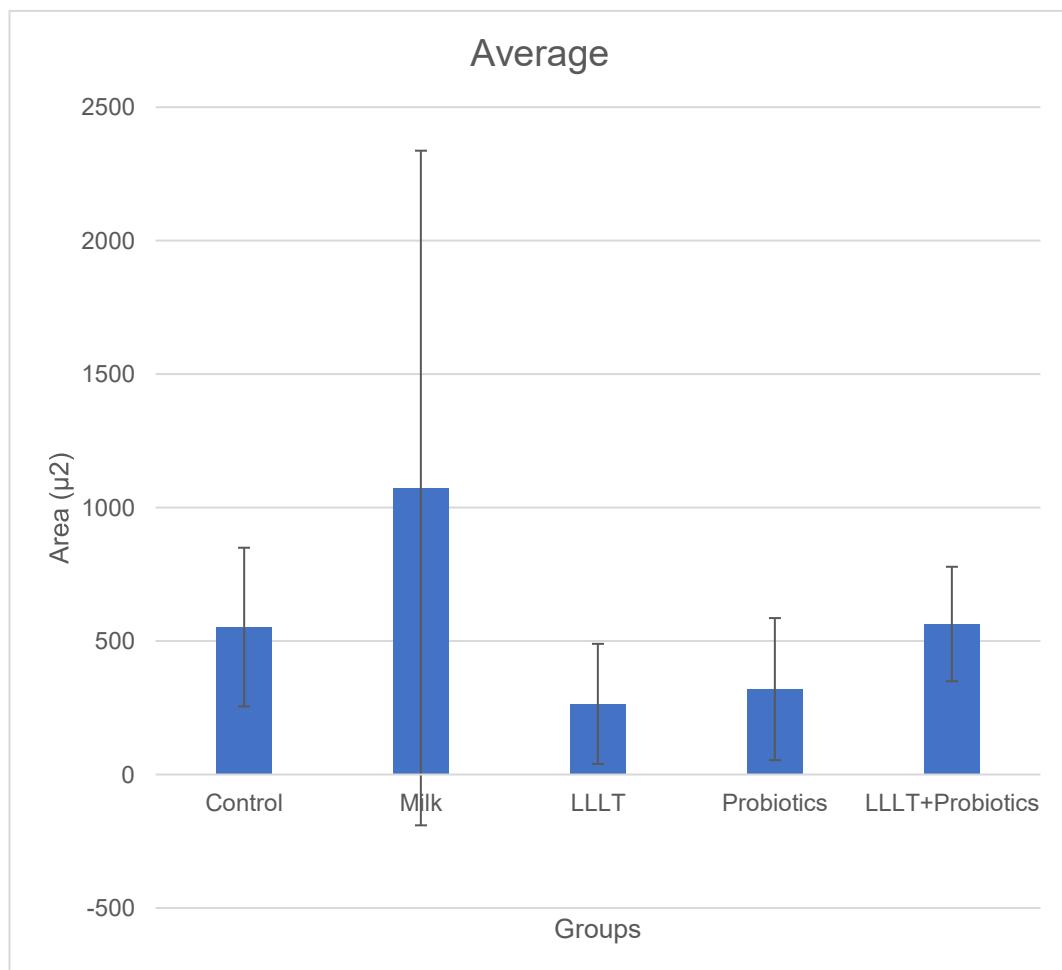


Figura 1. Média e desvio padrão da área de reabsorção radicular por grupo avaliado.

### *Fibras colágenas maduras e imaturas*

Na tabela 4, estão descritos os resultados das porcentagens de fibras colágenas maduras e imaturas e as figuras 2, 3, 4, 5 e 6 são representativas de cada grupo experimental de forma geral (A) e para os terços cervical (B), médio (C) e apical (D). Ao avaliar a porção palatina em menor aumento, não houve diferenças estatisticamente significativas entre todos os grupos, apesar de haver uma tendência do grupo leite dispor de menor quantidade de fibras colágenas maduras do que os demais grupos. Esse resultado corrobora quando analisados os terços cervical, médio e apical.

Quando comparadas as quantidades de fibras colágenas maduras e imaturas, houve diferença estatisticamente significante independente do terço radicular avaliado, sendo que há uma quantidade maior de fibras colágenas maduras quando comparado com as imaturas ( $p<0.05$ ).

TABLE 4: Percentage of mature and immature collagen fibers from each group in general and in cervical, middle and apical thirds.

Groups	Negative Control	Milk	LLLT	Probiotics	LLLT+Probiotics
<b>General</b>					
Mature	83.84 ( $\pm 6.05$ )	78.96 ( $\pm 4.59$ )	82.06 ( $\pm 3.55$ )	80.67 ( $\pm 4.65$ )	86.11 ( $\pm 3.31$ )
Immature *	16.16 ( $\pm 6.05$ )	21.04 ( $\pm 4.59$ )	17.94 ( $\pm 3.55$ )	19.33 ( $\pm 4.65$ )	13.89 ( $\pm 3.31$ )
Area	476.56 ( $\pm 528.81$ )	357.41 ( $\pm 93.54$ )	550.66 ( $\pm 217.87$ )	694.98 ( $\pm 467.41$ )	386.63 ( $\pm 115.41$ )
<b>Cervical Third</b>					
Mature	87.94 ( $\pm 5.25$ )	79.75 ( $\pm 7.79$ )	84.88 ( $\pm 7.00$ )	87.08 ( $\pm 3.15$ )	89.58 ( $\pm 3.43$ )
Immature *	12.06 ( $\pm 5.25$ )	20.25 ( $\pm 7.79$ )	15.12 ( $\pm 7.00$ )	12.92 ( $\pm 3.15$ )	10.42 ( $\pm 3.43$ )
Area	1138.63 ( $\pm 232.67$ )	1475.03 ( $\pm 392.36$ )	2156.97 ( $\pm 598.98$ )	2147.40 ( $\pm 489.01$ )	1842.68 ( $\pm 561.79$ )
<b>Middle Third</b>					
Mature	89.08 ( $\pm 8.42$ )	83.93 ( $\pm 5.72$ )	87.86 ( $\pm 3.28$ )	84.29 ( $\pm 6.04$ )	91.33 ( $\pm 5.12$ )
Immature *	10.92 ( $\pm 8.42$ )	16.07 ( $\pm 5.72$ )	12.14 ( $\pm 3.28$ )	15.71 ( $\pm 6.04$ )	8.67 ( $\pm 5.12$ )
Area	1146.05 ( $\pm 335.04$ )	1211.63 ( $\pm 198.25$ )	1604.57 ( $\pm 435.61$ )	1773.91 ( $\pm 511.07$ )	1487.59 ( $\pm 573.58$ )
<b>Apical Third</b>					
Mature	87.73 ( $\pm 3.07$ )	85.96 ( $\pm 4.72$ )	85.23 ( $\pm 2.29$ )	84.04 ( $\pm 6.75$ )	88.92 ( $\pm 4.36$ )
Immature *	12.27 ( $\pm 3.07$ )	14.04 ( $\pm 4.72$ )	14.77 ( $\pm 2.29$ )	15.96 ( $\pm 6.75$ )	11.08 ( $\pm 4.36$ )
Area	1032.74 ( $\pm 425.11$ )	198.26 ( $\pm 355.83$ )	1660.62 ( $\pm 408.14$ )	1877.86 ( $\pm 621.05$ )	1175.04 ( $\pm 248.81$ )

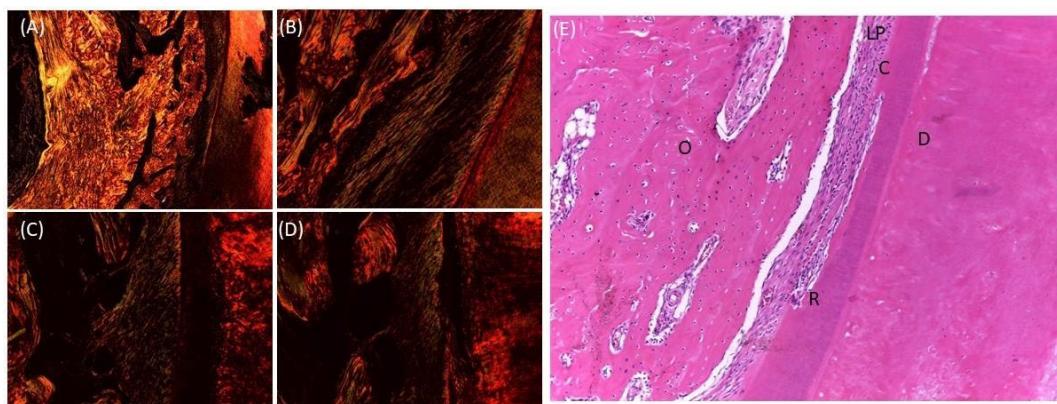


Figura 2: Grupo Controle. A, Vermelho picosirius na magnificação de 20x. Vermelho picosirius na magnificação de 40x na cervical (B), médio (C) e apical (D). E, H.E. na magnificação de 20x, ligamento periodontal (LP), integridade da camada de cimento (C), dentina (D), reabsorção radicular (R) e osso alveolar (O).

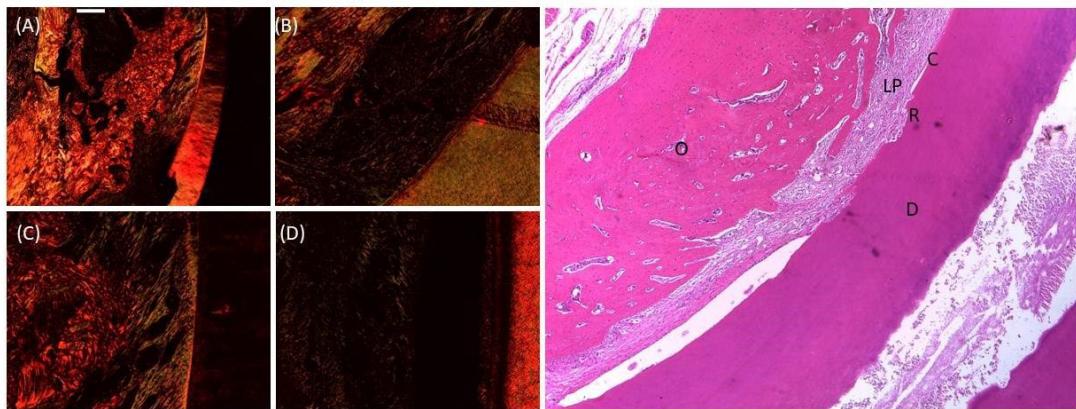


Figura 3: Grupo Leite. A, Vermelho picrosírus na magnificação de 20x. Vermelho picrosírus na magnificação de 40x na cervical (B), médio (C) e apical (D). E, H.E. na magnificação de 20x, ligamento periodontal (LP), integridade da camada de cemento (C), dentina (D), reabsorção radicular (R) e osso alveolar (O).

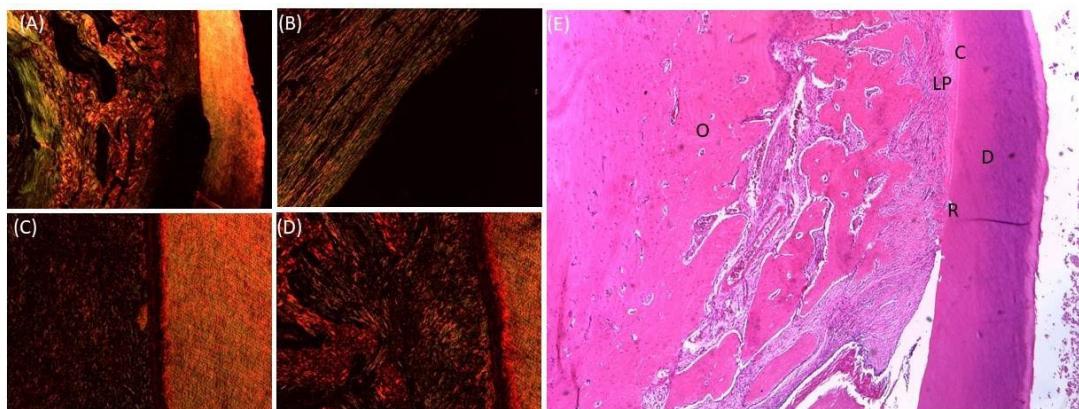


Figura 4: Grupo LLLT. A, Vermelho picrosírus na magnificação de 20x. Vermelho picrosírus na magnificação de 40x na cervical (B), médio (C) e apical (D). E, H.E. na magnificação de 20x, ligamento periodontal (LP), integridade da camada de cemento (C), dentina (D), reabsorção radicular (R) e osso alveolar (O).

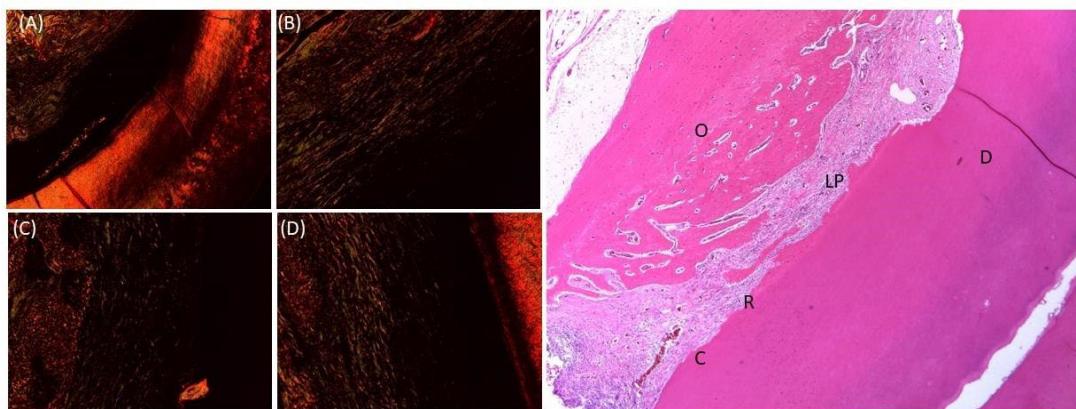


Figura 5: Grupo Probiótico. A, Vermelho picrosírus na magnificação de 20x. Vermelho picrosírus na magnificação de 40x na cervical (B), médio (C) e apical (D). E, H.E. na magnificação de 20x, ligamento periodontal (LP), integridade da camada de cimento (C), dentina (D), reabsorção radicular (R) e osso alveolar (O).

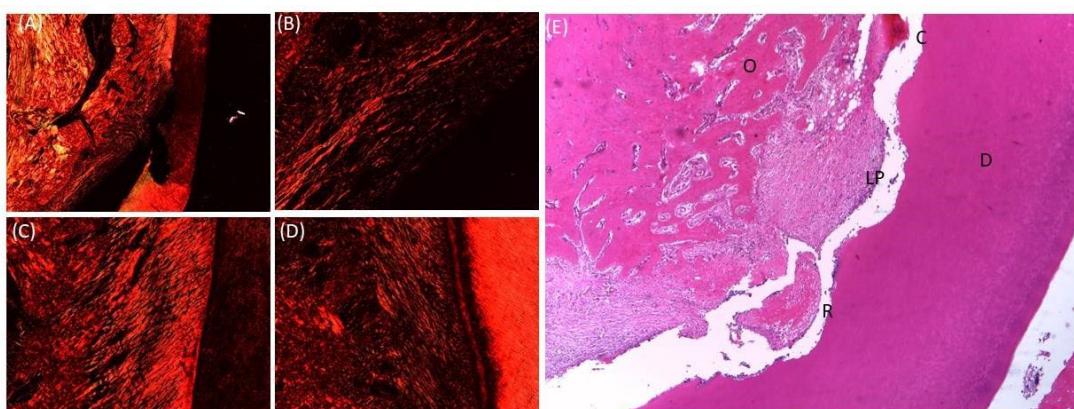


Figura 6: Grupo LLLT+Probiótico. A, Vermelho picrosírus na magnificação de 20x. Vermelho picrosírus na magnificação de 40x na cervical (B), médio (C) e apical (D). E, H.E. na magnificação de 20x, ligamento periodontal (LP), integridade da camada de cimento (C), dentina (D), reabsorção radicular (R) e osso alveolar (O).

#### *Análise estatística*

A tabela 5 apresenta os valores de p obtidos pelo teste estatístico Kruskal-Wallis para a comparação entre os grupos e os grupos que se diferiram estatisticamente. O teste Kruskal-Wallis demonstrou diferença estatisticamente significante relacionado às análises do ligamento periodontal e a reabsorção óssea, porém essas diferenças perderam a significância quando o pós-teste de Dunn foi aplicado.

TABLE 5: Results of Kruskal -Wallis test for comparisons of five groups

Histological event	P-value	Statistically significant difference	Groups with difference after Dunn's test
Epithelial insertion-Area (insertion site)	0.001	*	CONTROL vs PROBIOTICS CONTROL vs MILK
Epithelial insertion-Intensity of inflammatory infiltrate	0.001	*	LLLT vs CONTROL LLLT vs MILK
Epithelial insertion-Extent of inflammatory infiltrate	0.013	*	LLLT vs CONTROL
Periodontal ligament-Organization	0.022	*	Statistical test did not permit indication of which groups differed
Periodontal ligament-Intensity of inflammatory infiltrate	0.011	*	Statistical test did not permit indication of which groups differed
Periodontal ligament-Extent of inflammatory infiltrate	0.016	*	Statistical test did not permit indication of which groups differed
Tooth root-resorption	0.335		
Tooth root-repair	0.41		
Bone tissue-resorption	0.023	*	Statistical test did not permit indication of which groups differed
Bone tissue-ankylosis	0.916		
Area root resorption	0.18		

#### 4 DISCUSSÃO

Até o conhecimento atual esse é o primeiro trabalho que avaliou o processo de reparo após a avulsão simulada em dentes murinos e tratados com a associação do probiótico e fotobiomodulação. Com base nos resultados constatou-se que essa associação foi positiva e possuiu uma performance semelhante ao grupo leite em relação aos parâmetros histológicos de local de inserção epitelial, extensão e intensidade do processo inflamatório, organização do ligamento periodontal, reabsorção radicular, óssea e anquilose passados 60 dias da cirurgia. Além disso, na análise histoquímica, a porcentagem de fibras colágenas maduras foi muito maior que as imaturas em todos os terços avaliados, sendo semelhante entre todos os grupos. Dessa forma, pode-se negar a hipótese testada visto que houve similaridade entre o grupo testado com o grupo leite, recomendado pela Associação Internacional de Traumatismo Dentário.

Enquanto a organização do ligamento periodontal, o grupo LLLT + Probiótico apresentou exibiam fibras periodontais inseridas no osso e cimento em todo o comprimento do ligamento periodontal. Isso ocorreu de forma muito semelhante no grupo LLLT, enquanto que no grupo leite alguns espécimes não tiveram essa inserção. Estudos prévios relatam a esses resultados do leite.<sup>17,19,20</sup>

Em relação à intensidade e extensão da inflamação aguda no ligamento periodontal, todos os grupos tiveram uma grande quantidade de infiltrado inflamatório, no entanto os grupos LLLT + Probiótico e LLLT houve uma tendência de redução na severidade e extensão dos mesmos. Os achados descritos anteriormente apontam para a redução da inflamação com o passar do tempo após o reimplante, sendo que o reimplante imediato oferece um prognóstico mais favorável devido à manutenção das células do ligamento periodontal que estão aderidas ao cimento.<sup>19-21</sup>

A extensão e a profundidade da reabsorção foram semelhantes entre os grupos, todos os grupos tiveram predomínio de extensas áreas de reabsorção e não apresentaram, de maneira geral, áreas de reparo. Na literatura está descrita a capacidade do leite integral oferecer resultados mais favoráveis quanto à reabsorção radicular, principalmente no que diz respeito à reabsorção inflamatória.<sup>19-22</sup>

Por meio da análise histoquímica, a quantidade de fibras colágenas maduras foi expressivamente maior do que as imaturas para todos os grupos; no entanto não houve diferença quando comparados os diferentes grupos. O grupo leite apresentou uma ligeira tendência de apresentar menor quantidade de fibras maduras.

A avulsão dentária é um processo traumático de deslocamento do dente para fora do alvéolo, o reimplante dentário imediato é o tratamento de escolha e apresenta prognóstico favorável de sobrevida do dente.<sup>7,14,23</sup> No entanto, na maioria dos casos isso não é possível e o reimplante tardio é realizado. Com o intuito de melhorar o prognóstico do dente e evitar reabsorções radiculares e anquilose e consequente perda dentária , o meio de armazenamento dental é um fator significante e que pode afetar a longo prazo o resultado do reimplante.<sup>7,14,23</sup>

Os meios de conservação do dente avulsionado, são de suma importância, atualmente na literatura tem-se preconizado a utilização de leite como meio de estocagem e, controversamente, o fluoreto vem sendo usado como tratamento de superfície anterior ao reimplante para manter a vitalidade das células do ligamento periodontal e diminuir a quantidade de reabsorções e anquilose dos dentes reimplantados.<sup>1-4,6-8</sup> No entanto, esses meios de conservação apresentam vantagens e desvantagens, sendo necessários mais estudos para encontrar um meio mais efetivo na preservação das estruturas dentárias pôstrauma.<sup>1-4,6-8</sup>

Tratamentos alternativos vem sendo estudados no intuito de reduzir a ocorrência de reabsorções e é o caso do tratamento de superfície dentária com a fotobiomodulação.<sup>2427</sup> A laserterapia de baixa potência (LLLT) tem efeito analgésico, anti-inflamatório e de bioestimulação, além de promover a regeneração de tecidos danificados.<sup>28-31</sup> O LLLT acelera o processo de cicatrização de tecidos duros e moles pela estimulação da vasodilatação e aumento do fluxo sanguíneo e a quantidade de oxigênio, provocando a migração de linfócitos, relaxamento dos músculos lisos do endotélio e síntese de colágeno.<sup>14,32</sup>

Carvalho e colaboradores (2016) realizaram experimentos em dentes avulsionados de ratos e que posteriormente foram reimplantados. Foram avaliados e comparados os seguintes tratamentos: dente mantido seco, leite como meio de estocagem, leite como meio de estocagem seguido de irradiação a laser da superfície radicular e entrada do alvéolo e um grupo, além de manter o dente no leite, irradiar a raiz e o alvéolo antes do reimplante, foi irradiado laser na mucosa bucal e palatina a cada 48 horas por 15 dias. Os resultados histológicos mostraram a manutenção em leite e o tratamento com laser prévio ao reimplante manteve o dente sem inflamação e reabsorção radicular inflamatória externa até o 60º dia. Dessa forma, concluíram que o uso da fototerapia a laser na superfície radicular e na entrada do alvéolo antes do reimplante teve um efeito biomodulativo positivo no reparo alveolar após o reimplante dentário em ratos.<sup>14</sup>

As diferenças da metodologia do presente estudo e do estudo de Carvalho e

colaboradores (2016) podem contribuir para os diferentes resultados dos grupos que foram irradiados com laser. Assim, pode-se citar a dessemelhança em relação emissão de luz, que foi de k780nm, totalizando 67,2J/cm<sup>2</sup> no de Carvalho e colaboradores e neste estudo foi de 660nm, com total de 4J de energia.<sup>14</sup> Além disso, neste estudo foi realizado apenas uma aplicação pontual de emissão continua ao longo do eixo da raiz e outra no terço médio da superfície palatina da ferida alveolar. No de Carvalho et. Al. foi realizado a irradiação de laser na superfície mesial e distal em uma distância de 3,5cm.<sup>14</sup> Outrossim, neste estudo a avaliação é realizada no 60º dia do experimento e no de Carvalho et. Al (2016) é realizado no 15º, 30º e alguns no 60º dia do procedimento.

De Santana e colaboradores (2017) também avaliaram o efeito de reparação do laser na polpa dentária de dentes avulsionados e reimplantados de ratos. Nos dentes não traumatizados e não irradiados no 8º e 30º detectou-se ausência de inflamação, todavia a polpa dentária apresentava mal aspecto, sendo muito celular e vascularizada.<sup>16</sup> Nos dentes traumatizados e não irradiados no 8º dia observou-se polpa dentária muito celular e com vários vasos dilatados e, após 30 dias, verificou-se que a polpa dentária apresentava melhor aspecto, muitas células e vasos sanguíneos.<sup>16</sup> Em duas amostras constataram a presença de degenerações na polpa, redução de células e deposição de matriz.<sup>16</sup> No 8º e 30º dias dos dentes não traumatizados e tratados com laser, a polpa apresentou-se com grande quantidade de células e com tecido conjuntivo bastante vascularizado.<sup>16</sup> Nos dentes que foram submetidos a extrusão e posteriormente irradiados com laser, no 8º e 30º dia a polpa se mostrava de forma saudável, muito celular, vascularizada e sem sinais de inflamação.<sup>16</sup>

Os resultados de Santana e colaboradores (2017) corroboraram com este estudo, apesar da metodologia distinta. Segundo eles, a análise histomorfométrica não obteve diferenças estatisticamente significantes entre os grupos estudados, concluindo que o laser afeta apenas ligeiramente o reparo da polpa.<sup>16</sup> Uma das possibilidades para a diferença de resultados entre esse estudo e o de Santana e colaboradores em comparação com os demais, pode ser devido a quantidade de energia entregue ao tecido (4,2J/cm) ser excessiva ou insuficiente para ter o efeito desejado ou em relação a escolha do protocolo de aplicação do laser, uma vez que existe diferentes registros na literatura e que devem ser estudados com maior aprofundamento.

