

Influência do preparo biomecânico sobre a microbiota anfibiônica presente no interior de canais radiculares de dentes com polpa necrótica

Effect of mechanical root canal instrumentation on the root canal flora isolated from necrotic teeth

Elerson GAETTI-JARDIM JÚNIOR

Professor Adjunto – Departamento de Patologia e Propedêutica Clínica – Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP

Luís Fernando LANDUCCI

Doutorando – Programa de Pós-Graduação em Biopatologia Bucal – Departamento de Biociências e Diagnóstico Bucal – Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP

Sônia Panzarini BARIONI

Professora Adjunta – Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada – Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP

Denise PEDRINI

Professora Assistente Doutora – Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada – Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi estudar a influência do preparo biomecânico sobre a microbiota presente no interior de canais de dentes com polpa necrótica. Espécimes de 58 dentes foram coletadas após a abertura coronária e após o preparo biomecânico. Realizaram-se diluições seriadas em caldo de tioglicolato e alíquotas foram inoculadas em ágar sangue, *Mitis salivarius*, CVE, TSBV e CFAT, incubadas em anaerobiose (10% CO₂ e 90% N₂), 37°C, durante 15, dois, quatro, quatro e sete dias, respectivamente. Alíquotas também foram inoculadas em ágar MacConkey, Sabouraud dextrose e TSA, incubadas em aerobiose, 37°C, por dois, sete e doisdias, respectivamente. Os isolados foram identificados de acordo com características morfológicas, morfoceculares e bioquímico-fisiológicas. Para análise estatística utilizou-se o teste de Kruskal Wallis e Fisher ($\alpha=0,05$). Os microrganismos isolados antes do preparo constituíam-se de anaeróbios obrigatórios (71,74%), anaeróbios facultativos (17,66%) e microaerófilos e capnofílicos (10,60%). Após o preparo biomecânico ocorreu redução significativa dos microrganismos anaeróbios obrigatórios. Concluiu-se que a microbiota associada aos sistemas de canais de dentes com polpa necrótica possui predomínio de anaeróbios obrigatórios, sendo que os mesmos mostraram-se mais sensíveis aos procedimentos empregados no preparo biomecânico.

UNITERMOS

Bactéria anaeróbia; endodontia; preparo biomecânico

INTRODUÇÃO

A microbiota presente no interior de canais radiculares de dentes com polpa necrótica é complexa, de natureza mista, e numerosos grupos microbianos cumprem um papel no desenvolvimento das periapicopatias (GOMES et al.¹⁰, 1996). Os microrganismos podem atingir os tecidos pulpares através de diferentes vias de acesso, como as lesões

cariosas, fraturas de esmalte e dentina, após traumatismo dental, infecção através de túbulos dentinários expostos, canais acessórios, forame apical e rotas hematogênicas.

Durante o tratamento endodôntico, numerosos procedimentos são utilizados para reduzir e, se possível, eliminar a microbiota alojada nos canais radiculares, levando ao sucesso da terapia quando associadas à correta obturação dos canais. Contudo,

uma porcentagem de casos é acompanhada de fracasso e, de acordo com Byström et al.⁴ (1987), a infecção bacteriana apresenta papel essencial nesse fenômeno.

Embora o preparo biomecânico do sistema de canais seja essencial para o tratamento endodôntico, por vezes as técnicas utilizadas não conseguem produzir um saneamento total dos canais, de forma que resíduos orgânicos e bactérias podem persistir (GEORGOPOULOU et al.⁸, 1994).

A existência de associações microbianas no interior de canais radiculares com polpa necrótica vem sendo confirmada nos últimos anos (GOMES et al.⁹, 1994), sendo que alguns microrganismos, particularmente os anaeróbios obrigatórios, como os bastonetes Gram-negativos anaeróbios produtores de pigmento negro (*Prevotella* e *Porphyromonas*) e os gêneros *Peptostreptococcus*, *Eubacterium* e *Fusobacterium* são frequentemente associados à ocorrência de sintomatologia dolorosa, edema, exsudação e outros sinais e sintomas das infecções endodônticas (GOMES et al.¹⁰, 1996), enquanto que microrganismos anaeróbios facultativos, como as espécies bucais do gênero *Streptococcus* e enterobactérias são comumente isoladas de dentes com infecções endodônticas assintomáticas (YOSHIDA et al.²¹, 1987).

Entretanto, pouco se conhece sobre a sensibilidade dos diferentes grupos e associações de microrganismos aos procedimentos empregados no preparo biomecânico e como esses mesmos procedimentos podem afetar a microbiota estabelecida no interior dos sistemas de canais. Dessa forma, o presente estudo teve como objetivos avaliar a influência do preparo biomecânico e curativo de demora de hidróxido de cálcio sobre a microbiota presente no interior de canais de dentes com polpa necrótica.

MATERIAL E MÉTODOS

1) Seleção de pacientes

Espécimes de 58 dentes com polpa necrótica (dez incisivos centrais superiores, cinco incisivos laterais superiores, 15 pré-molares superiores, sete molares superiores e 21 molares inferiores), de 52 pacientes, de ambos os sexos, com idade variando de 14 a 59 anos, regularmente matriculados nas clínicas de graduação e especialização e consultórios dos departamentos da Faculdade de Odonto-

logia do Campus de Araçatuba – UNESP – e de particulares foram coletados.

Os pacientes apresentavam pelo menos um elemento dental com necrose pulpar necessitando de tratamento endodôntico. Observou-se, para cada paciente, idade, sexo, dente acometido, condição pulpar, presença ou não de sensibilidade dolorosa, mobilidade, presença de fístula, de exsudação, de edema nos tecidos periodontais adjacentes, profundidade de bolsa periodontal e sulco gengival, história prévia de uso de antimicrobianos, presença de radiolucidez periapical, condição sistêmica.

O estudo foi previamente submetido e aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba – UNESP.

2) