

Bacteriologia das periapicopatias agudas*

Bacteriology of acute periapical pathosis

Simone Bonato Luisi**
 Elaine Vianna Freitas Fachin***
 Adelina Mezzari****

RESUMO

O conhecimento mais aprofundado sobre a microbiologia endodôntica é um recurso fundamental para entender o papel das bactérias na origem e desenvolvimento dos processos patológicos apicais, bem como oferecer subsídios para a instituição de uma terapêutica adequada. Trata-se de trabalho *in vivo* com o propósito de investigar a composição bacteriana das periapicopatias agudas, identificando os microrganismos encontrados nos canais radiculares de 11 dentes necróticos de 11 pacientes. O resultado da cultura bacteriológica para aeróbios e anaeróbios foi negativo em cinco dentes. Em uma amostra foram identificados dois microrganismos (*Staphylococcus* sp. coagulase negativo e *Peptostreptococcus* sp.). Nos outros casos foram obtidas culturas puras de *Peptostreptococcus* sp., *Fusobacterium nucleatum*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus agalactiae* e *Streptococcus* sp. grupo viridans. Nesse estudo foi possível identificar algumas bactérias potencialmente patogênicas em periapicopatias agudas, tais como *Peptostreptococcus* sp., *Fusobacterium nucleatum*, *Streptococcus* sp. grupo viridans e *Enterococcus faecalis*. No entanto, a técnica empregada pode não ter sido adequada para determinar a composição bacteriana específica das periapicopatias agudas, considerando que não houve crescimento bacteriano em quase metade das amostras, bactérias anaeróbias foram isoladas em apenas três dos 11 casos e que culturas mistas foram identificadas em apenas uma das amostras.

UNITERMOS

Endodontia, bacteriologia, canal radicular, infecção, periapicopatia aguda

INTRODUÇÃO

As alterações periapicais agudas exigem um tratamento imediato e eficiente. Dependendo do estágio em que o processo periapical agudo se encontra, o quadro clínico pode ser de intensa sintomatologia dolorosa, incluindo, até mesmo, o comprometimento sistêmico do indivíduo.

As periapicopatias agudas podem ser conseqüência da ação direta de agentes microbianos ou da ação de agentes físicos, químicos ou traumáticos que causam alterações inflamatórias irreversíveis na polpa dentária facilitando a instalação de posterior infecção. Dessa forma, considera-se o componente bacteriano o principal responsável pela patogênese dos processos periapicais. Existem outras alterações patológicas periapicais que não mantêm relações diretas com a polpa (de natureza neoplásica, metabólica, hiperplásica), porém não constituem objetivo do presente estudo.

O relevante papel bacteriano foi demonstrado há mais de um século, quando em 1890, MILLER evidenciou a presença de bactérias no canal radicular. Desde então, vários estudos têm demonstrado o importante papel da bactéria na patogênese das alterações endodônticas periapicais (WINKLER; VAN AMEROGEN (1959), SUNDQVIST et al.

(1979), ZAVISTOSKI et al. (1980), FUKUSHIMA et al. (1990) e GOMES; LILLEY; DRUCKER (1996)).

KAKEHASHI; STANLEY; FITZGERALD (1965), em um estudo clássico, expuseram a polpa dental de ratos *non germ-free* e de ratos *germ-free* ao meio bucal, o que resultou no desenvolvimento de inflamação crônica e finalmente granulomas periapicais nos ratos *non germ-free*. Por outro lado, em um ambiente livre de germes, a resposta dos tecidos pulpaes expostos foi caracterizada por uma inflamação mínima e a formação de pontes de dentina, evidenciando o papel fundamental das bactérias no desenvolvimento das lesões periapicais.

Até 1970, em verdade, os estudos do ecossistema microbiano do canal radicular de dentes despulpados e infectados mostravam predominância de microrganismos aeróbios, sendo que as referências a anaeróbios estritos eram escassas em razão das dificuldades de isolamento dessas bactérias (HEAD; ROOS (1919), MacDONALD; HARE; WOOD (1957) e WINKLER; VAN AMEROGEN (1959)). Entretanto, com o advento dos métodos práticos para a cultura anaeróbia, tornou-se evidente, através de diversos estudos, (BROOK; GRIM; KIELICH (1981), YOSHIDA et al. (1987), HASHIOKA et al. (1992) e GOMES; LILLEY;

DRUCKER (1996)) que há uma elevada prevalência de anaeróbios nos canais radiculares necróticos.

Embora tenha sido isolada uma variação de espécies bacterianas de canais radiculares infectados, há diferenças na frequência de isolamento das espécies microbianas entre os diferentes estudos. Isto pode estar relacionado a um grande número de variáveis, incluindo a técnica de coleta de amostras, o meio de transporte e o processamento laboratorial do espécime.

Apesar da terapia endodôntica contemporânea atingir altos níveis de sucesso clínico, ainda existem casos resistentes às manobras convencionais, especialmente em relação ao tratamento das patologias endodônticas agudas, comumente necessitando de métodos alternativos com o uso de antimicrobianos específicos. Pairam ainda dúvidas no que se refere à etiologia e à resolução de tais complicações.

A busca de resultados mais conclusivos fundamenta o estudo do presente assunto, no intuito de esclarecer questões relacionadas a etiologia dos processos periapicais agudos e oferecer maiores subsídios para a instituição de uma terapêutica mais adequada.

Este estudo tem como propósito investigar

* Resumo da dissertação apresentada para a obtenção do título de Mestre em Odontologia/ Área de Concentração Clínica Odontológica - Endodontia - FO-UFRGS.

** Mestre em Odontologia/ Área de Concentração Clínica Odontológica - Endodontia - FO-UFRGS. Professora de Endodontia na Faculdade de Odontologia da PUCRS.

*** Master of Science pela Universidade de Illinois, Chicago, Doutora em Endodontia pela FO USP - SP. Professora adjunta das disciplinas de Endodontia da FO-UFRGS. Orientadora.

**** Mestre em Microbiologia Clínica pela Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre. Professora na Faculdade de Farmácia da UFRGS. Bacteriologista no Laboratório Weinmann. Co-Orientadora.

a composição bacteriana de periapicopatias agudas, identificando os microrganismos encontrados nos canais radiculares necróticos.

REVISÃO DE LITERATURA

Com o objetivo de organizar e facilitar o entendimento do presente tema, decidiu-se dividir a revisão de literatura em dois segmentos: trabalhos enfocando a microbiologia endodôntica de casos assintomáticos e trabalhos relacionados com a microbiologia de patologias endodônticas sintomáticas.

Estudos Assintomáticos:

FABRICIUS et al. (1982) desvitalizaram mecanicamente 24 canais radiculares de três macacos. Os canais permaneceram expostos à flora bucal por uma semana e depois foram selados. Os autores concluíram que algumas bactérias orais indígenas são capazes de induzir periodontites apicais sendo que combinações de bactérias são ainda mais nocivas do que cepas únicas. Além disso, as bactérias anaeróbias obrigatórias como *Bacteroides* e alguns bacilos anaeróbios Gram-positivos apresentam um importante papel no desenvolvimento e manutenção de periodontites apicais, enquanto as bactérias anaeróbias facultativas como estreptococos parecem ser de menor importância.

FUKUSHIMA et al. (1990) realizaram um estudo em 21 dentes portadores de patologia periapical assintomática. Os dentes foram extraídos para exame da localização e identificação da bactéria no canal radicular. Em 60% dos casos os autores encontraram culturas polimicrobianas. Os microrganismos que predominaram foram: *Bacteroides*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus* e *Eubacterium*, que também estão presentes nos casos sintomáticos. Esses dados permitiram aos autores concluir que as bactérias, persistindo no ápice radicular das lesões assintomáticas, podem ter um potencial patológico para a progressão de patologias periapicais sintomáticas.

SUNDQVIST (1992) investigou as relações (cooperativas e antagonistas) entre microrganismos dos canais radiculares de dentes com periodontite apical. As espécies mais comumente isoladas foram: *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Peptostreptococcus micros*, *Peptostreptococcus anaerobios*, *Eubacterium alactolyticum*, *Eubacterium lentum* e *Wolinella recta*. Associações positivas foram encontradas entre *Fusobacterium nucleatum* e *Peptostreptococcus micros*; *Porphyromonas endodontalis*, *Selenomonas sputigena* e *Wolinella recta*. Também foi positiva a associação entre *Prevotella intermedia* e *Peptostreptococcus micros*; *Peptostreptococcus anaerobios* e *Eubacterium*. Em geral, as espécies de *Streptococcus*, *Propionibacterium propionica*, *Capnocytophaga ochracea* e *Veillonella parvula* não

demonstraram ou apresentaram associações negativas com outras bactérias. Os resultados são consistentes no que se refere a existência, no canal radicular, de um ambiente especial e seletivo. Isso devido a natureza cooperativa e antagonista das relações entre bactérias no canal radicular.

ASSED et al. (1996) realizaram um estudo para avaliar a presença de microrganismos anaeróbios em canais radiculares de dentes humanos com periodontite apical crônica. A imunofluorescência indireta foi utilizada para detectar *Actinomyces viscosus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella intermedia*. Os resultados demonstraram uma positiva reação de imunofluorescência indireta em 24 das 25 amostras. Dessas, 14 foram positivas para a espécie *Actinomyces viscosus*, 12 para *Prevotella intermedia*, 10 para *Fusobacterium nucleatum* e quatro para *Porphyromonas gingivalis*.

Estudos Sintomáticos:

A correlação entre sintomas clínicos e microrganismos isolados de canais radiculares de dentes com patologia periapical vem sendo estudada desde a década de 70.

GRIFEE et al. (1980) estudaram a relação dos *Bacteroides melaninogenicus* com os sintomas da necrose pulpar. Dentes sintomáticos e assintomáticos foram usados com o propósito de comparação. Os autores concluíram que os anaeróbios são relevantes na patogênese de problemas endodônticos. O *Bacteroides melaninogenicus* é um patógeno importante no desenvolvimento dos sintomas comumente associados com necrose pulpar. Esse microrganismo é significativamente relacionado com odor fétido, dor, formação de fístula e está provavelmente relacionado com edema e sensibilidade à digitação apical. Entretanto, não foi significativa a relação entre a presença ou ausência de *Bacteroides melaninogenicus* e rarefação periapical, sensibilidade à percussão e presença de exsudato.

