

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO EM ENDODONTIA

VANESSA MEDEIROS RAMOS

POR QUE AS LESÕES ENDODÔNTICAS PERSISTEM?
Uma revisão de literatura com enfoque biológico da questão.

PORTO ALEGRE
2012

VANESSA MEDEIROS RAMOS

POR QUE AS LESÕES ENDODÔNTICAS PERSISTEM?

Uma revisão de literatura com enfoque biológico da questão

Trabalho de Conclusão apresentado ao Curso de Especialização em Endodontia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para obtenção do título de Especialista em Endodontia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Elaine Vianna Freitas Fachin

PORTO ALEGRE

2012

VANESSA MEDEIROS RAMOS

POR QUE AS LESÕES ENDODÔNTICAS PERSISTEM?

Uma revisão de literatura com enfoque biológico da questão

Trabalho de Conclusão apresentado ao Curso de Especialização em Endodontia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para a obtenção do título de Especialista em Endodontia.

Porto Alegre, 05 de Janeiro de 2012.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Elaine Vianna Freitas Fachin (orientadora)

UFRGS/Faculdade de Odontologia

Prof. Dr. Marcus Vinícius Reis Só

UFRGS/Faculdade de Odontologia

Prof. Dr. Regis Burmeister dos Santos

UFRGS/Faculdade de Odontologia

À minha amada mãe, que mais que o dom da vida, me deu as ferramentas necessárias para conduzi-la com virtude, garra e determinação.

À minha avó materna, meu talismã querido, amiga e a palavra de incentivo de todas as horas.

À minha irmã, pela cumplicidade e confiança incondicional, pelo apoio e por ser essa pessoa maravilhosa e iluminada.

Ao meu noivo, pelo carinho e paciência, por me estimular e vibrar comigo por cada conquista minha.

AGRADECIMENTOS

À professora e doutora Elaine Vianna Freitas Fachin, por ser a bússola que norteou a realização deste trabalho, pelos ensinamentos e experiências compartilhadas, pelo exemplo a ser seguido e acima de tudo pela paciência e carinho em cada gesto e palavra.

À colega de profissão e amiga Rafaela Froener Dutra, pelo constante incentivo, pela ajuda sempre nas horas certas e pela importante contribuição a este trabalho.

Ao professor e doutor Francisco Montagner, pela disponibilidade e pelos ensinamentos compartilhados.

Aos colegas do pós que, direta ou indiretamente, contribuíram para a concretização desta meta.

Não se mede o valor de um homem pelas suas roupas ou pelos bens que possui, o verdadeiro valor do homem é o seu caráter, suas ideias e a nobreza dos seus ideais.

Charles Chaplin

RESUMO

RAMOS, V. M. **Por que as lesões endodônticas persistem? Uma revisão de literatura com enfoque biológico da questão.** 2012. 82f. Trabalho de Conclusão de Curso (Pós Graduação) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

Periodontite apical é um processo inflamatório agudo ou crônico dos tecidos perirradiculares causado por agentes etiológicos de origem endodôntica. Após o tratamento endodôntico, quando o mesmo é realizado adequadamente, a tendência é que ocorra o reparo destes tecidos caracterizando sucesso endodôntico. No entanto, há casos em que isso não ocorre, resultando em uma lesão periapical persistente e insucesso do tratamento. A maioria dos casos de insucesso estão relacionados a falhas na execução da técnica endodôntica, como controle de assepsia e instrumentação inadequadas, abertura coronária insuficiente e falhas no selamento provisório. Entretanto, há situações em que mesmo seguindo estes rigorosos princípios, a periodontite apical pode permanecer. Normalmente, nesses casos a causa é atribuída, principalmente, à uma infecção intrarradicular persistente, devido à complexidade anatômica do sistema de canais radiculares e capacidade de resistência bacteriana e em outros, embora raros, a causa pode estar associada à uma infecção extrarradicular ou ainda a fatores não microbianos como cistos periapicais, reação de corpo estranho induzida por extravazamento de materiais para os tecidos periapicais e presença de cristais de colesterol nas lesões. Esta revisão fornece uma abrangente visão dos fatores responsáveis pela permanência de lesões periapicais pós tratamento endodôntico, bem como, revisa a microbiota mais frequentemente associada à infecção endodôntica.

Palavras chave: Periodontite apical persistente. Microbiota endodôntica. Biofilme endodôntico. *Enterococcus faecalis*.

ABSTRACT

RAMOS, V. M. **Why endodontic lesions persist? A literature review focusing on the biological question.** 2012. 82f. Trabalho de Conclusão de Curso (Pós Graduação) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

Apical periodontitis is an acute or chronic inflammatory disorder of the periradicular tissues caused by aetiological agents of endodontic origin. When root canal therapy is performed properly, it is expected the repair of the periapical tissues which is characterized as endodontic success. However, there are some cases in which it doesn't happen, resulting in a persistent periapical lesion and treatment failure. Most cases of failure are related to flaws of the endodontic technique, such as poor aseptic control and inadequate instrumentation, insufficient coronal opening and sealing gaps. However, there are situations in which even following these stringent principles, apical periodontitis can remain. Usually, the cause of the failure is mainly attributed to a persistent intra radicular infection due to the anatomical complexity of the root canal system, as well as bacterial resistance and other causes, although rare, associated with extra radicular infection or related to non microbial factors such as periapical cysts, foreign body reaction induced by leakage of materials into the periapical tissues and the presence of cholesterol crystals in the lesions. This review provides a comprehensive overview of the factors responsible for persistence of periapical lesions after endodontic treatment and, more often reviews the microbiota associated with endodontic infection.

Keywords: Persistent apical periodontitis. Endodontic microbiota. Endodontic biofilm. *Enterococcus faecalis*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Desenho esquemático dos desafios enfrentados pelos microrganismos para se estabelecerem no sistema de canais radiculares.....	15
Figura 2 – Dentes diafanizados demonstrando o quão complexo é o sistema de canais radiculares	28
Figura 3 – <i>Smear layer</i> presente e nenhuma invasão de túbulos dentinários pelo <i>Enterococcus faecalis</i>	31
Figura 4 – Invasão da dentina por <i>Enterococcus faecalis</i>	32
Figura 5 – Invasão da dentina por <i>Enterococcus faecalis</i> . Em algumas áreas, as bactérias se espalham, a partir dos túbulos, em torno da dentina	32
Figura 6 – Grânulo de enxofre removido de uma lesão periapical persistente.....	39
Figura 7 – Interior do grânulo de enxofre, demonstrando um agregado bacteriano.....	39
Figura 8 – Desenho esquemático dos estágios de formação do biofilme	42
Figura 9 – Presença de biofilme bacteriano em canal acessório	44
Figura 10 – Biofilme aderido às paredes do canal radicular.....	45
Figura 11 – Desenho esquemático dos desafios enfrentados pela microbiota persistente.....	47
Figura 12 – Fatores necessários para a persistência da doença.....	49
Figura 13 – Células (micrografia eletrônica de varredura) e colônias (placa de ágar sangue) de <i>Enterococcus spp.</i>	58
Figura 14 – Cisto em baia. Há a comunicação da lesão com o forame apical	64
Figura 15 – Cisto verdadeiro. Não há comunicação da lesão com o forame apical.....	65
Figura 16 – a) Corte histológico, evidenciando a presença de cristais de colesterol em lesão periapical; (b) reação de corpo estranho com a presença de células gigantes ao redor dos cristais.....	67
Figura 17 – Grande pedaço de guta percha encapsulado pelo organismo.....	68
Figura 18 – Várias partículas de guta percha induzindo reação de corpo estranho.....	68

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BSA	Albumina sérica bovina
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i> (em português ADN - ácido desoxirribonucleico)
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
LPS	Lipopolissacarídeo
LTA	Ácido lipoteicóico
MIC	Medicação intracanal
PG	Peptideoglicano
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PMCC	Paramonoclorofenol Canforado
PQM	Preparo químico mecânico
qPCR	<i>Quantitative real-time polymerase chain reaction analyses</i>
RTF	Fluído de transporte reduzido

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 A PROBLEMÁTICA DA INFECÇÃO E SUA RELAÇÃO COM OS INSUCESSOS ENDODÔNTICOS	15
2.1.1 Patogenicidade e Fatores de virulência	21
2.1.2 Fatores inerentes ao dente	28
2.1.2.1 Túbulos dentinários	29
2.1.2.2 Selamento coronário	34
2.1.3 Fatores inerentes ao paciente	35
2.1.4 Infecção extra radicular	36
2.1.4.1 Actinomicose periapical	38
2.1.5 Biofilme endodôntico	41
2.2 CASOS REFROTÁRIOS E SUA RELAÇÃO COM A MICROBIOTA ENDODÔNTICA	46
2.2.1 Microbiota da infecção persistente	53
2.2.2 <i>Enterococcus faecalis</i>	58
2.3 FATORES NÃO MICROBIANOS RELACIONADOS COM O INSUCESSO ENDODÔNTICO	62
2.3.1 Cistos verdadeiros	63
2.3.2 Cisto em baia	65
2.3.3 Cristais de colesterol	66
2.3.4 Reação de corpo estranho	67
3 DISCUSSÃO	70
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	76
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78

1 INTRODUÇÃO

A periodontite apical pode ser definida como um processo patológico, agudo ou crônico, que ocorre nos tecidos periapicais em decorrência de uma infecção no sistema de canais radiculares após a necrose do tecido pulpar. Embora haja fatores físicos e químicos envolvidos na mortificação da polpa (ALVES, 2001; NARAYANAN; VAISHNAVI, 2010; SIQUEIRA; RÔÇAS, 2009a), as bactérias são essenciais para a progressão e perpetuação das diferentes formas de periodontite apical (BERGENHOLTZ; DAHLÉN, 2004; BRITO Jr.; SOARES; LUZ, 2011; FUJII et al., 2009; LUISI; FACHIN, 1999; NARAYANAN; VAISHNAVI, 2010; SIQUEIRA, et al., 2009; TRONSTAD; SUNDE, 2003).

Miller em 1894, através de bacterioscopia do esfregaço de material coletado de canais infectados, já sugeria a associação de bactérias com as patologias endodônticas, mas foi em 1965, com o trabalho de Kakehashi, Stanley e Fitzgerald, que esta relação de fato se estabeleceu. Estes autores conseguiram determinar causa e efeito ao expor polpas dentais de ratos convencionais e *germ free* ao meio bucal e ao analisarem as respostas histologicamente, observaram que as polpas dos animais convencionais desenvolveram necrose pulpar e destruição óssea, enquanto que nos ratos *germ free*, houve reparação do tecido pulpar pela deposição de dentina neoformada.

Sundqvist (1976), em um clássico estudo, avaliou 32 dentes unirradiculares sem exposição e com vitalidade pulpar. Os dentes não apresentavam lesão cáriosa, restaurações ou alterações anatômicas, e a perda da vitalidade pulpar era decorrente de trauma. Foram recuperadas bactérias em 18 dos 19 dentes que apresentavam lesão periapical visível em radiografia. Destes, a maioria continha mais de uma espécie bacteriana. Em alguns casos, puderam ser isoladas até oito espécies por canal e em todos os casos foram isoladas 88 espécies diferentes. Os resultados mostraram o papel fundamental dos microrganismos na etiologia e desenvolvimento das lesões periapicais. Apenas cinco das 88 espécies encontradas cresceram em ambiente aeróbio, o que comprovou a eficácia dos meios de transporte e cultivo utilizados neste estudo. Alguns dos gêneros isolados foram *Fusobacterium spp.*, *Bacteróides spp.*, *Eubacterium spp.*, *Peptostreptococcus spp.* e *Campylobacter spp.*

Möller et al. (1981) também evidenciaram o papel fundamental dos microrganismos para o desenvolvimento de lesões periapicais. Eles selecionaram nove macacos, acessaram a câmara pulpar assepticamente e extirparam a polpa com o auxílio de uma lima Hedström, depois os dentes foram divididos em dois grupos: no primeiro grupo, 20 dentes foram selados após a extirpação pulpar e considerados dentes assépticos; no segundo grupo, 50 dentes não foram selados e a cavidade pulpar foi mantida exposta ao meio bucal. Os resultados clínicos, radiográficos e microbiológicos, foram registrados no início do experimento e também após seis a sete meses. Ao final da pesquisa, o grupo de dentes considerado asséptico mostrou-se livre de infecção, demonstrando que tecido pulpar necrótico não infectado não induz a uma reação inflamatória nos tecidos periapicais e que, na verdade, é necessária a presença de bactérias para tal efeito, como demonstrado nos dentes em que a cavidade pulpar foi mantida exposta à colonização da microbiota bucal destes animais.

Frente à etiologia infecciosa da periodontite apical, o sucesso do tratamento endodôntico está indiscutivelmente subordinado à efetiva eliminação da microbiota do sistema de canais radiculares, bem como a prevenção de uma nova infecção (CHIVATXARANUKUL; DASHPER; MESSER, 2008; FUJII et al., 2009; HAAPASALO; UDNAES; ENDAL, 2003; NAIR, 2006; NARAYANAN; VAISHNAVI, 2010; PINHEIRO et al., 2003; RODRIGUES, 2006; SAKAMOTO et al., 2007; SIQUEIRA; RÔÇAS, 2008, 2009a; SOUSA et al., 2003).

Para Paisano e Bombana (2010), a permanência de um grande número de bactérias dentro do sistema de canais radiculares, em associação com condições favoráveis de crescimento, é fator determinante para o fracasso da terapia endodôntica. O que é corroborado pelos autores Chandra (2009); Cheung e Ho (2001); Chivatxaranukul, Dashper e Messer (2008); Haapasalo, Udnaes e Endal (2003); Jardim Jr. et al. (2004); Kaufman et al. (2005); Pinheiro et al. (2003); Rodrigues (2006); Sakamoto et al. (2008); Siqueira e Rôças (2008); Sundqvist e Figdor (2003), quando citam em seus trabalhos que a infecção persistente pode ser a causa mais comum de falha no tratamento endodôntico.

Para Figdor (2004), Nair (2006), Sundqvist e Figdor (2003), a maioria das falhas de tratamentos endodônticos estão relacionadas com a forma inadequada com que o operador conduz os princípios técnicos. Mas quando o oposto ocorre e ainda sim não se alcança o sucesso, cinco fatores podem estar relacionados à

persistência de uma radiolucência periapical após a endodontia. São eles: 1. infecção extrarradicular; 2. cistos verdadeiros; 3. reação de corpo estranho; 4. tecido fibroso cicatricial; 5. infecção intrarradicular, sendo esta a causa mais relacionada aos fracassos. Alguns destes itens serão abordados ao longo desta revisão.

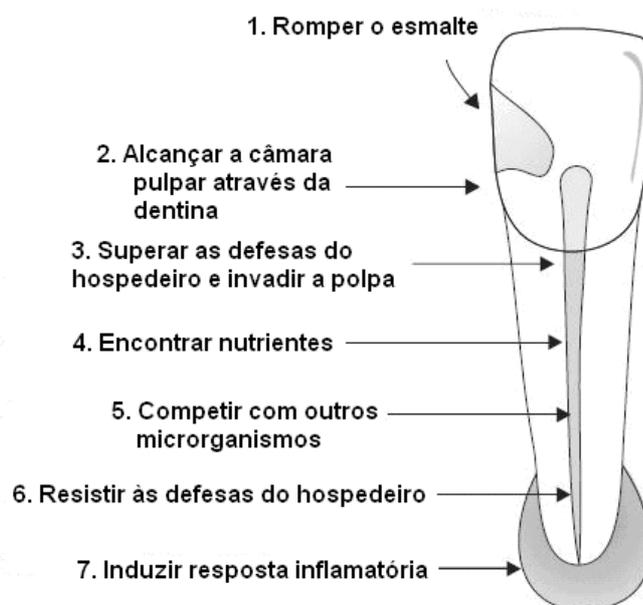
Compreender a etiologia das lesões periapicais e o que a sustenta é de fundamental importância, pois conhecendo estes mecanismos, será possível identificar novas estratégias clínicas para o combate das infecções endodônticas. Pensando nisto, o objetivo deste trabalho é revisar a literatura atual acerca da problemática da infecção endodôntica que resulta no fracasso do tratamento e em lesões periapicais que persistem, mesmo após a execução de uma adequada terapia.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A PROBLEMÁTICA DA INFECÇÃO E SUA RELAÇÃO COM OS INSUCESSOS ENDODÔNTICOS

Quando há invasão bacteriana ao tecido pulpar, uma resposta inflamatória inespecífica inicia com o objetivo de localizar e eliminar o agente agressor, remover os tecidos degenerados e preparar a área injuriada para a reparação tecidual. Diante de uma agressão intensa, essa resposta não alcança seu intuito e os microrganismos conseguem colonizar o sistema de canais radiculares. A partir daí uma inflamação crônica se instala e o prognóstico pulpar é fatal, o que permite que a infecção se alastre para todo este sistema onde as bactérias estarão protegidas dos mecanismos de defesa do hospedeiro, bem como da ação de antibióticos sistêmicos, devido à ausência de uma circulação sanguínea (ALVES, 2001; BRITO Jr.; SOARES; LUZ, 2011; HAAPASALO; UDNAES; ENDAL, 2003; RODRIGUES, 2006; SIQUEIRA; RÔÇAS, 2007, 2008).

Figura 1 – Desenho esquemático dos desafios enfrentados pelos microrganismos para se estabelecerem no sistema de canais radiculares



Fonte: SUNDQVIST e FIGDOR, 2003, p. 7

Muitos fatores influenciam na composição microbiana das infecções endodônticas. Fatores estes que estão relacionados com os hábitos do hospedeiro, uma vez que a microbiota endodôntica origina-se a partir da microbiota bucal, de forma que estudos mostram diferentes prevalências de gêneros bacterianos em distintas populações. De acordo com Siqueira e Rôças (2008, 2009a), cada indivíduo possui uma única microbiota endodôntica em termos de riqueza de espécies e abundância, o que permite indicar que a periodontite apical possui uma etiologia heterogênea, onde uma única espécie bacteriana não pode ser considerada como principal patógeno, mas sim um consórcio de múltiplas espécies.

Outro fator importante é o ambiente onde esta infecção ocorre, sendo o ambiente radicular um meio especial e seletivo, por causa, em parte, da natureza cooperativa e antagonista das relações entre as bactérias (BRITO Jr.; SOARES; LUZ, 2011; LUISI; FACHIN, 1999). Essa interação bacteriana é parte importante para a persistência, sobrevivência e crescimento bacteriano no sistema de canais radiculares (BERGENHOLTZ; DAHLÉN, 2004; SIQUEIRA; RÔÇAS, 2008; SUNDQVIST; FIGDOR, 2003;).

Dentro desse sistema, os principais fatores ecológicos que influenciam a composição da microbiota são a tensão de oxigênio, tipo e quantidade de nutrientes disponíveis (HAAPASALO; UDNAES; ENDAL, 2003; RODRIGUES, 2006; SIQUEIRA; RÔÇAS, 2008; SUNDQVIST; FIGDOR, 2003) e, além disso, o pH, a temperatura e a resistência do hospedeiro também são importantes influências nesse processo (PETERS; WESSELINK; WINKELHOFF, 2002).

Haapasalo, Udnaes, Endal (2003), Sundqvist e Figdor (2003), referem que as possíveis fontes de nutrição para as bactérias são: o tecido pulpar necrótico, exsudato inflamatório oriundo dos tecidos periapicais pelo forame apical, canais laterais, soro em túbulos dentinários e ainda através de lesões cariosas expostas ao meio bucal, o que permite acesso a nutrientes ricos em carboidratos e maior quantidade de oxigênio.

As infecções endodônticas de uma forma geral apresentam um caráter polimicrobiano (GOMES et al., 2004; LEONARDO, et al., 2004; NARAYANAN; VAISHNAVI, 2010; PINCHIARI, 2007; SUNDE et al., 2002; SUNDQVIST; FIGDOR, 2003) com predomínio de bactérias anaeróbias estritas (BEATRICE et al., 2008; BRITO Jr.; SOARES; LUZ, 2011; CHANDRA, 2009; RODRIGUES, 2006;

TOMAZINHO; CAMPOS, 2007) e podem ser classificadas de acordo com o tempo em que elas ocorrem.

De acordo com Sundqvist e Figdor (2003), o predomínio de anaeróbios estritos se dá pelo consumo de oxigênio e produção de dióxido de carbono e hidrogênio, juntamente com o desenvolvimento do potencial óxido redução pelos colonizadores iniciais que favorece o crescimento e domínio deste tipo bacteriano.

Infecção primária é causada pelos primeiros microrganismos que invadem e colonizam o sistema de canais radiculares após a necrose pulpar (ALVES, 2001; SIQUEIRA; RÔÇAS, 2008; 2009a).

Os primeiros colonizadores da polpa são microrganismos facultativos e aerotolerantes (que preferem ou aceitam a presença de oxigênio) e à medida que o tempo passa e a infecção progride, diminui o oxigênio disponível (consumido pelo metabolismo dos facultativos) o que proporciona o domínio de bactérias anaeróbias estritas (GOMES et al., 2004; NARAYANAN; VAISHNAVI, 2010; PAZ, 2004; SÓ; BAMMANN, 2007; SUNDQVIST; FIGDOR, 2003).

Infecção secundária é causada por microrganismos que não estavam presentes na infecção primária, mas tiveram acesso ao canal após a intervenção endodôntica (ALVES, 2001; SAKAMOTO et al., 2008; SIQUEIRA; RÔÇAS, 2008, 2009a) e infecção persistente é causada por microrganismos oriundos de uma infecção primária ou secundária que conseguiram resistir aos procedimentos endodônticos de desinfecção intracanal e que são capazes de suportar períodos de privação nutricional (SAKAMOTO et al., 2008; SIQUEIRA; RÔÇAS, 2008, 2009a; SUNDQVIST; FIGDOR, 2003). E nestas, há um predomínio de bactérias gram-positivas facultativas (BERGENHOLTZ; DAHLÉN, 2004; GOMES et al., 2004; HAAPASALO; UDNAES; ENDAL, 2003; PAZ, 2004; SAKAMOTO et al., 2008; TRONSTAD; SUNDE, 2003).

Segundo Haapasalo, Udnaes e Endal (2003), a microbiota da periodontite apical primária em ambientes fechados, ou seja, em canais que não possuem nenhuma comunicação com o meio bucal, a proporção de bactérias anaeróbias estritas varia de 70% a 100%, enquanto que nos casos de canais expostos, a proporção relativa de aeróbios e facultativos gram-positivos é maior do que em casos fechados.

Tronstad e Sunde (2003) referem que quando o sistema de canais radiculares está fechado, após a colonização inicial, um crescimento seletivo de bactérias

começa, e já depois de sete dias, 50% da flora cultivável são bactérias anaeróbias estritas e em breve esse valor assume os 90%, com maior domínio na região apical onde a tensão de oxigênio é ainda menor.

Sundqvist e Figdor (2003) colocam em sua revisão que em casos onde o canal radicular está exposto ao meio bucal, há um predomínio de anaeróbios facultativos na porção coronal, enquanto que no segmento apical, anaeróbios estritos dominam. E corroborando o que Haapasalo, Udnaes, Endal (2003); Tronstad e Sunde (2003) já haviam dito, eles explicam que em canais fechados, a tendência de estritos sobre facultativos com o tempo, ocorre provavelmente devido a mudanças nos nutrientes disponíveis, bem como na diminuição da disponibilidade de oxigênio, pois anaeróbios facultativos crescem bem em anaerobiose, mas sua fonte principal de energia é hidrato de carbono e, quando não há a comunicação com o meio bucal, existe a diminuição de carboidratos no canal limitando severamente o crescimento desse tipo bacteriano. O que é corroborado também por Portenier, Waltimo e Haapasalo (2003).

