

BACTERIOLOGIA DAS PERIODONTITES APICAIS CRÔNICAS

BACTERIOLOGY OF CHRONIC APICAL PERIODONTITIS

Simone BonatoLuisi*
 Elaine Vianna Freitas Fachin**
 Susana H. Barcellos***
 Afonso Luís Barth****
 Gabriela P. Fachinelli*****

RESUMO

O conhecimento mais aprofundado sobre a microbiologia endodôntica é um recurso fundamental para entender o papel das bactérias na origem e desenvolvimento das Periodontites Apicais Crônicas, bem como para oferecer subsídios para a instituição de uma terapêutica adequada. Este trabalho tem o propósito de investigar a composição bacteriana das Periodontites Apicais Crônicas, identificando os microrganismos encontrados nos canais radiculares de 20 dentes necróticos com lesão periapical. Após o isolamento absoluto do dente em questão e o acesso à cavidade pulpar, uma lima Hedstroen nº 15 foi introduzida no canal para a liberação de raspas de dentina. Em seguida, água destilada foi introduzida e aspirada do canal radicular. O material aspirado foi semeado imediatamente nos meios de agar sangue, Mac Conkey e azida sódica para identificação de aeróbios e nos meios agar sangue brucella, FEAS (agar sangue fenil etanol) e tioglicolato para a identificação de anaeróbios. A atmosfera de anaerobiose foi obtida através de um sistema físico-químico em jarra de anaerobiose, imediatamente após a semeadura. A incubação e posterior identificação dos microrganismos foi realizada na Unidade de Microbiologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Os *Streptococcus* sp. grupo viridans foram os microrganismos mais comumente isolados entre as bactérias aeróbias. Também foi possível identificar algumas bactérias anaeróbias como, *Eubacterium* sp., *Bacteroides* sp., *Peptostreptococcus* sp. e *Propionibacterium* sp.

PALAVRAS-CHAVE

Periodontite Apical Crônica, Bacteriologia

INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

As periodontites apicais podem ser conseqüência da ação direta de agentes microbianos ou da ação de agentes físicos, químicos ou traumáticos que causam alterações inflamatórias irreversíveis na polpa dentária facilitando a instalação de posterior infecção. No entanto, considera-se o componente bacteriano o principal responsável pela patogênese dos processos periapicais. Existem outras alterações patológicas periapicais que não mantêm relações diretas com a polpa (de natureza neoplásica, metabólica, hiperplásica), porém não constituem objeto do presente estudo.

Takehashi; Stanley; Fitzgerald (1965), em um estudo clássico, expuseram a polpa dental de ratos *non germ-free* e de ratos *germ-free* ao meio bucal, o que resultou no desenvolvimento de inflamação crônica e finalmente granulomas periapicais nos *non germ-free*. Por outro lado, em um ambiente livre de germes, a resposta dos tecidos

pulpaes expostos foi caracterizada por uma inflamação mínima e a formação de pontes de dentina, evidenciando o papel fundamental das bactérias no desenvolvimento das lesões periapicais.

Fabricius et al. (1982), em um estudo realizado em macacos, concluíram que algumas bactérias orais indígenas são capazes de induzir a formação de periodontites apicais sendo que combinações de bactérias são ainda mais nocivas do que cepas únicas. Além disso, as bactérias anaeróbias obrigatórias como *Bacteroides* (BYSTRÖN; SUNDQVIST, 1983, PANTERA; ZAMBON; SHIH-LEVINE, 1988, MOLANDER; REIT; DAHLÉN, 1990, FUKUSHIMA et al., 1990) e alguns bacilos anaeróbios Gram-positivos (FABRICIUS et al., 1982, MOLANDER; REIT; DAHLÉN, 1990, SYDNEY; ESTRELA, 1996) apresentam um importante papel no desenvolvimento e manutenção das periodontites apicais enquanto as bactérias anaeróbias facultativas como estreptococos parecem ser

de menor importância (FABRICIUS et al., 1982).