MÖLLER et al. (1981) realizaram um estudo que revelou o forte papel da bactéria na etiologia e desenvolvimento de periodontites apicais. O estudo foi realizado em nove macacos que tiveram as polpas de 78 dentes necrosadas de forma asséptica. As câmaras pulpare de 26 dentes foram mantidas sem bactérias com o uso de um selamento, enquanto 52 foram infectadas pela flora oral indígena. Os canais radiculares inicialmente não infectados estavam todos estéreis na amostragem final, indicando que o risco de contaminação (incluindo hematógenos) no canal radicular destes animais é muito leve. Isso demonstrou que o tecido pulpar necrótico não infectado não induz a uma reação inflamatória nos tecidos periapicais. Pelo contrário, dentes com o tecido pulpar infectado demonstraram reação inflamatória clinicamente em 12 dos 52 dentes e radiograficamente, em 47 dos 52 dentes. Estreptococos anaeróbios

facultativos, bacilos coliformes e bactérias anaeróbias obrigatórias foram os organismos mais freqüentemente encontrados. Os autores concluíram que a exposição dos túbulos dentinários ou micro fraturas adjacentes ao sulco gengival ou na profundidade da bolsa periodontal são os mais prováveis caminhos para a infecção endodôntica.

BROOK; GRIMM; KIELICH (1981) estudando a bacteriologia dos abscessos periapicais agudos em crianças, concluíram que os organismos anaeróbios representam um papel fundamental na etiologia polimicrobiana desses abscessos. Os microrganismos anaeróbios foram isolados em todos os pacientes. No entanto, oito pacientes (67%) apresentaram como flora exclusiva, quatro pacientes (33%) apresentaram crescimento misto de anaeróbios e aeróbios. Dos 53 anaeróbios isolados (4,4 por espécime) estavam presentes: 20 espécies de *Bacteroides* (incluindo nove *Bacteroides melaninogenicus*, três *Bacteroides oralis* e três *Bacteroides corrodens*), 17 cocos anaeróbios gram positivos, cinco espécies de *Fusobacterium* e três espécies de *Actinomyces*. Foram isolados seis aeróbios (cinco por espécime): três *Streptococcus salivarius*, dois *Streptococcus* alfa hemolíticos e um *Streptococcus* gama hemolítico. No estudo, é citada a importância dos anaeróbios nos abscessos periapicais, pois a partir de um foco dental podem ser originadas infecções como bacteremias, endocardites, sinusites, meningites, empiemas subdurais, abscessos cerebrais e empiemas pulmonares.

Em 1982, OGUNTEBI et al. estudaram a microflora de dentes com abscesso periapical livres de doença periodontal. Um total de 25 grupos bacterianos foram isolados: 10 cocos anaeróbios facultativos Gram-positivos, três cocos anaeróbios Gram-positivos, nove bacilos anaeróbios Gram-negativos e três bacilos pleomórficos anaeróbios Gram-positivos. Os microrganismos mais freqüentemente isolados foram *Fusobacterium nucleatum* e *Streptococcus mitis*. Os dados sugerem que essas bactérias podem ser um par freqüente pois foram encontradas em seis dos 10 casos.

Em 1986, LEWIS; MacFARLANE; McGOWAN realizaram um estudo bacteriológico de abscessos dento-alveolares agudos. A maioria das amostras continha uma mistura de espécies. Em 40% dos abscessos foram encontrados apenas anaeróbios. Em 6%, apenas anaeróbios facultativos e os restantes 54% continham misturas de ambas as bactérias, com predomínio de anaeróbios. No total de 166 grupos bacterianos isolados, 75% eram anaeróbios estritos. As espécies mais comuns foram *Peptococcus* spp., *Bacteroides oralis* e *Bacteroides melaninogenicus*. Entre os anaeróbios facultativos, *Streptococcus milleri* foi particularmente comum.

HASHIOKA et al. (1992), com o propósito

de investigar a correlação entre a composição bacteriana de canais radiculares infectados e sintomas, examinaram a flora bacteriana de 28 dentes monorradiculares com periodontite apical. Os resultados indicaram que existe uma relação positiva entre *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Eubacterium*, *Porphyromonas* e *Bacteroides* isolados do canal radicular e dor à percussão. Também foi evidenciada associação de *Porphyromonas* e *Bacteroides* com presença de odor fétido.

GOMES; LILLEY; DRUCKER (1996) realizaram um estudo com o propósito de examinar microbiologicamente a mais extensiva série de canais radiculares a fim de determinar se algum sintoma endodôntico ou sinal clínico apresenta uma associação específica com uma espécie bacteriana em particular. Para tanto, os autores examinaram microbiologicamente e coletaram dados clínicos para a realização de associações em 70 canais radiculares. Os autores isolaram 70,3% de anaeróbios em canais radiculares sintomáticos e apenas 29,7% em canais assintomáticos. Em 10 canais radiculares não houve crescimento bacteriano.

Associações significativas foram encontradas entre:

a) Dor: *Prevotella* spp. ou *Peptostreptococcus* spp.;

b) Sensibilidade à percussão: *Prevotella* spp. ou anaeróbios;

c) Edema: *Eubacterium* spp. ou com *Prevotella* spp. ou *Peptostreptococcus micros*;

d) Exsudato purulento e qualquer um dos microrganismos: *Fusobacterium necrophorum*, *Prevotella loescheii*, *Streptococcus constellatus* ou *Bacteroides* spp.;

e) Canal úmido: anaeróbios facultativos e qualquer um dos seguintes gêneros: *Eubacterium*, *Peptostreptococcus*, *Prevotella* ou *Propionibacterium*.

