




## IDENTIFICAÇÃO DE *ENTEROCOCCUS SPP* E *ENTEROBACTERIACEAE* EM CANAIS RADICULARES COM INFECÇÃO PRIMÁRIA E SECUNDÁRIA OU PERSISTENTE

Identification of *Enterococcus spp* and *Enterobacteriaceae* in root canals with primary and secondary or persistent infection

Access this article online	
Quick Response Code:	Website: <a href="https://periodicos.uff.br/ijosd/article/view/59609">https://periodicos.uff.br/ijosd/article/view/59609</a>
	DOI: 10.22409/ijosd.v2i64.59609

### Autores:

#### Larissa Moreira Pinto

Mestranda em Clínica Odontológica pela Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

#### Luiz Antônio Soares Falson

Mestrando em Endodontia, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil.

#### Ezilmara Leonor Rolim de Sousa

Docente no curso de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil.

**Instituição na qual o trabalho foi realizado:** Universidade Federal de Pelotas – UFPel.

**Endereço para correspondência:** Endereço postal: Rua General Neto, nº 1159, apartamento 32, Bairro: Centro.

CEP: 96015-280 / Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil.

**E-mail para correspondência:** [larimoreirapinto@gmail.com](mailto:larimoreirapinto@gmail.com)

## RESUMO

**Objetivo:** O objetivo do presente estudo foi identificar microrganismos das espécies *Enterococcus spp* e *Enterobacteriaceae* em dentes com canais radiculares infectados portadores de infecção primária e/ou secundária/persistente. **Métodos:** A amostra do presente estudo foi de 23



pacientes que apresentaram necessidade de tratamento ou retratamento endodôntico. Foram coletadas amostras de 28 dentes infectados usando pontas de papel absorventes estéreis, transportadas em solução salina, diluídas, plaqueadas e incubadas em estufa de cultura bacteriológica. Para o crescimento de microrganismos foram utilizados jarros com gerador de atmosfera de anaerobiose. Colônias microbianas foram isoladas, caracterizadas e identificadas. Os dados coletados foram estatisticamente analisados com a utilização do software SPSS for Windows 10.0 (SPSS Inc., USA). **Resultados:** Foi isolada somente uma cepa do gênero *Enterococcus spp*, e nenhuma espécie do gênero *Enterobacteriaceae*. Das coletas microbiológicas realizadas em 28 canais radiculares, todas apresentaram crescimento microbiano em anaerobiose. Dezoito dentes apresentavam necrose pulpar e lesão periapical. Os outros 10 dentes já haviam recebido tratamento endodôntico prévio e em 6 destes houve constatação de lesão periapical, sendo que nos outros 4, não. **Conclusão:** Nas condições experimentais do presente estudo, pode-se concluir que não houve correlação da presença de espécies microbianas das famílias *Enterococcus spp* e/ou *Enterobacteriaceae* com infecção primária ou secundária do canal radicular.

**Palavras-Chave:** *Enterococcus spp*, *Enterobacteriaceae*, Canal Radicular. Endodontia.

## ABSTRACT

**Objective:** The objective of the present study was to identify microorganisms of the *Enterococcus spp* and *Enterobacteriaceae* species in teeth with infected root canals with primary and/or secondary/persistent infection. **Methods:** The sample of the present study consisted of 23 patients who required endodontic treatment or retreatment. Samples of 28 infected teeth were collected using sterile absorbent paper points, transported in saline solution, diluted, plated and incubated in a bacteriological culture oven. For the growth of microorganisms, jars with an anaerobic atmosphere generator were used. Microbial colonies were isolated, characterized and identified. The collected data were statistically analyzed using the SPSS for Windows 10.0 software (SPSS Inc., USA). **Results:** Only one strain of the genus *Enterococcus spp* was isolated, and no species of the genus *Enterobacteriaceae*. From the microbiological collections carried out in 28 root canals, all showed microbial growth in anaerobic conditions. Eighteen teeth had pulp necrosis and periapical lesion. The other 10 teeth had already received previous endodontic treatment and in 6 of them there was a periapical lesion, and in the other 4, no. **Conclusion:** Under the experimental conditions of the present study, it can be concluded that there was no correlation between the



presence of microbial species of the *Enterococcus spp* and/or *Enterobacteriaceae* families with primary or secondary root canal infection.