De acordo com Cheung, Ho (2001) e Sassone et al. (2008), as bactérias frequentemente isoladas de necrose pulpar são dos gêneros *Porphyromonas spp.*, *Prevotella spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Streptococcus spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, *Lactobacillus spp.* e *Eubacterium spp.*. Gomes et al. (2004) citam além destes, o *Actinomyces spp.*

Haapasalo, Udnaes e Endal (2003) referem que as bactérias mais frequentemente isoladas em casos de periodontite apical primária são: *Dialister pneumosintes (Bacteroides pneumosintes)*, *T. forsythensis (B. forsythus)*, *Prevotella spp.*, *Porphyromonas spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Treponema spp.*, *Campylobacter reto (Volinella recta)*, *Micromonas micros (P. micros)*, *Eubacterium spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Actinomyces spp.*, *Propionibacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*, e *Streptococcus spp.*

Segundo Sakamoto et al. (2007, 2008), Siqueira e Rôças (2008, 2009b), 40% a 55% da microbiota endodôntica é composta por espécies bacterianas, que através de estudos moleculares, foram conhecidas apenas por uma sequência do gene 16SrRNA e que ainda não foram cultivadas, nem totalmente caracterizadas, mas nem por isso são menos importantes no desenvolvimento das patologias pulpares e periapicais.

Sassone et al. (2008b), referem que muitos estudos de cultura têm demonstrado que infecções endodônticas são mistas com a recuperação principalmente de *Fusobacterium spp.*, *Porphyromonas spp.* e *Prevotella spp.* Com o uso de novas técnicas moleculares, está sendo possível compreender melhor o perfil microbiano destas infecções, pois permite a identificação de algumas bactérias antes subestimadas por seu difícil cultivo, como *Treponema spp.*, *Filifactor alocis*, *Tannerella forsythia* e *Enterococcus faecalis*.

Referente à presença de uma lesão periapical, segundo Siqueira e Rôças (2008), quanto maior a lesão, mais complexa e diversificada é a microbiota que infecta esse sistema de canais radiculares. O que é corroborado por Chandra (2009), Ng, Mann, Gulabivala (2008); Portenier, Waltimo, Haapasalo (2003), Sundqvist e Figdor (2003).

Chandra (2009) refere que há uma queda nas chances de sucesso endodôntico de 9% a 13% quando há uma lesão periapical evidenciada em radiografia e que dois fatores devem ser considerados durante a execução do tratamento, que são: a natureza bacteriana desse sistema (qualidade, número e tipo) e os métodos utilizados para a eliminação desta infecção.

Rodrigues (2006) avaliou a microbiota de dentes necróticos com ou sem lesão periapical crônica, visível em radiografia, por meio das técnicas *Checkerboard DNA-DNA Hybridization* e cultura microbiológica. Foram selecionados 20 dentes unirradiculares que foram divididos em dois grupos de acordo com a presença ou ausência de lesão periapical, sendo 10 dentes em cada (necropulpectomia I, sem lesão e necropulpectomia II, com lesão). Após o acesso endodôntico, os canais foram inundados com solução salina estéril e as amostras foram coletadas com auxílio de uma lima número 20, que foi utilizada para realizar a agitação do material necrótico, e três cones de papel para remoção do líquido. Imediatamente as amostras foram transferidas para ambientes adequados para o processamento microbiológico e molecular. A técnica molecular utilizada permitiu a detecção de 32 espécies diferentes no grupo necropulpectomia II e 31 no outro grupo. Os microrganismos predominantes do grupo necropulpectomia II foram: *Fusobacterium nucleatum spp. polymorphum*, *Neisseria mucosa* e *Porphyromonas gingivalis* (100%). No grupo sem lesão *Prevotella melaninogenica* foi a bactéria predominante, estando presente em 90% dos canais radiculares deste grupo. A partir dos resultados, a autora concluiu que a microbiota de canais radiculares necróticos

confirma a natureza polimicrobiana das infecções endodônticas e que mais estudos utilizando técnicas moleculares são necessários para melhorar essa compreensão, especificar o papel dessas bactérias na patogênese da doença e estabelecer estratégias de combate.

A literatura endodôntica tem sugerido que a microbiota no sistema de canais radiculares pode variar de acordo com a doença periapical, de modo que Sassone et al. (2008), através do método molecular de *Checkerboard DNA-DNA Hybridization*, investigaram a composição microbiana de infecções endodônticas primárias com e sem a presença de uma fístula. Para isso 30 pacientes com pelo menos um dente unirradicular com necrose pulpar, evidência radiográfica de lesão periapical, com ou sem dor e com ou sem fístula foram selecionados. As amostras foram coletadas, sob rigorosa condição asséptica, por meio de uma lima número 15, introduzida no canal a 1 mm do ápice radicular (medida determinada previamente por radiografias de diagnóstico) e realizado um leve movimento de corte. Em seguida, dois cones de papel foram introduzidos no canal, na mesma medida, e deixados por 60 segundos cada para que todo o líquido do canal fosse absorvido e após foram transferidos para ambientes adequados e congelados para posterior processamento e análise molecular. As espécies mais prevalentes, encontradas em 75% das amostras, foram: *Prevotella melaninogenica*, *Leptotrichia buccalis*, *Enterococcus faecalis*, *Campylobacter gracillis*, *Neisseria mucosa*, *Fusobacterium nucleatum*, *Eubacterium saburreum*, *Streptococcus anginosus*, *Veillonella parvula* e *Porphyromonas gingivalis*. As espécies menos comuns, encontradas em 25% das amostras, foram: *Streptococcus intermedius*, *Actinomyces naeslundii*, *Capnocytophaga ochracea* e *Actinomyces gerencseriae*. Nos casos com fístula, as espécies mais prevalentes foram: *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Campylobacter gracillis*, *Eubacterium saburreum* e *Enterococcus faecalis*. Nos casos sem fístula as bactérias mais prevalentes foram: *Fusobacterium nucleatum*, *Veillonella parvula*, *Enterococcus faecalis*, *Neisseria mucosa*, *Campylobacter gracillis* e *Prevotella nigrescens*. Os autores concluíram que há uma grande diversidade bacteriana em infecções primárias e os resultados do estudo mostraram que há diferenças na microbiota entre os casos com ou sem fístula.

2.1.1 Patogenicidade e Fatores de virulência

Patogenicidade é a capacidade de um organismo causar doença em outro. Os chamados patógenos incluem bactérias, fungos, vírus, protozoários e parasitas que são capazes de aderir, colonizar, sobreviver, propagar e fugir dos mecanismos de defesa do hospedeiro, causando a destruição dos tecidos de forma direta, através da ação induzida por enzimas, exotoxinas e metabólitos e, de forma indireta, quando a reação imune do hospedeiro é estimulada, por componentes bacterianos, a causar destruição dos tecidos (NARAYANAN; VAISHNAVI, 2010; SIQUEIRA; RÔÇAS, 2007; SUNDQVIST; FIGDOR, 2003;). O grau de patogenicidade de um microrganismo é denominado de virulência (NARAYANAN; VAISHNAVI, 2010).

Diversos fatores físicos e químicos dentro do canal radicular, tais como: grau de anaerobiose, nível de pH, disponibilidade de nutrientes exógenos e endógenos, superfícies disponíveis para adesão (como a dentina), vestígios de medicação intracanal ou material obturador podem influenciar a patogenicidade bacteriana (NARAYANAN; VAISHNAVI, 2010).

Siqueira e Rôças (2007) citam uma sequência de etapas necessárias para o estabelecimento de uma infecção no organismo, que são: a) colonização de superfícies; b) invasão tecidual; c) sobrevivência dentro do tecido através da aquisição de nutrientes e fuga dos mecanismos de defesa do hospedeiro; e d) indução de danos diretos ou indiretos aos tecidos do mesmo. Para tal estabelecimento, diversos fatores de virulência estão envolvidos.

Os fatores de virulência incluem componentes estruturais da célula bacteriana e produtos lançados no ambiente e estão intimamente relacionados com sinais e sintomas da infecção endodôntica. De acordo com Bergenholtz e Dahlén (2004), somente algumas espécies bacterianas possuem esse poder, o que é corroborado por Siqueira e Rôças (2007), quando referem que isso é consistente com a progressão lenta da forma mais comum da periodontite apical, a forma crônica. Além disso, os fatores de virulência podem funcionar como mecanismos bacterianos para modular o processo a seu favor e escapar das defesas do hospedeiro. O conhecimento destes fatores contribui para identificar alvos terapêuticos nas patologias endodônticas (LEONARDO et al., 2004; NARAYANAN; VAISHNAVI, 2010).

Autoagregação pode ser definida como a aderência de bactérias que pertencem à mesma estirpe e coagregação ocorre quando duas ou mais bactérias, de espécies diferentes, interagem formando um agregado composto estável e este último é altamente específico e considerado um fator de virulência (KHEMALEELAKUL; BAUMGARTNER; PRUKSAKOM, 2006). Sundqvist e Figdor (2003) complementam que a complexidade da interação bacteriana e a sinergia entre as espécies podem ser essenciais para a destruição dos tecidos periapicais e uma vez que essas interações não foram completamente elucidadas, todas as bactérias que se estabelecem no sistema de canais radiculares podem ser consideradas patógenos endodônticos.

Khemaleelakul, Baumgartner e Pruksakom (2006) realizaram um estudo com dois objetivos, o primeiro foi avaliar bactérias isoladas em abscessos endodônticos agudos por autoagregação e coagregação, o segundo foi avaliar a coagregação bacteriana através de ensaios visuais convencionais e com o uso de uma nova técnica de coloração fluorescente. Para isso, 62 cepas bacterianas de 15 gêneros distintos foram obtidas a partir da aspiração do conteúdo purulento de 10 pacientes com diagnóstico de abscesso endodôntico agudo. Quando as 62 cepas foram visualmente testadas para autoagregação, 35 apresentaram uma reação positiva e os gêneros predominantes foram: *Prevotella spp.*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.* e *Fusobacterium spp.* Para os ensaios visuais, 183 pares de bactérias foram testados e destes, 149 continham uma ou duas cepas autoagregadas e 29 coagregadas, sendo as mais fortes destas entre os gêneros *Prevotella spp.*, *Streptococcus spp.* e *Fusobacterium spp.* Ao testar, pelas técnicas de coloração, 148 dos 183 pares apresentaram a capacidade de coagregação. Em conclusão, este estudo mostra que a maioria das bactérias isoladas de abscessos endodônticos agudos possuem a capacidade de se coagregarem e isso pode desempenhar um papel importante na patogenicidade das infecções endodônticas.

Combinações bacterianas específicas são encontradas no sistema de canais radiculares e contribuem para mudanças na microbiota por diferentes mecanismos de interação. Uma espécie bacteriana ou um agregado podem favorecer outro, por exemplo, fornecendo fatores de crescimento ou alterando o ambiente física e quimicamente (PETERS; WESSELINK; WINKELHOFF, 2002).

Tomazinho e Campos (2007) sugeriram que as associações bacterianas entre as bactérias pigmentadas de negro como *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas*

endodontalis, *Prevotella intermedia* e *Prevotella nigrescens* são comumente encontradas em processos endodônticos e que essa condição de sinergismo parece ser requisito para a patogenicidade dessas bactérias. Além disso, a presença dessas espécies em infecções crônicas pode significar um papel significativo na etiologia e perpetuação de doenças periapicais.

Peters, Wesselink e Winkelhoff (2002) realizaram um estudo com o objetivo de investigar associações positivas e negativas de bactérias encontradas em canais com infecção endodôntica e destruição periapical, sem sinais e sintomas clínicos. Os autores coletaram o conteúdo de 58 canais radiculares utilizando limas e cones de papel e depois colocaram estas amostras em ambientes adequados para o processamento microbiológico. Os resultados demonstraram a presença de uma infecção polimicrobiana, com quatro a sete espécies por canal e as bactérias mais prevalentes foram: *Prevotella intermedia* (33%), *Peptostreptococcus micros* (29%) e *Actinomyces odontolyticus* (19%). Testes estatísticos mostraram interações positivas entre *Prevotella intermedia* e *Prevotella oralis*, entre *Prevotella intermedia* e *Peptostreptococcus micros*, entre *Actinomyces odontolyticus* e *Peptostreptococcus micros* e entre *Bifidobacterium spp.* e *Veillonella ssp.* Interações negativas não foram encontradas. Os autores concluíram que patógenos endodônticos não ocorrem ao acaso, mas são encontrados em combinações específicas que podem contribuir para o desenvolvimento de sinais e sintomas clínicos das patologias periapicais, bem como causar a destruição óssea local.

Tomazinho e Campos (2007) avaliaram através de métodos de cultura e pelo método molecular *Polymerase Chain Reaction* (PCR), a prevalência de *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas endodontalis*, *Prevotella intermedia* e *Prevotella nigrescens* em pacientes com lesões apicais crônicas. Amostras de 100 pacientes com canais radiculares necróticos e com lesão periapical crônica foram obtidas, sob condições assépticas, com o auxílio de quatro cones de papel, mantidos cada um por 60 segundos no interior do canal. Após, dois cones foram acondicionados em ambiente adequado para processamento microbiológico pelo método de cultura, e os outros dois cones para o processamento em PCR. Pelo método de cultura foi possível recuperar pelo menos uma destas bactérias em 33% das amostras e destas, *Prevotella intermedia/nigrescens* estava presente em 75,6%, *Porphyromonas gingivalis* em 15,2% e *Porphyromonas endodontalis* 9,1%. Houve associação bacteriana em 21,2% (*P. intermedia/nigrescens* com *P. gingivalis*) e 3%

(*P.intermedia/nigrescens* com *P. endodontalis*) das amostras. O método PCR identificou alguma destas bactérias em 60% das amostras, sendo *P. gingivalis* presente em 43,3%, *P. nigrescens* em 43,3%, *P. intermedia* em 31,7% e *P. endodontalis* em 23,3%, associações positivas também foram observadas. Os autores concluíram que a presença destas bactérias, de forma isolada ou em associação, parece ser frequente em infecções endodônticas crônicas.

Tentando determinar os microrganismos associados a canais radiculares com abscessos periapicais agudos, Sousa et al. (2003) colheram amostras de 30 canais radiculares (27 casos de necrose pulpar e 3 retratamentos), utilizando pontas de papel esterilizadas introduzidas no comprimento total do canal e mantidas por 60 segundos sob um fluxo contínuo de nitrogênio para preservação de bactérias anaeróbias. Os cones foram transferidos para ambientes adequados para posterior processamento microbiológico pelos métodos de cultura. Do total de 117 tipos diferentes de bactérias recuperadas, 75 (80% das amostras) foram anaeróbias estritas e 42 (76,6% das amostras) facultativas. Bactérias gram-negativas foram identificadas em 56,6% dos canais radiculares e bactérias gram-positivas representaram 96,6%. Os anaeróbios estritos mais frequentemente isolados foram: *Peptostreptococcus prevotti* (43,3%), *Peptostreptococcus micros* (30%), *Fusobacterium necrophorum* (23,3%), *Streptococcus constellatus* (20%) e *Prevotella intermedia/nigrescens* (10%). Bactérias facultativas como *Gemella morbillorum* (30%), *Streptococcus mitis* (20%) e *Gemella haemolysans* (13,3%) também foram encontradas, porém, em menor quantidade. Os autores concluíram que bactérias anaeróbias gram-positivas predominam na microbiota mista de canais radiculares com abscesso periapical agudo.

Sassone et al. (2008b) avaliaram a composição microbiana de infecções endodônticas primárias associadas com dentes sintomáticos, utilizando o método molecular *Checkerboard DNA-DNA Hybridization*. Um total de 60 indivíduos com pelo menos um dente unirradicular com necrose pulpar e evidência radiográfica de perda óssea foram selecionados, destes, 30 tinham dor (diagnóstico feito através da anamnese e exames clínicos) e 30 estavam assintomáticos. As amostras foram coletadas, sob condições assépticas, através de limas tipo Hedström número 15, introduzidas a 1 mm do vértice radicular, como determinado previamente por radiografias iniciais, e leve movimento de corte. Posteriormente dois cones de papel foram usados para remover todo o líquido no interior do canal, permanecendo 60

segundos cada um e após, lima e cones foram acondicionados em ambientes adequados e congelados para posterior processamento. O número médio de espécies encontradas nas 60 amostras foram 24, variando de 7 a 38 espécies por amostra. Em dentes sintomáticos, o número médio foi 26, variando de 11 a 38 por amostra e nos casos assintomáticas, o número médio foi 20, variando de 7 a 35 espécies por canal. Nos casos sintomáticos, as bactérias detectadas em maiores níveis foram: *Fusobacterium nucleatum* spp. *Vincentii*, *Veillonella parvula*, *Treponema socranskii*, *Enterococcus faecalis*, *Campylobacter gracilis*, *Neisseria mucosa* e *Eubacterium saburreum*. Nos casos assintomáticos as bactérias detectadas em níveis mais altos foram: *F. nucleatum* spp. *Vincentii*, *F. nucleatum* spp. *nucleatum*, *Enterococcus faecalis*, *E. saburreum*, *N. Mucosa* e *Peptostreptococcus micros*. *Tannerella forsythia* foi encontrada em maior nível nas amostras de dentes sintomáticos e o *Propionibacterium acnes* nos casos assintomáticos. Com os resultados da investigação, os autores concluíram que um nível de contagem bacteriana maior de *Tannerella forsythia* sugere uma associação com casos sintomáticos.

Siqueira e Rôças (2009b) realizaram um estudo utilizando o método molecular *reverse-capture checkerboard assay* para identificar a microbiota endodôntica associada com abscessos periapicais agudos, bem como detectar associações bacterianas nestes casos. O material examinado foi obtido a partir da aspiração da secreção purulenta de abscessos apicais agudos de 42 pacientes. Os dentes envolvidos apresentaram lesões de cárie, polpas necróticas e evidência radiográfica de perda óssea perirradicular. O diagnóstico de abscesso agudo foi baseado na presença de dor espontânea exacerbada pela mastigação, edema difuso ou localizado, febre, linfadenopatia ou mal estar. Fístulas também foram observadas. A coleta foi feita após a desinfecção da mucosa com clorexidina e o material foi enviado para a análise molecular. As espécies bacterianas detectadas com maior frequência foram: *Fusobacterium nucleatum* (em 27 dos 42 casos), *Parvimonas micra* (anteriormente *Peptostreptococcus / Micromonas micros* – em 22 dos 42 casos), *Porphyromonas endotontalis* (em 20 dos 42), *Olsenella uli* (19 dos 42), *Streptococcus* spp. (16 dos 42), *Eikenella corrodens* (16 dos 42), *Bacteroidetes* clone X083 (15 dos 42), *Prevotella baroniae* (15 dos 42), *Treponema denticola* (15 dos 42), *Dialister invisus* (13 dos 42). Quanto às associações bacterianas, vários pares foram positivos e os que apresentaram uma forte associação foram entre

Selenomonas sputigena e *Streptococcus* spp., *Fusobacterium nucleatum* e *Parvimonas micra*, *Treponema denticola* e *Streptococcus* spp., *Filifactor alocis* e *Streptococcus* spp., *Tannerella forsythia* e *Selenomonas* spp., *Fusobacterium nucleatum* e *Synergistes* clone BA121 e ainda *Parvimonas micra* e *Olsenella uli*. Associações negativas também foram observadas. Os autores concluíram que os métodos moleculares têm redefinido o conhecimento sobre a microbiota envolvida em infecções endodônticas e os resultados do estudo fortalecem a associação entre espécies bacterianas cultiváveis em abscessos e também apóiam a inclusão de várias bactérias ainda não cultivadas no conjunto de patógenos endodônticos.

Um dos fatores de virulência mais estudados é o LPS (lipopolissacarídeo), também chamado de endotoxina. É parte da parede celular de bactérias gram-negativas que quando lançada tem inúmeros efeitos biológicos e está associada com dor pulpar, inflamação periapical e destruição óssea (LEONARDO et al., 2004; NARAYANAN; VAISHNAVI, 2010). A endotoxina é liberada no ambiente durante a multiplicação e morte bacteriana. Sua ação sobre os tecidos depende da resposta do hospedeiro, pois ela não atua diretamente, mas estimulando as células competentes para a liberação de mediadores químicos, desencadeando um processo extremamente nocivo (BERGENHOLTZ; DAHLÉN, 2004; LEONARDO et al., 2004).

Leonardo et al. (2004) citam uma frase do autor Lewis Thomas *apud* Rietschel; Brade (1992)¹, que diz:

As endotoxinas são lidas pelos nossos tecidos como a pior das notícias. Quando em contato com a endotoxina, nosso organismo coloca todas as suas defesas à disposição com a idéia de bombardear, bloquear e destruir todo o tecido da área. Isso parece gerar pânico.

Pinchiari (2007) complementa que restos bacterianos, como o LPS, podem permanecer nos tecidos periapicais e desta forma impedir que haja o reparo tecidual.

O conteúdo do LPS parece ser maior em canais radiculares infectados de dentes com periodontite apical sintomática, dentes com destruição óssea perirradicular ou ainda em dentes com persistente exsudação, se comparado aos casos que não apresentam estas características (SIQUEIRA; RÔÇAS, 2007).

¹ RIETSCHEL, E.T.; BRADE, H. Bacterial endotoxins. **Scientific American**, New York, 267, p. 26-33, 1992.

De acordo com Rodrigues (2006), a presença de uma lesão periapical é compatível com o desenvolvimento de um processo infeccioso de longa duração, com predomínio de bactérias anaeróbias estritas, disseminação microbiana para todo o sistema de canais radiculares e presença do LPS bacteriano.

Leonardo et al. (2004), apresentaram em sua revisão uma série de trabalhos que testaram diversas substâncias químicas, como soda cáustica, polimixina B, formocresol, clorexidina 1,25%, hipoclorito de sódio para inativar a endotoxina, mas sem sucesso e complementam que o hidróxido de cálcio é até o momento, o único medicamento capaz de inativar a endotoxina, pois ele tem a capacidade de desintoxicar o LPS bacteriano, determinando que o seu uso é indispensável em casos de necrose pulpar e lesão periapical.

No estudo de Gomes et al. (2004), os autores encontraram sintomas agudos (edema, dor espontânea e à percussão) associados com bactérias gram-negativas, especialmente *Prevotella spp.*, *Porphyromonas spp.* e Fusobactérias. A endotoxina desse tipo bacteriano pode estimular a produção de bradicinina que é um potente mediador químico responsável pela dor e por isso é provável que essas bactérias estejam associadas com dolorosas exacerbações infecciosas durante a terapia endodôntica.

Narayanan, Vaishnavi (2010), Siqueira e Rôças (2007) citam em suas revisões outros fatores de virulência como peptideoglicano (PG) e ácido lipoteicóico (LTA), que são componentes da parede celular, encontrados com maior frequência em bactérias gram-positivas, liberados após lise celular atuando sobre o sistema imune do hospedeiro; fímbrias que são macromoléculas filamentosas encontradas em bactérias gram-negativas, envolvidas na fixação de superfícies e interações com outras bactérias; cápsula que é uma camada bem organizada por fora da parede celular bacteriana composta de polissacarídeos e outros materiais e atua na proteção contra fagocitose; e exotoxinas liberadas durante a lise celular das bactérias e que contribuem para a propagação da infecção bem como influenciam nas interações bacterianas.

Gomes et al. (2004) referem que o peptideoglicano e o ácido lipoteicóico podem influenciar as reações inflamatórias e aumentar a patogenicidade de bactérias pigmentadas de negro e também estão relacionadas a sintomas agudos e destruição dos tecidos periapicais.