Os índices de sucesso da terapia endodôntica são superiores nos dentes sem lesão periapical quando comparados com dentes portadores de lesão periapical. Sjögren; Hagglund; Sundqvist (1990) realizaram um estudo para avaliar os fatores que afetam o sucesso do tratamento endodôntico, após um período de oito a 10 anos. Os autores encontraram um índice de 96% de sucesso quando não havia lesão periapical, 86% de sucesso quando de sua presença, 98% de sucesso nos casos de retratamento sem lesão periapical e 62% de sucesso nos casos de retratamento que apresentavam lesão periapical.

Dessa forma, considerando que o componente bacteriano é o principal responsável pela patogênese dos processos periapicais e que os índices de sucesso da terapia endodôntica nesses dentes são inferiores aos dentes sem processos apicais, justifica-se a necessidade do conhecimento da microbiota

* Mestre em Odontologia/ Área de concentração Endodontia pela FO UFRGS. Doutoranda em Patologia Bucal pelo Programa de Pós-Graduação da FO-UFRGS. Professora das Disciplinas de Endodontia da FO-PUCRS.

** Master of Science pela Universidade de Illinois, Chicago, Doutora em Endodontia pela FO-USP. Professora Adjunto IV das Disciplinas de Endodontia da FO-UFRGS.

*** Farmacêutica Bioquímica. Chefe da Unidade de Microbiologia do Serviço de Patologia Clínica do HCPA.

**** Doutor em Microbiologia Clínica. Professor Adjunto da Faculdade de Farmácia da UFRGS. Chefe da Unidade de Pesquisa Biomédica – Serviço de Patologia Clínica do HCPA.

***** Cirurgia-dentista graduada pela Faculdade de Odontologia da UFRGS.

GPPG Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre nº 0234 – FIPE – Fundo de Incentivo à Pesquisa do HCPA

envolvida na patogênese da lesão periapical.

Este estudo tem como propósito investigar a composição bacteriana das periodontites apicais crônicas, identificando os microrganismos encontrados nos canais radiculares necróticos.

MATERIAL E MÉTODOS

PACIENTES:

Foram selecionados vinte pacientes adultos de ambos os sexos, portadores de dentes monorradiculares com periodontite apical crônica (imagem radiográfica compatível com lesão periapical), através da triagem da Faculdade de Odontologia da UFRGS. Foram usados os seguintes critérios de exclusão: antibioticoterapia prévia, dentes com tratamento endodôntico prévio, dentes com a câmara pulpar aberta ao meio bucal e também dentes com impossibilidade de isolamento absoluto. O diagnóstico foi realizado através do registro das informações do paciente, do exame clínico, radiográfico e do teste de vitalidade pulpar com gás refrigerante.

As diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos foram seguidas de acordo com Goldin (1997) e o projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da UFRGS no dia 13 de julho de 2001.

COLETA DO MATERIAL:

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

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

Uma lima Hedstroen número 15 foi introduzida no interior do canal e foram realizados movimentos de introdução e tração contra todas as paredes do canal radicular. Em seguida, água destilada foi introduzida e agitada no interior do canal com lima. Após, o líquido do interior do canal radicular foi aspirado e imediatamente se reali-

zou a semeadura nos meios de cultura.

Os cuidados com assepsia foram seguidos de acordo com os preceitos descritos por SILVA; BERCHE (1997).

CULTURA MICROBIOLÓGICA:

O material aspirado foi semeado nos meios agar sangue (agar soja Triptcaseína - Oxoid, Basingstoke, Hampshire, Inglaterra) adicionado de 5% de sangue de carneiro (Laborclin - Pinhais, Paraná), Mac Conkey (Merck - Darmstadt, Alemanha) e azida sódica (Oxoid - Basingstoke, Hampshire, Inglaterra) para a identificação dos aeróbios. A cultura em anaerobiose foi feita a partir da semeadura em meios de cultura sólidos de agar sangue brucella (BD - Le Pont de Claix, França) e FEAS - agar sangue fenil etanol (Difco - Detroit, USA) e em meio de cultura líquido tioglicolato (Merck - Darmstadt, Alemanha) com e sem gentamicina (Ariston), suplementado com hemina e vitamina K (Newprov - Pinhais, Paraná). A atmosfera de anaerobiose foi obtida a partir de processo físico-químico em jarra de anaerobiose (sistema Probacâ) onde foram colocadas as placas de meio sólidos (agar sangue brucella e FEAS - agar sangue fenil etanol) imediatamente após a semeadura.