**Key Words:** *Enterococcus spp*, *Enterobacteriaceae*, Dental Pulp Cavity, Endodontics.

## INTRODUÇÃO

Sabe-se que os microrganismos são os principais fatores na etiologia, no desenvolvimento e na manutenção das alterações pulpares e periapicais. Além disso, o tratamento dos canais radiculares tem como um dos objetivos principais combater bactérias, neutralizar e remover os subprodutos bacterianos do interior dos condutos, por meio de métodos químico-mecânicos adequados. Desse modo, os fatores de virulência, Lipopolissacarídeo (LPS) e o Ácido Lipoteicóico (LTA) presentes na parede das bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, respectivamente, estão relacionados com a indução da reabsorção óssea periapical (AVEIRO, E., 2019).

Nesse sentido, toda espécie de bactéria observada no sistema de canais radiculares pode ser um patógeno endodôntico (SOUSA, E.L.R., et al., 2014). Outrossim, os perfis bacterianos da microbiota endodôntica variam entre os indivíduos. Assim sendo, o conhecimento da localização e da organização microbiana dentro do sistema de canais radiculares é importante para a compreensão do processo da doença e para a eleição de antimicrobianos e de estratégias terapêuticas eficazes (GOMES, B.P., et al., 2008). Somando-se a tanto, métodos de cultura revelaram que a microbiota de dentes necróticos são diferentes em número e espécie da microbiota que é encontrada em dentes obturados com periodontite apical (GOMES, B.P., et al., 2004).

As infecções primárias do canal radicular ocorrem em condutos sem tratamento prévio, por meio da penetração e da colonização bacteriana. Uma das principais vias de contaminação pulpar são as lesões cariosas, enquanto que outras vias consideradas são: canais acessórios e forames apicais, quando da ocorrência de doença periodontal, via anacorética, exposição dos túbulos dentinários e exposição pulpar direta (GOMES, B.P., et al., 2004). As infecções secundárias decorrem do fracasso de um tratamento endodôntico previamente realizado, especialmente por conta de uma infecção bacteriana persistente ou por microrganismos que possam ter resistido ao preparo químico-mecânico ou invadido a obturação radicular através de uma microinfiltração coronária (LOPES, H.P.; SIQUEIRAS, J.R., 2020).



A Endodontia é a principal terapia para pulpite irreversível e para doença periapical. Nesse contexto, os motivos de falha do tratamento endodôntico estão relacionados à complexidade anatômica e à diversidade do sistema de canais radiculares, à operação inadequada durante o tratamento, à estimulação dos tecidos periapicais e à infecção por microrganismos (NAI, Z., et al., 2018). Dessa maneira, alguns tipos de microrganismos, como *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, podem ser detectados a partir de canais radiculares infectados, onde houve falha do tratamento (PRADA, I., et al., 2019).

Nessa perspectiva, recentes trabalhos de investigação microbiológica em canais com fracasso endodôntico têm reportado uma ínfima quantidade de microrganismos (SOUSA, E.L.R., et al., 2014) que são resistentes à terapia endodôntica e podem ser categorizados como superinfectantes ou oportunistas (LIVORSI, D.J., et al., 2018). Entre eles estão os gêneros *Enterobacter* e *Enterococcus spp*, em particular a espécie *E. faecalis*, a qual é um exemplo de patógeno difícil de erradicar na Odontologia, sendo o biofilme formado pelas cepas de VRE (*Vancomycin-Resistant Enterococci*), uma das ameaças mais comumente observadas em falhas recorrentes no tratamento endodôntico (KHALIFA L., et al., 2016).

Diante do exposto, é relevante o desenvolvimento de estudos sobre a ocorrência de microrganismos em casos de infecção primária e secundária ou persistente da polpa dental. Portanto, o objetivo do presente estudo foi identificar microrganismos das espécies *Enterococcus spp* e *Enterobacteriaceae* em dentes com canais radiculares infectados portadores de infecção primária e/ou secundária/persistente.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### ***Seleção de pacientes***

Participaram deste estudo 23 pacientes com necessidade de tratamento endodôntico (infecção primária) ou de retratamento endodôntico (infecção secundária/persistente) e sem história de antibioticoterapia prévia. Os pacientes assinaram o termo de consentimento elaborado de acordo com as normas do Comitê de Ética, aceitando participar da pesquisa.

Pacientes que haviam recebido antibioticoterapia prévia nos últimos 6 meses, dentes em que não se conseguiu realizar um correto isolamento absoluto seguido de uma descontaminação adequada, casos em que não foi possível alcançar um comprimento adequado do canal radicular durante a coleta das



amostras e dentes que apresentaram bolsas com comunicação endo-periodontal, não foram considerados neste trabalho.