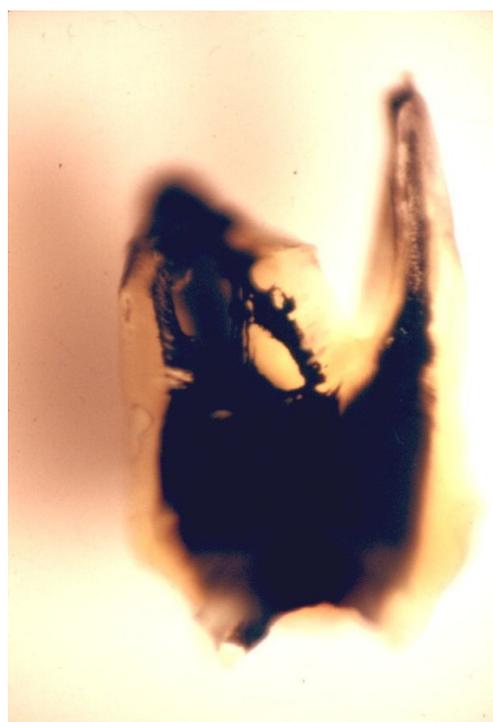
2.1.2 Fatores inerentes ao dente

A eliminação total da infecção endodôntica no sistema de canais radiculares é impossível de ser alcançada pelos procedimentos endodônticos conhecidos hoje, especialmente devido à anatomia intrarradicular complexa, com áreas inacessíveis (BRITO Jr.; SOARES; LUZ, 2011; CHANDRA, 2009; CHIVATXARANUKUL; DASHPER; MESSER, 2008; FACHIN; ROSSI Jr.; DUARTE, 1998; FUJII et al., 2009; NAIR, 2006; NARAYANAN; VAISHNAVI, 2010; PAZ, 2004), bem como pela capacidade de invasão dos túbulos dentinários que algumas bactérias possuem, tornando a prática endodôntica um verdadeiro desafio (BERGENHOLTZ; DAHLÉN, 2004; BRITO Jr.; SOARES; LUZ, 2011; LEONARDO et al., 2004; NAIR, 2006).

Figura 2 – Dentes diafanizados demonstrando o quão complexo é o sistema de canais radiculares



Fonte: CHANDRA, 2009, p. 100



Fonte: FACHIN; ROSSI Jr. e DUARTE, 1999, p. 06

Nair (2006) refere que a porção apical do sistema de canais radiculares geralmente abriga uma quantidade maior de microrganismos na infecção intrarradicular persistente. Siqueira et al. (2009) complementam que as bactérias localizadas nessa porção radicular possuem uma morfologia diferente daquelas que estão na porção mais coronal do canal e, segundo Tronstad e Sunde (2003), há um predomínio de anaeróbios estritos nessa região do canal.

Em virtude de que bactérias localizadas na região apical do sistema de canais radiculares possuem uma posição privilegiada para provocar danos aos tecidos periapicais e por isso estarem diretamente relacionadas na patogênese da periodontite apical, Siqueira et al. (2009) buscaram identificar, com o método molecular *reverse-capture checkerboard hybridization assay*, a microbiota da região apical de dentes com essa patologia. O material examinado constou de 20 dentes extraídos com polpas necróticas e lesões apicais anexadas. Após a desinfecção da superfície externa dos dentes (com cuidado de não tocar na região do forame apical), foram seccionados os 5 mm apicais de cada raiz e amostras foram obtidas a partir de limas número 15 e cones de papel mantidos no canal por 60 segundos, para a remoção total do líquido, e posteriormente foram acondicionadas em ambientes adequados e congeladas para processamento molecular. O DNA bacteriano foi detectado em 19 das 20 amostras. As bactérias encontradas foram: *Pseudoramibacter alactolyticus* (32%), *Bacteroidetes clone X083* (26%), *Streptococcus spp.* (21%), *Olsenella uli* (10,5%), *Synergistes clone BA121* (10,5%), *Fusobacterium nucleatum* (10,5%), *Porphyromonas endodontalis* (10,5%), *Dialister clone BS016* (5%), *Filifactor alocis* (5%), *Parvimonas micra* (5%), e *Treponema denticola* (5%). Os autores concluíram que informações específicas sobre a microbiota da região apical do sistema de canais radiculares contribui para uma melhor compreensão da patogênese da periodontite apical, bem como permite estabelecer estratégias para combate dessa infecção.

Quanto ao tipo de dente, Chandra (2009) relatou em sua revisão que nos trabalhos que se preocuparam em determinar se o grupo dentário influenciaria nos resultados do tratamento endodôntico, houve uma tendência em presumir que os molares apresentariam uma taxa maior de fracasso, devido à anatomia mais complexa, mas isso não foi observado e a explicação poderia estar no fato de que canais mais estreitos, como os de multirradiculares, seriam mais bem instrumentados, mas de fato estes trabalhos não mostraram diferenças significativas entre os grupos dentários com relação aos resultados endodônticos.

2.1.2.1 Túbulos dentinários

Muitos estudos têm demonstrado que há uma capacidade bacteriana para invasão dos túbulos dentinários, embora esse mecanismo não esteja completamente

desvendado, o que se sabe hoje é que parece haver uma diferença grande nessa capacidade entre os gêneros bacterianos (HAAPASALO; UDNAES; ENDAL, 2003).

Um processo infeccioso de longa duração permite que as bactérias se propaguem por todo o sistema de canais radiculares, incluindo ramificações, istmos, deltas apicais e túbulos dentinários, onde elas estarão protegidas da ação dos instrumentos endodônticos podendo, portanto, perpetuar essa infecção (SIQUEIRA; UZEDA; FONSECA, 1996).

Siqueira e Rôças (2008) referem que infecções em túbulos dentinários podem ocorrer em cerca de 70% a 80% de dentes com periodontite apical.

Com o objetivo de testar a capacidade de penetração em túbulos dentinários de bactérias anaeróbias estritas, Siqueira, Uzeda e Fonseca (1996) realizaram um estudo *in vitro* utilizando dentes bovinos. Para isso, a coroa e o ápice foram cortados perpendicularmente ao longo eixo e o cimento removido, logo após, o canal foi preparado para ter 2 mm de diâmetro e um corte transversal foi realizado resultando em dois blocos de dentina (4 mm cada). O *smear layer* foi removido e os blocos esterilizados. A etapa seguinte consistiu na inoculação dos espécimes com *Porphyromonas endodontalis* (6 blocos), *Fusobacterium nucleatum* (6 blocos), *Actinomyces israelii* (5 blocos), *Porphyromonas gingivalis* (5 blocos), *Propionibacterium acnes* (5 blocos) e *Enterococcus faecalis* (5 blocos), usado como controle, já que esta bactéria é comprovadamente capaz de invadir túbulos dentinários. Ao final de 21 dias de incubação, os espécimes foram preparados para análise em microscopia eletrônica de varredura. Foi observado que todas as bactérias testadas foram capazes de invadir os túbulos dentinários em diversas profundidades, sendo o *Enterococcus faecalis*, *Propionibacterium acnes* e *Actinomyces israelii* os que infectaram a dentina mais pesadamente. Os autores concluíram que esse grupo de bactérias anaeróbias estritas foi capaz de invadir túbulos dentinários, mas em diferentes graus de profundidade.

Haapasalo, Udnaes e Endal (2003) citam que *Streptococcus spp.* e alguns bastonetes gram-positivos, como *Actinomyces spp.* e *Lactobacillus ssp.* parecem ter uma melhor capacidade de invadir túbulos dentinários do que várias espécies gram-negativas.

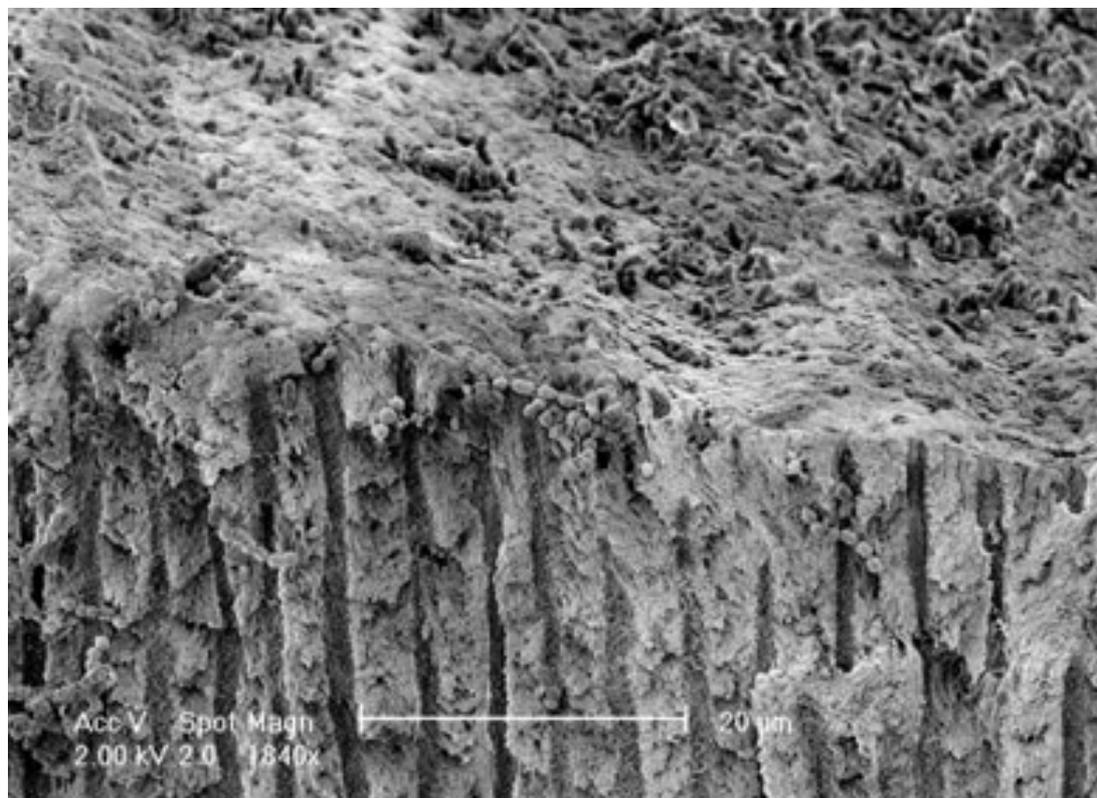
Alguns fatores contribuem para uma maior ou menor invasão dos túbulos dentinários. Por exemplo, quando ocorre a remoção do cimento radicular, seja por procedimentos mecânicos ou por reabsorção da superfície, como geralmente é visto

histologicamente no ápice de dentes com periodontite apical, isso facilita muito a invasão por bactérias aos túbulos dentinários (HAAPASALO; UDNAES; ENDAL, 2003; TRONSTAD; SUNDE, 2003). Em pacientes idosos, essa invasão, em especial na região apical do canal, pode ser menos pronunciada se comparada à pacientes jovens devido à presença maior de dentina esclerótica (HAAPASALO. UDNAES; ENDAL, 2003).

Outro fator que poderia estar relacionado com uma maior ou menor invasão dos túbulos dentinários é o *smear layer*. Alguns autores pesquisados por HAAPASALO, UDNAES e ENDAL (2003), referem que a presença dessa camada pode efetivamente impedir a penetração das bactérias nos túbulos dentinários, no entanto o fato do *smear layer* estar presente não impediu a invasão por *Enterococcus faecalis*.

Chivatxaranukul, Dashper e Messer (2008) encontraram resultados semelhantes, pois o *Enterococcus faecalis* conseguiu invadir os túbulos dentinários, mas quando o *smear layer* foi mantido nas paredes do canal, houve uma menor invasão destes túbulos.

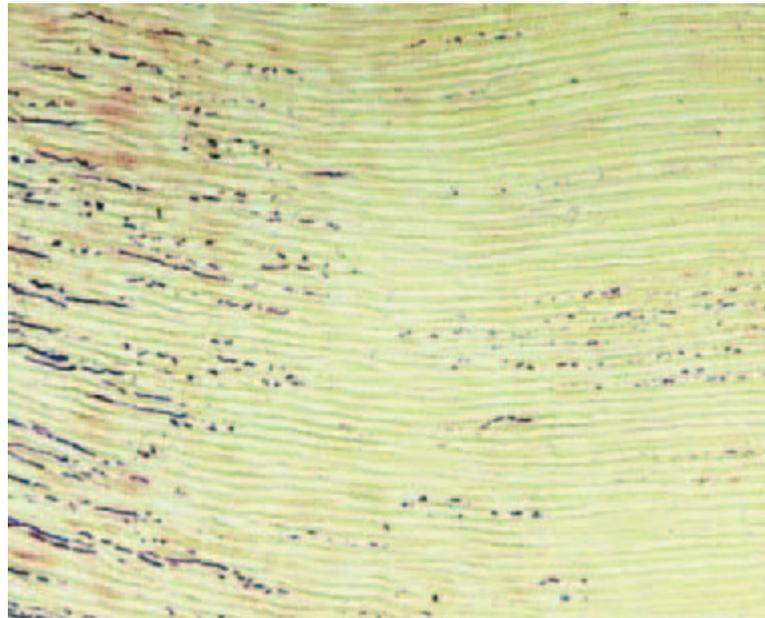
Figura 3 – *Smear layer* presente e pouca invasão de túbulos dentinários pelo *Enterococcus faecalis*



Fonte: CHIVATXARANUKUL, DASHPER e MESSER, 2008, p. 878

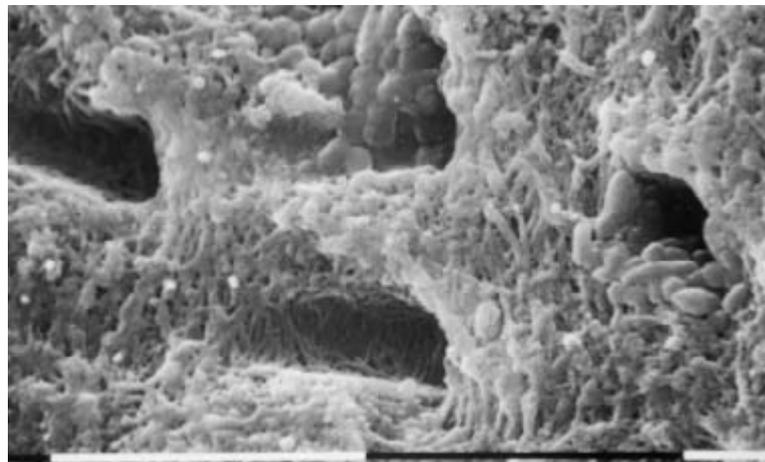
Quando as bactérias invadem os túbulos dentinários, nem todos são igualmente envolvidos. Geralmente o que se observa é uma invasão aleatória, onde um túbulo pode estar completamente cheio e outro vazio (HAAPASALO; UDNAES; ENDAL, 2003). Além disso, elas são vistas como densas acumulações de células e não como um crescimento contínuo estendendo-se a partir da luz do canal principal em direção à periferia (HAAPASALO; UDNAES; ENDAL, 2003).

Figura 4 – Invasão da dentina por *Enterococcus faecalis*



Fonte: HAAPASALO; UDNAES; ENDAL, 2003, p. 32

Figura 5 – Invasão da dentina por *Enterococcus faecalis*.
Em algumas áreas, as bactérias se espalham, a partir dos túbulos, em torno da dentina.



Fonte: HAAPASALO; UDNAES; ENDAL, 2003, p. 34

Siqueira, Uzeda e Fonseca (1996) explicam que aparentemente as bactérias penetram nos túbulos dentinários através de divisão celular e que a diferença de invasão entre espécies bacterianas pode estar relacionada às taxas de crescimento e também às diferentes morfologias que podem tornar difícil a penetração nos túbulos a uma grande profundidade. Já Chivatxaranukul, Dashper e Messer (2008) referem que esses mecanismos não estão completamente elucidados, mas a adesão bacteriana às paredes dos túbulos dentinários é um passo importante no início do processo e que o colágeno (tipo I) é amplamente considerado como o principal substrato para essa ligação, principalmente para o *Enterococcus faecalis*.

Chivatxaranukul, Dashper e Messer (2008) realizaram um estudo *in vitro* para investigar a capacidade de adesão e invasão de túbulos dentinários por *Enterococcus faecalis*. O preparo das amostras iniciou-se pela seleção de 16 pré-molares extraídos, com canais ovais. Cada dente foi partido em dois segmentos: na junção cimento esmalte e 2 mm apicais da raiz. Uma das paredes do canal foi preparada com broca Gates Glidden duas vezes maior que o diâmetro original do canal, a outra parede ficou intacta (não preparada). Durante a preparação do canal, as raízes foram divididas em dois grupos (oito dentes em cada um). Um grupo foi irrigado com solução salina estéril durante o preparo da parede do canal onde o *smear layer* foi mantido, no outro grupo, utilizou-se hipoclorito de sódio 1% e EDTA 17% por 3 minutos para remoção dessa camada. Após, obteve-se dois blocos de dentina através de um corte transversal a 3 mm e 8 mm da junção cimento esmalte e foram esterilizadas por irradiação gama. As amostras de canais preparados e esterilizados foram inoculadas com 5 ml de cultura de *Enterococcus faecalis* e incubadas a 37 °C por oito semanas. Ao final da incubação, as porções radiculares de 3 mm foram processadas para exame histológico por microscopia óptica e as porções de 5 mm foram preparadas para microscopia eletrônica de varredura. Os resultados mostraram que a cepa de *Enterococcus faecalis*, utilizada no estudo, foi capaz de invadir os túbulos dentinários pesadamente e, de uma forma geral, foi observada que a penetração nos túbulos foi significativamente maior nas superfícies não preparadas do que naquelas preparadas. Ao analisar a influência do *smear layer* quanto à invasão dos túbulos dentinários, os autores observaram que nas superfícies preparadas apenas com solução salina, ou seja, onde essa camada foi mantida, houve uma diminuição dessa invasão com penetração bacteriana superficial nos túbulos dentinários. Já nas superfícies, tanto preparadas quanto não

preparadas, quando o *smear layer* foi removido, não foi encontrado diferença significativa para essa invasão. Os autores concluíram que, sob as condições experimentais, uma cepa de *Enterococcus faecalis* invadiu facilmente os túbulos dentinários, mas houve uma capacidade de adesão diferenciada, o que pode indicar que a inicial colonização dos túbulos dentinários pode ser essencialmente dependente de outros fatores como condições ambientais e ressaltam a importância de mais estudos específicos para a compreensão completa desse mecanismo, assim novas estratégias clínicas podem ser elaboradas a fim de inibir essa colonização e gerenciar essas infecções.

Haapasalo, Udnaes e Endal (2003) ressaltam que em periodontite apical primária, a questão da invasão dos túbulos dentinários pelas bactérias, possui uma importância relativamente pequena, pois desde que uma adequada terapia endodôntica tenha sido executada, estas bactérias residuais não teriam como interagir com os tecidos do hospedeiro, o que resultaria em reparo da lesão.

2.1.2.2 Selamento coronário

Durante o tratamento endodôntico ou mesmo após o seu término, se o selamento coronário, seja por uma restauração ou por uma coroa protética, for inadequado e permitir a perpetuação ou ainda uma nova infecção, poderá ocorrer o insucesso do tratamento endodôntico e persistência ou aparecimento de uma lesão periapical (CHANDRA, 2009; HAAPASALO; UDNAES; ENDAL, 2003; KAUFMAN et al., 2005; NARAYANAN; VAISHNAVI, 2010; PINCHIARI, 2007; SIQUEIRA; RÔÇAS, 2008; SVENSÄTER; BERGENHOLTZ, 2004).

Para Svensäter e Bergenholtz (2004), a infiltração coronária pode não apenas trazer elementos nutricionais que são capazes de tornar viáveis microrganismos latentes em espaços que não foram preenchidos pela obturação, como também permite a invasão de novas bactérias.

Narayanan e Vaishnavi (2010) citam que a contaminação por saliva a partir de uma falha oclusal na restauração, por exemplo, pode chegar à região apical em menos de seis semanas em canais obturados com guta percha e cimento. De modo que a manutenção de uma adequada vedação coronal, durante o tratamento endodôntico e após a obturação do canal radicular, é imprescindível para minimizar

a colonização bacteriana (CHANDRA, 2009; HAAPASALO; UDNAES; ENDAL, 2003; PAZ, 2004; SVENSÄTER; BERGENHOLTZ, 2004).

Chandra (2009) cita alguns artigos que estudaram a influência da obturação do canal e o selamento coronário nos resultados dos tratamentos endodônticos. Ray e Trope (1995)² concluíram que a vedação coronal é mais importante que a qualidade técnica da obturação, Tronstad et al. (2000)³ encontraram o oposto e Homme, Coppens e De Moor (2002)⁴ demonstraram que a qualidade das duas etapas é de magnitude semelhante, concluindo que ambas são de igual importância.

Siqueira e Rôças (2008) citaram um estudo que colocou em questão a importância do selamento coronário para as falhas endodônticas, ao observarem que canais bem preparados e obturados resistiram à infiltração bacteriana, mesmo após longos períodos expostos ao meio bucal.

2.1.3 Fatores inerentes ao paciente

Chandra (2009) refere em sua revisão que não há, na literatura atual, relação entre o gênero do paciente e o sucesso ou fracasso nos tratamentos endodônticos, já a idade tem sugerido influenciar de alguma forma, pois parece haver mais chance de fracasso em pacientes idosos, devido a uma reduzida capacidade de cura pelo envelhecimento, desnutrição ou por uma prevalência maior de doenças sistêmicas, como a diabetes, embora estes achados não estejam completamente elucidados no momento.

Ng, Mann e Gulabivala (2008) concordam com Chandra e também referem que em pacientes imunocomprometidos, há uma tendência na redução das taxas de sucesso de tratamentos endodônticos.

² RAY, H. A.; TROPE, M. Periapical status of endodontically treated teeth in relation to the technical quality of the root filling and the coronal restoration. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 28, no. 1, p. 12-18, Jan., 1995.

³ TRONSTAD, L. et al. Influence of coronal restorations on the periapical health of endodontically treated teeth. **Endod. Dent. Traumatol.**, Copenhagen, v. 16, no. 5, p. 218-221, Oct., 2000.

⁴ HOMMEZ, G. M.; COPPENS, C. R.; DE MOOR, R. J. Periapical health related to the quality of coronal restorations and root fillings. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 35, no. 8, p. 680-689, Aug., 2002.

2.1.4 Infecção extrarradicular

Até décadas atrás, a infecção extrarradicular era considerada um achado raro, pois se acreditava que as lesões periapicais mantinham-se estéreis, mas atualmente, esse assunto tem sido cada vez mais investigado e discutido e os resultados têm modificado os conceitos de infecção endodôntica (BRITO Jr.; SOARES; LUZ, 2011).

Infecção extrarradicular ocorre quando os microrganismos conseguem superar as defesas e barreiras do hospedeiro para estabelecer uma infecção fora dos limites do forame apical, podendo ser dependente ou independente da infecção intrarradicular (NARAYANAN; VAISHNAVI, 2010; SIQUEIRA; RÔÇAS, 2008, 2009a; SUNDE et al., 2002; TRONSTAD; SUNDE, 2003).

Para Nair (2006), a infecção extrarradicular ocorre nas seguintes situações: a) lesões perirradiculares exacerbadas; b) actinomicose periapical; c) pedaços de dentina radicular infectados que são deslocados para o periápice durante a instrumentação ou ainda por ter sido “cortada” da massa radicular durante a reabsorção apical e d) em cistos periapicais infectados.

Com relação à sobreinstrumentação, Haapasalo, Udnaes e Endal (2003) salientam a importância de evitá-la, não somente pelo trauma físico direto sobre os tecidos e transporte do conteúdo intrarradicular para a região periapical, mas também porque essa ação pode causar sangramento para o interior do canal que acabará fornecendo nutrientes para bactérias resistentes.

Saber se a infecção extrarradicular é independente ou dependente da intrarradicular assume especial relevância do ponto de vista terapêutico, já que para a primeira, somente o tratamento endodôntico não será suficiente, e procedimentos cirúrgicos são necessários para a resolução dos casos (SIQUEIRA; RÔÇAS, 2008). Essa distinção nem sempre é possível verificar clinicamente, então cabe ao profissional, frente a uma lesão persistente e após tentativas de tratamento convencional, considerar uma infecção extrarradicular independente, apesar de ser um achado raro.

Tronstad e Sunde (2003) referem que nas infecções endodônticas de longa duração permanentemente estabelecidas no sistema de canais radiculares, as defesas do hospedeiro são menos eficientes e pode ocorrer a invasão dos tecidos perirradiculares.

As bactérias colonizadoras do sistema de canais radiculares entram em contato com os tecidos periapicais através do forame apical e canais laterais, como consequência, mudanças inflamatórias locais ocorrem e dão origem a diversas formas de periodontite apical. Como já se sabe, por falta de uma circulação sanguínea, o sistema de defesa não consegue eliminar a infecção no interior do canal, mas ele monta uma resposta defensiva junto ao forame apical na tentativa de impedir que essa infecção se alastre para o tecido ósseo e outras áreas. Dependendo da intensidade do dano tecidual induzido por essas bactérias que saíram pelo forame, um abscesso agudo pode se formar e propiciar que a infecção se alastre para outras partes da cabeça e pescoço, porém, essa relação é, na maioria das vezes, bem equilibrada e o que observamos é o desenvolvimento e evolução de lesões crônicas (SIQUEIRA; RÔÇAS, 2008).

Rocha et al. (1998) realizaram um estudo microbiológico e histopatológico de 30 lesões periapicais com o objetivo de traçar o perfil microbiano destas lesões. Antes do ato cirúrgico foi realizada a assepsia do campo para evitar risco de contaminação nas amostras, que foram obtidas a partir da extração de dentes, e divididas em duas metades, onde uma foi acondicionada em ambientes adequados para posterior processamento microbiológico pelos métodos de cultura e a outra preservada em formol para análise histológica. Na avaliação microbiológica eles conseguiram isolar 137 espécies bacterianas das 30 lesões periapicais, sendo o *Fusobacterium nucleatum* (isolado em 28 dos 30 casos) a mais comumente encontrada, seguido dos Bacilos gram-negativos pigmentados anaeróbios estritos, *Peptostreptococcus spp*, *Streptococcus mitis* e bacilos gram-positivos não esporulados anaeróbios estritos. As bactérias foram caracterizadas em 65,7% de anaeróbias estritas, 29,2% de anaeróbias facultativas e 5,1% de aeróbias estritas. Eles também observaram que as lesões apresentavam uma microbiota mista representada por no mínimo duas ou no máximo seis microrganismos por lesão, o que permitiu aos autores concluir que as lesões periapicais são infecções polimicrobianas com predomínio de bactérias anaeróbias estritas.

Segundo Pinchiari (2007), o biofilme perirradicular possui uma predominância de bastonetes, espiroquetas e bacilos filamentosos, e a instalação desta comunidade em lesões perirradiculares, além da sua presença no sistema de canais radiculares, sugere a capacidade de infecção extrarradicular.

O tecido necrótico e infectado do canal é considerado como o principal agente causador para reabsorção inflamatória externa progressiva, e nessas lacunas de reabsorção tem se observado a presença bacteriana e também de leveduras caracterizando uma infecção extrarradicular (PINCHIARI, 2007).

Fujii et al. (2009), investigaram a microbiota bacteriana formadora de biofilme em lesões de periodontite apical persistentes utilizando método molecular *16S ribosomal DNA sequence analysis*. Foram selecionados 23 pacientes com lesão periapical visível em radiografia e indicação de tratamento cirúrgico. Após anestesia, foi realizada assepsia do campo para evitar contaminação e 20 lesões crônicas de periodontite apical foram obtidas a partir do ápice e acondicionadas em ambiente adequado para posterior processamento molecular. Durante a cirurgia foi possível determinar que não havia bolsas periodontais nem fraturas radiculares concomitantes com a lesão periapical. Todas as amostras resultaram em crescimento bacteriano e um total de 74 cepas foi isolado, onde 31 espécies bacterianas puderam ser identificadas e 51,6% eram bactérias anaeróbias facultativas, 38,7% anaeróbias estritas e apenas 9,7% aeróbias. Os gêneros predominantes foram: *Staphylococcus spp.*, *Propionibacterium spp.*, *Prevotella spp.*, *Streptococcus spp.*, *Fusobacterium spp.* e *Pseudomonas spp.* Os autores também identificaram algumas bactérias que foram relacionadas, pelos trabalhos pesquisados por eles, com a capacidade de formação de biofilme bacteriano, tais como: *Propionibacterium acnes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Fusobacterium nucleatum* e *Staphylococcus epidermidis*, concluindo que estes microrganismos estão envolvidos no desenvolvimento de lesões persistentes.

2.1.4.1 Actinomicose periapical

Sendo uma infecção extrarradicular independente, pode ser definida como uma doença crônica, granulomatosa causada pelos gêneros *Actinomyces spp.* e *Propionibacterium spp.* (NAIR, 2006). Na microbiota endodôntica, a espécie mais frequentemente envolvida é o *Actinomyces israelii* que é uma bactéria comensal da cavidade bucal, geralmente encontrada nas amígdalas, placa dentária, bolsas periodontais e lesões cariosas (NAIR, 2006).

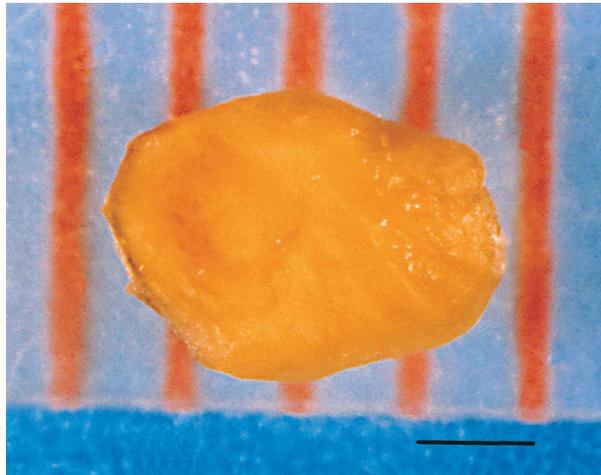
As propriedades que permitem estas bactérias se estabelecerem nos tecidos periapicais ainda não estão completamente elucidadas, mas parecem envolver a

capacidade de construir colônias coesas que lhes permite escapar do sistema de defesa do hospedeiro (NAIR, 2006).

Sundqvist e Figdor (2003) referem que essas bactérias podem crescer para fora como um aglomerado a partir do forame para os tecidos periapicais ou pode ser forçado pela instrumentação, assim inoculando esses tecidos.

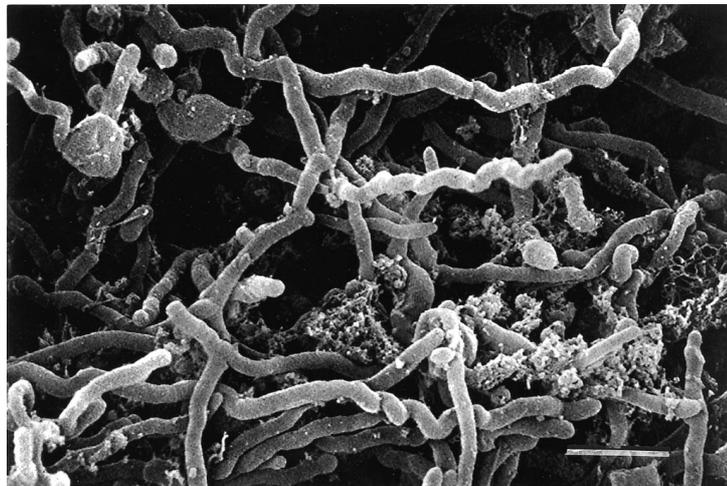
Segundo Sunde et al. (2002), estas colônias ou agregados estão cercados por material extracelular e possuem a forma de grânulos com diâmetros de até 3 - 4 mm com uma coloração amarelada e brilhante, sendo referido pela literatura mais antiga como grânulos de enxofre.

Figura 6 – Grânulo de enxofre removido de uma lesão periapical persistente



Fonte: SUNDE et al., 2002, p.308

Figura 7 – Interior do grânulo de enxofre, demonstrando um agregado bacteriano



Fonte: SUNDE et al., 2002, p. 309

Nair (2006) descreve uma colônia de *Actinomyces spp.* como uma massa de intensa coloração escura e com filamentos irradiados na periferia, que dá o aspecto conhecido como “fungo com raios” e o centro é constituído por um agregado muito denso de organismos filamentosos mantidos juntos por uma matriz extracelular.

Actinomicose periapical é considerada uma ocorrência rara, representando apenas 1,8% a 4% das ocorrências em lesões periapicais (NAIR, 2006; SIQUEIRA; RÔÇAS, 2008).

Sunde et al. (2002), realizaram um estudo com o objetivo de recuperar e identificar os microrganismos oriundos de lesões periapicais. Para isso selecionaram 36 pacientes com diagnóstico de periodontite apical refratária que foram encaminhados para tratamento cirúrgico (apicetomia). Uma adequada assepsia bucal foi realizada antes da cirurgia e as amostras foram obtidas durante o procedimento através da inserção de pelo menos três cones de papel estéreis em direção à lesão no ápice radicular. Além disso, as lesões foram removidas com curetas e, juntamente com os cones, bem como com grânulos de enxofre (quando presentes), foram transferidos para ambientes adequados para posterior realização de cultura microbiológica e microscopia eletrônica. Apenas um caso não rendeu crescimento bacteriano. Dos outros 35 amostrados, 33 apresentaram infecção polimicrobiana (cada lesão isolou em média de 2,5 a 4,1 espécies bacterianas). Um total de 148 cepas microbianas foi detectado a partir de 67 espécies diferentes, sendo 51% anaeróbias e 79,5% gram-positivos. Os gêneros bacterianos mais isolados foram: *Staphylococcus spp.*, *Actinomyces spp.*, *Streptococcus spp.*, *Clostridium spp.*, *Propionibacterium spp.*, *Bacillus spp.*, *Gemella spp.*, *Fusobacterium nucleatum*, *Bacteroides ureolyticus*, *Prevotella spp.*, *Enterococcus spp.* e *Peptostreptococcus spp.* *Cândida albicans* foi encontrada em dois casos apenas e nenhuma lesão apresentou cultura pura de leveduras. Em nove das lesões periapicais havia grânulos de enxofre, onde sete tiveram crescimento bacteriano com uma microbiota mista. Destes sete casos, cinco apresentaram as bactérias *Actinomyces israelii*, *A. meyeri*, *A. naeslundii* na composição, e outros microrganismos também puderam ser identificados, tais como: *Propionibacterium acnes*, *P. propionicum*, *Peptostreptococcus prevotii*, *Gemella morbillorum*, *Clostridium sordelli*, *C. bifermentans*, *Leptotrichia buccalis*, *Staphylococcus chromogenes*, *S. epidermidis*, *Vibrio metschnikovii* e espécies do gênero *Streptococcus spp.* Os autores concluíram que uma grande variedade de bactérias,

em especial anaeróbias facultativas e gram-positivas, bem como leveduras, possui a capacidade de permanecer em casos de periodontite apical persistente mesmo após o uso de medicação intracanal e antibiótico sistêmico e que muitas destas lesões podem apresentar grânulos de enxofre calcificados. Os autores sugerem que frente aos achados dessa pesquisa, os grânulos de enxofre podem ser significativos na manutenção de periodontites apicais.

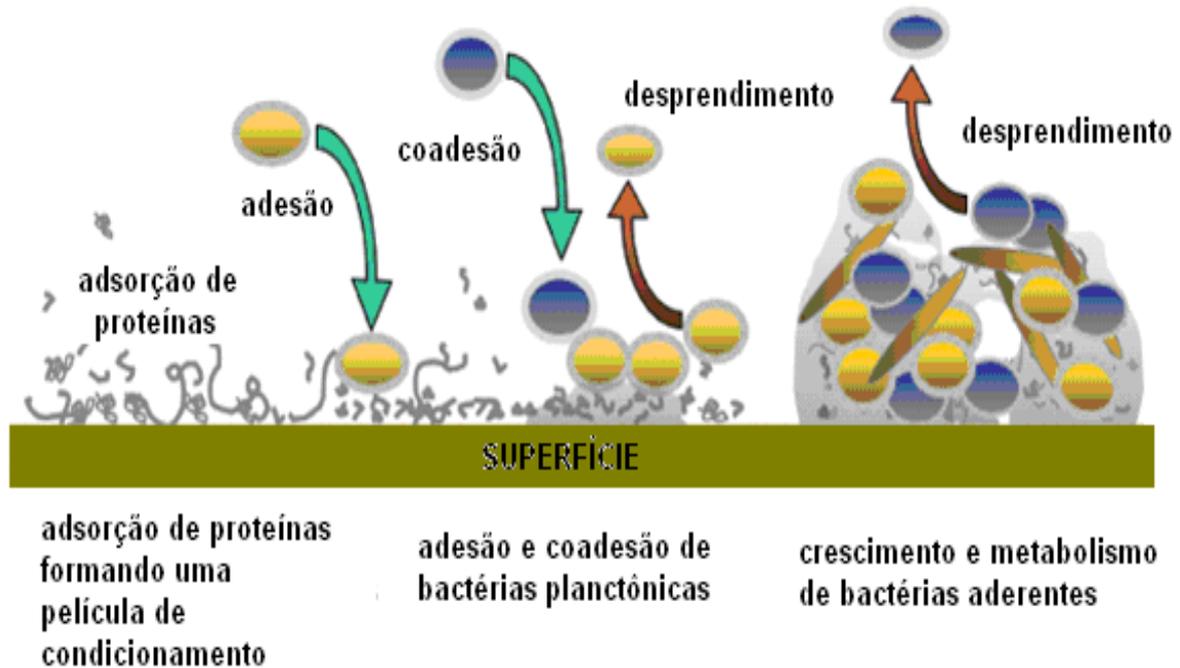
2.1.5 Biofilme endodôntico

Biofilme pode ser definido como uma comunidade de microrganismos aderidos a um substrato orgânico ou inorgânico que são incorporados em uma matriz exopolissacarídea (NAIR, 2006; NARAYANAN; VAISHNAVI, 2010; PINCHIARI, 2007; SVENSÄTER; BERGENHOLTZ, 2004). Esta população de finas camadas de microrganismos tais como bactérias, fungos e protozoários, pode ocorrer em qualquer superfície úmida na natureza (NARAYANAN; VAISHNAVI, 2010; PINCHIARI, 2007), desde que tenha os microrganismos chamados planctônicos (forma livre e flutuante em ambiente de solução aquosa), pois eles são pré-requisito para a formação do biofilme (SVENSÄTER e BERGENHOLTZ (2004).

De acordo com Svensäter e Bergenholtz (2004), a organização estrutural de biofilmes, embora a composição e atividade microbiana em vários ambientes possam ser diferentes, parece seguir os mesmos estágios de desenvolvimento. No biofilme da placa dental, por exemplo, o primeiro estágio envolve a adsorção de macromoléculas na fase planctônica para a superfície, o que resulta na formação de uma película de condicionamento composta de proteínas e glicoproteínas da saliva e fluído crevicular gengival, bem como alguns produtos microbianos secretados. Esta película é sempre formada antes da chegada de microrganismos e, por suas propriedades, seleciona aqueles que serão transportados e aderidos à superfície, influenciando desta forma na composição bacteriana do biofilme. A segunda etapa consiste na adesão e coadesão dos microrganismos e sua fixação pode ser reforçada através da produção de polímeros e por estruturas de desdobramento na superfície celular bacteriana. É importante ressaltar que nesta fase, os primeiros colonizadores parecem exercer papel importante, uma vez que a partir deles se dá a coadesão de outros organismos. O terceiro estágio envolve multiplicação e metabolismo dos microrganismos ligados e que resultará numa comunidade

microbiana organizadamente mista e durante essa fase as características inerentes a cada espécie envolvida, juntamente com o microambiente, influenciará no crescimento e sucessão bacteriana desse biofilme.

Figura 8 – Desenho esquemático dos estágios de formação do biofilme



Fonte: SVENSÅTER e BERGENHOLTZ, 2004, p. 28

Segundo Narayanan e Vaishnavi (2010), os microrganismos capazes de viver em comunidade ou biofilme devem ter quatro características básicas, que são: possuir a capacidade de se auto-organizar; resistir às perturbações ambientais; ser mais eficaz em associação do que isolado (sinergia) e responder às mudanças ambientais como uma unidade do que indivíduos isolados (comunalidade).

Tronstad e Sunde (2003) consideram o biofilme bacteriano como a forma de crescimento preferida pelas bactérias, pois possuem diversas vantagens como a facilidade de absorção de nutrientes, inclusive uma bactéria fornecendo para outra, remoção de produtos metabólicos prejudiciais, desenvolvimento de um ambiente física e quimicamente apropriado (com redução de oxigênio) e proteção, sendo esta, a principal delas. Essa proteção é exercida contra fatores ambientais como os mecanismos de defesa do hospedeiro, substâncias com poder antisséptico ou antimicrobiano e também contra microrganismos concorrentes. Além disso, estes autores referem uma estimativa de que bactérias cultivadas em biofilme possuem

1.000 – 1.500 vezes mais resistência a antibióticos do que bactérias no estado planctônico. O que é corroborado por Nair (2006).

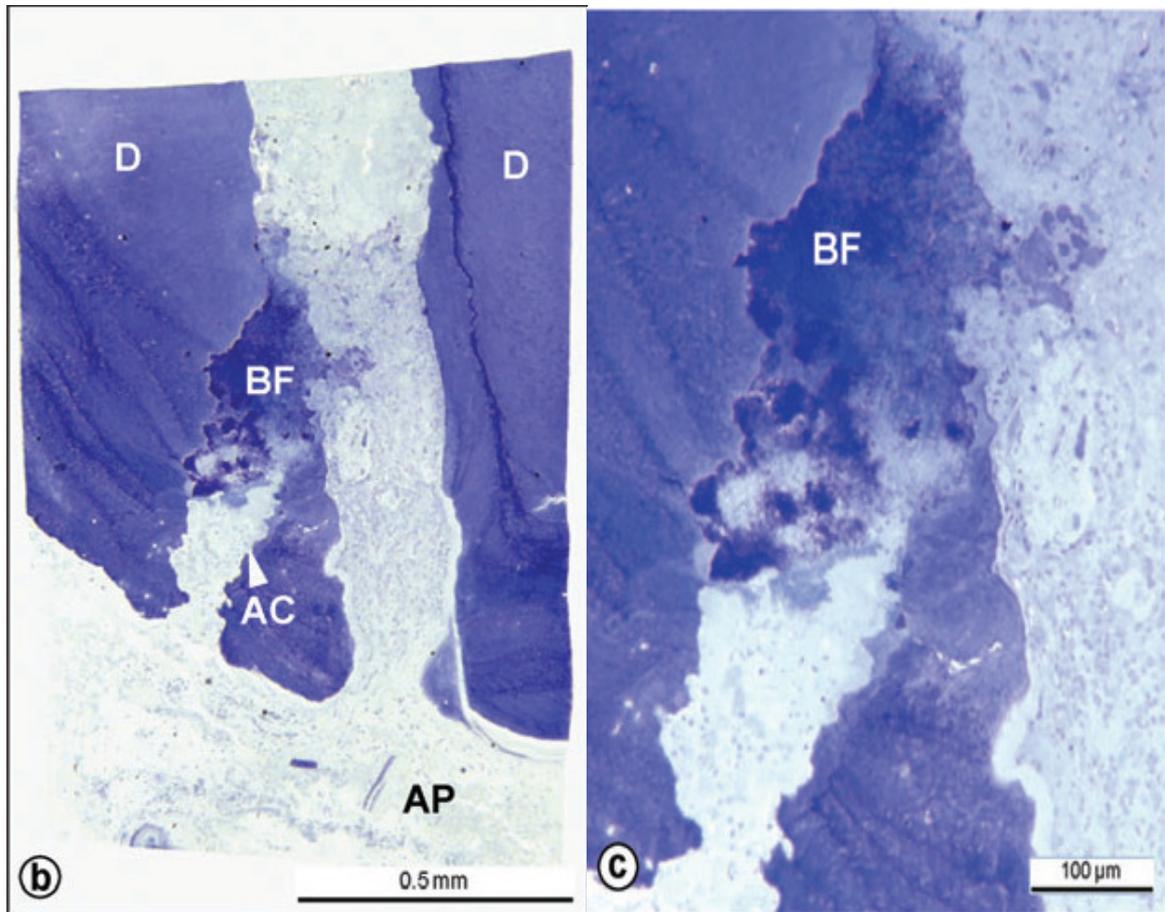
Pinchiari (2007) refere que microrganismos agregados em biofilme possuem um comportamento muito mais resistente, principalmente pelo estado em gel e pela estrutura da matriz polissacarídea que limita o acesso de moléculas de defesa do hospedeiro (anticorpos e complementos), de células fagocíticas (macrófagos e neutrófilos) e ainda de agentes antimicrobianos. Além disso, esse sistema de defesa acumulado na região próxima ao biofilme exerce um papel duplo, ora protegendo e impedindo a progressão e disseminação dessa infecção, ora sendo responsável pelos extensos danos aos tecidos, característicos de processos patológicos crônicos.

O biofilme pode ser composto por uma única espécie microbiana, caracterizando uma monoinfecção, ou ser constituído por várias espécies bacterianas diferentes, representando uma infecção mista, estando estas bactérias justapostas e envolvidas num processo de sinergia ou cooperação metabólica, ocorrendo trocas de substratos. Assim, uma espécie bacteriana vive em um micronicho que pode ter seus nutrientes oriundos de bactérias vizinhas. E quanto à disposição, bactérias aeróbias ficam na face mais externa do biofilme, enquanto as anaeróbias na parte mais interna dessa comunidade (PINCHIARI, 2007).

Bactérias ou microcolônias que vivem em biofilmes possuem a capacidade de se comunicar umas com as outras e essa comunicação recebe o nome de *quorum sensing* e tem o potencial de influenciar a estrutura do biofilme, encorajando o crescimento de espécies benéficas e desencorajando o de concorrentes, e ainda pode alterar propriedades fisiológicas das bactérias, tornando-as mais resistentes (RODRIGUES, 2006; TRONSTAD; SUNDE, 2003).

Quando se refere a biofilme endodôntico, a discussão geralmente gira no âmbito de aparências bacterianas na extremidade da raiz de dentes com polpa necrótica, porém, em estágios mais avançados do processo infeccioso no interior do sistema de canais radiculares, é possível observar organizações bacterianas em forma de biofilme aderidas às paredes do canal. Desta forma, há uma tendência atual em considerar que a periodontite apical é uma doença induzida por biofilmes (SIQUEIRA; RÔÇAS, 2007; SVENSÄTER; BERGENHOLTZ, 2004).