Os probióticos são suplementos alimentares de microorganismos vivos que possuem a capacidade de colonizar o trato intestinal e produzir substâncias antimicrobianas, secretar imunoglobulina A (IgA) auxiliando na regulação da resposta imune do hospedeiro contra

patógenos, modulam a expressão dos genes do hospedeiro, diminuindo a adesão de patógenos.<sup>33</sup>

Têm sido estudados como meio de estocagem para dentes avulsionados pois os probióticos tem a capacidade de manter a viabilidade das células presentes no ligamento periodontal, permitindo assim, períodos extra-alveolares maiores do elemento dental antes do seu reimplante. Como exemplo, tem-se o estudo de Caglar e colaboradores (2010) que comparou o número de células do ligamento viáveis de dentes avulsos tratados pelas soluções de sal balanceada de Hank (HBSS), soro fisiológico, solução probiótica *L. reuteri* e leite. Todos os meios de armazenamento analisados apresentaram potencial semelhante na preservação da vitalidade do ligamento periodontal.<sup>11</sup> A manutenção destas células, relacionou-se com a interação destas cepas (lactobacilos ou bifidobactérias) com as células do ligamento periodontal, pois as mesmas podem ocupar o espaço em um biofilme que poderia anteriormente ser colonizado com um patógeno. Outro estudo de Caglar e colaboradores (2015), foi avaliado o uso do iogurte probiótico (*Bifidobacterium animalis* DN 173010) como meio de estocagem de dentes avulsionados, comparando com outros meios apresentou resultados semelhantes e promissores, podendo ser uma alternativa como meio de armazenamento temporário para dentes avulsionados, pois manteve um alto número de células viáveis.<sup>12</sup>

Esses resultados prévios descritos na literatura corroboram com os dados encontrados em nosso estudo, no qual não foram observadas diferenças estatísticas entre os grupos experimentais, porém uma boa performance com o uso do probiótico. Dessarte, a associação da fotobiomodulação e probiótico parece ser benéfica e deve ser mais bem estudada para a indicação clínica desses procedimentos. No entanto o presente trabalho apresenta limitações. Estudos futuros podem indicar melhor o processo pelo qual os dentes avulsionados tiveram ao receberem esses tratamentos por meio de avaliação em outros períodos experimentais (7, 15 e 30 dias após o reimplante), bem como a avaliação imuno-histoquímica de proteínas que apontam para reabsorção e reparo ósseo e parâmetros inflamatórios.

Dessa forma, conclui-se que, nos parâmetros estudados, a associação da fotobiomodulação e do probiótico podem ser promissores por apresentarem resultados semelhante ao grupo Leite. No entanto, mais estudos devem ser realizados para suas indicações clínicas.

## REFERÊNCIAS

1. Andreasen JO, Andreasen FM, Avulsions TG. Andreasen. In:Andreasen JO, Andreasen FM, Andersson L, editors: Textbook and color atlas of traumatic injuries to the teeth. Oxford: Wiley Blackwell; 2019. p. 486–520.
2. Fouad AF, Abbott PV, Tsilingaridis G, Cohenca N, Lauridsen E, Bourguignon C, O'Connell A, Flores MT, Day PF, Hicks L, Andreasen JO, Cehreli ZC, Harlamb S, Kahler B, Oginni A, Semper M, Levin L. International Association of Dental Traumatology guidelines for the management of traumatic dental injuries: 2. Avulsion of permanent teeth. *Dent Traumatol*. 2020 Aug;36(4):331-342. doi: 10.1111/edt.12573.
3. Day PF, Duggal M, Nazzal H. Interventions for treating traumatised permanent front teeth: Avulsed (knocked out) and replanted. *Cochrane Database Syst Rev*. 2019;2:CD006542.
4. Wang G, Wang C, Qin M. A retrospective study of survival of 196 replanted permanent teeth in children. *Dent Traumatol*. 2019;35:251–8.
5. Malmgren B, Tsilingaridis G, Malmgren O. Long-term follow up of 103 ankylosed permanent incisors surgically treated with decoronation - a retrospective cohort study. *Dent Traumatol*. 2015;31:184–9.
6. Adnan S, Lone MM, Khan FR, Hussain SM, Nagi SE. Which is the most recommended medium for the storage and transport of avulsed teeth? A systematic review. *Dent Traumatol*. 2018;34:59–70.
7. Longo DL, Fumes AC, Küchler EC, Paula-Silva FWG, Nelson-Filho P, Silva LAB. Efficiency of different storage media for avulsed teeth in animal models: a systematic review. *Dental Traumatol*. 2018; 34:12–19.
8. Poi WR, Sonoda CK, Martins CM, Melo ME, Pellizzer EP, de Mendonça MR, et al. Storage Media For Avulsed Teeth: A Literature Review. *Brazilian Dental Journal*. 2013; 24(5):437-445.
9. Bustamante M, Oomah BD, Mosi-Roa Y, Rubilar M, Burgos-Díaz C. Probiotics as an Adjunct Therapy for the Treatment of Halitosis, Dental Caries and Periodontitis. *Probiotics & Antimicro. Prot*. 2019; 1(10).
10. Seminario-Amez M, López-López J, Estrugo-Devesa A, Ayuso-Montero R, Jané-Salas E. Probiotics and oral health: A systematic review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2017; 22(3): 282-8.

11. Caglar E, Sandalli N, OO Kuscu OO, Durhan MA, Pisirciler R, E Ak Caliskan E, Kargul B. Viability of fibroblasts in a novel probiotic storage media. *Dental Traumatology*. 2010; 26:383–387.
12. Caglar E, Sertac P, Muyesserahu D, Pınar K, Ozgürönder K, Rabia P, et al. A Quantitative Analysis of a Probiotic Storage Media for Avulsed Teeth. *Acta stomatol Croat*. 2015; 49(1):21-26.
13. Zanarotti E, Marcomini EMS, Adabo GL. Protocolos clínicos atuais para os reimplantes dentais tardios. *Robrac*. 2009; 18 (47).
14. de Carvalho FB, Andrade AS, Barbosa AFS, Aguiar MC, Cangussu MCT, Pinheiro ALB, L Ramalho LMP. Evaluation of laser phototherapy ( $\lambda$  780 nm) after dental replantation in rats. *Dental Traumatol*. 2016; 32:488–494.
15. Carroll JD, Milward MR, Cooper PR, Hadis M, Palin WM. Developments in lowlevel lighttherapy(LLLT) for dentistry. *Dent Mater*. 2014; 30(5):465–475.
16. de Santana DA, Fonseca GF , Ramalho LMP, Rodriguez TT, Aguiar MC. Effect of low-level laser therapy ( $\lambda$ 780 nm) on the mechanically damaged dentin-pulp complex in a model of extrusive luxation in rat incisors. *Lasers Med Sci*. 2017; 32(8).
17. Corrêa APS, Ferreira PHSG, Panzarini SR, Sonoda CK, Caliente EA, Poi WR. Histomorphometric analysis of the healing process after the replantation of rat teeth maintained in bovine milk whey and whole milk. *Dent Traumatol*. 2017; 33(6):472-481.
18. Santinoni CS , Silveira FM , Caldeira ML, Genaro V, Martins TM, Amaral CCF, Maia LP, Mori GG, Ervolino E, Pola NM. Alendronato de sódio tópico combinado ou não com terapia fotodinâmica como coadjuvante para raspagem e alisamento radicular: estudo histoquímico e imunohistoquímico em ratos . *J Periodont Res* . 2020 ; 55 : 850 - 858 . <https://doi.org/10.1111/jre.12777>.
19. Moura CC, Soares PB, de Paula Reis MV, Fernandes Neto AJ, Zanetta Barbosa D, Soares CJ. Potential of coconut water and soy milk for use as storage media to preserve the viability of periodontal ligament cells: an in vitro study. *Dent Traumatol*. 2014; 30: 22– 6.
20. Sottovia AD, Sottovia Filho D, Poi WR, Panzarini SR, Luize DS, Sonoda CK. Tooth replantation after use of Euro-Collins solution or bovine milk as storage medium: a histomorphometric analysis in dogs. *J Oral Maxillofac Surg*. 2010; 68: 111– 9.

21. Blomlöf L, Andersson L, Lindskog S, Hedström KG, Hammarström L. Periodontal healing of replanted monkey teeth prevented from drying. *Acta Odontol Scand.* 1983; 41: 117– 23.
22. Silva EJ, Rollemburg CB, de Souza Coutinho-Filho T, Zaia AA. A multiparametric assay to compare the cytotoxicity of soymilk with different storage media. *Dent Traumatol.* 2013; 29: 319– 22.
23. Matos Fde S, Godolphim Fde J, Correia AM, de Albuquerque Júnior RL, Paranhos LR, Rode Sde M, Ribeiro MA. Effect of laser photobiomodulation on the periodontal repair process of replanted teeth. *Dent Traumatol.* 2016 Oct;32(5):402-8. doi: 10.1111/edt.12276.
24. Vilela RG, Gjerde K, Frigo L, Leal Junior ECP, Lopes-Martins RAB, Kleine BM, et al. Histomorphometric analysis of inflammatory response and necrosis in re-implanted central incisor of rats treated with low-level laser therapy. *Lasers Med Sci* 2012;27:551–7.
25. Kinirons MJ, Gregg TA, Welbury RRR, Cole BOI. Variations in the presenting and treatment features in reimplanted permanent incisors in children and their effect on the prevalence of root resorption. *Br Dent J* 2000;189:263–6.
26. Soares AJ, Gomes BPFA, Zaia AA, Ferraz CCR, Souza-Filho FJ. Relationship between clinical–radiographic evaluation and outcome of teeth replantation. *Dent Traumatol* 2008;24:183–8.
27. Hecova H, Tzigkounakis V, Merglova V, Netolicky J. A retrospective study of 889 injured permanent teeth. *Dent Traumatol* 2010;26:466–75.
28. Reddy GK. Photobiological basis and clinical role of lowintensity lasers in biology andmedicine. *J Clin LaserMed Surg.* 2004; 22:141–150
29. Silveira PCL, Streck EL, Pinho RA. Evaluation ofmitochondrial respiratory chain activity in wound healing by low-level laser therapy. *J Photochem Photobiol B.* 2007; 6:279–282
30. Moosavi H, Arjmand N, Ahrari F, Zakeri M, Maleknejad F. Effect of lowlevel laser therapy on tooth sensitivity induced by inoffice bleaching. *Lasers Med Sci.* 2016; 31:713–719
31. Dantas CM, Vivan CL, Ferreira LS, Freitas PM, Marques MM. In vitro effect of low intensity laser on the cytotoxicity produced by substances released by bleaching gel. *Braz Oral Res.* 2010; 24:460–466.

32. Metin R, Tatli U, Evlice B. Effects of low-level laser therapy on soft and hard tissue healing after endodontic surgery. *Lasers Med Sci.* 2018 Nov;33(8):1699-1706. doi: 10.1007/s10103-018-2523-8. Epub 2018 Apr 30.
33. Plaza-Diaz J, Ruiz-Ojeda FJ, Gil-Campos M, Gil A. Mechanisms of Action of Probiotics. *Adv Nutr.* 2019 Jan 1;10(suppl\_1):S49-S66. doi: 10.1093/advances/nmy063. Erratum in: *Adv Nutr.* 2020 Jul 1;11(4):1054.

## ANEXO – NORMAS DENTAL TRAUMATOLOGY

### **Author Guidelines**

#### **Sections 1. SUBMISSION**

Authors should kindly note that submission implies that the content has not been published or submitted for publication elsewhere except as a brief abstract in the proceedings of a scientific meeting or symposium.

**Once the submission materials have been prepared in accordance with the Author Guidelines, manuscripts should be submitted online at <https://mc.manuscriptcentral.com/dt>**

**Click here** for more details on how to use ScholarOne.

#### **Data protection**

By submitting a manuscript to or reviewing for this publication, your name, email address, and affiliation, and other contact details the publication might require, will be used for the regular operations of the publication, including, when necessary, sharing with the publisher (Wiley) and partners for production and publication. The publication and the publisher recognize the importance of protecting the personal information collected from users in the operation of these services, and have practices in place to ensure that steps are taken to maintain the security, integrity, and privacy of the personal data collected and processed. You can learn more at <https://authorservices.wiley.com/statements/dataprotection-policy.html>.

#### **Preprint policy**

**Please find the Wiley preprint policy here.**

This journal does not accept articles previously published on preprint servers.

For help with submissions, please contact: **EDToffice@wiley.com**

### **2. AIMS AND SCOPE**

*Dental Traumatology* is an international peer-reviewed journal which aims to convey scientific and clinical progress in all areas related to adult and pediatric dental traumatology. It aims to promote communication among clinicians, educators, researchers, administrators and others interested in dental traumatology. The journal publishes original scientific articles, review articles in the form of comprehensive reviews or mini reviews of a smaller area, short communication about clinical methods or techniques, Letters to the Editor and case reports.

The journal focuses on the following areas ***as they relate to dental trauma:***

- Epidemiology and Social Aspects
- Periodontal and Soft Tissue Aspects
- Endodontic Aspects
- Pediatric and Orthodontic Aspects
- Oral and Maxillofacial Surgery / Transplants/ Implants
- Esthetics / Restorations / Prosthetic Aspects
- Prevention and Sports Dentistry
- Epidemiology, Social Aspects, Education and Diagnostic Aspects.

### **3. MANUSCRIPT CATEGORIES AND REQUIREMENTS**

**Original Research Articles** in all areas related to adult and pediatric dental traumatology are of interest to Dental Traumatology. Examples of such areas are Epidemiology and Social Aspects, Periodontal and Soft Tissue Aspects, Endodontic Aspects, Pediatric and Orthodontic Aspects, Oral and Maxillofacial Surgery/Transplants/Implants, Esthetics/Restorations/Prosthetic Aspects, Prevention and Sports Dentistry, Epidemiology, Social Aspects, Education and Diagnostic Aspects.

**Review Papers:** *Dental Traumatology* commissions specific topical review papers and mini reviews of small areas of interest. The journal also welcomes uninvited reviews. Reviews should be submitted via the online submission site and are subject to peer-review.

**Comprehensive Reviews** should be a complete coverage of a subject discussed with the Editor-in-Chief prior to submission. Comprehensive review articles should include a description of the search strategy of the relevant literature, the inclusion criteria, exclusion criteria, method for evaluation of papers, level of evidence, etc.

**Mini Reviews** cover a smaller area and may be written in a more free format.

**Case Reports:** Dental Traumatology may accept Case Reports that illustrate unusual and clinically relevant observations or management. Case reports should demonstrate something new or unique, and they should not present common clinical scenarios. Case reports should be kept brief (within 3-4 printed pages) and need not follow the usual division into Material and Methods etc. There should be an Abstract written as a short paragraph. The Abstract should not be structured with specific sections (i.e. do not use aims, methods, results, conclusions). The Introduction should be kept short. Thereafter the case is described followed by a short Discussion. Case reports should have adequate follow-up to demonstrate the outcome of the treatment provided or the long-term prognosis of the presented problem. Typically, cases with treatment should have at least 4-5 years follow-up radiographs, photographs, etc. to show the outcome. Case reports are subject to peer review.

**Short Communications** of 1-2 pages may be accepted for publication. These papers need not follow the usual division into Material and Methods, etc., but should have an Abstract. They should contain important new information to warrant publication and may reflect improvements in clinical practice such as introduction of new technology or practical approaches. They should conform to high scientific and high clinical practice standards. Short communications are subject to peer review.

**Letters to the Editor** may be considered for publication if they are of broad interest to dental traumatology. They may deal with material in papers already published in Dental Traumatology or they may raise new issues, but they should have important implications for dental traumatology.

**Meetings:** advance information about and reports from international meetings are welcome, but should not be submitted via the online submission site – these should be sent directly to the Editorial Office: **EDTOffice@wiley.com**

## 4. PREPARING THE SUBMISSION

### Cover Letters

Cover letters are not mandatory; however, they may be supplied at the author's discretion.

### Parts of the Manuscript

The manuscript should be submitted in separate files: title page; main text file; figures.

### Title Page

The title page should contain:

1. A short informative title containing the major key words. The title should not contain abbreviations (see [Wiley's best practice SEO tips](#)) and should not be a question about the aim. The title should not be a statement of the results or conclusions;
2. A short running title of less than 60 characters;
3. The full names of the authors;
4. The author's institutional affiliations where the work was conducted, with a footnote for the author's present address if different from where the work was conducted;
5. Acknowledgments.

### Authorship

Please refer to the journal's authorship policy the [Editorial Policies and Ethical Considerations section](#) for details on eligibility for author listing.

### Acknowledgments

Contributions from anyone who does not meet the criteria for authorship should be listed, with permission from the contributor, in an Acknowledgments section. Financial and material support should also be mentioned. Thanks to anonymous reviewers are not appropriate.

### Conflict of Interest Statement

Authors will be asked to provide a conflict of interest statement during the submission process. For details on what to include in this section, see the section

'Conflict of Interest' in the [Editorial Policies and Ethical Considerations section](#) below.

Submitting authors should ensure they liaise with all co-authors to confirm agreement with the final statement.

### Main Text File

As papers are double-blind peer reviewed, the main text file should not include any information that might identify the authors.

The main text file should be presented in the following order:

1. Title, abstract, and key words;
2. Main text;
3. References;
4. Tables (each table complete with title and footnotes);
5. Figure legends.

Do not use any sub-headings within the above sections.

The text in the main document should be double-spaced.

Figures and supporting information should be supplied as separate files.

### **Abstract**

The abstract is limited to 300 words in length and should contain no abbreviations. The abstract should be included in the manuscript document uploaded for review as well as inserted separately where specified in the submission process. The abstract should convey a brief background statement plus the essential purpose and message of the paper in an abbreviated form. For Original Scientific Articles, the abstract should be structured with the following headings: Background/Aim, Material and Methods, Results, and Conclusions. For other article types (e.g. Case Reports, Reviews Papers, Short Communications) headings are not required and the Abstract should be in the form of a paragraph that briefly summarizes the paper.

### **Keywords**

Please provide 3-6 keywords. Keywords should be carefully chosen to ensure they reflect the content of the manuscript.

### **Main Text of Original Articles**

- As papers are double-blind peer reviewed, the main text file should not include any information that might identify the authors.
- The main text should be divided into the following sections: Introduction, Material and Methods, Results and Discussion.
  - **Introduction:** This section should be focused, outlining the historical or logical origins of the study. It should not summarize the results and exhaustive literature reviews are inappropriate. Give only strict and pertinent references and do not include data or conclusions from the work being reported. The introduction should close with an explicit, but brief, statement of the specific aims of the investigation or hypothesis tested. Do not include details of the methods in the statement of the aims.
  - **Materials and Methods:** This section must contain sufficient detail such that, in combination with the references cited, all clinical trials and experiments reported can be fully reproduced. As a condition of publication, authors are required to make materials and methods used freely available to academic researchers for their own use. Describe your selection of observational or experimental participants clearly. Identify the method, apparatus and procedures in sufficient detail. Give references to established methods, including statistical methods, describe new or modified methods. Identify precisely all drugs used by their generic names and route of administration.
  - If a method or tool is introduced in the study, including software, questionnaires, and scales, the author should state the license this is available under and any requirement for permission for use. If an existing method or tool is used in the research, the authors are responsible for checking the license and obtaining the permission. If permission was required, a statement confirming permission should be included in the Methods and Materials section.
  - **Results** should clearly and simply present the observations/results without reference to other literature and without any interpretation of the data. Present the results in a logical sequence in the text, tables and illustrations giving the main or most important findings first. Do not duplicate data in graphs and tables.
  - **Discussion** usually starts with a brief summary of the major findings. Repetition of parts of the Introduction or of the Results sections should be avoided. Statements and interpretation of the data should be appropriately supported by original references. A comment on the potential clinical relevance of the findings should be included.

The Discussion section should end with a brief conclusion, but the conclusion should not be a repeat of the results and it should not extrapolate beyond the findings of the study. Link the conclusions to the aim of the study. Do not use sub-headings in the Discussion section, The Discussion should flow from one paragraph to the next in a cohesive and logical manner.

- **Randomised control clinical trials** should be reported using the Preferred Reporting Items for Randomized Trials in Endodontics (PRIRATE) 2020 guidelines. A PRIRATE checklist and flowchart (as a Figure) should also be completed and included in the submission material. The PRIRATE 2020 checklist and flowchart can be downloaded from:  
<http://prideendodonticguidelines.org/prirate/>

It is recommended that authors consult the following papers, which explains the rationale for the PRIRATE 2020 guidelines and their importance when writing manuscripts:

- - Nagendrababu V, Duncan HF, Bjørndal L, Kvist T, Priya E, Jayaraman J, Pulikkotil SJ, Pigg M, Rechenberg DK, Vaeth M, Dummer P. PRIRATE 2020 guidelines for reporting randomized trials in Endodontics: a consensus-based development. *Int Endod J.* 2020 Mar 20. doi: 10.1111/iej.13294.  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/iej.13294> ○ Nagendrababu V, Duncan HF, Bjørndal L, Kvist T, Priya E, Jayaraman J, Pulikkotil SJ, Dummer P. PRIRATE 2020 guidelines for reporting randomized trials in Endodontics: Explanation and elaboration. *Int Endod J.* 2020 April 8. doi: 10.1111/iej.13304  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/iej.13304>

### **Main Text of Review Articles**

- As papers are double-blind peer reviewed, the main text file should not include any information that might identify the authors.
- The main text should comprise an introduction and a running text structured in a suitable way according to the subject treated. A final section with conclusions may be added.
- The main text should be double-spaced.

### **Main Text of Case Studies**

**Case reports** should be written using the Preferred Reporting Items for Case reports in Endodontics (PRICE) 2020 guidelines. A PRICE checklist and flowchart (as a Figure) should also be completed and included in the submission material. The PRICE 2020 checklist and flowchart can be downloaded from: <http://pride-endodonticguidelines.org/price/>.

It is recommended that authors consult the following papers, which explains the rationale for the PRICE 2020 guidelines and their importance when writing manuscripts:

- Nagendrababu V, Chong BS, McCabe P, Shah PK, Priya E, Jayaraman J, Pulikkotil SJ, Setzer FC, Sunde PT, Dummer PMH. PRICE 2020 guidelines for reporting case reports in Endodontics: a consensus-based development. *Int Endod J.* 2020 Feb 23. doi: 10.1111/iej.13285.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32090342>

- Nagendrababu V, Chong BS, McCabe P, Shah PK, Priya E, Jayaraman J, Pulikkotil SJ, Dummer PMH. PRICE 2020 guidelines for reporting case reports in Endodontics: Explanation and elaboration. *Int Endod J.*  
[\(https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/iej.13300\)](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/iej.13300)

## References

All references should be numbered consecutively in order of appearance and should be as complete as possible. In text citations should be superscript numbers. Journal titles must be abbreviated; correct abbreviations may be found in the following: [\*\*MEDLINE, Index Medicus, or CalTech Library.\*\*](#)

Submissions are not required to reflect the precise reference formatting of the journal (use of italics, use of capital letters, bold etc.). However it is important that all key elements of each reference are included. Please see below for examples of reference content requirements. For more information about this reference style, please see the [\*\*Vancouver Reference Style Guide.\*\*](#)

Reference examples follow:

### ***Journal Articles***

Lam R, Abbott PV, Lloyd C, Lloyd CA, Kruger E, Tennant M. Dental trauma in an Australian Rural Centre. *Dent Traumatol* 2008; 24: 663-70.

### ***Text book chapters***

Andreasen J, Andreasen F. Classification, etiology and epidemiology. IN: Andreasen JO, Andreasen FM, eds. *Textbook and Color Atlas of Traumatic Injuries to the Teeth*. 3rd Edn. Munksgaard, Copenhagen. 1994;151-80.

### ***Thesis or Dissertation***

Lauridsen, E. Dental trauma – combination injuries. Injury pattern and pulp prognosis for permanent incisors with luxation injuries and concomitant crown fractures. Denmark: The University of Copenhagen. 2011. PhD Thesis.