Assim, 28 dentes foram incluídos na presente pesquisa. Dentre eles, 18 foram submetidos a tratamento endodôntico, apresentando necrose pulpar e lesão periapical e 10 dentes foram retratados, sendo que, em 6 deles havia constatação de lesão periapical e nos outros 4 não. A sintomatologia dolorosa esteve associada a 5 casos dos 28 totais. Presença de fístula com exsudato purulento ocorreu em 2 das 28 amostras. Apenas 1 paciente apresentou edema e abscesso periapical. Nenhum dos 28 dentes investigados apresentava mobilidade. Os pacientes apresentaram idade entre 16 e 66 anos, sendo 16 mulheres e 7 homens. Os autores utilizaram critérios clínicos (presença de fístula; edema; abscesso periapical; dor) e radiográficos para verificar a presença ou não de lesão periapical. Logo, todos os casos foram diagnosticados com a necessidade de realização de terapia endodôntica.

### **Coleta das amostras**

Foi realizada a remoção de contaminantes coronários, isolamento absoluto do dente com a utilização do lençol de borracha (Madeitex Ltda, São José dos Campos-SP, Brasil) e descontaminação do campo operatório com a utilização do hipoclorito de sódio 5,25% (Uso Indicado-Farmácia de Manipulação, Pelotas-RS, Brasil) e neutralização com tiosulfato de sódio 5% (Synth, Ltda. Diadema-SP, Brasil), para evitar a contaminação química do espaço pulpar.

De cada dente foram coletadas amostras microbiológicas de um único canal radicular. Nos dentes multirradiculares foi realizada a coleta no canal mais amplo (molares inferiores no canal distal e molares superiores no canal palatino), de maneira a confinar o exame microbiológico em um único ambiente ecológico.

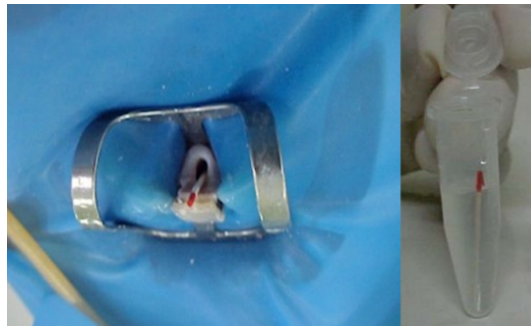
Nos casos em que os canais radiculares apresentaram-se secos, foi realizada a irrigação com solução salina estéril para propiciar um ambiente úmido, favorecendo a coleta microbiológica.

Nos casos de retratamento (infecção secundária/persistente), antes da coleta de amostras, foi executada a remoção do material obturador com brocas de Gates Glidden e limas endodônticas (Maillefer-Dentsply, Ballaigues, Suíça), sem o uso de solventes de guta-percha. Foi realizada uma tomada radiográfica para obtenção do comprimento de trabalho (1,0 mm aquém do ápice radiográfico) e para verificar a remoção do material obturador. Em seguida, foi realizada uma irrigação profusa do canal radicular com solução salina estéril (Basa Ltda. Caxias do Sul-RS, Brasil) para remover qualquer resíduo do material obturador e deixar o canal úmido para a coleta.

Foram realizadas coletas no início da primeira intervenção endodôntica com três pontas de papel absorventes estéreis (Endpoints Ltda, Paraíba do Sul-RJ, Brasil), de números 15, 20, ou 25, conforme o diâmetro do canal radicular. As pontas de papel absorvente foram introduzidas no comprimento do canal, determinado pela radiografia pré-operatória padronizada com uso do posicionador radiográfico, permanecendo nesta posição por 60 segundos. Os casos em que não foi possível alcançar um adequado comprimento do canal radicular para a realização da coleta microbiológica, foram imediatamente excluídos.

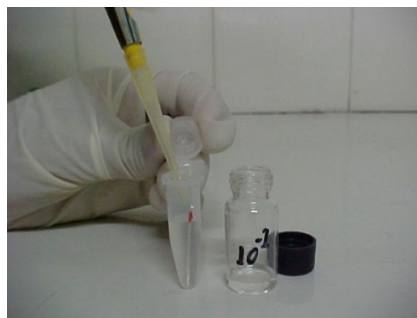
### ***Inoculação e incubação***

As pontas de papel absorventes com a coleta foram imediatamente colocadas em um “eppendorf” estéril (Figura 1) com 1,0 mL de solução salina (Basa Ltda. Caxias do Sul-RS, Brasil), o qual foi transportado para o laboratório de Microbiologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas.



**Figura 1.** Procedimento de coleta e ponta de papel absorvente com material microbiológico coletado em solução salina.

Os “eppendorfs” foram agitados mecanicamente (Phoenix Ltda. Modelo AP-56, Araraquara-SP, Brasil) por 30 segundos e as amostras diluídas a 1:10 em água peptonada (Figura 2).



**Figura 2.** Diluição da coleta.



Alíquotas de 50 µL da amostra sem diluição e das amostras diluídas foram semeadas na superfície de placas do tipo Petri contendo:

- Ágar Mac Conkey para detecção de Enterobactérias;
- Ágar m-Enterococcus para detecção de Enterococos;
- Ágar Brucella + 5% de sangue desfibrinado de carneiro + 1,0 mL hemina e 0,1 mL menadione (vitamina K) para a detecção de microrganismos totais.

A seguir, as placas de ágar Brucella sangue foram incubadas a 37°C, sob anaerobiose em estufa normal, por um período de 7 a 14 dias, em triplicata. Para isto foram utilizados jarros com gerador de atmosfera com teor reduzido de oxigênio e aumentado de gás carbônico (Anaerobac-Probac do Brasil, SP-SP, Brasil), associado com catalisador (Anaerobic Catalyst- DIFCO, EUA), conseguido por meio de uma reação de oxirredução.

As placas de ágar Mac Conkey e ágar *m-Enterococcus* foram incubadas a 37°C por um período de 24 a 48 horas.

Imediatamente após a diluição, todas as coletas microbiológicas foram congeladas a -70°C, com o objetivo de serem utilizadas em pesquisas futuras. Os meios de cultura foram preparados de acordo com as orientações dos fabricantes.

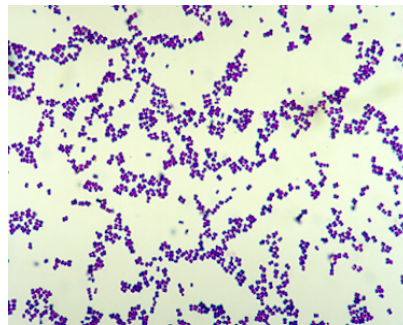
### **Identificação microbiana**

As placas contendo crescimento bacteriano nos meios seletivos (Figura 3) foram examinadas em lupa estereoscópica Modelo XTL-I (Beijing Tech Instrument Co., LTD. Hong-Kong, China) e as colônias foram diferenciadas de acordo com as suas características macroscópicas na placa, observando tamanho, cor, forma, textura, elevação, opacidade e hemólise.



**Figura 3.** Placa com crescimento bacteriano.

A seguir as culturas puras foram coradas pelo método do Gram (Figura 4). O crescimento observado nas placas de ágar Brucella sangue foi analisado, não sendo submetido a nenhum teste específico, apenas verificado o crescimento total de microrganismos.



**Figura 4.** Morfologia microscópica utilizando-se o método de coloração de Gram.

A seguir, os microrganismos foram identificados através de testes bioquímicos miniaturizados em kits comerciais, de acordo com as recomendações do fabricante. Os kits utilizados foram: API 20 Strep (BioMérieux SA, França) para os enterococos (Figura 5); API 20E (BioMérieux SA, França) para os enterobactérias (Figura 6).



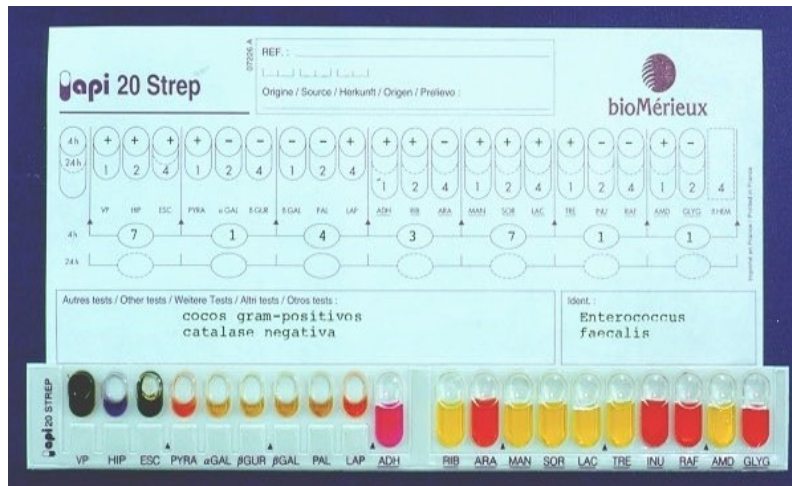


Figura 5. Ficha e Galeria do “Kit” de identificação - API 20 Strep (BioMérieux SA, França) - utilizado para a detecção de enterococos.



Figura 6. “Kit” de identificação - API 20 E (BioMérieux SA, França) - utilizado para a detecção de enterobactérias.

### Análise estatística

Os dados coletados foram estatisticamente analisados com a utilização do software SPSS for Windows 10.0 (SPSS Inc., USA).

## RESULTADOS

### Perfil microbiológico do canal radicular

Após a semeadura do inóculo em placas de ágar Mac Conkey, não foi detectado o crescimento de enterobactérias (*Enterobacteriaceae*) nos 28 canais radiculares infectados estudados. Quando este mesmo inóculo foi semeado em placas contendo ágar m-*Enterococcus* foi detectado o crescimento de enterococos (*Enterococcus spp*) em 1 caso dos 28 canais estudados, sendo a espécie identificada como *Enterococcus casseliflavus*.

Para a contagem de bactérias totais, foram semeadas amostras em placas contendo ágar Brucella acrescido de hemina, menadione e sangue desfibrinado de carneiro, observando-se o crescimento de microrganismos em todos os casos avaliados.

**Tabela 1.** Espécie identificada em relação à infecção primária ou secundária/persistente.

	<b>Necrose Pulpar (infecção primária) = 18</b>	<b>Tratamento Endodôntico Prévio (infecção secundária/persistente) = 10</b>
<b>Enterobactéria</b>	0	0
<b><i>Enterococcus spp.</i></b>	1	0

Abaixo estão sintetizados os resultados obtidos durante a coleta.

Deteção de:

Enterobactérias (ágar Mac Conkey): 0,0% (0/28)

Enterococos (ágar m-Enterococcus): 3,6 % (1/28)

Bactérias totais (ágar Brucella acrescido de sangue desfibrinado de carneiro, hemina e menadione): 100% (14/14)

### ***Perfil clínico dos pacientes e dos canais radiculares***

Dos 28 canais radiculares onde se realizaram as coletas microbiológicas, 5 apresentavam comunicação com o meio bucal, 10 estavam com restauração provisória, 7 com restauração definitiva e 2 estavam hígidos.

Quanto ao comprometimento periapical, 18 dentes apresentavam necrose pulpar e lesão periapical. Os outros 10 dentes já haviam recebido tratamento endodôntico prévio e em 6 destes houve constatação de lesão periapical, sendo que nos outros 4, não.

A sintomatologia dolorosa esteve associada a 5 casos dos 28 totais. Tanto a presença de fístula, como a presença de exsudato purulento ocorreu na proporção 2/28. Apenas 1 paciente apresentou edema e abscesso periapical. Nenhum dos 28 dentes investigados apresentou mobilidade.

## **DISCUSSÃO**

A coleta microbiológica com cultura permanece sendo um método de considerável importância, visto que identifica microrganismos presentes e viáveis, já técnicas como o PCR identificam organismos viáveis e não viáveis (CANCIO, V., et al., 2017). Assim, este estudo optou por utilizar a metodologia



de cultura microbiológica, devido à detecção de microrganismos viáveis, já que estes estão vivos no local da coleta, sendo tal metodologia fundamental para a testagem de antibióticos. É importante destacar que a existência de metodologias moleculares, não exclui a aplicação da cultura microbiológica, inclusive métodos mais tradicionais podem ser associados aos mais tecnológicos para o enriquecimento das análises (GOMES, B.P., et al., 2004).

O gênero *Enterococcus spp* inclui diversas espécies residentes do trato gastrointestinal e da cavidade bucal como comensais. Por outro lado, algumas espécies, como *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium*, podem originar doenças, incluindo infecções urinárias e endocardite. O *Enterococcus spp* compõe um grupo de bactérias Gram-positivas que são associadas a infecções endodônticas, tanto em dentes permanentes, como em dentes decíduos (PARADELLA, T.C., et al., 2013). Nesse contexto, este estudo teve por propósito verificar a presença de *Enterococcus spp* e de enterobactérias viáveis em canais radiculares infectados e comparar a prevalência destes microrganismos em canais radiculares com infecção primária aos condutos com infecção secundária/persistente (casos de retratamento). Para tanto, as amostras microbiológicas foram coletadas de 28 dentes infectados usando pontas de papel estéreis, transportadas e analisadas por métodos padronizados.