Figura 9 – Presença de biofilme bacteriano em canal acessório

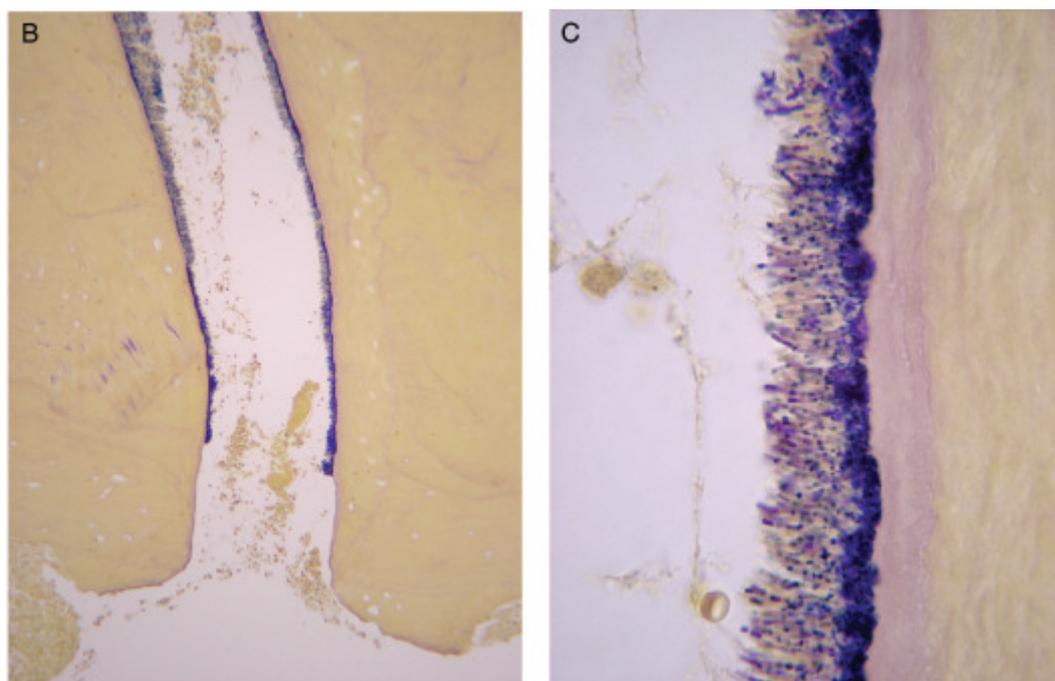


D = dentina AC = canal acessório BF = biofilme

Fonte: NAIR, 2006, p. 252

Bactérias presentes como células planctônicas no canal radicular são facilmente eliminadas, já as bactérias organizadas em biofilmes aderidas às paredes dentinárias ou em áreas de difícil acesso são extremamente difíceis de eliminar, podendo até exigir estratégias especiais de erradicação (NAIR, 2006; SIQUEIRA; RÔÇAS, 2008; SVENSÄTER; BERGENHOLTZ, 2004).

Figura 10 – Biofilme aderido às paredes do canal radicular



Fonte: SVENSATER e BERGENHOLTZ, 2004, p. 34

Segundo Siqueira e Rôças (2007), as bactérias organizadas em biofilme, representam uma fonte de agressão persistente aos tecidos e por isso estariam mais relacionadas aos quadros crônicos das patologias periapicais, já as infecções agudas estariam ligadas às células no estado planctônico, em números elevados e com capacidade de invasão tecidual, contrabalançada por uma diminuição da resistência do hospedeiro.

O biofilme perirradicular é caracterizado por uma comunidade microbiana aderida ao cimento ou dentina na porção apical da raiz, externamente ao forame que, quando presente, pode ser considerado uma infecção extrarradicular com altíssima resistência aos mecanismos de defesa do hospedeiro, bem como protegida da ação mecânica e química do tratamento endodôntico, de modo que pode ser responsável pelo fracasso da terapia (PINCHIARI, 2007; SVENSATER; BERGENHOLTZ, 2004; TRONSTAD; SUNDE, 2003).

Pinchiari (2007) ressalta que a única forma eficaz de eliminação dessa comunidade é através do tratamento cirúrgico, enfatizando a importância de se aliar a curetagem da lesão periapical com a apicetomia, pois se somente a primeira for realizada, o foco de infecção não será eliminado e novamente haverá fracasso terapêutico.

A taxa de desprendimento de bactérias de biofilmes dentários não é clara, mas é provável que se inicie após a aderência inicial e aumente com o tempo, pois está relacionada com o número de microrganismos presentes na comunidade e este fato pode ter implicação na disseminação e colonização de outros sítios (SVENSÄTER; BERGENHOLTZ, 2004).

Tronstad e Sunde (2003) relatam que o desprendimento pode ocorrer tanto para células individuais (erosão), quanto para um grupo de células (descamação) e que isso também ocorre em biofilmes e a importância clínica disso é que esses blocos bacterianos desprendidos também possuem as mesmas características de defesa e resistência que o biofilme original, propiciando a colonização em outras áreas.

Existe uma relação de equilíbrio, pois embora as células de defesa do hospedeiro não consigam eliminar o biofilme perirradicular, aqueles microrganismos que se desprendem dessa comunidade são imediatamente eliminados por esse sistema defensivo e assim impedem a disseminação do processo infeccioso, mantendo-o confinado aos tecidos perirradiculares (PINCHIARI, 2007).

2.2 CASOS REFRACTÁRIOS E SUA RELAÇÃO COM A MICROBIOTA ENDODÔNTICA

A periodontite apical que persiste após o tratamento endodôntico apresenta uma microbiota mais complexa se comparada aos casos que não sofreram tratamento endodôntico e sua terapia também é mais complicada (NAIR, 2006; SUNDE, 2002).

Segundo Pinheiro et al. (2003), a microbiota detectada em dentes com canais obturados e periodontite apical pode ser caracterizada como uma monoinfecção dominada por microrganismos gram-positivos com proporções iguais de anaeróbios facultativos e estritos, já a microbiota de uma necrose pulpar, em infecções primárias, geralmente é caracterizada por uma variedade microbiana, com quatro a sete espécies por canal, predominantemente anaeróbias, tendo proporção igual de gram-negativos e gram-positivos.

De acordo com Sundqvist e Figdor (2003), a microbiota de canais radiculares que apresentam uma obturação insatisfatória assemelha-se a microbiota de canais nunca tratados antes, o que é corroborado por Ferrari, Cai, Bombana (2007),

Siqueira e Rôças (2009a), quando eles afirmam que em canais aparentemente bem tratados podem conter de uma a cinco espécies, já os canais com tratamentos inadequados podem chegar a 30 espécies diferentes.

De acordo com Haapasalo, Udnaes e Endal (2003), em casos de canais obturados com periodontite apical, a proporção de anaeróbios é abaixo dos 50%, e as bactérias deste grupo mais comumente encontradas são: *Prevotella spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, *Eubacterium spp.*, e *Bifidobacterium spp.*

Após o tratamento endodôntico, que inclui a preparação mecânica do canal juntamente com o uso de substâncias químicas com o poder de desinfecção, tanto nas soluções irrigadoras quanto nas medicações intracanais, ocorre uma modificação ambiental, em particular no nível nutricional que tende a ser escasso, desde que a obturação do canal e a restauração coronal sejam eficientes em bloquear a entrada de suprimentos para o interior do sistema radicular. De modo que os microrganismos que possuem a capacidade de se adaptar a essa escassez nutricional serão os únicos com chance de sobrevivência (PAZ, 2004; PORTENIER; WALTIMO; HAAPASALO, 2003; SAKAMOTO et al., 2008; SUNDQVIST; FIGDOR, 2003).

Figura 11 – Desenho esquemático dos desafios enfrentados pela microbiota persistente

FASE 1: ENTRAR E SE ESTABELEECER

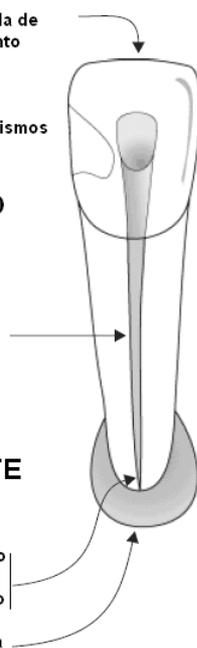
1. Mesma infecção (persistente) ou entrada de novos microrganismos durante o tratamento
2. Competir com outros microrganismos
3. Encontrar nutrição e resistir aos mecanismos de defesa do hospedeiro

FASE 2: SOBREVIVER AO TRATAMENTO

4. Sobreviver ao tratamento antimicrobiano
5. Sobreviver no canal radicular
6. Sobreviver a fome

FASE 3: PERIODONTITE APICAL

7. Encontrar substratos para o crescimento
8. Sobreviver as defesas do hospedeiro
9. Induzir resposta inflamatória



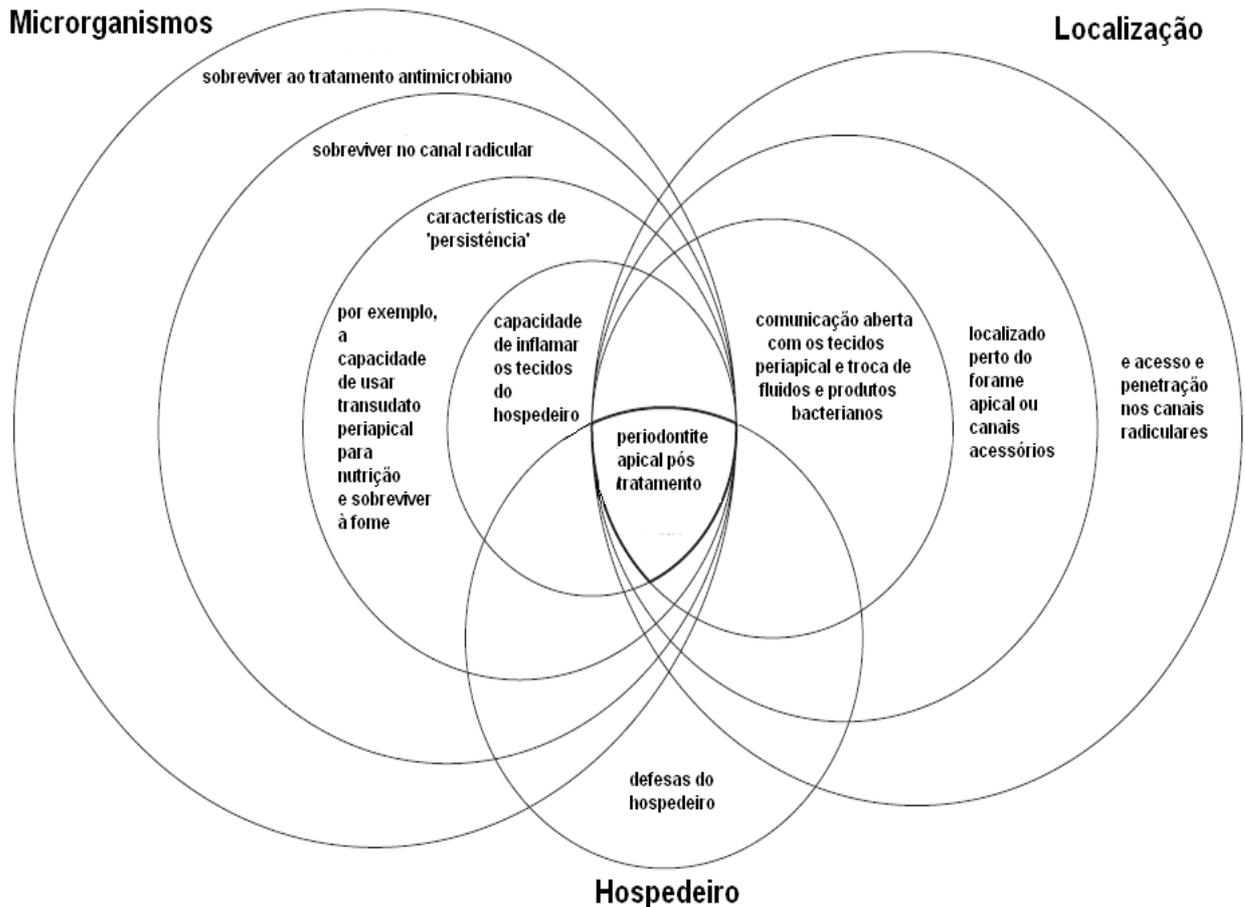
Sundqvist e Figdor (2003) explicam que os microrganismos envolvidos em infecção persistente, geralmente, implementam uma das três estratégias para escapar da resposta imune, são elas: sequestro, que consiste numa barreira física entre a bactéria e o hospedeiro; evasão celular, que significa que os microrganismos conseguem evitar leucócitos e mecanismos anti-bacterianos; e o terceiro é evasão humoral que é quando elementos extracelulares bacterianos conseguem evitar anticorpos e o sistema complemento das defesas do hospedeiro.

Além disso, em um canal bem instrumentado, onde o tecido pulpar necrótico foi removido e não há comunicação com nutrientes exógenos, é provável que a nutrição venha de um exsudato periapical e essa aquisição provavelmente envolve quebra enzimática desse fluido e de moléculas do tecido, o que juntamente com a capacidade de fugir da defesa do hospedeiro, induz a uma resposta inflamatória no tecido periapical (SUNDQVIST e FIGDOR, 2003).

Para Figdor (2004), *Actinomyces israeli* e o *Enterococcus faecalis* são exemplos de bactérias que possuem duas dessas estratégias e por isso são comumente relacionados a infecções persistentes. A primeira por possuir a capacidade de fugir dos mecanismos de defesa do hospedeiro, por evasão celular ao evitar a fagocitose por leucócitos e conseguir se estabelecer nos tecidos periapicais e a segunda por conseguir sobreviver e permanecer sequestrada no sistema de canais radiculares.

Porém a presença de um microrganismo resistente, por si só, não é suficiente para perpetuar a doença, é necessário um intrincado de fatores que devem ocorrer em conjunto para resultar na persistência da periodontite apical, como é sugerido na figura abaixo, elaborada por Sundqvist e Figdor (2003).

Figura 12 – Fatores necessários para a persistência da doença



Fonte: SUNDQVIST e FIGDOR, 2003, p. 21

Bactérias gram-positivas, especialmente facultativas são mais frequentemente encontradas em infecções persistentes (FERRARI; CAI; BOMBANA 2007; HAAPASALO; UDNAES; ENDAL, 2003; KAUFMAN et al., 2005; NAIR, 2006; PAZ, 2004; SAKAMOTO et al., 2007; SIQUEIRA; RÔÇAS, 2008; SUNDQVIST; FIGDOR, 2003), indicando que estas têm maior capacidade de resistência aos procedimentos mecânicos e químicos do tratamento endodôntico do que bactérias gram-negativas, especialmente anaeróbias (FERRARI; CAI; BOMBANA 2007; HAAPASALO; UDNAES; ENDAL, 2003; PAZ, 2004; PINHEIRO et al., 2003; SAKAMOTO et al., 2007; SIQUEIRA; RÔÇAS, 2008).

Ferrari, Cai e Bombana (2007) explicam que a maior resistência das bactérias gram-positivas pode estar associada a diferentes fatores como: estrutura da parede celular com a camada de peptidoglicano mais espessa, secreção de produtos metabólicos e resistência a medicamentos.

De acordo com Pinheiro et al. (2003), estudos têm demonstrado taxas de sucesso do tratamento endodôntico que giram em torno de 85% a 96%, já o sucesso do retratamento é de 66%, evidenciando que o combate dessa infecção persistente é muito mais criterioso e desafiante.

Jardim Jr. et al. (2004) avaliaram a influência do preparo biomecânico sobre a microbiota presente em canais de 58 dentes com polpa necrótica. O trabalho consistiu na coleta, com limas e cones de papel, do material biológico contido nos canais antes e depois do preparo biomecânico. Após a coleta o material era armazenado em locais apropriados para posterior processamento pelo método de cultura. Os autores observaram a prevalência de uma microbiota mista entre os casos, com o predomínio de anaeróbios estritos, pois estes representaram 71,74% da amostra realizada antes do preparo biomecânico e que após esse procedimento houve uma diminuição acentuada desse grupo bacteriano. Quanto aos grupos microbianos, antes do preparo biomecânico observou-se com mais frequência os gêneros *Streptococcus spp.*, seguido do *Actinomyces spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, *Porphyromonas spp.*, *Eubacterium spp.*, *Veillonella spp.*, Bastonetes gram-positivos anaeróbios obrigatórios, Cocos gram-positivos anaeróbios obrigatórios e facultativos, *Staphylococcus spp.*, *Enterococcus spp.*, *Bacterioides spp.*, Bastonetes negativos entéricos e *Pseudomonas spp.* Após o preparo biomecânico houve uma redução mais significativa entre os microrganismos dos gêneros *Actinomyces spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Prevotella spp.* e *Porphyromonas spp.*, *Eubacterium spp.*, *Veillonella spp.*, *Peptostreptococcus spp.* e entre os bastonetes gram-positivos anaeróbios. Os autores também constataram que os gêneros *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Enterococcus spp.* e os Bastonetes gram-negativos entéricos são mais resistentes ao preparo biomecânico e concluíram que os anaeróbios são mais sensíveis ao preparo biomecânico do canal, possivelmente porque este procedimento afeta as interações bacterianas estabelecidas no sistema de canais o que pode permitir um maior acesso ao oxigênio molecular.

Sakamoto et al. (2007) avaliaram a eficácia do tratamento endodôntico e ação antibacteriana através dos métodos moleculares *16S rRNA gene clone library* e *quantitative real-time polymerase chain reaction analyses. (qPCR)*. Pacientes com necessidades endodônticas foram selecionados para o estudo que delineou a amostra em 18 dentes unirradiculares com diagnóstico clínico e radiográfico de

periodontite apical assintomática. As amostras propriamente ditas foram realizadas em três momentos distintos. A primeira amostra foi antes do preparo químico mecânico (PQM), e a segunda após PQM com rotação alternada, utilizando limas manuais e irrigação abundante com hipoclorito de sódio a 2,5%. Posteriormente, preencheu-se o canal com uma mistura de hidróxido de cálcio, PMCC e glicerina e o dente foi selado com um obturador provisório. A terceira amostra foi realizada após sete dias com medicação intracanal (MIC). Finalmente o canal foi obturado e selado com ionômero de vidro. Pela análise de qPCR, os autores encontraram presença de bactérias em todos os casos na primeira amostra, nas outras duas, cinco casos não apresentaram presença microbiana e por isso foram excluídos da análise qPCR. Os 10 casos restantes demonstraram que houve redução bacteriana após o tratamento endodôntico (PQM + MIC), sendo que a segunda e terceira amostras mostraram uma redução média de 99,67% e 99,85% respectivamente no número de bactérias se comparado com a primeira amostra. Pela análise 16S rRNA, 43 diferentes gêneros foram identificados a partir de 191 clones sequenciados, dos quais 24 (56%) eram espécies que ainda não tinham sido cultivadas e são apenas conhecidas por sua sequência genética. Nas primeiras amostras, 11 gêneros foram encontrados, e na segunda e terceira amostras, quatro e cinco gêneros respectivamente. Espécies de *Streptococcus ssp.* foram detectadas em todas as amostras pós-tratamento e também foi a mais dominante, exceto para um caso que apresentou a espécie descoberta (*Solobacterium*) presente em 56% dos clones sequenciados. Os autores concluíram que os resultados demonstraram que métodos independentes de cultura microbiológica fornecem uma visão mais detalhada sobre os efeitos de protocolos de desinfecção intracanal, o que pode nos auxiliar na definição de estratégias mais eficazes para lidar com bactérias endodônticas, incluindo aquelas ainda não cultivadas e ressaltam que mais estudos são necessários.

Uma das principais características dos *Streptococcus spp.* é possuir uma capacidade inata para fixação em superfícies dentárias expressando proteínas específicas como a adesina. Por este mecanismo, essa bactéria consegue iniciar a colonização e formação de biofilmes em placas dentárias e em canais radiculares e essa capacidade ganha importância frente à patogênese da periodontite apical (PAZ et al., 2005). Além disso, possuem a capacidade de invadir túbulos dentinários e conseguem reconhecer componentes como, colágeno tipo I, que estimulam a

adesão bacteriana e o crescimento intratubular (HAAPASALO; UDNAES; ENDAL, 2003; PAZ et al., 2005). Ainda, através da liberação de diferentes proteínas extracelulares, os *Streptococcus spp.* conseguem se adaptar e sobreviver nas condições adversas resultantes das mudanças ambientais provocadas pelas intervenções endodônticas no canal radicular (PAZ et al., 2005)

Sakamoto et al. (2007), confirmaram em seu estudo achados de outros autores que referiram o *Streptococcus spp.* como uma das espécies predominantes em amostras após os procedimentos de PQM e uso de medicação intracanal, o que pode representar um problema para o tratamento endodôntico pela capacidade de resistência desta bactéria.

Paz et al. (2005) realizaram um estudo com o objetivo de explorar o papel dos *Streptococcus spp.* nas infecções endodônticas, demonstrando sua diversidade entre as espécies desse gênero. Amostras de canais radiculares de um total de 100 pacientes foram tomadas durante todo o tratamento endodôntico realizado. Nas primeiras amostras, 241 bactérias diferentes foram identificadas, sendo *S. gordonii* (34%), *S. anginosus* (21%) e *S. oralis* (20%) as espécies do gênero *Streptococcus spp.* mais recuperadas. Nas segundas amostras, em 89 casos da totalidade de 100, demonstrou crescimento bacteriano em 49 casos, sendo quase todas monoculturas, onde cepas estreptocócicas estavam presentes em 24 casos, entre os quais *S. gordonii* e *S. oralis* foram os mais prevalentes. *Enterococcus spp.*, *Lactobacillus paracasei* e *Olsenella uli* foram tão frequentes quanto os *Streptococcus spp.* A terceira amostra foi obtida de 42 casos, sendo o *S. gordonii* recuperado em um caso. Os autores concluíram que a presença de variadas espécies de *Streptococcus spp.* nas amostras e a capacidade de iniciar a formação de biofilmes, fornecendo condições para outros microrganismos sobreviverem, bem como a capacidade de resistir à falta de nutrientes e adaptação às condições adversas para a sobrevivência dá a esse grupo bacteriano significância patogênica em periodontites apicais pós-tratamento endodôntico e ressaltam que mais trabalhos são necessários para o complemento destas informações.

Sakamoto, et al. (2007), Siqueira e Rôças (2009a) referem que as bactérias gram-negativas são mais comuns em infecções primárias e geralmente são eliminadas após o PQM, mas algumas bactérias anaeróbias podem permanecer, tais como *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella ssp.* e *Campylobacter rectus*.

Siqueira e Rôças (2009a) citam que as bactérias gram-positivas frequentemente encontradas em amostras após PQM são: *Streptococcus spp.* (*S. mitis*, *S. gordonii*, *S. anginosus*, *S. sanguinis* e *S. oralis*), *P. micra*, espécies de *Actinomyces* (*A. israelii* e *A. odontolyticus*), espécies de *Propionibacterium* (*P. acnes* e *P. propionicum*), *P. alactolyticus*, *Lactobacillus spp.* (*L. paracasei* e *L. acidophilus*), *Enterococcus faecalis* e *O. uli*. Outras bactérias gram-positivas, incluindo espécies de *Bifidobacterium*, *Eubacterium* e *Staphylococcus*, também podem ser encontradas, mas em frequências inferiores.

2.2.1 Microbiota da infecção persistente

Infecções secundárias e persistentes são, na maioria dos casos, clinicamente indiferenciadas (NARAYANAN; VAISHNAVI, 2010; SIQUEIRA; RÔÇAS, 2008).

Enterococcus faecalis (CHANDRA, 2009; HAAPASALO; UDNAES; ENDAL, 2003; PAZ, 2004; SAKAMOTO et al., 2008; SUNDQVIST; FIGDOR, 2003; TRONSTAD; SUNDE, 2003) e leveduras, principalmente *Cândida albicans*, são as espécies mais comumente recuperadas de canais submetidos a retratamento endodôntico (PINHEIRO et al., 2003; SIQUEIRA; RÔÇAS, 2008; SUNDQVIST, FIGDOR, 2003; TRONSTAD; SUNDE, 2003). Nair (2006) refere que além destes, *Actinomyces spp.* e *Propionibacterium spp.* também são comuns. Tronstad e Sunde (2003) citam também *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* e organismos entéricos e ambientais como *Pseudomonas aeruginosa*.