### ***Corporate Author***

European Society of Endodontontology. Quality guidelines for endodontic treatment: consensus report of the European Society of Endodontontology. *Int Endod J* 2006;39:921-30.

American Association of Endodontists. The treatment of traumatic dental injuries.

Available at: URL:

'[http://www.aae.org/uploadedfiles/publications\\_and\\_research/newsletters/endodontics\\_colleagues\\_for\\_excellence\\_newsletter/ecfe\\_summer2014%20final.pdf](http://www.aae.org/uploadedfiles/publications_and_research/newsletters/endodontics_colleagues_for_excellence_newsletter/ecfe_summer2014%20final.pdf)'. Accessed September 2015.

## Tables

Tables should be self-contained and complement, not duplicate, information contained in the text. They should be supplied as editable files, not pasted as images. Legends should be concise but comprehensive – the table, legend, and footnotes must be understandable without reference to the text. All abbreviations must be defined in footnotes. Footnote symbols: †, ‡, §, ¶, should be used (in that order) and \*, \*\*, \*\*\* should be reserved for P-values. Statistical measures such as SD or SEM should be identified in the headings.

## **Figure Legends**

Legends should be concise but comprehensive – the figure and its legend must be understandable without reference to the text. Include definitions of any symbols used and define/explain all abbreviations and units of measurement.

## **Figures**

Although authors are encouraged to send the highest-quality figures possible, for peer-review purposes, a wide variety of formats, sizes, and resolutions are accepted.

[\*\*Click here\*\*](#) for the basic figure requirements for figures submitted with manuscripts for initial peer review, as well as the more detailed post-acceptance figure requirements.

**Color Figures.** Figures submitted in color will be reproduced in colour online. Please note, however, that it is preferable that line figures (e.g. graphs and charts) are supplied in black and white so that they are legible if printed by a reader in black and white.

## **Cover Image Submissions**

This journal accepts artwork submissions for Cover Images. This is an optional service you can use to help increase article exposure and showcase your research. For more information, including artwork guidelines, pricing, and submission details, please visit the [\*\*Journal Cover Image page.\*\*](#)

## **Data Citation**

Please review [\*\*Wiley's data citation policy.\*\*](#)

## **Additional Files**

## **Appendices**

The journal does not publish material such as Appendices. They should be submitted as Figures or Tables.

## **Supporting Information**

Supporting information is information that is not essential to the article, but provides greater depth and background. Supporting information or Appendices may be hosted online and appear without editing or typesetting. It may include tables, figures, videos, datasets, etc.

[\*\*Click here\*\*](#) for Wiley's FAQs on supporting information.

Note: if data, scripts, or other artefacts used to generate the analyses presented in the paper are available via a publicly available data repository, authors should include a reference to the location of the material within their paper.

## **General Style Points**

The following points provide general advice on formatting and style.

- **Use double spacing for all text.**
- **Abbreviations, Symbols and Nomenclature:** Abbreviations should be kept to a minimum, particularly those that are not standard. Non-standard abbreviations must be used three or more times – otherwise they should not be used. The full words should be written out

completely in the text when first used, followed by the abbreviation in parentheses. Consult the following sources for additional abbreviations: 1) CBE Style Manual Committee. Scientific style and format: the CBE manual for authors, editors, and publishers. 6th ed. Cambridge: Cambridge University Press; 1994; and 2) O'Connor M, Woodford FP. Writing scientific papers in English: an ELSE-Ciba Foundation guide for authors. Amsterdam: Elsevier-Excerpta Medica; 1975.

- As *Dental Traumatology* is an international journal with wide readership from all parts of the world, the **FDI Tooth Numbering system** MUST be used. This system uses two digits to identify teeth according to quadrant and tooth type. The first digit refers to the quadrant and the second digit refers to the tooth type – for example: tooth 11 is the maxillary right central incisor and tooth 36 is the mandibular left first molar. Alternatively, the tooth can be described in words. Other tooth numbering systems will not be accepted.
- Numbers:** Numbers under 10 are spelt out as words, and not shown as numerals, except for: measurements with a unit (8mmol/l); age (6 weeks old), or lists with other numbers (11 dogs, 9 cats, 4 gerbils).
- When referring to a figure,** spell the word out (e.g. Figure 2 shows the patient's injuries on initial presentation). When referring to a figure at the end of a sentence, enclose it in parentheses - e.g. *The patient's maxillary central incisor was repositioned and splinted (Figure 5).*
- Page numbering:** During the editorial process, reviewers and editors frequently need to refer to specific portions of the manuscript, which is difficult unless the pages are numbered. Hence, authors should number all of the pages consecutively at the bottom of the page.
  - Scientific papers should not be written in the 1st person – that is, avoid using “we”, “our”, etc. As examples, use words such as the ‘current study’, “the results”, “samples were tested”, instead of “our study”, “our results”, “we tested”, etc.
  - Care must be taken with the use of tense (usually the past tense is the most appropriate).
  - Care must be taken with the use of singular and plural words.
  - Trade Names:** Chemical substances should be referred to by the generic name only. Trade names should not be used. Drugs should be referred to by their generic names. If proprietary drugs have been used in the study, refer to these by their generic name, mentioning the proprietary name and the name and location of the manufacturer in parentheses.

### Reproduction of Copyright Material

If excerpts from copyrighted works owned by third parties are included, credit must be shown in the contribution. It is the author's responsibility to also obtain written permission for reproduction from the copyright owners. For more information visit Wiley's Copyright Terms & Conditions FAQ

at [http://exchanges.wiley.com/authors/faqs---copyright-terms-conditions\\_301.html](http://exchanges.wiley.com/authors/faqs---copyright-terms-conditions_301.html)

### Wiley Author Resources

**Manuscript Preparation Tips:** Wiley has a range of resources for authors preparing manuscripts for submission available [here](#). In particular, authors may benefit from referring to Wiley's best practice tips on [Writing for Search Engine Optimization](#).

**Article Preparation Support:** [Wiley Editing Services](#) offers expert help with English Language Editing, as well as translation, manuscript formatting, figure illustration, figure formatting, and graphical abstract design – so you can submit your manuscript with confidence. Also, check out our resources for [Preparing Your Article](#) for general guidance about writing and preparing your manuscript.

**Video Abstracts:** A video abstract can be a quick way to make the message of your research accessible to a much larger audience. Wiley and its partner Research Square offer a service of professionally produced video abstracts, available to authors of articles accepted in this journal. You can learn more about it by [clicking here](#). If you have any questions, please direct them to [videoabstracts@wiley.com](mailto:videoabstracts@wiley.com).

## 5. EDITORIAL POLICIES AND ETHICAL CONSIDERATIONS

### Peer Review and Acceptance

The acceptance criteria for all papers are the quality and originality of the research and its significance to journal readership. Manuscripts are double-blind peer reviewed, hence, the names of the reviewers will not be disclosed to the author(s) who have submitted the paper and the name(s) of the author(s) will not be disclosed to the reviewers.

To allow double blinded review, please submit (upload) your main manuscript and title page as separate files.

Papers will only be sent to review if the Editor-in-Chief determines that the paper meets the appropriate quality and relevance requirements.

Wiley's policy on the confidentiality of the review process is [available here](#).

### Appeal of Decision

The Editor-in-Chief's decision to accept, reject or require revision of a paper is final and it cannot be appealed.

### Guidelines on Publishing and Research Ethics in Journal Articles

[Please review Wiley's policies surrounding human studies, animal studies, clinical trial registration, biosecurity, and research reporting guidelines here.](#)

### Suppliers of materials

Suppliers of materials should be named and their location (town, state/county, country) included.

### Sequence Data

**Nucleotide sequence data** can be submitted in electronic form to any of the three major collaborative databases: DDBJ, EMBL, or GenBank. It is only necessary to submit to one database as data are exchanged between DDBJ, EMBL, and GenBank on a daily basis. The suggested wording for referring to accessionnumber information is: 'These sequence data have been submitted to the DDBJ/EMBL/GenBank databases under accession number U12345'. Addresses are as follows:

- DNA Data Bank of Japan (DDBJ): [www.ddbj.nig.ac.jp](http://www.ddbj.nig.ac.jp)

- EMBL Nucleotide Archive: [ebi.ac.uk/ena](http://ebi.ac.uk/ena)
- GenBank: [www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank)

**Proteins sequence data** should be submitted to either of the following repositories:

- Protein Information Resource (PIR): [pir.georgetown.edu](http://pir.georgetown.edu)
- SWISS-PROT: [expasy.ch/sprot/sprot-top](http://expasy.ch/sprot/sprot-top)

### **Conflict of Interest**

The journal requires that all authors disclose any potential sources of conflict of perceived as influencing an author's objectivity is considered a potential source of conflict of interest. These must be disclosed when directly relevant or directly related to the work that the authors describe in their manuscript. Potential sources of conflict of interest include, but are not limited to: patent or stock ownership, membership of a company board of directors, membership of an advisory board or committee for a company, and consultancy for or receipt of speaker's fees from a company. The existence of a conflict of interest does not preclude publication. If the authors have no conflict of interest to declare, they must also state this at submission. It is the responsibility of the corresponding author to review this policy with all authors and collectively to disclose with the submission ALL pertinent commercial and other relationships.