Em um prazo máximo de 30 minutos, o material já semeado era levado a Unidade de Microbiologia do Hospi-

tal de Clínicas de Porto Alegre, onde era realizada a incubação e posterior identificação dos microrganismos. Os meios agar sangue e azida sódica foram incubados em microaerofilia (5% de CO₂) e o meio Mac Conkey em aerobiose. As placas eram examinadas após 16 a 18 horas de incubação para avaliação do crescimento bacteriano. As placas com ausência de crescimento foram incubadas por mais 24 horas. A identificação bacteriana foi feita conforme métodos convencionais (MURRAY, 1995).

Tanto os meios de tioglicolato, incubados em aerobiose, quanto as placas em anaerobiose ficaram incubados por, no mínimo, 48 horas antes da avaliação do crescimento bacteriano. Os procedimentos de avaliação da atmosfera de anaerobiose, interpretação, bem como identificação bacteriana, foram conduzidos de acordo com Barth; Matusiak (1995).

RESULTADOS

Foi possível identificar crescimento bacteriano em 18 (90%) dos 20 pacientes estudados, sendo que em 8 casos foram identificadas mais de uma bactéria na mesma amostra. O microrganismo aeróbio mais comumente isolado foi o *Streptococcus sp* (grupo viridans) em 15 casos (75%). Outras bactérias aeróbias foram identificadas em 6 casos: *Klebsiella pneumoniae* (1 caso), *Streptococcus sp*.

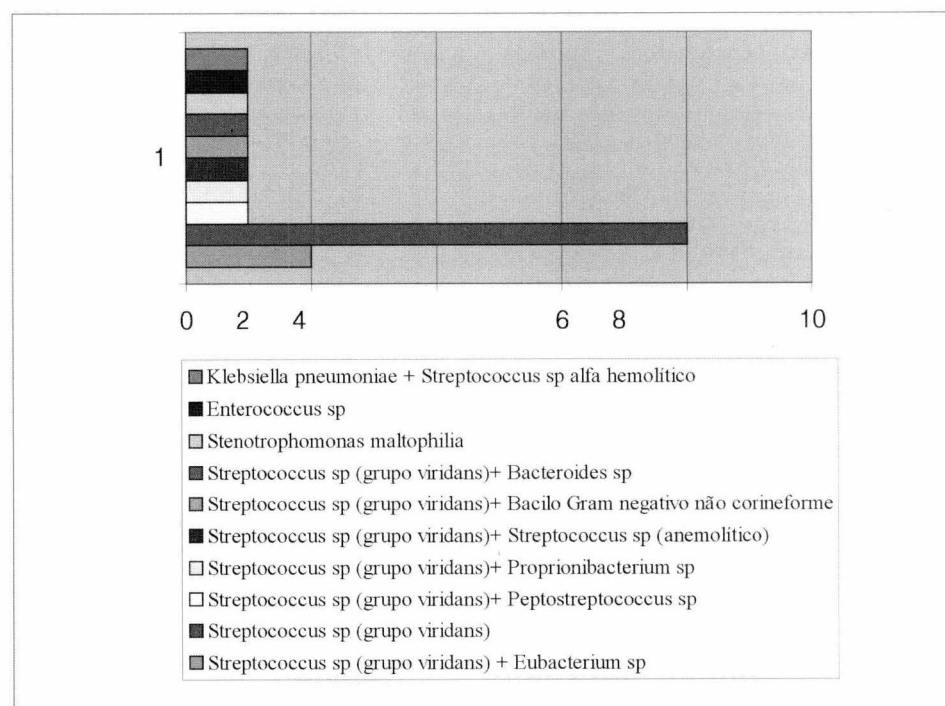


FIGURA 1: Bactérias obtidas a partir de cultura bacteriológica de material coletado de dentes portadores de periodontite apical crônica

alfa hemolítico (1 caso), *Enterococcus* sp. (1 caso), bacilo Gram positivo não corineforme (1 caso), *Stenotrophomonas maltophilia* (1 caso), *Streptococcus* sp. (anemolítico) (1 caso) (Figura 1).