Os fungos obtêm acesso aos canais radiculares durante a terapia endodôntica, por uma assepsia inadequada, ou ainda podem crescer demasiadamente após ineficiência de procedimentos antimicrobianos nos canais que acabam causando um desequilíbrio na microbiota inicial. *Cândida albicans* representa 18% dos casos de infecção persistente (com fungos) e possui várias propriedades que podem estar relacionadas com essa persistência que inclui a capacidade de colonizar e invadir dentina e resistência ao hidróxido de cálcio (NAIR, 2006; PINHEIRO et al., 2003; SIQUEIRA; RÔÇAS, 2008, 2009a). Além disso, Haapasalo, Udnaes e Endal (2003) referem que as leveduras possuem a capacidade de sobreviver como monoinfecções e em condições de limitação nutricional.

Cheung e Ho (2001) realizaram um estudo com o objetivo de identificar microrganismos cultiváveis em dentes obturados com lesão periapical persistente sem sintomatologia dolorosa. Foram selecionados 24 pacientes com histórico de tratamento endodôntico realizado há quatro anos e sem sucesso. As amostras foram coletadas sob condições assépticas (com a finalidade de testar essa condição, antes do acesso ao canal radicular, amostras da superfície foram adquiridas e nenhuma mostrou crescimento bacteriano). O material obturador foi removido com brocas Gates Glidden e limas Hedström sem o uso de solventes químicos. Os condutos foram alargados até a lima número 25, na medida determinada por um localizador apical eletrônico, utilizando fluído de transporte reduzido (RTF) como irrigante. Antes da amostragem, RTF foi introduzido e agitado no canal e o líquido foi absorvido por três a quatro cones de papel, que foram imediatamente transferidos para ambientes adequados para posterior processamento microbiológico. Dos 24 dentes tratados, seis foram excluídos por exacerbação aguda no dia da amostragem, contaminação nos controles negativos ou por incompleta desobturação do conduto. Para os 18 restantes, 12 amostras mostraram crescimento bacteriano. Um total de 22 espécies bacterianas foi identificado e o número de bactérias por canal variou de zero a seis espécies distintas. Os gêneros mais recuperados foram *Streptococcus spp.*, *Pseudomonas spp.* e *Staphylococcus spp. coagulase-negativo*. Houve um predomínio de anaeróbios facultativos. Não foi encontrado *Enterococcus faecalis* nas amostras e em dois casos havia a presença de *Candida albicans*. Os autores também observaram que nos quatro casos considerados com obturação deficiente havia uma contagem maior de espécies bacterianas no canal e concluíram que cocos gram-positivos anaeróbios facultativos e bastonetes gram-negativos aeróbicos predominaram nessa investigação, ficando evidente que o insucesso se deu por falha na execução técnica do tratamento endodôntico e que mais estudos são necessários para determinar a origem dessas bactérias.

Pinheiro et al. (2003), investigaram a composição microbiana de dentes com diagnóstico de falhas no tratamento endodôntico e a associação bacteriana como fatores determinantes para suas possíveis características clínicas. Para isso, 60 dentes com tratamento endodôntico prévio, com evidência radiográfica de lesão periapical e diagnóstico de falha desse tratamento, baseado em exames clínicos e radiográficos, foram selecionados para o estudo. A remoção do material obturador foi realizada com brocas Gates Glidden e limas sem o uso de solventes e irrigação

com solução salina estéril. As amostras foram coletadas a partir de cones de papel introduzidos no canal e transferidos para posterior processamento pelos métodos de cultura. Foram recuperados 108 isolados clínicos pertencentes a 37 espécies bacterianas diferentes dos 60 canais, onde nove (15%) não tinham bactérias cultiváveis, 28 (46,7%) apresentaram monoinfecção, sendo 18 destes casos só de *Enterococcus faecalis*, oito (13,3%) tinham duas espécies envolvidas e 15 (25%) eram infecções polimicrobianas. Anaeróbios facultativos representaram 57,4% de toda a amostragem e os estritos 42,6%. Houve uma predominância de bactérias gram-positivas (83,3%). Os gêneros encontrados foram em ordem decrescente: *Enterococcus spp.* (52,94%), *Streptococcus spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, *Actinomyces spp.*, *Prevotella spp.*, *Propionibacterium spp.*, *Gemella spp.*, *Veillonella spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Haemophilus spp.*, *Eubacterium spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Clostridium spp.*, *Lactococcus spp.* e *Capnocytophaga spp.* Quanto às características clínicas, os autores encontraram que dentes mal obturados e os com dor ou histórico de dor foram associados com infecções polimicrobianas e anaeróbios, incluindo *Prevotella spp* (particularmente *P. intermedia/P. nigrescens*). e *Fusobacterium spp.* Dor espontânea foi especialmente associada ao *Peptostreptococcus ssp.* Sensibilidade à percussão com *P. intermedia/P. nigrescens*. Os casos com fístulas estavam ligados ao *Streptococcus spp.* e *Actinomyces spp.* (especialmente *A. naeslundii*). Dentes selados coronariamente mostraram estar associados significativamente com o *Streptococcus spp.* e *Cândida spp.* Os autores concluíram que a flora microbiana de canais com falha no tratamento endodôntico é composta predominantemente por espécies gram-positivas e anaeróbias facultativas, especialmente *Enterococcus faecalis* que foram os mais recuperados, porém infecções polimicrobianas e anaeróbios estritos também foram frequentemente encontrados, principalmente em associação com canais obturados sintomáticos. Os autores ressaltam o cuidado com a interpretação dos dados relacionados às associações bacterianas, já que as mesmas foram obtidas através de análises estatísticas e que um estudo específico comprobatório se faz necessário.

Sundqvist e Figdor (2003) referem que a maioria dos trabalhos revisados por eles demonstram uma alta prevalência de *Enterococcus spp.* e *Streptococcus spp.* em casos de canais obturados com lesão periapical. Mas uma parcela menor de outras pesquisas também refere uma prevalência significativa de *Lactobacillus spp.*,

Actinomyces spp. e *Peptoestreptococcus spp.*, *P. alactolyticus*, *P. propionicum*, *D. pneumosintes* e *F. alocis*.

Além dessas bactérias, Haapasalo, Udnaes e Endal (2003) referem outras com uma prevalência maior em casos de canais obturados com periodontite apical, que são: *Staphylococcus spp.*, Bastonetes gram-negativos entéricos. Anaeróbios facultativos também foram citados e incluem *Enterobacter cloacae*, *E. agglomerans*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella spp.*, *Citrobacter freundii*, *Acinetobacter spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas spp.*, *Proteus mirabilis* e *Proteus spp.*

Gomes et al. (2004) investigaram os microrganismos mais frequentes em infecções endodônticas primárias e persistentes, e a associação de espécies específicas com sinais e sintomas das patologias periapicais. Foram selecionados 60 pacientes, sendo 41 casos de necrose pulpar e 19 casos com canal tratado há mais de quatro anos. Diversas características clínicas foram anotadas para estabelecer relação com os achados microbianos, foram elas: idade, gênero, tipo de dente e condição pulpar. Os sinais e sintomas incluídos foram dor, sensibilidade à percussão e palpação, mobilidade, presença de fístula, edema, presença de bolsa periodontal e uso ou não de antibióticos. Também consideraram no seu estudo, achados radiográficos e presença ou não de umidade no canal durante o acesso. As amostras foram coletadas com a introdução de um cone de papel em todo o comprimento do dente. Foi recuperado um total de 224 culturas isoladas, pertencentes a 56 espécies distintas e 21 gêneros distintos. Os canais necróticos renderam 188 culturas isoladas, sendo 124 bactérias gram-positivas e 137 anaeróbias estritas. Dos canais tratados, 36 espécies diferentes foram recuperadas, sendo 27 delas gram-positivas e 16 anaeróbias facultativas. Amostras de seis canais obturados não obtiveram crescimento bacteriano. Os autores destacaram que *Prevotella buccae* e especialmente *Enterococcus faecalis* predominaram em canais tratados. *P. acnes*, *Peptostreptococcus magnus* e *P. denticola* estavam presentes em proporções iguais em ambos os casos. Quanto à associação de sinais e sintomas com bactérias específicas, os resultados encontrados foram: dor no momento da consulta com *P. micros* ($P < 0,01$), *P. intermedia/nigrescens* e *Eubacterium spp.* (ambos $P < 0,05$); histórico de dor com *P. micros* ($P < 0,01$), *Porphyromonas spp.* e *Fusobacterium spp.* ($P < 0,05$); sensibilidade à percussão com *Porphyromonas spp.* ($P < 0,01$), *Fusobacterium spp.* e *Peptostreptococcus spp.* (P .

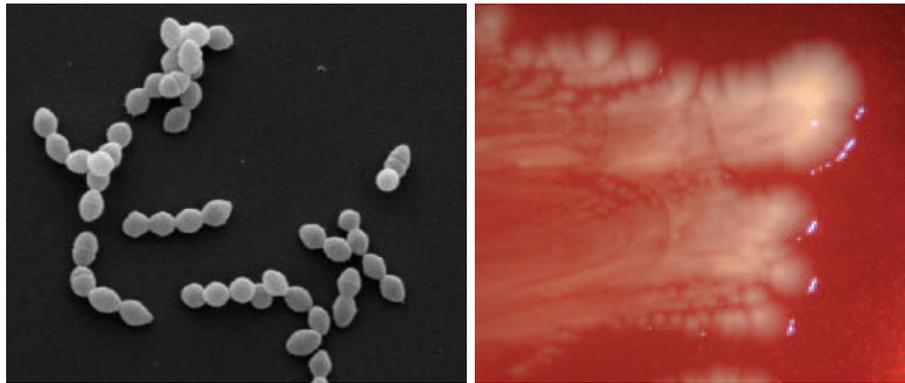
<0,001); edema com *Peptostreptococcus spp.* e *Enterococcus spp.* (P <0,05); canais com exsudato com *Porphyromonas spp.* e *Fusobacterium spp.* (P <0,05); exsudato purulento com *Porphyromonas spp.*, *Peptostreptococcus spp.* e *Fusobacterium spp.* (P <0,05); radiolusência periapical com *P. micros* (P <0,05); tratamento endodôntico anterior com *E. faecalis*, *Streptococcus spp.*, *P. Micros* e *F. necrophorum* (P <0,05). Nenhuma correlação foi encontrada com presença de fístula e mobilidade dentária e também nenhuma associação significativa foi encontrada entre o tipo de dente, gênero, faixa etária do paciente e a presença de sinais clínicos. Os autores concluíram que as interações bacterianas estudadas possuem potencial para causar quadros clínicos sintomáticos que não poderiam ser alcançados por essas espécies individualmente. Além disso, os autores afirmam que a microbiota de infecções primárias difere da microbiota daqueles dentes que já sofreram tratamento endodôntico.

Sakamoto et al. (2008), investigaram a diversidade bacteriana de dentes com canal tratado e lesão periapical persistente através do método molecular *16S ribosomal RNA gene clone library analysis*. Foram selecionados nove casos assintomáticos com tratamento endodôntico prévio e restauração coronária adequada. Os canais foram desobturados sem o uso de solventes químicos e amostras foram coletadas a partir de cones de papel inseridos no canal e transferidos para posterior processamento molecular. Todos os casos foram positivos para a presença bacteriana. No total, 74 diferentes gêneros foram identificados de 188 clones sequenciados, destes, 41 (55%) foram de bactérias ainda não cultivadas (25 nunca tinham sido identificadas antes). Alguns gêneros bacterianos representados neste estudo foram: *Firmicutes*, *Actinobactéria*, *Bacteroidetes*, *Proteobactéria*, *Fusobactéria* e *Synergistes*. Os autores concluíram que através desse método molecular, foi possível associar insucessos endodônticos com uma maior diversidade bacteriana até o momento descrita na literatura, demonstrando também uma proporção significativa de bactérias ainda não cultivadas. Os autores ressaltam que embora o tamanho da amostra tenha sido pequeno, os dados obtidos trouxeram informações importantes sobre a etiologia da periodontite apical persistente, bem como a divulgação de vários novos agentes patogênicos e que são necessários mais estudos para delinear as características destas bactérias descobertas, para melhor estabelecer a relação destas com a patogênese da periodontite apical.

2.2.2 *Enterococcus faecalis*

Os *Enterococcus spp.* são bactérias gram-positivas anaeróbias facultativas que podem causar uma ampla variedade de doenças em humanos. Estão presentes no trato urinário, endocárdio, abdômen, vias biliares, queimaduras, podem habitar dispositivos externos e também vêm sendo muito relacionadas a infecções endodônticas (KAYAOGLU; ERTEN; ORSTAVIK, 2005). Histologicamente se apresentam como células esféricas ou ovóides que podem ocorrer em pares ou cadeias curtas em meios líquidos, quando unidas formam colônias esbranquiçadas de aspecto cremoso (PORTENIER; WALTIMO; HAAPASALO, 2003).

Figura 13 – Células (micrografia eletrônica de varredura) e colônias (placa de ágar sangue) de *Enterococcus spp.*



Fonte: PORTENIER, WALTIMO e HAAPASALO, 2003, p. 136 e 137

De acordo com, Chivatxaranukul, Dashper, Messer (2008), Figdor (2004); Haapasalo, Udnaes, Endal (2003), Kayaoglu, Erten, Orstavik (2005), Nair (2006), Narayanan, Vaishnavi (2010), Paz (2005), Pinheiro et al. (2003), Siqueira e Rôças (2008), os *Enterococcus faecalis* são capazes de:

- Viver e persistir em ambiente com nutrição pobre e em monoinfecção, não necessitando do apoio sinérgico de outras bactérias;
- Sobreviver à ação de vários irrigantes e na presença de medicação intracanal;
- Formar biofilmes;
- Aderir ao colágeno, mediado por adesinas na superfície celular;
- Invadir túbulos dentinários, onde podem sobreviver por um período prolongado sob condições adversas;

- Converter-se em um estado viável, porém não cultivável;
- Adquirir resistência aos antibióticos;
- Sobreviver em ambiente extremo. São capazes de tolerar pH até 11,5, altas salinidades e temperaturas;
- Perseverar em períodos prolongados de fome e poder utilizar, quando oportuno, os fluidos dos tecidos a partir do ligamento periodontal.

Segundo Narayanan e Vaishnavi (2010), quando o *Enterococcus faecalis* está em pequena quantidade é facilmente eliminado, já em grande número, sua erradicação é extremamente difícil, justamente por suas características citadas acima.

Kayaoglu, Erten e Orstavik (2005), realizaram um estudo *in vitro* com o objetivo de avaliar o efeito dos níveis de pH 7,1 a pH 9,5 sobre a aderência do *Enterococcus faecalis* à albumina sérica bovina (BSA) e ao colágeno tipo I. Para tal, foram coletados e cultivados *Enterococcus faecalis* em caldo de pHs variando de 7,1 a 9,5. Alíquotas de suspensões bacterianas foram acondicionadas em poços revestidos com BSA ou com colágeno tipo I. As bactérias aderidas às superfícies foram coradas com cristal violeta e medições espectrofotométricas da mancha dissolvida foram utilizadas para avaliar o número de bactérias que aderiram às superfícies. Após, os dados obtidos foram submetidos à análise estatística. Os resultados mostraram que a adesão do *Enterococcus faecalis* em superfícies revestidas com BSA foi diminuindo conforme o pH foi aumentando, tendo um crescimento maior no pH 7,1. Já nas superfícies revestidas com colágeno tipo I, observou-se que as bactérias cultivadas em pH 8,0 e 8,5 tiveram uma maior aderência do que aquelas cultivadas em pH 7,1. Os autores concluíram que um pequeno aumento no pH até 8,5, como o que pode acontecer no canal radicular com o uso de medicamentos alcalinos como o hidróxido de cálcio, aumenta *in vitro*, a capacidade de ligação do *Enterococcus faecalis* ao colágeno e essa adesão aos tecidos do hospedeiro é um passo importante para o estabelecimento de uma infecção. Essa característica pode contribuir para a predominância de *Enterococcus faecalis* em infecções endodônticas persistentes.

Enterococcus faecalis possui uma resistência ao hidróxido de cálcio (CHANDRA, 2009). Portenier, Waltimo e Haapasalo (2003) citam que estudos *in vitro* têm demonstrado que é difícil, senão impossível, erradicar essa bactéria em dentina, mesmo após longos períodos de incubação com esse medicamento. E

especulam que a dentina possa ter uma ação direta protegendo esse microrganismo da ação antibacteriana dos medicamentos, embora esses mecanismos não estejam completamente elucidados e mereçam mais estudos específicos. O que é corroborado por Kayaoglu, Erten e Orstavik (2005).

Essa resistência pode ser explicada por um mecanismo de regulação interna do pH com uma eficiente bomba de prótons (NAIR, 2006).

Kayaoglu, Erten e Orstavik (2005) referem outras explicações para essa resistência, tais como as variações no potencial alcalinizante das várias formulações do hidróxido de cálcio, a dificuldade de penetração da medicação no canal radicular, principalmente na região apical e a dispersão que tem sido relatada ser maior nas regiões cervicais, de modo que suficiente alcalinidade nem sempre pode ser alcançada em todas as áreas do canal.

Quanto a ação das soluções irrigadoras, Portenier, Waltimo e Haapasalo (2003) referem em sua revisão um artigo de Gomes et al. (2001)⁵ que testou *in vitro* a ação da clorexidina e do hipoclorito de sódio sobre os *Enterococcus faecalis*. Os resultados mostraram que foram necessários apenas 30 segundos para a erradicação completa dessa bactéria com o uso de solução de gluconato de clorexidina a 0,2% e 2% e 5 minutos nas concentrações mais baixas que 5,25% do hipoclorito de sódio. Os autores também observaram que a mesma concentração da clorexidina, mas na forma de gel, levou 2 horas para alcançar o mesmo resultado.

De acordo com Chandra (2009), o gluconato de clorexidina pode inativar o LTA, que é o maior fator de virulência dos *Enterococcus faecalis*, levando à redução da inflamação e respostas induzidas por ele. O autor ressalta que, em retratamentos endodônticos, o uso desta medicação deve ser considerado por suas propriedades, desde a inativação do LTA como pela substantividade e capacidade de penetração em túbulos dentinários.

Embora constituam uma pequena proporção da microbiota de infecções endodônticas primárias, os *Enterococcus spp.* são encontrados com maior prevalência em canais radiculares já tratados com sinais de periodontite apical crônica, em especial, os *E. faecalis* (CHIVATXARANUKUL; DASHPER; MESSER,

⁵ GOMES, B.P., et al.. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 34, p. 424–428, 2001.

2008; KAYAOGLU; ERTEN; ORSTAVIK, 2005; PORTENIER; WALTIMO; HAAPASALO, 2003).

Sundqvist e Figdor (2003) explicam que uma das hipóteses para a pequena proporção de *Enterococcus spp.* ser relacionada a infecções primárias, é o fato de que ele pode ser suplantado pelo consórcio bacteriano misto, e que após o PQM, as condições ambientais melhoram e essa bactéria pode crescer em proporções maiores e assim ser recuperável pelos métodos de cultura.

Uma série de estudos relatou a prevalência do *Enterococcus faecalis* em dentes já tratados endodonticamente. Kayaoglu, Erten e Orstavik (2005) disseram que 23% a 70% das culturas positivas de dentes submetidos à retratamento endodôntico, são de *Enterococcus faecalis*, ocorrendo geralmente em monoinfecção. Kaufman et al. (2005) relataram que métodos de cultura têm identificado esse microrganismo em 37% dos casos já tratados, e os métodos moleculares demonstram uma prevalência maior, em torno de 77%. Nair (2006) relatou uma prevalência de 22% a 77%, Siqueira e Rôças (2009a) relataram que estudos dependentes e independentes de cultura evidenciaram que o *Enterococcus faecalis* é a espécie mais frequentemente encontrada em canais obturados com necessidade de retratamento, com uma prevalência chegando a 90%.

Com o advento dos métodos moleculares, cada vez mais tem se identificado o *E. faecalis* também em infecções primárias (PORTENIER; WALTIMO; HAAPASALO, 2003).

Portenier, Waltimo e Haapasalo (2003) referem em sua revisão a pesquisa da Sire'n et al. (1997)⁶ que ao verificar a ocorrência de *Enterococcus faecalis* em um grupo de dentes e em outros não, concluíram que o comprometimento da assepsia durante a execução do tratamento endodôntico é fator causal importante para a contaminação do sistema de canais radiculares por essa bactéria.

Embora o *Enterococcus faecalis* seja, frequentemente, relacionado aos fracassos endodônticos, estudos moleculares têm divergido em seus resultados, ora confirmando a prevalência desse microrganismo, ora demonstrando sua ausência ou ainda que presente, mas não como bactéria dominante da flora nestes casos. Além disso, em alguns casos a presença de *Enterococcus faecalis* não foi mais prevalente

⁶ SIRE'N, E.K., et al. Microbiological findings and clinical treatment procedures in endodontic cases selected for microbiological investigation. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 30, p. 91–95, 1997.

em canais tratados com lesão do que aqueles sem lesão e essa observação levanta o questionamento de que ele pode não ser o principal agente em falhas endodônticas (NAIR, 2006; SIQUEIRA e RÔÇAS, 2008).

No estudo de Cheung e Ho (2001), o *Enterococcus faecalis* não foi detectado na microbiota de canais obturados. Também na pesquisa de Sakamoto et al. (2008), essa espécie bacteriana foi recuperada em apenas dois dos nove casos estudados por eles, e isso argumentaria contra o pressuposto de que esta é a espécie mais importante envolvida em falhas no tratamento endodôntico.

Na tentativa de responder à hipótese de que o *Enterococcus spp.* poderia ser o principal suspeito na patogênese de lesões periapicais e responsável pelos insucessos endodônticos, Kaufman et al. (2005), realizaram um estudo com métodos moleculares. Sendo assim, 58 dentes foram selecionados e divididos em dois grupos, o primeiro relacionava dentes com necessidade de retratamento endodôntico e evidência radiográfica de lesão periapical (36 casos), o segundo grupo também necessitava de retratamento, mas não tinha lesão associada (22 casos que foram indicados para retratamento devido a falhas no selamento ou quando a técnica do tratamento anterior pareceu questionável). As amostras foram obtidas sob condições rigorosamente assépticas. Depois do acesso ao canal, o material obturador foi removido com brocas Gates Glidden e limas Hedström sem o uso de solventes químicos. Após, três cones de papel foram introduzidos no canal e mantidos por 30 segundos cada um e transferidos para ambientes adequados e congelados para posterior processamento molecular. Os resultados mostraram que a presença geral de bactérias foi em 90% dos casos, e os *Enterococcus spp.* representaram 12,1% (cinco casos sem lesão e dois casos com lesão). A análise estatística demonstrou uma relação significativa entre a presença de bactérias e lesão periapical, mas não com *Enterococcus spp.* o que permitiu aos autores concluir que o *Enterococcus spp.* não está intimamente ligado ao fracasso de tratamentos endodônticos, mas sim uma infecção polimicrobiana.

2.3 FATORES NÃO MICROBIANOS RELACIONADOS COM O INSUCESSO ENDODÔNTICO

Embora haja fatores não microbianos envolvidos no insucesso dos tratamentos endodônticos, a literatura tem sugerido que estes fatores são de

ocorrência rara e na maioria das vezes estão representados por lesões císticas, reação de corpo estranho e escara ou cicatriz tecidual (FERRARI; CAI; BOMBANA, 2007; NAIR, 2006) e este último, por não tratar-se um insucesso propriamente dito, não será abordado nesta revisão.