LUISI; FACHIN em 1999 citam que é indiscutível a prevalência de microrganismos anaeróbios em infecções endodônticas agudas, sendo os anaeróbios habitantes sinérgicos com a microbiota aeróbia. A marcante presença de anaeróbios é ressaltada como etiopatogenia de periapicopatias agudas.

MATERIAL E MÉTODO

Onze pacientes adultos oriundos da Disciplina de Estágio Supervisionado II (Urgência) da Faculdade de Odontologia da UFRGS, portadores de periapicopatias agudas, foram incluídos no estudo. O diagnóstico foi baseado no registro de informações do paciente, no exame clínico, radiográfico e teste de vitalidade pulpar com gás refrigerante.

Alguns pacientes foram eliminados da amostra por não apresentarem as condições ideais para o estudo da bacteriologia das infecções endodônticas agudas. Foram descartados os casos com relato de antibioticoterapia prévia, dentes com tratamento

endodôntico, contaminação do canal radicular com saliva (câmara pulpar aberta ao meio bucal) e impossibilidade de isolamento absoluto.

As diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos foram seguidas de acordo com GOLDIN, 1997. Todos os pacientes que participaram da pesquisa assinaram o Termo de Consentimento.

Coleta do material:

O dente portador de um processo periapical agudo foi individualmente isolado da cavidade bucal com lençol de borracha, e logo após, tanto o dente como a superfície externa do lençol de borracha foram desinfetados com solução de iodo-etanol 5% e etanol 70% (um a dois minutos antes da manipulação).

O acesso à cavidade pulpar foi realizado inicialmente com brocas esféricas em alta rotação com refrigeração e imediatamente antes de entrar na câmara pulpar, foi feita uma desinfecção com etanol 70%. Para completar o acesso, foram usadas brocas esféricas de aço número dois e três em baixa rotação.

A amostragem foi feita a partir de um cone de papel absorvente estéril (Dentsply), selecionado com um diâmetro adequado para o canal radicular. O comprimento do cone de papel a ser introduzido foi determinado com base na radiografia pré-operatória (realizada com a técnica da Bissetriz) e na média do comprimento do dente de acordo com MILANO; CAMINHA (1971) e MILANO; GRASSI; BONORINO (1977). Usou-se a própria pinça como cursor para limitar o comprimento do cone de papel que permaneceu em toda a extensão do canal radicular durante 60 segundos. Após esse período, o mesmo foi removido do interior do canal radicular e introduzido no interior do tubo com tampa rosca.

O tubo de cultura continha tioglicolato suplementado com hemina e vitamina K₁ (Thioglycollate Medium - 135C - BBL, fornecido pelo Laboratório Weinmann). O tioglicolato foi regenerado imediatamente antes do uso.

Em um prazo máximo de 30 minutos, o material era levado ao Laboratório Weinmann em Porto Alegre/RS (rua Ramiro Barcelos, 910/5º andar) acompanhado de uma requisição de solicitação de exames. O processamento do espécime foi realizado pela equipe técnica do setor de bacteriologia desse laboratório. O tubo de tioglicolato com o espécime foi incubado a 37°C, durante 48 horas em atmosfera convencional. Após esse período, foi realizada a semeadura aeróbica e anaeróbica, incubação e identificação dos microrganismos.

RESULTADOS

O resultado da cultura bacteriológica para aeróbios e anaeróbios foi negativo em cinco dentes (45,5%). Obtiveram resultado negativo todas as culturas que não cresceram no tioglicolato, nem posteriormente nos meios

sólidos, somando um total de 96 horas de incubação.

Em uma amostra identificamos cultura mista com a presença de *Staphylococcus* sp. coagulase negativo e *Peptostreptococcus* sp.. Cabe ressaltar que a presença desses dois microrganismos (um aeróbio e um anaeróbio) foi o suficiente para considerá-la continente de cultura mista.

Peptostreptococcus sp., *Enterococcus faecalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Streptococcus agalactiae* e *Streptococcus* sp. grupo viridans foram isolados como cultura pura nos outros cinco dentes amostrados.

DISCUSSÃO

O estudo bacteriológico das infecções endodônticas possui inúmeras dificuldades a ele inerentes. Esse tipo de experimento exige uma metodologia muito criteriosa, que deve ser seguida com os necessários cuidados para evitar a contaminação pela microbiota normal da cavidade bucal.

Os pacientes que participaram do presente experimento não tinham sido submetidos à terapia antimicrobiana prévia bem como nos estudos de BROOK; GRIM; KIELICH (1981), OGUNTEBI et al. (1982), LEWIS; MacFARLANE; McGOWAN (1986) e HASHIOKA et al. (1992). Esse aspecto foi considerado relevante pois acreditamos que a terapia antimicrobiana prévia possa influir reduzindo ou eliminando os microrganismos da amostra e, por conseqüência, dificultar o processo de isolamento e identificação dos mesmos.

Tratando-se da coleta do material, vários estudos foram feitos através da aspiração do exsudato inflamatório, diretamente no edema, com agulha e seringa estéreis (BROOK; GRIM; KIELICH (1981), OGUNTEBI et al. (1982) e LEWIS; MacFARLANE; McGOWAN (1986)).

O material deve ser coletado onde o organismo suspeito é mais freqüentemente encontrado e com a menor possibilidade de contaminação externa quanto possível. Considerando que o nosso experimento é restrito aos processos periapicais agudos e que a fonte de infecção de tais patologias se encontra dentro do canal radicular, julgamos mais adequado a coleta do material do interior do mesmo em oposição aos autores que aspiraram o material diretamente no abscesso. A grande dificuldade dessa técnica é a pequena quantidade de material que muitas vezes é encontrada no interior do canal radicular, para o exame microbiológico. Apesar da dificuldade, optamos por essa técnica de amostragem.

A coleta do material presente nos canais radiculares experimentais foi realizada por meio de um cone de papel absorvente estéril pré-autoclavado, tal qual nos estudos de GRIFFEE et al. (1980), HASHIOKA et al. (1992) e GOMES; LILLEY; DRUCKER (1996).

Nos estudos que realizaram as coletas com cone de papel, bem como no presente experimento, foi observado o cuidado em excluir os dentes que não eram passíveis de isolamento absoluto. Esse procedimento, além de isolar o dente da cavidade bucal, minimiza a produção de aerossol de saliva e sangue contaminado, os quais comprometem uma amostragem fiel que isole apenas os microrganismos envolvidos com as patologias periapicais agudas.

Além disso, a câmara pulpar dos dentes experimentais estava fechada, sem exposição ao meio bucal assim como no estudo de HASHIOKA et al. (1992). Os dentes cuja câmara pulpar estivesse aberta, permitindo a entrada de saliva para a cavidade pulpar, foram excluídos, pois objetivamos exclusivamente o isolamento da microbiota do canal radicular.

Por fim, os dentes não apresentavam qualquer intervenção endodôntica prévia (tratamento endodôntico, atendimento de urgência ou tratamento conservador da polpa) assim como no experimento de HASHIOKA et al. (1992). Esse aspecto foi considerado, visto que uma intervenção prévia poderia ocasionar uma redução ou até mesmo um aumento do número de microrganismos. Por exemplo, um procedimento séptico e/ou uma restauração provisória mal adaptada contribui para o aumento do número de bactérias no canal radicular. Enfim, também esse aspecto foi considerado para descartarmos o risco de isolamento de bactérias não relacionadas diretamente com as periapicopatias agudas.

Em suma, tais exigências foram criteriosamente seguidas com o objetivo de isolarmos os microrganismos relacionados com a etiopatogenia dos processos periapicais agudos, sem que ocorresse contaminações com a microbiota bucal indígena.

Em relação ao número de amostras, verificamos grande diversidade nos artigos consultados. Amostras em torno de 30 dentes (HASHIOKA et al. (1992)), 50 dentes (LEWIS; McFARLANE; McGOWAN (1986)) e até 60 dentes (GOMES; LILLEY; DRUCKER (1996)) foram usadas em experimentos sobre bacteriologia endodôntica.

O presente estudo, por apresentar tantos critérios de exclusão na seleção dos casos e pela exiguidade de tempo, foi realizado em onze dentes. Outros estudos também foram feitos com amostras pequenas (entre oito a doze dentes): BROOK; GRIM; KIELICH (1981) e OGUNTEBI et al. (1982). Esse tamanho de amostra inviabiliza uma análise estatística dos resultados. Nas pesquisas microbiológicas, porém, os resultados também podem apresentar grande valor quando analisados individualmente.

A cavidade bucal apresenta como microbiota normal mais de 350 espécies bacterianas (BAUMGARTNER (1997)). Sendo

assim, a metodologia das pesquisas de infecções pulpares deve garantir o isolamento das bactérias do canal radicular sem haver contaminação com a microbiota bucal normal. Dessa forma fez-se necessário o isolamento absoluto do campo operatório, conforme enfatizado anteriormente, e uma desinfecção prévia do dente, lençol de borracha e grampo.

No presente experimento, foi utilizada uma aplicação inicial de solução de iodo-etanol 5% e etanol 70% (um a dois minutos antes da manipulação), tal como anteriormente utilizada por HASHIOKA et al. (1992).

A clorexidina também é freqüentemente empregada nos procedimentos de desinfecção. Solução de gluconato de clorexidina a 0,5% foi usada no estudo de GOMES; LILLEY; DRUCKER (1996).

Os tipos de desinfetantes variam de estudo para estudo, embora exista um consenso sobre a adoção de um procedimento de desinfecção inicial, como forma de garantir uma amostra sem contaminação.

Em relação ao meio de transporte empregado, também existem variações de um estudo para outro. Estes meios têm por finalidade a preservação dos microrganismos presentes no material amostrado, desde a sua colheita até o adequado processamento no laboratório.

O fluido de transporte reduzido (RTF) foi utilizado para o transporte de dentes extraídos no experimento de FUKUSHIMA et al. (1990).

No presente experimento, o cone de papel amostrado foi imediatamente colocado em um tubo com tampa rosca contendo tioglicolato 135C BBL suplementado com hemina e vitamina K₁, regenerado imediatamente antes do uso.

Segundo FINEGOLD; BARON (1986), o tioglicolato 135C BBL suplementado com hemina (5ug/ml), vitamina K₁ (0,1ug/ml) e bicarbonato de sódio (1mg/ml) é o melhor meio de cultura para anaeróbios, por isso escolhemos esse tioglicolato para o transporte do material coletado. No nosso estudo, o meio de transporte foi usado também como cultivo inicial.