*Dental Traumatology* requires Conflict of Interest forms from all authors. The corresponding author must upload completed CoI forms for all authors when submitting the manuscript.

You can [download the Conflict of Interest Disclosure Form here](#).

### **Funding**

Authors should list all funding sources in the Acknowledgments section. Authors are responsible for the accuracy of their funder designation. If in doubt, please check the Open Funder Registry for the correct nomenclature: <https://www.crossref.org/services/funder-registry/>

### **Authorship**

The list of authors should accurately illustrate who contributed to the work and how. All those listed as authors should qualify for authorship according to the following criteria:

1. Have made substantial contributions to conception and design, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data; and
2. Been involved in drafting the manuscript or revising it critically for important intellectual content; and
3. Given final approval of the version to be published. Each author should have participated sufficiently in the work to take public responsibility for appropriate portions of the content; and
4. Agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Contributions from anyone who does not meet the criteria for authorship should be listed, with permission from the contributor, in an Acknowledgments section (for example, to recognize contributions from people who provided technical help, collation of data, writing assistance, acquisition of funding, or a department chairperson who provided general

support). Prior to submitting the article all authors should agree on the order in which their names will be listed in the manuscript.

**Additional Authorship Options.** Joint first or senior authorship: In the case of joint first authorship, a footnote should be added to the author listing, e.g. ‘X and Y should be considered joint first author’ or ‘X and Y should be considered joint senior author.’

### Data Sharing and Data Accessibility

*Dental Traumatology* expects that data supporting the results in the paper will be archived in an appropriate public repository. Authors are required to provide a data availability statement to describe the availability or the absence of shared data. When data have been shared, authors are required to include in their data availability statement a link to the repository they have used, and to cite the data they have shared. Whenever possible the scripts and other artefacts used to generate the analyses presented in the paper should also be publicly archived. If sharing data compromises ethical standards or legal requirements then authors are not expected to share it.

See the [Standard Templates for Author Use](#) to select an appropriate data availability statement for your dataset.

### Publication Ethics

This journal is a member of the [Committee on Publication Ethics \(COPE\)](#). Note this journal uses iThenticate’s CrossCheck software to detect instances of overlapping and similar text in submitted manuscripts. Read Wiley's Top 10 Publishing Ethics Tips for Authors [here](#). Wiley's Publication Ethics Guidelines can be found [here](#).

### ORCID

As part of the journal’s commitment to supporting authors at every step of the publishing process, the journal requires the submitting author (only) to provide an ORCID iD when submitting a manuscript. This takes around 2 minutes to complete. [Find more information here](#).

## 6. AUTHOR LICENSING

If your paper is accepted, the author identified as the formal corresponding author will receive an email prompting them to log in to Author Services, where via the Wiley Author Licensing Service (WALS) they will be required to complete a copyright license agreement on behalf of all authors of the paper.

Authors may choose to publish under the terms of the journal’s standard copyright agreement, or [Open Access](#) under the terms of a Creative Commons License. General information regarding licensing and copyright is available [here](#). To review the Creative Commons License options offered under Open Access, please [click here](#). (Note that certain funders mandate that a particular type of CC license has to be used; to check this please click [here](#).)

**Self-Archiving definitions and policies.** Note that the journal's standard copyright agreement allows for self-archiving of different versions of the article under specific conditions. Please [click here](#) for more detailed information about self-archiving definitions and policies.

**Open Access fees:** If you choose to publish using Open Access you will be charged a fee. A list of Article Publication Charges for Wiley journals is available [here](#).

**Funder Open Access:** Please click [here](#) for more information on Wiley's compliance with specific Funder Open Access Policies.

## 7. PUBLICATION PROCESS AFTER ACCEPTANCE

### Accepted article received in production

When an accepted article is received by Wiley's production team, the corresponding author will receive an email asking them to login or register with [Wiley Author Services](#). The author will be asked to sign a publication license at this point.

### Accepted Articles

The journal offers Wiley's Accepted Articles service for all manuscripts. This service ensures that accepted 'in press' manuscripts are published online shortly after acceptance, prior to copy-editing or typesetting. Accepted Articles are published online a few days after final acceptance and appear in PDF format only.

They are given a Digital Object Identifier (DOI), which allows them to be cited and tracked and are indexed by PubMed. After the final version article is published (the article of record), the DOI remains valid and can still be used to cite and access the article.

Accepted Articles will be indexed by PubMed; submitting authors should therefore carefully check the names and affiliations of all authors provided in the cover page of the manuscript so it is accurate for indexing. Subsequently, the final copyedited and proofed articles will appear in an issue on Wiley Online Library; the link to the article in PubMed will update automatically.

### Proofs

Once the paper is typeset, the author will receive an email notification with full instructions on how to provide proof corrections.

Please note that the author is responsible for all statements made in their work, including changes made during the editorial process – authors should check proofs carefully. Note that proofs should be returned within 48 hours from receipt of first proof.

### Early View

The journal offers rapid speed to publication via Wiley's Early View service. [Early View](#) (Online Version of Record) articles are published on Wiley Online Library before inclusion in an issue. Note there may be a delay after corrections are received before the article appears online, as Editors also need to review proofs. Once the article is published on Early View, no further changes to the article are possible. The Early View article is fully citable and carries an online publication date and DOI for citations.

## 8. POST PUBLICATION

## **Access and sharing**

When the article is published online:

- The author receives an email alert (if requested).
- The link to the published article can be shared through social media.
- The author will have free access to the paper (after accepting the Terms & Conditions of use, they can view the article).
- The corresponding author and co-authors can nominate up to ten colleagues to receive a publication alert and free online access to the article.

## **Promoting the Article**

To find out how to best promote an article, [click here](#).

## **Article Promotion Support**

[Wiley Editing Services](#) offers professional video, design, and writing services to create shareable video abstracts, infographics, conference posters, lay summaries, and research news stories for your research – so you can help your research get the attention it deserves.

## **Measuring the Impact of an Article**

Wiley also helps authors measure the impact of their research through specialist partnerships with [Kudos](#) and [Altmetric](#).

## **Wiley's Author Name Change Policy**

In cases where authors wish to change their name following publication, Wiley will update and republish the paper and redeliver the updated metadata to indexing services. Our editorial and production teams will use discretion in recognizing that name changes may be of a sensitive and private nature for various reasons including (but not limited to) alignment with gender identity, or as a result of marriage, divorce, or religious conversion. Accordingly, to protect the author's privacy, we will not publish a correction notice to the paper, and we will not notify co-authors of the change. Authors should contact the journal's Editorial Office with their name change request.

## **Archiving Services**

Portico and CLOCKSS are digital archiving/preservation services we use to ensure that Wiley content will be accessible to customers in the event of a catastrophic event such as Wiley going out of business or the platform not being accessible for a significant period of time. Member libraries participating in these services will be able to access content after such an event. Wiley has licenses with both Portico and CLOCKSS, and all journal content gets delivered to both services as it is published on Wiley Online Library. Depending on their integration mechanisms, and volume loads, there is always a delay between content being delivered and showing as "preserved" in these products.

## **9. EDITORIAL OFFICE CONTACT DETAILS**

For queries about submissions, please contact [EDToffice@wiley.com](mailto:EDToffice@wiley.com)

*Author Guidelines Updated 08 February 2021*

**Submit an article**

As of August 3, 2021, all new *Dental Traumatology* manuscripts are submitted through the [Research Exchange](#) platform.

**Start your submission**

For submissions started prior to August 3, 2021, please visit [Manuscript Central](#) to manage or complete your submission.

Official Publication of the [International Association for Dental Traumatology](#) and the [Academy for Sports Dentistry](#). Any interest or relationship, financial or otherwise that might be.