A evolução natural dos processos patológicos pulpares, quando não são tratados, é atingir os tecidos periapicais sob a forma de uma lesão que pode ser representada por um quadro supurativo (abscesso), agudo ou crônico, que continuará a evoluir se o agente causador não for removido. Desta forma uma reação inflamatória crônica se estabelece e forma-se um tecido de granulação ricamente vascularizado. Os restos epiteliais de Malassez, elementos integrantes do ligamento periodontal normal, são envolvidos no estímulo inflamatório e passam a proliferar de tal maneira que constituem o granuloma epitelial. Uma das teorias para a formação do cisto periapical é que com a proliferação desse epitélio, as células mais centrais ficam longe da fonte de nutrição e desta forma acaba provocando a degeneração celular e como consequência uma cavidade aparece recoberta por tecido epitelial, tornando-se uma entidade distinta que não curará somente com o tratamento endodôntico convencional (BARBACHAN, 1977; NEVILLE et al., 2004).

Nair (2006) relata uma incidência de lesões císticas periapicais que varia de 6% a 55% e explica que essa discrepância ocorre devido a erros de diagnóstico por técnicas de análise histológica que avaliam diferentes seções da lesão, ao invés de acompanhar um seccionamento completo e que na verdade, cistos verdadeiros representariam apenas 15% destas lesões. O que é corroborado por Neville et al. (2004).

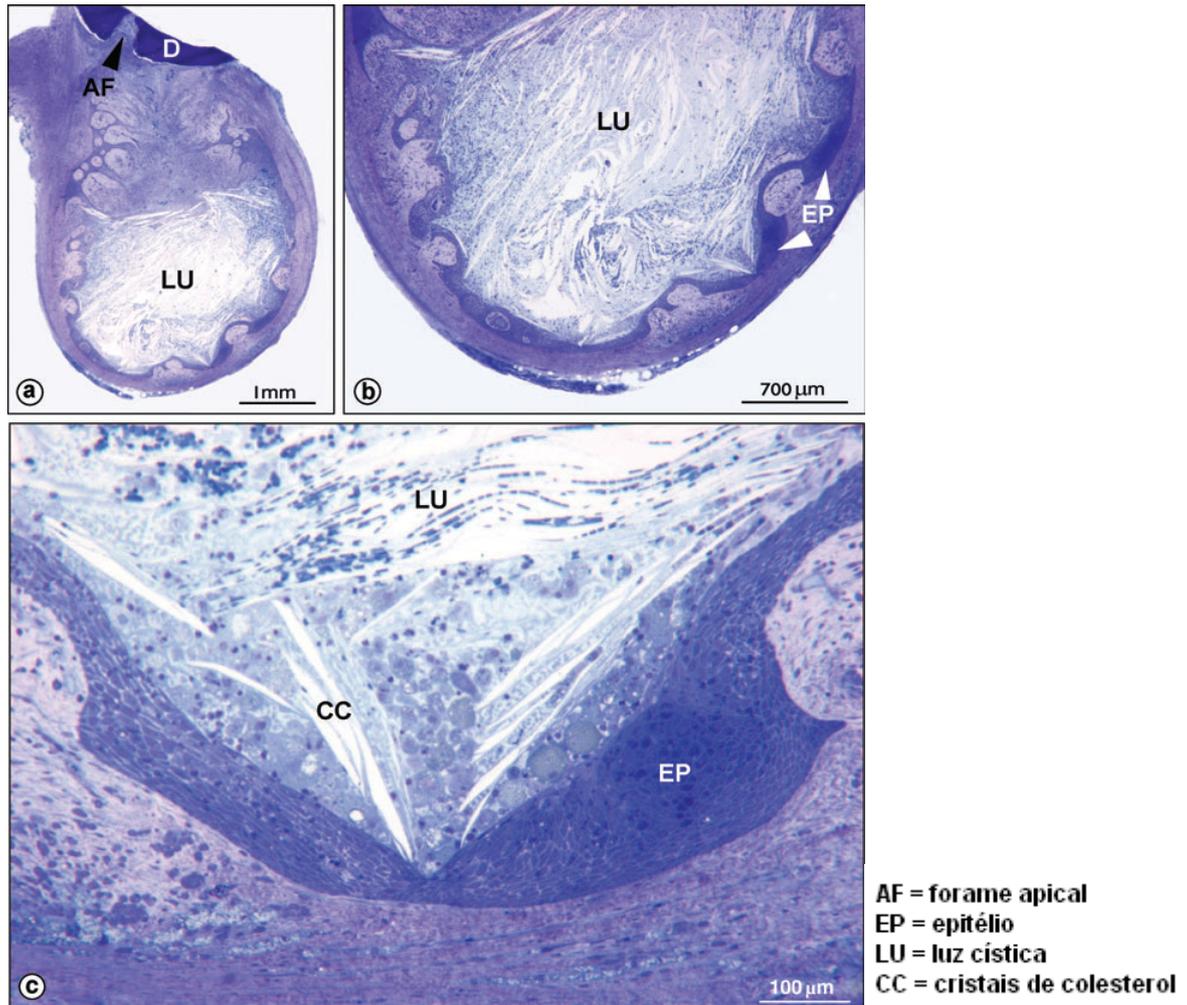
Qualquer dente pode ser acometido, mas os cistos periapicais são mais frequentes na maxila que na mandíbula, acometendo preferencialmente a região anterior da primeira e a região de pré-molares na segunda (NAIR, 2003a).

2.3.1 Cistos verdadeiros

Neville et al (2004) referem que os cistos periapicais são caracterizados por uma cápsula de tecido conjuntivo fibroso revestida por epitélio com um lúmen contendo líquido e restos de células. Em geral são assintomáticos, a não ser que ocorra uma exacerbação aguda do quadro inflamatório, e podem causar mobilidade e reabsorção radicular do dente envolvido, bem como deslocamento dos dentes

adjacentes quando atingem grandes proporções. Radiograficamente, a lesão se manifesta como uma área radiolúcida junto ao ápice de um dente necrótico, usualmente bem delimitada e com dimensões entre 10 e 20 milímetros. Seu diagnóstico definitivo só pode ser obtido através de exames histopatológicos (NAIR, 2006).

Figura 14 – Cisto verdadeiro. Não há a comunicação da lesão com o forame apical.



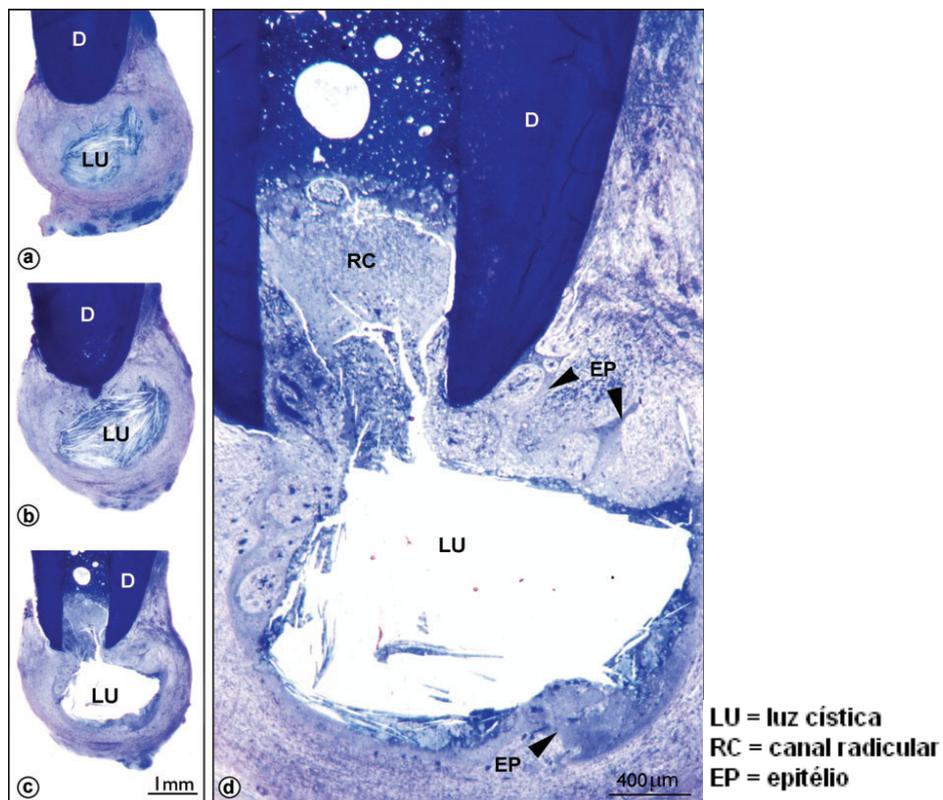
Fonte: NAIR, 2006, p. 263

Nair, em 2003(a), relatou a análise histológica de 256 lesões periapicais obtidas de dentes extraídos e encontrou 35% de abscessos periapicais, 50% de granulomas periapicais e 15% foram cistos, sendo 9% destes diagnosticados como cistos verdadeiros, por possuírem cavidades completamente fechadas por uma camada de tecido epitelial, e 6% representaram cistos baia.

2.3.2 Cisto em baia

Em função de sua localização e geometria, o cisto toma o nome de Cisto em baia quando não há o completo fechamento por tecido epitelial, o que permite uma comunicação com o forame apical, e devido a isso, esse cisto pode ser curado somente com o tratamento endodôntico bem executado, pois a infecção intrarradicular que alimenta a lesão é reduzida substancialmente, dando condições ao organismo de reparar os tecidos (NAIR, 2003a, 2006). Porém, com um cisto verdadeiro isso não ocorre, pois ele é auto sustentável e sua existência independe da presença ou ausência de irritantes dentro do canal (NAIR, 2006).

Figura 15 – Cisto em baia. Há a comunicação da lesão com o forame apical



Fonte: NAIR, 2006, p. 262

É importante considerar a etiopatogenia distinta destas situações (cisto verdadeiro e cisto baia), pois a terapêutica a ser instituída também difere, de modo que nos casos de cisto verdadeiro, principalmente os grandes, somente o tratamento cirúrgico poderá resultar em sucesso e frente aos casos com lesões periapicais persistentes, que radiograficamente sugerem lesões císticas e que já sofreram

tratamentos endodônticos anteriores, a terapia cirúrgica deve ser cuidadosamente considerada (NAIR, 2006).

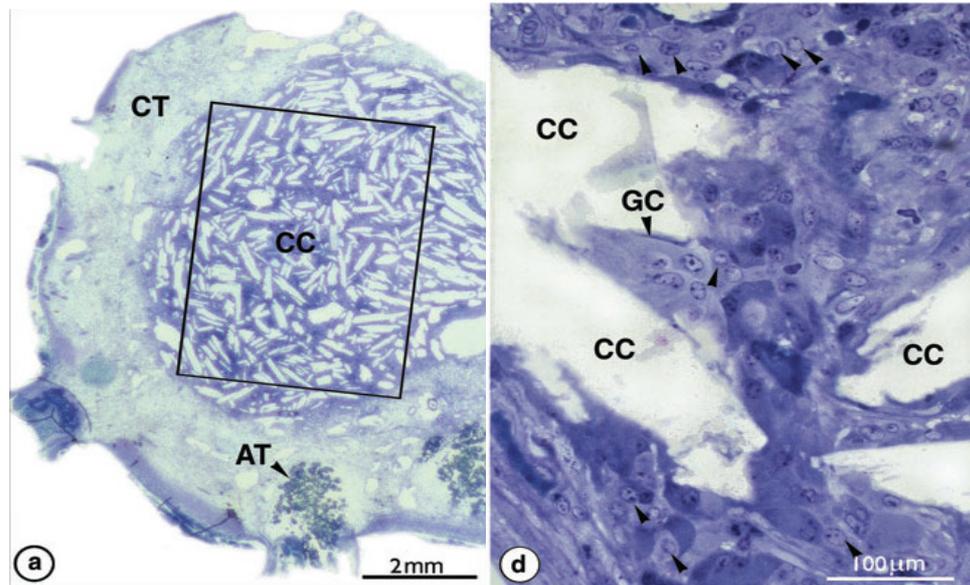
2.3.3 Cristais de colesterol

Colesterol é um lipídio esteróide que está abundantemente presente em todas as membranas da célula animal. Sua incidência em lesões de periodontite apical varia de 18 a 44% e seu significado etiológico para tratamentos endodônticos fracassados ainda não foi completamente elucidado (NAIR, 2006; NEVILLE et al, 2004). O que se sabe é que os cristais de colesterol causam um grande acúmulo de macrófagos e células gigantes ao redor deles e que estas células não são capazes de degradar e fagocitar esse colesterol e acabam atuando como uma importante fonte para um processo inflamatório crônico, induzindo reabsorção óssea apical (NAIR, 2003b).

Os cristais são formados a partir do colesterol liberado através da desintegração de eritrócitos dos vasos sanguíneos estagnados na lesão; de lipídios plasmáticos circulantes e de linfócitos, de células plasmáticas e macrófagos que morrem em grande quantidade e desintegram-se em lesões periapicais crônicas, sendo esta a principal fonte para concentração e cristalização do colesterol na área apical (NAIR, 2006).

Nos cortes histológicos, os depósitos de cristais de colesterol aparecem como espaços em forma de estreitas fissuras alongadas, devido à dissolução que ocorre pelos solventes de gordura utilizados no processamento dos tecidos (NAIR, 2006).

Figura 16 – (a) Corte histológico, evidenciando a presença de cristais de colesterol em lesão periapical; (b) reação de corpo estranho com a presença de células gigantes ao redor dos cristais



CT = tecido conjuntivo CC = cristais de colesterol GC = células gigantes AT = tecido adiposo

Fonte: NAIR, 2006, p. 267

Segundo Nair (2006), cristais de colesterol produzem uma reação de corpo estranho na lesão que pode ser suficiente para sustentar lesões indefinidamente e como não estão no interior do sistema de canais radiculares, o tratamento de eleição deve ser cirúrgico.

2.3.4 Reação de corpo estranho

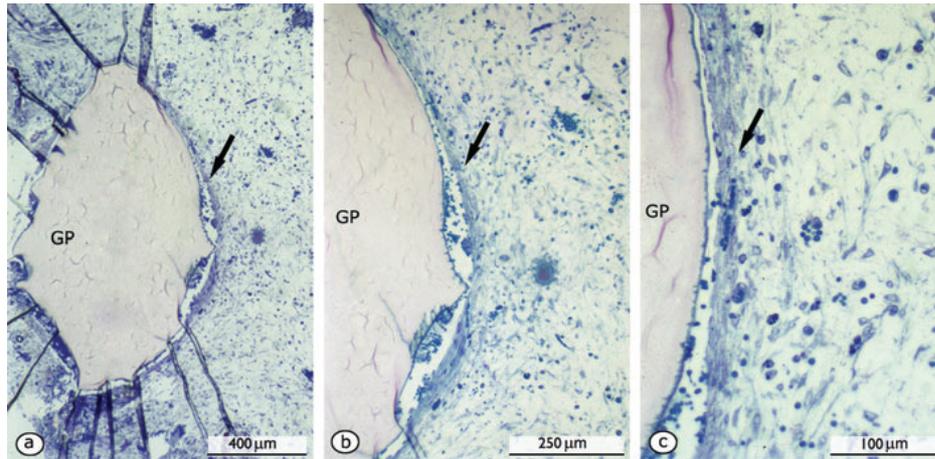
Materiais utilizados nos procedimentos endodônticos, tais como: guta percha, algodão e pontas de cones de papel, quando são introduzidos nos tecidos periapicais podem induzir uma reação de corpo estranho no local, levando a uma resposta inflamatória crônica, dificultando ou até mesmo impedindo que ocorra o reparo apical (CHANDRA, 2009; NAIR, 2006).

Chandra (2009) relata em sua revisão que alguns estudos demonstraram que o extravasamento de cimento endodôntico para os tecidos periapicais poderá causar um atraso no reparo, mas não irá impedi-lo.

A guta percha é um material sólido de modo que não pode ser absorvido pelo organismo como o cimento endodôntico e apesar de ser biocompatível e bem tolerada pelos tecidos humanos, o seu extravasamento para os tecidos periapicais pode induzir uma resposta tecidual. Quando um grande pedaço de guta percha é

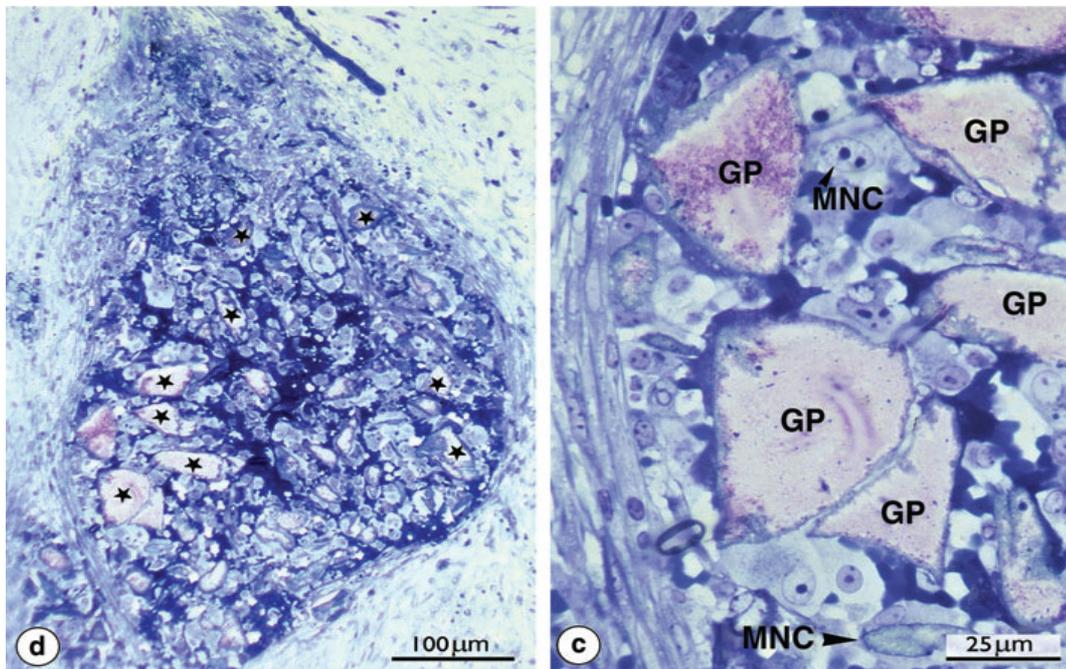
jogado para os tecidos, o que geralmente se observa histologicamente é uma cápsula fibrosa circundando o material (Fig. 17), no entanto, quando ocorre o extravasamento de muitas partículas, o que se observa é uma intensa e localizada resposta caracterizada pela presença de macrófagos e células gigantes (Fig. 18) que muitas vezes será incompatível com reparo (NAIR, 2006).

Figura 17 – Grande pedaço de guta percha sendo encapsulado pelo organismo



Fonte: NAIR, 2006, p. 268

Figura 18 – Várias partículas de guta percha induzindo reação de corpo estranho



GP = guta percha MNC = células mononucleares

Fonte: NAIR, 2006, p. 269

Estes materiais, quando projetados para além do forame apical, se contaminados, podem permitir crescimento de um biofilme ao redor, o que irá manter ou mesmo reforçar, uma periodontite apical resultando em falha do tratamento endodôntico (NAIR, 2006).

3 DISCUSSÃO

Quando o tratamento endodôntico resulta em insucesso e o mesmo foi executado de forma adequada, dentro dos princípios técnicos e biológicos, é inevitável não questionar o que gerou o erro. Muitos cirurgiões dentistas, clínicos e endodontistas se deparam com tal situação ao longo de suas carreiras e por isso cada vez mais, a literatura tem divulgado estudos e pesquisas que tentam responder essa questão.

É sabido, desde muito tempo, que os microrganismos, principalmente as bactérias, possuem um papel fundamental no desenvolvimento e perpetuação das lesões endodônticas e praticamente toda a literatura revisada nesta monografia, atribui a elas a causa mais indicativa do insucesso dos tratamentos endodônticos.

A nossa discussão irá se ater aos três pontos essenciais para a persistência de uma lesão periapical que são: o ambiente radicular onde essa infecção ocorre; a capacidade das bactérias de se estabelecerem e sobreviverem dentro desse ambiente e o mecanismo de defesa do hospedeiro.

O sistema de canais radiculares é um ambiente extremamente complexo, primeiramente por estar confinado entre paredes rígidas onde, após a necrose pulpar, não há circulação sanguínea e por isso as defesas do hospedeiro e os antibióticos não conseguem atuar. Além disso, a anatomia interna, rica em ramificações, istmos e a própria dentina que é repleta de túbulos dentinários, apresenta áreas onde, na maioria das vezes, não permite uma atuação direta dos instrumentos endodônticos ficando à mercê da capacidade de alcance das soluções irrigadoras e medicação intracanal para uma desinfecção química.

Diversos autores como Bergholtz, Dahlén (2004), Chandra (2009), Nair (2006), Narayanan e Vaishnavi (2010) referiram que a erradicação total da infecção endodôntica é impossível de ser alcançada, justamente pela complexidade anatômica, sendo que o terço apical requer especial atenção durante a execução da terapia, não somente pela presença de canais secundários e deltas apicais, mas também porque esta porção, de acordo com Nair (2006), abriga uma quantidade maior de microrganismos em infecções persistentes.

Essa afirmação é consistente com a de Paz (2004) ao mencionar que pela proximidade com os tecidos periapicais, é provável que a disponibilidade de

nutrientes seja mais rica, facilitando o estabelecimento e a manutenção de uma microbiota na região apical do sistema de canais radiculares.

Concordamos com Siqueira et al. (2009) quanto à questão de que as etapas do tratamento endodôntico são mais críticas na porção apical, desde o domínio do canal, principalmente naqueles com curvatura acentuada até seu adequado vedamento, uma vez que se as bactérias presentes nessa porção se mantiverem viáveis, por ocuparem posição privilegiada, irão causar e perpetuar inflamação nos tecidos periapicais e por consequência levar ao insucesso do tratamento.

Não se poderia deixar de mencionar a invasão bacteriana dos túbulos dentinários. Embora não se saiba ainda completamente quais mecanismos propiciam essa capacidade, é fato que ela existe e influencia nos resultados finais do tratamento endodôntico.

A literatura pesquisada foi unânime em referir que não são todas as espécies bacterianas que possuem a capacidade de invadir e se estabelecer no interior de túbulos dentinários. Siqueira e Rôças (2008) citaram estudos *in vitro* que demonstraram que *Pophyromonas endodontalis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Actinomyces israeli*, *Propionibacterium acnes*, *Enterococcus faecalis*, *Cândida albicans* e *Streptococcus spp.* têm capacidade para penetrar em túbulos dentinários e algumas destas bactérias possuem uma íntima relação com casos de lesões persistentes.

Quanto aos fatores que podem determinar uma maior ou menor invasão de túbulos dentinários, a literatura cita a dentina esclerótica e o cimento radicular que quando presentes tornam essa invasão menos pronunciada. Outro fator relacionado é o *smear layer*. Haapasalo, Udnaes e Endal (2003) citam o estudo de Peters, Wesselink e Moorer (2000)⁷, que demonstraram ser essa camada efetiva contra a invasão bacteriana na dentina, porém, o *Enterococcus faecalis* foi capaz de penetrar mesmo na sua presença. No estudo de Chivatxaranukul, Daspher e Messer (2008) quando o *smear layer* estava presente, houve uma menor invasão dos túbulos dentinários pelo *Enterococcus faecalis* se comparado com as superfícies onde essa camada foi removida.