A pesquisa de bactérias anaeróbias foi positiva em 5 pacientes, sendo possível identificar *Eubacterium* sp. (2 casos), *Bacteroides* sp. (1 caso), *Peptostreptococcus* sp. (1 caso), *Propionibacterium* sp. (1 caso) (Figura 1).

DISCUSSÃO

A técnica de identificação bacteriana utilizada neste estudo possibilitou a identificação do Gênero *Bacteroides* como um todo e não a identificação das novas espécies dos Gêneros *Prevotella* e *Porphyromonas*. O desenvolvimento dos métodos de identificação como os estudos dos ácidos nucléicos, promoveu mudanças na nomenclatura, principalmente no Gênero *Bacteroides*, o qual originou as espécies do Gênero *Prevotella* (sacarolíticos pigmentados) e *Porphyromonas* (assacarolíticos) (BARTH; MATUZIÁK, 1995).

Com relação à técnica de identificação utilizada, esta não permitiu a identificação mais específica dos *Streptococcus* sp. grupo *viridans*. De uma forma ampla, são considerados *Streptococcus* sp. grupo *viridans* os estreptococos alfa ou gama-hemolíticos que não sejam reconhecidos como pneumococo e que não sejam identificados como pertencentes ao Grupo antigênico D (ANTUNES, 1995). Estão incluídas neste grupo as espécies *S. sanguis*, *S. mutans* e *S. salivarius*, que podem ser classificadas por provas bioquímicas, mas devido ao pequeno interesse clínico desta classificação, sua identificação não é procedida rotineiramente em nível de espécie, na Unidade de Microbiologia do HCPA. Os *Streptococcus* sp. grupo *viridans* constituem microbiota normal de diversos sítios anatômicos, em especial a cavidade bucal. Apesar da literatura (MOLANDER; REIT; DAHLÉN, 1990) citá-los como patógenos das infecções periapicais crônicas, ressalta-se que tais microrganismos são considerados habitantes normais da cavidade bucal, portanto o resultado pode ser controverso. Embora as bactérias acima possam fazer parte da microbiota bucal normal, utilizamos neste estudo uma técnica muito criteriosa de coleta, a qual deveria contemplar apenas os microrganismos potencialmente patogênicos das Periodontites Apicais Crônicas. Isso seria evidenciado pelo fato que em dois casos encontramos inclusive culturas negativas.

Por outro lado, a técnica utilizada pode não ter sido suficientemente sensível para o isolamento dos microrganismos habitantes do canal radicular, pois muitos organismos causadores das Periodontites Apicais Crônicas possuem estritas exigências nutricionais e respiratórias. Ainda com relação à sensibilidade da técnica é lícito dizer que ela apresenta alta positividade, pois em 90% das amostras houve crescimento bacteriano, diferentemente do estudo de LUISI (1999) que encontrou positividade em apenas 54,5% dos casos, ainda que estudando as Periodontites Apicais Agudas.

Neste estudo foi possível identificar *Bacteroides*, bem como nos estudos de Byström; Sundqvist (1983), Pantera; Zambon; Shih-Levine (1988), Molander; Reit; Dahlén (1990), Fukushima et al. (1990), e *Eubacterium* sp. e *Propionibacterium* sp. (bacilos anaeróbios Gram-positivos), bem como nos trabalhos de Fabricius et al. (1982), Molander; Reit; Dahlén (1990), Sydney; Estrela (1996). Estas bactérias apresentam um importante papel no desenvolvimento e manutenção das periodontites apicais enquanto as bactérias anaeróbias facultativas como estreptococos parecem ser de menor importância (FABRICIUS et al. 1982).