O nosso objetivo na cultura inicial é o desenvolvimento de bactérias de diversos gêneros em um mesmo meio de cultura, contemplando aeróbios e anaeróbios. A decisão do uso do tioglicolato como meio de transporte e cultura inicial recai no fato de ser um meio nutricionalmente rico e indicado para o cultivo de bactérias anaeróbias.

A técnica que usamos já foi avaliada anteriormente. Em 1980, CARLSSON; SUNDQVIST avaliaram cinco diferentes métodos de transporte e cultura de bactérias de canais radiculares infectados. Quando o meio fluido de tioglicolato USP (BBL) e meio Clausen (Oxoid) foram usados para o transporte, bem como para a cultura inicial, as bactérias foram encontradas em 58% e 47% dos

espécimes, respectivamente. A recuperação de bactérias pelo meio fluido de tioglicolato foi melhor quando comparada com a do elaborado meio PRAS. O meio fluido de tioglicolato USP, em um frasco com tampa rosca, não exige qualquer equipamento especial na clínica odontológica e é recomendado, segundo os autores, para uso rotineiro na prática dentária.

Em nosso experimento, isolamos microrganismos em seis (54,5%) dos onze casos analisados. Esses achados podem estar de acordo com CARLSSON; SUNDQVIST (1980), mas revelam ainda um alto percentual de culturas negativas.

Em nosso estudo, encontramos culturas negativas em cinco casos amostrados (45,5%). Também encontraram culturas negativas em seus experimentos os autores ASSED et al. (1996) 4% e GOMES; LILLEY; DRUCKER (1996) 14%.

Os autores citados encontraram um percentual reduzido de culturas negativas. No nosso experimento o percentual foi de 45,5%. Essa diferença no percentual de culturas negativas indica que a técnica que utilizamos pode não ter sido suficientemente sensível para o isolamento dos microrganismos habitantes no canal radicular.

O tioglicolato pode ser usado dentro de um tubo com tampa rosca sem a necessidade de equipamentos especiais, mas apresenta limitações. As bactérias anaeróbias estritas são incapazes de crescerem em tal meio, pois são extremamente sensíveis ao oxigênio.

A técnica da cultura inicial em tioglicolato, adotada nesse estudo, não favorece igualmente o crescimento de todos os microrganismos. Após um período de incubação, microrganismos que crescem mais lentamente podem ficar em desvantagem populacional quando comparados com microrganismos de crescimento rápido.

Encontramos cultura mista (aeróbio e anaeróbio) em apenas um dos onze casos amostrados (*Staphylococcus* sp. coagulase negativo e *Peptostreptococcus* sp.). Isso difere dos autores que encontraram cultura mista com maior freqüência (BROOK; GRIM; KIELICH (1981) 33%, LEWIS; MacFARLANE; McGOWAN (1986) 54% e FUKUSHIMA et al. (1990) 60%).

Considerando os resultados acima mencionados acreditamos que a técnica empregada pode não ter sido adequada para se realizar uma descrição da composição bacteriana de periapicopatias agudas.

Além de termos utilizado uma amostra pequena, os recursos e técnicas que dispomos no estado do Rio Grande do Sul são destinados apenas a pesquisas de microrganismos de importância clínica. As pesquisas bacteriológicas, independentemente do sítio da infecção, são realizadas com o intuito de identificar o patógeno que predomina de maneira característica em uma doença. A identificação desse

microrganismo – associada com medidas terapêuticas para a sua eliminação – levam a cura da patologia e, conseqüente, ao sucesso clínico. No entanto, essa técnica pode não ser adequada para estudos mais absolutos de prevalência bacteriana. Dessa forma, tivemos dificuldades em realizar uma metodologia científica que realmente fosse viável para a identificação de todos os microrganismos presentes no canal radicular. Recursos mais sofisticados (câmara de anaerobiose, por exemplo) destinados à pesquisa científica não são encontrados no nosso estado.

Adotamos uma rotina laboratorial preestabelecida, já existente em um laboratório de excelência no nosso estado e adequamos uma metodologia de coleta de material à rotina desse laboratório.

Assim, objetivamos uma investigação científica que fosse facilmente exequível a qualquer cirurgião-dentista que necessitasse de um exame microbiológico do seu paciente, embora soubéssemos das limitações inerentes ao procedimento bacteriológico desses estudos.

No nosso experimento não isolamos *Bacteroides* sp., *Prevotella* sp. e nem *Porphyromonas* sp., embora inúmeros autores tenham encontrado tais microrganismos em estudos similares (GRIFFEE et al. (1980), BROOK; GRIM; KIELICH (1981), FABRICIUS et al. (1982), LEWIS; MacFARLANE; McGOWAN (1986), YOSHIDA et al. (1987), FUKUSHIMA et al. (1990), HASHIOKA et al. (1992) e GOMES; LILLEY; DRUCKER (1996)).

Consideramos que talvez o pequeno número de dentes amostrados, e/ou a possível baixa sensibilidade da técnica que empregamos, possam ter contribuído para o não isolamento de *Bacteroides* sp., *Prevotella* sp. e *Porphyromonas* sp.. A técnica que usamos foi sensível apenas para a cultura de um grupo restrito de microrganismos envolvidos com as periapicopatias agudas.