Cabe destacar que não foram utilizadas Tomografias Computadorizadas de Feixes Cônicos para o diagnóstico da presença/ausência de patologias periapicais, em virtude da ausência deste equipamento na Faculdade de Odontologia onde o estudo foi realizado e por conta da ausência de financiamento para a terceirização de tal recurso.

O uso do meio de transporte preserva a viabilidade microbiana, impedindo, porém, sua proliferação (TRONSTAND, L., et al., 1990). Um meio de transporte bastante utilizado é o “Reduced Transport Fluid” (RTF), eficiente em manter a viabilidade e a contagem original de células por até 24h em temperatura ambiente. Entretanto, neste trabalho o tempo decorrido da coleta até a inoculação no meio de cultura não ultrapassou 30 minutos.

O método de cultura foi escolhido, uma vez que tem sido tradicionalmente usado na avaliação da microbiota associada com várias doenças infecciosas, incluindo infecções de origem endodôntica (GOMES, B.P.F.A, et al., 2002). Optou-se pela utilização de meios de cultura seletivos para os gêneros propostos (*Enterobacteriaceae* e *Enterococcus spp*), porém houve crescimento de outras espécies, tanto no meio de cultura MacConkey, como no meio para *m-Enterococcus*. Pôde-se identificar, mesmo assim, espécies de *Brucella*, *Streptococcus salivarius* e *Gemella morbillorum*, porém a identificação de espécies de outros gêneros não era o objetivo deste estudo. Também, foi



possível observar o crescimento de Bactérias Produtoras de Pigmento Negro (BPPN) nas placas com ágar Brucella sangue adicionada de hemina e menadiona. Entretanto, não era objetivo do trabalho identificá-las. Cabe destacar que, a presença de diferentes microrganismos no canal ou polpa necrótica pode representar a manutenção da infecção ou qualquer infecção sinérgica (FABRIS et al., 2014).

Outrossim, é importante salientar que as BPPN são bastonetes Gram-negativos e têm sido implicadas em infecções endodônticas primárias (SUNDQVIST, G., et al., 1998). Analogamente, no estudo de Lee et al. (2017) foram encontradas, concomitante, de duas (32 dentes) a três espécies (18 dentes) de bactérias em 50 (80,6%) dos 62 dentes analisados. No entanto, apenas 34 espécies bacterianas foram identificadas. De um total de 118 bactérias isoladas (83 anaeróbias e 35 aeróbias), a *Enterococcus faecalis* foi detectada em 8 dentes.

Nesse sentido, o uso de “kits” bioquímicos comerciais para identificação de microrganismos representa um sistema seguro, reproduzível e disponível para laboratórios relativamente não especializados, sendo um método acessível para análise microbiológica endodôntica (NAI, Z., et al., 2019). Segundo Koneman et al. (2012), o sistema de identificação API 20E foi convertido no método de referência, com o qual é comparada a exatidão de outros sistemas. As 21 características que podem ser determinadas com o sistema API 20E estão entre os grupos de provas mais amplos dos sistemas compactos. O sistema pode identificar uma alta porcentagem de bactérias em 24 horas, sem a necessidade de determinar características fisiológicas. Esse sistema é um dos mais utilizados nos laboratórios clínicos e possui muitos dados de base que incluem cepas comuns e atípicas (KONEMAN et al., 2012).

No presente trabalho, o isolamento das bactérias em placas pré-reduzidas com meios seletivos auxiliou na identificação de apenas 1 bactéria do gênero *Enterococcus spp* (*Enterococcus casseliflavus*). Entretanto, baseado na literatura, era de se esperar detectar a espécie de *Enterococcus faecalis* em pelo menos 1 das amostras, porém isto não ocorreu. Pode-se justificar este fato ao pequeno tamanho da amostra deste estudo. As diferenças na frequência de isolamento microbiano de um estudo para outro se dão, provavelmente, devido a um grande número de variáveis que incluem a técnica de coleta de amostras; o meio de transporte utilizado; o meio de cultura e os métodos de incubação e de identificação. Podendo ser também, devido a diferentes quantidades de amostras investigadas em cada estudo e/ou estágio de infecção (AVEIRO, E., 2019).