Foi possível isolar, em nosso experimento, *Enterococcus* sp. assim como no estudo de Molander; Reit; Dahlén (1990). Segundo Peciulienė et al. (2000) os cocos gram-positivos facultativos representam a maioria dos microrganismos isolados, em dentes portadores de lesão periapical tratados endodonticamente, isso porque o canal radicular incompletamente preenchido cria um ambiente ecológico seletivo.

No presente estudo, foi isolado em um caso *Stenotrophomonas maltophilia* que é um bacilo Gram negativo, não fermentador, aeróbio, resistente e relacionado com infecções hospitalares. Na literatura, esse microrganismo foi citado apenas por Khan; Wingard (2001) em injúrias da mucosa oral de pacientes submetidos à quimioterapia. Esta infecção também pode exacerbar as injúrias produzidas na mucosa após tratamento para o câncer (KHAN; WINGARD 2001).

Klebsiella pneumoniae isolada neste estudo não é um microrganismo comumente isolado de canais radiculares de periodontites apicais crônicas. Entretanto convém ressaltar que no estudo de Russell et al. (1999) os autores sugerem que pacientes portadores de doença pulmonar obstrutiva crônica podem apresentar na placa dental a presença de patógenos típicos do sítio respiratório. Já

no trabalho de Kosugi et al. (2000) *Klebsiella pneumoniae* estava causando abscesso bucal e múltiplos abscessos no pulmão de um paciente imunodeficiente, devido a diabetes e intoxicação por álcool. Os pacientes que examinamos em nosso estudo não relataram sinais e sintomas de imunodeficiência evidente.

CONCLUSÕES

Nesse estudo foi possível identificar algumas bactérias potencialmente patogênicas em Periodontites Apicais Crônicas, tais como *Streptococcus* sp. grupo *viridans*, *Eubacterium* sp., *Enterococcus* sp., *Bacteroides* sp., *Peptostreptococcus* sp. e *Propionibacterium* sp., indicando que o método empregado neste estudo pode ser satisfatório para avaliação das bactérias associadas às Periodontites Apicais Crônicas.

ABSTRACT

A deep knowledge about endodontic microbiology is a fundamental resource to understand the role of bacteria in the origin and development of chronic apical periodontitis as well as to provide database for adequate therapy. Our objective was to investigate the composition of bacterial flora in chronic apical periodontitis and to identify in vivo the microorganisms found in 20 root canals with periapical disease. After isolating a tooth with a rubber dam and access in the pulp system, a Hedstroen file nº 15 was introduced in to the canal in order to remove dentin debris. Immediately after, distilled water was introduced and aspirated from the root canal. The aspirated material was spreaded into culture media composed by blood agar, MacConkey, azide blood agar (identify aerobes), brucella blood agar, FEAS and thioglycolate (identify anaerobes). The anaerobes conditions were obtained in GasPak jar immediately after spreading. The incubation and identification was achieved at the Clinical Hospital of Porto Alegre (HCPA) – Microbiology Unit. The predominant isolates were *streptococcus* sp. Group *viridans*. In this study we were able to identify some potentially pathogenic bacteria in chronic apical periodontitis such as *Streptococcus* sp. group *viridans*, *Eubacterium* sp., *Enterococcus* sp., *Bacteroides* sp., *Peptostreptococcus* sp. and *Propionibacterium* sp..

KEYWORDS

Chronic apical periodontitis, bacteriology.