Encontramos no nosso experimento o gênero *Peptostreptococcus*, como nos estudos de FUKUSHIMA et al. (1990), YOSHIDA et al. (1987), HASHIOKA et al. (1992) e GOMES; LILLEY; DRUCKER (1996).

Fusobacterium nucleatum também foi encontrado no nosso experimento, assim como nos estudos de OGUNTEBI et al. (1982) e ASSED et al. (1996).

Peptostreptococcus sp. e *Fusobacterium nucleatum* foram os únicos anaeróbios isolados no presente experimento. Foram encontrados em apenas três dos onze casos estudados. Outros estudos revelam a prevalência de anaeróbios nos canais radiculares de dentes com periapicopatias agudas (BROOK; GRIM; KIELICH (1981) e GOMES; LILLEY; DRUCKER (1996)).

Encontramos *Enterococcus faecalis* na nossa amostra assim como relatam GOMES;

LILLEY; DRUCKER (1996) em seu experimento.

Os *Streptococcus* do grupo viridans constituem microbiota normal de diversos sítios anatômicos, em especial das vias aéreas superiores. Esses microrganismos são identificados como patógenos de periapicopatias agudas segundo LEWIS; MacFARLANE; McGOWAN (1986).

Importante destacar que tanto o *Streptococcus* sp. grupo viridans quanto os demais aeróbios isolados nesse estudo (*Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus* sp. coagulase negativo e *Streptococcus agalactiae*) são todos relacionados com endocardite bacteriana de acordo com ANTUNES (1995).

As intenções iniciais do presente estudo previam o esclarecimento das questões relacionadas com a etiologia dos processos agudos, oferecendo maiores subsídios para a instituição de uma terapêutica adequada. Entretanto, após a identificação precisa dessa microbiota encontrada, verificamos a inter-relação e relevância desses patógenos não só com patologias periapicais agudas, mas também com doenças sistêmicas tipo endocardite bacteriana.

O fato de termos isolado tais microrganismos não fundamenta apenas uma terapêutica medicamentosa local endodôntica, mas também fundamenta uma conduta já preconizada pela Associação Americana de Cardiologistas, qual seja a de usar regularmente medicação antimicrobiana sistêmica preventiva em pacientes de risco para o desenvolvimento de endocardite infecciosa (pacientes portadores de prótese valvar cardíaca, doença valvar aórtica, febre reumática prévia com disfunção valvar, entre outras patologias segundo WANMACHER; FERREIRA (1999)).

O estudo realizado alerta para a importância do conhecimento do paciente como um todo. Isso não diz respeito apenas ao cirurgião-dentista, que deve saber da condição de saúde geral do seu paciente, mas também ao médico, que deve saber sobre a saúde bucal do seu paciente.

CONCLUSÕES

Nesse estudo foi possível identificar algumas bactérias potencialmente patogênicas em periapicopatias agudas, tais como *Peptostreptococcus* sp., *Fusobacterium nucleatum*, *Streptococcus* sp. grupo viridans e *Enterococcus faecalis*. No entanto, a técnica empregada pode não ter sido adequada para determinar a composição bacteriana específica das periapicopatias agudas, considerando que não houve crescimento bacteriano em quase metade das amostras, que bactérias anaeróbias foram isoladas em apenas três dos 11 casos e que culturas mistas foram identificadas em apenas uma das amostras.

SUMMARY

A deep knowledge about endodontic microbiology is a fundamental resource to understand the role of bacteria in the origin and development of periapical pathosis as well as to provide database for adequate therapy. Our objective was to investigate the composition of bacterial flora in acute periapical pathosis, and identify *in vivo* the microorganisms found in the root canal. We have studied 11 teeth from 11 subjects. The results were negative in five teeth and two microorganisms (*Staphylococcus* sp. and *Peptostreptococcus* sp.) were found in one sample. The other five teeth presented pure cultures of *Peptostreptococcus* sp., *Fusobacterium nucleatum*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus agalactiae* and viridans streptococcus. In this study, we were able to identify some potentially pathogenic bacteria in acute periapical pathosis such as *Peptostreptococcus* sp., *Fusobacterium nucleatum*, viridans streptococcus and *Enterococcus faecalis*. Our results indicate that the technique applied might not have been adequate to determine composition of bacterial flora in acute periapical pathosis. Such finding is based on negative bacterial growth in almost half of the sample, anaerobic bacteria were isolated just in three out of eleven cases and mixed cultures involving two bacteria found in only one sample.

KEYWORDS

Endodontics, bacteriology, root canal, infections, acute periapical pathosis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANTUNES, G. S. **Manual de diagnóstico bacteriológico**. 2.ed. Porto Alegre : Editora da UFRGS, 1995. 278p.
2. ASSED, S. et al. Anaerobic microorganisms in root canals of human teeth with chronic apical periodontitis detected by indirect immunofluorescence. **Endod. Dent. Traumatol.**, Copenhagen, v. 12, n. 2, p. 66-69, Apr. 1996.
3. BAUMGARTNER, J. C. Microbiologia endodôntica. In: WALTON, R. E.; TORABINEJAD, J. **Princípios e prática em endodontia**. São Paulo : Liv. Santos, 1997. 557 p. p. 277-291.
4. BROOK, I. ; GRIM, S. ; KIELICH, R. B. Bacteriology of acute periapical abscess in children. **J. Endod.**, Baltimore, v. 7, n. 8, p. 378-380, Aug. 1981.
5. CARLSSON, J. ; SUNDQVIST, G. Evaluation of methods of transport and cultivation of bacterial specimens from infected dental root canals. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, Saint Louis, v. 49, n. 5, p. 451-454, May 1980.