Haapasalo, Udnaes e Endal (2003) afirmam que em infecções endodônticas primárias a questão da invasão dos túbulos dentinários não possui relevância

⁷ PETERS, L.B.; WESSELINK, P.R.; MOORER, W.R. Penetration of bacteria in bovine root dentine in vitro. *Int. Endod. J.*, Oxford, v. 33, p. 28–36, 2000.

clínica, pois desde que uma adequada terapia endodôntica seja executada, as bactérias residuais não teriam como interagir com os tecidos periapicais e desta forma a lesão, se existente, iria reparar. Acreditamos que esta afirmação tenha sido baseada no fato de que a microbiota de infecções primárias é mais fácil de ser erradicada, porém, estudos têm demonstrado, por exemplo, que o *Enterococcus faecalis*, uma bactéria relacionada a casos refratários, também pode ser encontrada em infecções primárias e por apresentarem características como: resistência a longos períodos sem nutrientes, resistência ao tratamento endodôntico e grande capacidade de invadir túbulos dentinários, oportuniza que essa bactéria se estabeleça no sistema de canais radiculares, tanto em infecções primárias e mesmo diante de uma adequada obturação. Sendo assim, se houver oportunidade de nutrição dentro do canal, isso poderá resultar no fracasso do tratamento endodôntico.

Em virtude da complexidade anatômica em que as infecções endodônticas ocorrem, concordamos com Leonardo et al. (2004) quanto ao uso de medicação intracanal como complemento da desinfecção, principalmente em casos que apresentam evidência radiográfica de lesão periapical, sempre lembrando que não somente a morte bacteriana é o alvo dos procedimentos, mas a inativação da endotoxina bacteriana, já que esta é capaz também de perpetuar lesões endodônticas, como mencionado por Pinchiari (2007).

No desafio da endodontia, a microbiota é um oponente astuto e que não deve ser subestimado pelo endodontista, a começar pelo longo caminho que essas bactérias percorrem até conseguirem se estabelecer e depois pela capacidade de resistirem aos procedimentos endodônticos e às mudanças ambientais que eles provocam. A forma como elas fazem isso, através das interações bacterianas e formação de um biofilme merece destaque.

O sinergismo entre as bactérias é um poderoso mecanismo de sobrevivência, pois essas interações permitem que uma bactéria ou um composto bacteriano favoreça outro ao fornecer nutrientes e condições de crescimento (PETERS; WESSELINK; WINKELHOFF, 2002). Além disso, essas associações parecem ser requisito para a patogenicidade de grupos bacterianos, como as bactérias pigmentadas de negro e também possuem relação com os quadros agudos da periodontite apical (TOMAZINHO; CAMPOS, 2007).

Ter a capacidade de interagir de forma positiva com outras bactérias é uma característica importante para se manter na microbiota endodôntica, uma vez que esta é polimicrobiana e o sistema de canais radiculares é um ambiente competitivo. E quando estas bactérias se unem numa única unidade chamada biofilme endodôntico, a sua erradicação é no mínimo complexa.

O biofilme endodôntico é uma comunidade de microrganismos aderidos a um substrato, orgânico e inorgânico, envolvidos por uma matriz exopolissacarídea (NAIR, 2006; NARAYANAN; VAISHNAVI, 2010; PINCHIARI, 2007; SVENSÄTER; BERGENHOLTZ, 2004), embora sua presença tenha sido, por muito tempo, associada à extremidade da raiz, podendo ser considerada uma infecção extrarradicular, atualmente estudos têm demonstrado que em processos infecciosos em estágios mais avançados, é possível identificar essa comunidade aderida às paredes do canal (SIQUEIRA; RÔÇAS, 2007; SVENSÄTER; BEGENHOLTZ, 2004).

De acordo com Tronstad e Sunde (2003), o biofilme endodôntico é considerado como a melhor forma de crescimento pelas bactérias, pois dele tiram tudo o que necessitam, desde nutrientes e um ambiente adequado para seu desenvolvimento, até proteção contra o sistema de defesa do hospedeiro e substâncias antimicrobianas.

Portenier, Waltimo e Haapasalo (2003) complementam que o biofilme raramente é totalmente eliminado, mesmo em indivíduos com uma resposta imune competente. Além disso os antibióticos podem eliminar os sintomas e as bactérias que foram liberadas do biofilme, mas não erradica as células que continuam incorporadas a ele, de forma que após a antibioticoterapia uma infecção recorrente pode ocorrer.

Pinchiari (2007) relata que a única forma eficaz de remover um biofilme extrarradicular é através do tratamento cirúrgico com curetagem da lesão e apicetomia. Concordamos com a afirmação desta autora e complementamos que se imaginarmos que o biofilme endodôntico intrarradicular pode estar em áreas anatômicas do sistema de canais radiculares de difícil acesso aos instrumentos endodônticos e que o mesmo pode resistir a ação das soluções irrigadoras e medicação intracanal, é plausível considerar que muito mais do que uma única espécie bacteriana, como o *Enterococcus faecalis* ser o “vilão” da história, é essa forma de comunidade bacteriana, altamente resistente, que talvez seja o “calcanhar de Aquiles” dos endodontistas.

Quando se fala em *Enterococcus faecalis*, logo se pensa e se observa na literatura que este é o tipo bacteriano mais relacionado aos fracassos endodônticos, sendo frequentemente recuperado de canais já obturados em tratamentos sem sucesso (CHIVATXARANUKUL; DASHPER; MESSER, 2008; KAYAOGLU; ERTEN; ORSTAVIK, 2005; PORTENIER; WALTIMO; HAAPASALO, 2003). Essa afirmação é verdadeira, principalmente pelas características de resistência dessa bactéria, porém, cada vez mais a literatura tem considerado que, embora numa pequena proporção, os *Enterococcus spp.* também podem estar presentes em infecções primárias, como foi demonstrado nos estudos de Gomes et al. (2004), Jardim, et al. (2004), Paz et al. (2005) e Sassone et al. (2008a, 2008b).

Gomes et al. (2004) coletou amostras de canais necróticos e de canais já obturados com evidência de insucesso e em ambos o *Enterococcus faecalis* estava presente, com maior prevalência no segundo grupo. Jardim et al. (2004) encontraram em canais necróticos uma taxa de 6,9% de *Enterococcus spp.* e após o PQM este valor permaneceu igual, demonstrando a capacidade de resistência aos procedimentos endodônticos desse gênero bacteriano.

Pinheiro et al. (2003) encontraram uma taxa maior de *Enterococcus faecalis* em canais já obturados, em torno de 45%. Kaufman e Spangberg (2005) coletaram amostras de canais obturados em dentes com e sem lesão periapical e encontraram uma taxa de 12,1% de *Enterococcus faecalis*, em sete de 58 dentes, onde nestes sete, cinco não apresentavam lesão periapical. Sakamoto et al. (2008) encontraram essa bactéria em duas das nove amostras coletadas de dentes obturados e em nenhum deles era a espécie dominante e os autores complementam que isto argumenta contra o pressuposto de que *Enterococcus faecalis* é a espécie mais importante envolvida em insucessos do tratamento endodôntico.

Há ainda estudos que não encontraram *Enterococcus faecalis*, Sakamoto et al. (2007) em casos de infecções primárias e Cheung e Ho (2001) em casos de infecção persistente.

Diante do exposto acerca do *Enterococcus faecalis* nesta revisão, é indiscutível o seu papel e importância na patogênese da periodontite apical e fracasso da terapia endodôntica, no entanto, atribuir efeito e causa somente a essa bactéria parece ser um tanto prematuro e até irresponsável, ainda mais frente às descobertas sobre a microbiota endodôntica pelos métodos moleculares.

Por último, na terceira ponta do tripé, está o sistema de defesa do hospedeiro que, na tentativa de manter a infecção constricta e localizada (uma atuação benéfica), acaba causando uma destruição óssea (consequência maléfica), em algumas vezes bastante severa, com o intuito de que mais células de defesa atuem no local na tentativa de eliminar essa infecção e não permitir sua disseminação.

Quanto aos fatores não microbianos é importante ressaltar que, embora sua ocorrência seja rara, existem e devem ser considerados, principalmente frente às lesões que depois de adequado tratamento e retratamento endodôntico, não curam (CHANDRA, 2009; FERRARI; CAI; BOMBANA, 2007; NAIR, 2006).

Nos estudos de Cheung e Ho (2001) e de Gomes et al. (2004) que identificaram bactérias em canais de dentes com insucesso endodôntico, seis casos em cada estudo não apresentaram crescimento bacteriano, a explicação dos autores para tal situação é que a coleta de amostras nesses canais é difícil e que as bactérias poderiam ter sido removidas juntamente com o material obturador, porém, outra explicação que ousamos especular é que um possível fator não microbiano ou ainda uma infecção extrarradicolar poderiam estar envolvidos na persistência destas lesões.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após criteriosa revisão, destacamos, finalmente, os prováveis motivos que explicam o porquê da persistência de algumas lesões de origem endodôntica:

- A intrincada e complexa morfologia interna dos canais, com presença de deltas apicais, canais acessórios e secundários que representam sítios microbianos muito difíceis de serem combatidos;
- O desafio apresentado pelo crescimento bacteriano em forma de biofilme e dos mecanismos utilizados para escapar do sistema de defesa do hospedeiro; o papel da endotoxina na patogênese da periodontite apical e o fato de sua eliminação contar com medicamentos de ação efetiva, porém limitada como o hidróxido de cálcio;
- O próprio sinergismo e antagonismo ditando as relações entre os grupos bacterianos, onde o metabolismo de uma bactéria pode favorecer o de outra, tornando essas interações importantes fatores de virulência bacteriano e essenciais para a destruição dos tecidos periapicais;
- A presença de bactérias anaeróbias facultativas, especialmente os *Enterococcus faecalis*, que conseguem sobreviver na presença e na ausência de oxigênio e ainda em situações de escassez nutricional. Essas bactérias são fundamentais para propagar e perpetuar lesões no periápice e conhecer e entender o modo como elas se comportam no interior dos canais através das interações bacterianas, e de suas características de sobrevivência é fundamental;
- Ressaltamos também os fatores não microbianos, como cistos verdadeiros e reação de corpo estranho induzida por extravasamento de materiais endodônticos para os tecidos periapicais ou presença de cristais de colesterol nas lesões, que embora, representam uma porcentagem pequena de causa para o insucesso endodôntico, estão presentes e podem ser a explicação dos casos em que nem o tratamento ou o retratamento endodôntico, bem executados, resultaram em sucesso.

Ter o domínio da técnica endodôntica, bem como, eleger os melhores materiais são fundamentais para o êxito do tratamento endodôntico, porém é de extrema importância aliar a questão biológica a essa dinâmica para nos tornarmos verdadeiros profissionais de excelência.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, F. R. F. Compreendendo a etiologia microbiana das infecções endodônticas. **Rev. Biociên.**, Taubaté, v. 10, n. 1-2, p. 67-71, jan./jun., 2001.
- BARBACHAN, J. J. D. Cisto radicular. In: EBLING, H. **Cistos e tumores odontogênicos**. 3. ed. São Paulo: McGraw-Hill do Brasil, 1977. Cap. 16, p. 176-182.
- BEATRICE, L. C. de S. et al. PCR e o perfil microbiológico das infecções endodônticas: Realidade ou utopia? **Odontologia Clín. Cientif.**, Recife, v. 7, n. 4, p. 295-298, out./dez., 2008.
- BERGENHOLTZ, G.; DAHLÉN, G. Advances in the study of endodontic infections: introduction. **Endod. Topics**, Oxford, v. 9, p.1-4, 2004.
- BRITO JÚNIOR, M.; SOARES, J. A.; LUZ, R. S. T. Lesões periapicais crônicas: revisão dos aspectos microbiológicos por diferentes métodos de investigação. **Rev. Gaúcha Odontol.**, Porto Alegre, v. 59, suplemento 0, p. 121-125, jan./jun., 2011.
- CHANDRA, A. Discuss the factors that affect the outcome of endodontic treatment. **Aust. Endod. J.**, Melbourne, v. 35, no.2, p. 98-107, Aug., 2009.
- CHEUNG, G. S. P.; HO, M. W. M. Microbial flora of root canal – treated teeth associated with asymptomatic periapical radiolucent lesions. **Oral microbiol. and Immunol.**, Copenhagen, v. 16, p. 332-337, 2001.
- CHIVATXARANUKUL, P.; DASHPER, S. G.; MESSER, H. H. Dentinal tubule invasion and adherence by *Enterococcus faecalis*. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 41, p. 813-882, 2008.
- FACHIN, E. V. F.; ROSSI JÚNIOR, A. ; DUARTE, T. S. Contribuição ao estudo da técnica da diafanização. **Rev. Fac. Odontol.**, Porto Alegre, v. 39, n. 1, p. 03-08, Julho, 1998.
- FERRARI, P. H. P.; CAI, S.; BOMBANA, A. C. Periodontite apical secundária. In: FILHO, R. B.; MACEDO, M. C. S. (Ed.). **25º CIOSP: Atualização clínica em Odontologia**. São Paulo: Artes Médicas, 2007. Cap. 11, p. 343-354.
- FIGDOR, D. Microbial a etiology of endodontic treatment failure and pathogenic properties of selected species. **Aust. Endod. J.**, Melbourne, v. 30, no. 1, p. 11-14, April, 2004.
- FUJII, R. et al. Characterization of bacterial flora in persistent apical periodontitis lesions. **Oral microbiol. and Immunol.**, Copenhagen, v.24, p. 502-505, 2009.

GOMES, B. P. F. A. et al. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 34, p. 424-428, 2001 *apud* PORTENIER, I.; WALTIMO, T. M. T.; HAAPASALO, M. *Enterococcus faecalis* – the root canal survivor and ‘star’ in post-treatment disease. **Endod. Topics**, Oxford, v. 6, p. 135-159, 2003.

GOMES, B. P. F. A. et al. Microbiological examination of infected dental root canals. **Oral microbiol. and Immunol.**, Copenhagen, v. 19, p. 71-76, 2004.

HAAPASALO, M.; UDNAES, T.; ENDAL, U. Persistent, recurrent, and acquired infection of the root canal system post-treatment. **Endod. Topics**, Oxford, v. 6, p. 29-56, 2003.

HOMMEZ, G. M.; COPPENS, C.R.; DE MOOR, R.J. Periapical health related to the quality of coronal restorations and root fillings. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 35, no. 8, p. 680-689, Aug., 2002 *apud* CHANDRA, A. Discuss the factors that affect the outcome of endodontic treatment. **Aust. Endod. J.**, Melbourne, v. 35, no. 2, p. 98-107, Aug., 2009.

JARDIM JÚNIOR, E. G. et al. Influência do preparo biomecânico sobre a microbiota anfibiótica presente no interior de canais radiculares de dentes com polpa necrótica. **Ciênc. Odontol. Bras.**, São José dos Campos, v.7, n.2, p. 83-91, Abr./Jun., 2004.

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.**, v. 20, p. 340-349, 1965.

KAYAOGU, G.; ERTEN, H.; ORSTAVIK, D. Growth at high pH increases *Enterococcus faecalis* adhesion to collagen. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 38, p. 389-396, 2005.

KAUFMAN, B. et al. *Enterococcus* spp. in endodontically treated teeth with and without periradicular lesions. **J. Endod.**, Baltimore, v. 31, no. 12, p. 851-856, December, 2005.

KHEMALEELAKUL, S.; BAUMGARTNER, J. C.; PRUKSAKOM, S. Autoaggregation and Coaggregation of bacteria associated with acute endodontic infections. **J. Endod.**, Baltimore, v. 32, no. 4, p. 312-318, Abril, 2006.

LEONARDO, M. R. et al. Importance of bacterial endotoxin (LPS) in endodontics. **J. Appel. Oral Sci.**, v.12, no. 2, p. 93-98, 2004.

LUIZI, 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. 42-46, set., 1999.

MILLER, W. D. An introduction to the study of the bacteriopathology of the dental pulp. **Dental Cosmos**, v. 36, p. 505-528, 1894.

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, no. 6, p. 475-484, Dec., 1981.

NAIR, P.N.R. Non-microbial etiology: periapical cysts sustain post-treatment apical periodontitis. **Endod. Topics**, Oxford, v. 6, p. 96-113, 2003(a).

NAIR, P.N.R. Non-microbial etiology: foreign body reaction maintaining post-treatment apical periodontitis. **Endod. Topics**, Oxford, v. 6, p. 114-134, 2003(b).

NAIR, P. N. R. On the causes of persistent apical periodontitis: a review. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 39, p. 249-281, 2006.

NARAYANAN, L. L.; VAISHNAVI, C. Endodontic microbiology. **Journal of Coservative Dentistry**, v. 13, no. 4, p. 233-239, Oct./Dez., 2010.

NEVILLE, B. W. et al. Doenças da polpa e do periápice. In: _____. **Patologia Oral e Maxilofacial**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. Cap. 3, p. 105-132.

NG, Y. L.; MANN, V.; GULABILAVA, K. Outcome of secondary root canal treatment: a systematic review of the literature. **Int. Endod. J.**, Oxford, v.41, p. 1026-1046, 2008.

PAISANO, A. F.; BOMBANA, A. C. Fagoterapia como alternativa no combate às infecções endodônticas. **Rev. Gaúcha Odontol.**, Porto Alegre, v. 68, n. 2, p. 243-252, abr./jun., 2010.

PAZ, L. C. de. Gram-positive organisms in endodontic infections. **Endod. Topics**, Oxford, v.9, p. 79-96, 2004.

PAZ, L. C. de et al. Streptococci from root canals in teeth with apical periodontitis receiving endodontic treatment. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 100, no. 2, p. 232-241, 2005.

PETERS, L. B.; WESSELINK, P. R.; MOORER, W. R. Penetration of bacteria in bovine root dentine in vitro. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 33, p. 28-36, 2000 *apud* HAAPASALO, M.; UDNAES, T.; ENDAL, U. Persistent, recurrent, and acquired infection of the root canal system post-treatment. **Endod. Topics**, Oxford, v. 6, p. 29-56, 2003.

PETERS, L. B.; WESSELINK, P. R.; WINKELHOFF, A. J. V. Combinations of bacterial species endodontic infections. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 35, p. 698-702, 2002.

PINCHIARI, R. R. **Aspectos relevantes relacionados ao biofilme perirradicular**. 2007. 58 f. Monografia (Especialização em Endodontia) – Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas – Regional Santo André.

PINHEIRO, E. T. et al. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. **Int. Endod. J.**, Oxford, v.36, p.1-11, 2003.

PORTENIER, I.; WALTIMO, T. M. T.; HAAPASALO, M. Enterococcus faecalis – the root canal survivor and ‘star’ in post-treatment disease. **Endod. Topics**, Oxford, v. 6, p. 135-159, 2003.

RAY, H. A.; TROPE, M. Periapical status of endodontically treated teeth in relation to the technical quality of the root filling and the coronal restoration. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 28, no. 1, p. 12-18, Jan., 1995 *apud* CHANDRA, A. Discuss the factors that affect the outcome of endodontic treatment. **Aust. Endod. J.**, Melbourne, v. 35, no. 2, p. 98-107, Aug., 2009.

RIETSCHER, E.T.; BRADE, H. Bacterial endotoxins. **Scientific American**, New York, 267:26-33, 1992 *apud* LEONARDO, M. R. et al. Importance of bacterial endotoxin (LPS) in endodontics. **J. Appl. Oral Sci.**, v.12, no. 2, p. 93-98, 2004.

ROCHA, M.M. de N. P. et al. de. Estudo bacteriológico de lesões periapicais. **Rev. Odontol. Univ. São Paulo**, Bauru, v.12, n. 3, 1998.

RODRIGUES, V. M. T. **Detecção da microbiota endodôntica de dentes sem vitalidade pulpar com ou sem lesão periapical radiográfica, por meio das técnicas de checkerboard DNA-DNA hybridization e cultura microbiológica.** 2006. 109 f. Dissertação (Mestrado em Endodontia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia, Araraquara.

SASSONE, L. M. et al. Microbiological evaluation of primary endodontic infections in teeth with and without sinus tract. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 41, p. 508-515, 2008(a).

SASSONE, L. M. et al. A Microbiological profile of symptomatic teeth with primary endodontic infections. **J. Endod.**, Baltimore, v. 34, p. 541-545, 2008(b).

SAKAMOTO, M. et al. Bacterial reduction and persistence after endodontic treatment procedures. **Oral microbiol. and Immunol.**, Copenhagen, v. 22, p. 19-23, 2007.

SAKAMOTO, M. et al. Molecular analysis of the root canal microbiota associated with endodontic treatment failures. **Oral microbiol. and Immunol.**, Copenhagen, v. 23, p. 275-281, 2008.

SIQUEIRA, J. F. Jr.; UZEDA, M. de; FONSECA, M. E. F. A scanning Electron Microscopic evaluation of in vitro dentinal tubules penetration by selected anaerobic bacteria. **J. Endod.**, Baltimore, v. 22, no. 6, p. 308-310, June, 1996.

SIQUEIRA, J. F. Jr.; RÔÇAS, I. N. Bacterial Pathogenesis and mediators in apical periodontitis. **Braz. Dent. J.**, Ribeirão Preto, v.18, n. 4, p. 267-280, 2007.

SIQUEIRA, J. F. Jr; RÔÇAS, I. N. Update on endodontic microbiology: candidate pathogens and patterns of colonisation. **Endodontic Practice Today**, v.2, no.1, p. 7-20, 2008.

SIQUEIRA, J. F. Jr.; RÔÇAS, I. N. The microbiota of acute apical abscesses. **J. Dent. Res.**, Washington, v. 88, no. 1, p. 61-65, Janeiro, 2009(b).

SIQUEIRA, J. F. Jr.; RÔÇAS, I. N. Diversity of endodontic microbiota revisited. **J. Dent. Res.**, Washington, v. 88, no. 11, p. 969-981, November, 2009(a).

SIQUEIRA, J. F. Jr. et al. Bactéria in the apical root canal of teeth with primary apical periodontitis. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 107, no. 5, p. 721-726, 2009.

SIRE´N, E. K. et al. Microbiological findings and clinical treatment procedures in endodontic cases selected for microbiological investigation. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 30, p. 91-95, 1997 *apud* PORTENIER, I.; WALTIMO, T. M. T.; HAAPASALO, M. *Enterococcus faecalis* – the root canal survivor and ‘star’ in post-treatment disease. **Endod. Topics**, Oxford, v. 6, p. 135-159, 2003.

SÓ, M. V. R.; BAMMANN, L. L. Microbiologia em Endodontia. In: SÓ, M. V. R. (Ed.). **Endodontia - As interfaces no contexto da Ondotologia**. São Paulo: Santos, 2007. Cap. 3, p. 107-128.

SOUSA, E. L. R. de. et al. Bacteriological study of root canals associated with periapical abscesses. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 96, no. 3, p. 332-339, 2003.

SUNDE, P. T. et al. Microbiota of periapical lesions refractory to endodontic therapy. **J. Endod.**, Baltimore, v. 28, no. 4, p. 304-310, Abril, 2002.

SUNDQVIST, G. **Bacteriological studies of necrotic dental pulps**. Tese (PhD) – Universidade de Umea, Suécia, 1976.

SUNDQVIST, G.; FIGDOR, D. Life as an endodontic pathogen: Ecological differences between the untreated and root-filled root canals. **Endod. Topics**, Oxford, v. 6, p. 3-28, 2003.

SVENSÅTER, G.; BERGENHOLTZ, G. Biofilms in endodontic infections. **Endod. Topics**, Oxford, v. 9, p. 27-36, 2004.

TOMAZINHO, L. F.; CAMPOS, M. J. A. Detection of *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas endodontalis*, *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens* in chronic endodontic infection. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 103, no. 2, p. 285-288, February, 2007.

TRONSTAD, L. et al. Influence of coronal restorations on the periapical health of endodontically treated teeth. **Endod. Dent. Traumatol.**, Copenhagen, v. 16, no. 5, p. 218-221, Oct., 2000 *apud* CHANDRA, A. Discuss the factors that affect the outcome of endodontic treatment. **Aust. Endod. J.**, Melbourne, v. 35, no. 2, p. 98-107, Aug., 2009.

TRONSTAD, L.; SUNDE, P. T. The evolving new understanding of endodontic infections. **Endod. Topics**, Oxford, v. 6, p. 57-77, 2003.