REFERÊNCIAS

- ANTUNES, G. S. **Manual de Diagnóstico Bacteriológico**. Porto Alegre : Ed. da UFRGS, 1995.
- BARTH, A. ; MATUSIAK, R. Identificação de Organismos Anaeróbicos. In: ANTUNES, G. S. **Manual de Diagnóstico Bacteriológico**. Porto Alegre : Ed. da UFRGS, 1995, p. 181-199.
- BYSTRÖM, A. ; SUNDQVIST, G. Bacteriologic Evaluation of the Effect of 0,5 Percent Sodium Hypochlorite in Endodontic Therapy. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, Saint Louis, v. 55, no. 3, p. 307-312. Mar. 1983.
- FABRICIUS, L. et al. Predominant Indigenous Oral Bacteria Isolated from Infected Root Canals After Varied Times of Closure. **Scand. J. Dent. Res.**, Copenhagen, v. 90, no. 2, p. 134-144. Apr. 1982.
- FUKUSHIMA, H. et al. Localization and Identification of Root Canal Bacteria in Clinically Asymptomatic Periapical Pathosis. **J. Endod.**, Baltimore, v. 16, no. 11, p. 534-538. Nov. 1990.
- GOLDIM, J. R. (Org.) **Pesquisa em Saúde: Leis, Normas e Diretrizes**. 3.ed. Porto Alegre: HCPA, 1997. 156 p.
- KHAN, S. A. ; WINGARD, J. R. Infection and Mucosal Injury in Cancer Treatment. **J. Natl. Cancer Ints. Monogr.** v. 29, p. 31-36, 2001.
- KAKEHASHI, S. ; STANLEY, H. R. ; FITZGERALD, R. J. The Effects of Surgical Exposures of Dental Pulp in Germ-Free and Conventional Laboratory Rats. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, Saint Louis, v. 20, no. 3, p. 340-349. Sept. 1965.
- KOSUGI, E. et al. A Case of Klebsiella Pneumoniae Infection Causing a Buccal Abscess Complicated with Multiple Lung Abscess. **Nihon Kokyuki Gakkai Zasshi**, v. 38, no. 7, p. 557-560. Jul 2000.
- LUISI, S.B. ; **Bacteriologia das Periapicopatias Agudas**. Porto Alegre, 1999. 104p. Dissertação (Mestrado em Endodontia) – Faculdade de Odontologia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- MOLANDER, A. ; REIT, C. ; DAHLÉN, G. Microbiological Evaluation of Clindamycin as a Root Canal Dressing in Teeth with Apical Periodontitis. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 23, no. 2, p. 113-118. Mar. 1990.
- MURRAY, P. R. et al. (Ed.) **Manual of Clinical Microbiology**. 6.ed. Washington : ASM Press, 1995. 1482 p.
- PECIULIENE, V. et al. Isolation of Enterococcus faecalis in Previously Root-Filled Canals in a Lithuanian Population. **J. Endod.**, Baltimore, v. 10, no. 26, p. 5-595. Oct. 2000.
- PANTERA, E. A ; ZAMBON, J. J. ; SHIH-LEVINE, M. Indirect Immunofluorescence for the Detection of *Bacteroides* Species in Human Dental Pulp. **J. Endod.**, Baltimore, v. 14, no. 5, p. 218-223. May 1988.
- RUSSELL, S. L. et al. Respiratory Pathogen Colonization of the Dental Plaque of Institutionalized Elders. **Spec. Care Dentist**. v. 19, no. 3, p. 128-134. May/June 1999.
- SILVA, V. G. da ; BERCHET, S. M. B. **Manual de Biossegurança**. Porto Alegre: UFRGS, Faculdade de Odontologia, 1997. 10 p.
- SJÖGREN, U.; HAGGLUND, B.; SUNDQVIST, G. Factors Affecting the Long- Terms Results of Endodontic Treatment. **J Endod.**, Baltimore, v. 16, p. 498-504, 1990.
- SYDNEY, W. B. ; ESTRELA, C. Influence of Root Canal Preparation on Anaerobic Bacteria in Teeth with Asymptomatic Apical Periodontitis. **Braz. Endod. J.**, Goiânia, v. 1, no. 1, p. 7-10, 1996.

Endereço para Correspondência:
 Elaine Fachin
 Faculdade de Odontologia UFRGS
 Ramiro Barcelos, 2492
 CEP: 90035-003
 E-mail: efachin@hotmail.com