6. FABRICIUS, L. et al. Predominant indigenous oral bacteria isolated from infected root canals after varied times of closure. **Scand. J. Dent. Res.**, Copenhagen, v. 90, n. 2, p. 134-144, Apr. 1982.
7. FINEGOLD, S. M. ; BARON, E. J. **Diagnostic microbiology**. 7.ed. Saint. Louis : C. V. Mosby Company, 1986. 914 p.
8. FUKUSHIMA, H. et al. Localization and identification of root canal bacteria in clinically asymptomatic periapical pathosis. **J. Endod.**, Baltimore, v. 16, n. 11, p. 534-538, Nov. 1990.
9. GOLDIM, J. R. (Org.) **Pesquisa em saúde** : leis, normas e diretrizes. 3.ed. Porto Alegre : HCPA, 1997. 156 p.
10. GOMES, B. P. ; LILLEY, J. D. ; DRUCKER, D. B. Associations of endodontic symptoms and signs with particular combinations of specific bacteria. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 29, n. 2, p. 69-75, Mar. 1996.
11. GRIFFEE, M. B. et al. The relationship of *Bacteroides melaninogenicus* to symptoms associated with pulpal necrosis. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, Saint Louis, v. 50, n. 5, p. 457-461, Nov. 1980.
12. HASHIOKA, K. et al. The relationship between clinical symptoms and anaerobic bacteria from infected root canals. **J. Endod.**, Baltimore, v. 18, n. 11, p. 558-561, Nov. 1992.
13. HEAD, J. ; ROOS, C. On the bacteriology of apical abscesses. **J. Dent. Res.**, Baltimore, v. 1, n. 1, p. 13-21, Mar. 1919.
14. KAKEHASHI, S. ; STANLEY, H. R. ; FITZGERALD, R. J. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, Saint Louis, v. 20, n. 3, p. 340-349, Sept. 1965.
15. LEWIS, M. A. ; MacFARLANE, T. W. ; McGOWAN, D. A. Quantitative bacteriology of acute dento-alveolar abscesses. **J. Med. Microbiol.**, London, v. 21, n. 2, p. 101-104, Mar. 1986.
16. LUISI, S.B. ; FACHIN, E. V. F. Revisão e enfoque clínico sobre a bacteriologia das infecções endodônticas agudas. **Rev. Fac. Odontol.**, Porto Alegre, v. 40, n. 1, p. 41-45, set. 1999.
17. MacDONALD, J. B. ; HARE, G. C. WOOD, A. W. S. The bacteriologic status of the pulp chambers in intact teeth found to be nonvital following trauma. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, Saint Louis, v. 10, n. 3, p. 318-322, Mar. 1957.
18. MILANO, N. F. ; CAMINHA, J. A. Odontometria. **Rev. Gaúcha Odontol.**, Porto Alegre, v. 19, n. 1, p. 26-35, jan./mar. 1971.
19. MILANO, N. F. ; GRASSI, V. ; BONORINO, X. Odontometria em polirradiculares. **Rev. Gaúcha Odontol.**, Porto Alegre, v. 25, n. 3, p. 144-146, jul./set. 1977.
20. MILLER, W. D. The decomposition of the contents of the dentinal tubules as a disturbing factor in the treatment of the pulpless teeth. **Dent. Cosmos**, Philadelphia, v. 32, n. 5, p. 349-357, Apr. 1890.
21. MÖLLER, A. J. R. et al. Influence on periapical tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. **Scand. J. Dent. Res.**, Copenhagen, v. 89, n. 6, p. 475-484, Dec. 1981.
22. OGUNTEBI, B. et al. Predominant microflora associated with human dental periapical abscesses. **J. Clin. Microbiol.**, Washington, v. 15, n. 5, p. 964-966, May 1982.
23. SUNDQVIST, G. Associations between microbial species in dental root canal infections. **Oral Microbiol. Immunol.**, Copenhagen, v. 7, n. 5, p. 257-262, Oct. 1992.
24. SUNDQVIST, G. et al. Capacity of anaerobia bacteria from necrotic dental pulps to induce purulent infections. **Infect. Immun.**, Washington, v. 25, n. 2, p. 685-693, Aug. 1979.
25. WANMACHER, L. ; FERREIRA, M. B. C. **Farmacologia clínica para dentistas**. 2.ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1999. 349p.
26. WINKLER, K. C. ; VAN AMEROGEN, J. Bacteriologic results from 4,000 root canal cultures. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, Saint Louis, v. 12, n. 7, p. 857-1123, July 1959.
27. YOSHIDA, M. et al. Correlation between clinical symptoms and microorganisms isolated from root canals of teeth with periapical pathosis. **J. Endod.**, Baltimore, v. 13, n. 1, p.24-28, Jan. 1987.
28. ZAVISTOSKI, J. et al. Quantitative bacteriology of endodontic infections. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, Saint Louis, v. 49, n. 2, p. 171-174, Feb. 1980.

Correspondências para:

Nome: Elaine Vianna Freitas Fachin

End.: Faculdade de Odontologia - Ramiro Barcelos, 2492

Fone/Fax: 316.5198 / 316.5430

End. Eletrônico: efachin@hotmail.com