Estudos têm demonstrado que Enterococos isolados de alimentos são capazes de colonizar a cavidade oral, sugerindo que esses microrganismos podem



sobreviver no biofilme dentário, participando de infecções endodônticas (AL-AHMAD, A., et al., 2010) . Além disso, foi relatado que *E. faecalis* isolado de canais radiculares necróticos e material fecal de adultos com infecção endodôntica não apresentou similaridade genética, sugerindo uma contaminação exógena, principalmente por alimentos industrializados (TRONSTAND, L., et al., 1990). Em contrapartida, Enterococos foram encontrados em 52,5% dos laticínios, como leite e queijo, e foi sugerido que o consumo de alimentos contendo Enterococos poderia colaborar com o aumento de *E. faecalis* na polpa necrótica (GOMES, B.P.F.A, et al., 2008). Desse modo, a disponibilidade de nutrientes e a baixa tensão de oxigênio são fatores ecológicos determinantes para a permanência desse microrganismo em canais radiculares com polpa necrótica (SUNDQVIST, G., et al., 1998).

Nesse contexto, Gomes et al. (2004), em seu estudo, não detectaram bactérias cultiváveis em 10% (6/60) dos canais radiculares, todos eles com tratamento de canal prévio (6/19). Molander et al. (1998) e Sundqvist et al.(1998) também não detectaram o cultivo de bactérias em vários de seus trabalhos. É possível, que as amostras contidas nos cones de papel absorvente em casos de retratamento possam conter uma baixa quantidade de bactérias (GOMES, B.P.F.A, et al., 2004). Segundo Gomes et al. (2004), tal redução poderia ocorrer devido à remoção de boa parte dos microrganismos durante o processo de debridaç o no canal radicular durante o processo de recesso.

Assim, existem controvérsias na literatura quanto à prevalência *E. faecalis* em infecções endodônticas primárias. Tais diferenças se devem a distintos métodos microbiológicos de estudo, números amostrais diferentes, técnicas utilizadas durante os tratamentos e localização geográfica (FERNANDES, S.F., et al., 2019). Logo, faz-se necessária a realização de mais estudos por meio de diferentes métodos moleculares.

Quanto à *E. faecalis* em infecções endodônticas secundárias: Schirrmeister et al.(2007) avaliaram in vivo a presença de microrganismos em amostras coletadas durante o retratamento endodôntico de dentes assintomáticos, com lesões periapicais e com selamento coronário adequado. Foi empregada a técnica de cultura microbiana para análise quantitativa e sequenciamento genético com amplificação por meio de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR). A prevalência de microrganismos foi de 60% (cultura) e 65% (PCR). O DNA de *E. faecalis* estava presente em 31% das amostras. Analogamente, Gomes et al.(2008), por meio de análise molecular por PCR, examinaram a presença de nove espécies bacterianas em canais radiculares de dentes com lesão periapical persistente, em que a terapia endodôntica havia sido realizada há mais de 4 anos. *E. faecalis* foi a mais prevalente, em 77,8% dos casos.

Somando-se a isso, estudos têm associado a falha do tratamento endodôntico em adultos com a presença de *E. faecalis*. Esse microrganismo apresenta alta resistência ao hidróxido de cálcio e às soluções irrigantes comumente utilizadas no tratamento endodôntico<sup>36, 37</sup>. Outrossim, Sundqvist et al. (1998) analisaram a microbiota presente em dentes com insucesso endodôntico e a taxa de sucesso após retratamento. Os autores utilizaram critérios radiográficos para definir sucesso ou insucesso. A taxa de sucesso após 5 anos para os retratamentos em dentes infectados por *E. faecalis* foi mais baixa (66%), enquanto que casos de infecções por outras bactérias tiveram 74% de sucesso nas reintervenções.

Então, a presença de culturas negativas não significa a ausência total de microrganismos dos canais radiculares estudados. Microrganismos presentes em áreas inacessíveis à coleta, como as ramificações do sistema de canais radiculares ou em áreas apicais que podem ter sido obliteradas durante o tratamento endodôntico prévio, ou ainda, microrganismos presentes em quantidade muito pequena no canal radicular, podem não ser isoladas pela técnica de cultura microbiológica. Além disso, microrganismos podem ser eliminados durante a remoção do material obturador prévio, mesmo utilizando apenas métodos mecânicos e sem solventes (GOMES, B.P.F.A, et al., 2008). Apesar das dificuldades, os resultados das coletas microbiológicas de canais com tratamento endodôntico prévio são considerados representativos e de grande importância (SUNDQVIST, G., et al., 1998).

Diante dos resultados do presente estudo, cabe ressaltar que não se observou correlação entre a presença de qualquer espécime dos gêneros de *Enterococcus spp* e/ou *Enterobacteriaceae* com infecção primária ou secundária, embora se esperasse baixa, porém existente, a presença de microrganismos entéricos nos canais radiculares infectados, segundo autores como Lee et al. (2017).

## CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos nas condições experimentais deste estudo, pode-se concluir que não houve correlação entre a presença de espécies microbianas dos gêneros *Enterococcus spp* e/ou *Enterobacteriaceae* com a infecção primária ou secundária do canal radicular.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aveiro E. Avaliação clínica da irrigação ultrassônica passiva e da ativação recíproca do NaOCl 6% na redução do conteúdo microbológico e dos fatores de virulência em dentes com infecção endodôntica primária. [Dissertação de Mestrado]. Piracicaba – Brasil: Universidade Estadual de Campinas, 2019.
2. Sousa ELR, Torino GG, Martins GB. Antibióticos em Endodontia: Por que, como e quando usá-los. 1.ed. São Paulo: Santos, 2014.
3. Lee LW, Lee YL, Hsiao SH, Lin HP. Bacteria in the apical root canals of teeth with apical periodontitis. JFMA, 2017; 116(6): 448-456.
4. Gomes BP, Pinheiro ET, Gadê-Neto CR, Sousa ELR, Ferraz CC, Zaia AA, et al. Microbiological examination of infected dental root canals. Oral Microbiol Immunol, 2004; 19(2): 71-76.
5. Lopes HP, Siqueira JR JF. Endodontia: biologia e técnica. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2020.
6. Cancio V, Ferreira DC, Cavalcante FS, Rosado AS, Teixeira LM, Oliveira QB, et al. Can the *Enterococcus faecalis* identified in the root canals of primary teeth be a cause of failure of endodontic treatment? Acta Odontologica Scandinavica, 2017; 75(6): 423-428.
7. Nai Z, Han Y, Huang Z, Wang J, He X. Physical and biological properties of a novel root canal sealer modified by polyhexamethylene guanidine. Dent Mater J, 2019; 2018: 154.
8. Prada I, Micó-Muñoz P, Giner-Lluesma T, Micó-Martínez P, Collado-Castellano N, Manzano-Saiz A. Influence of microbiology on endodontic failure. Literature review. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2019 May 1;24 (3):e364-72.
9. Livorsi DJ, Chorazy ML, Schweizer ML, Balkenende EC, Blevins AE, Nair R, et al. A systematic review of the epidemiology of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in the United States. Antimicrobial Resistance & Infection Control, 2018; 7(1): 55.



10. Molander A, Reit C, Dahlen G, Kvist T. (1998). Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J*, 1998; 31(1): 1-7.
11. Khalifa L, Shlezinger M, Beyth S, Hourri-Haddad Y, Copenhagen-Glazer S, Beyth N, et al. Phage therapy against *Enterococcus faecalis* in dental root canals. *J Oral Microbiol*, 2016; 8(1): 32157.
12. Paradella TC, Ito CYK, Jorge AOC. *Enterococcus faecalis*: considerações clínicas e microbiológicas. *Rev Odontol UNESP*, 2013; 36(2): 163-168.
13. Tronstad L, Barnett F, Cervone F. Periapical bacterial plaque in teeth refractory to endodontic treatment. *Dental Traumatol*, 1990; 6(2): 73-77.
14. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjögren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 1998; 85(1): 86-93.
15. Koneman E, Winn Jr W, Allen S, Janda W, Procop G, Schreckenberber P, et al. Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido. In *Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido*. 2012.
16. Al-Ahmad A, Maier J, Follo M, Spitzmüller B, Wittmer A, Hellwig E, et al. Food-borne enterococci integrate into oral biofilm: an *in vivo* study. *J Endod*. 2010;36(11):1812-9.
17. Tronstad L, Kreshtool D, Barnett F. Microbiological monitoring and results of treatment of extraradicular endodontic infection. *Endod Dent Traumatol*. 1990;6(3):129-36.
18. Fernandes, SF. *Enterococcus faecalis* em infecções endodônticas primárias: Prevalência, fatores de virulência e suscetibilidade aos procedimentos endodônticos. Tese [Doutorado] – Faculdade de Odontologia de Bauru. Universidade de São Paulo. 2019.
19. Schirrmeyer JF, Liebenow AL, Braun G, Wittmer A, Hellwig E, Al-Ahmad A. Detection and Eradication of Microorganisms in Root-filled Teeth Associated With Periradicular Lesions: An *In Vivo* Study. *J Endod*. 2007;33:536–40.





20. Gomes BPFA, Pinheiro ET, Jacinto RC, Zaia AA, Ferraz CCR, Souza-Filho JF. Microbial Analysis of Canals of Root-filled Teeth with Periapical Lesions Using Polymerase Chain Reaction. J Endod. 2008;34:537–40.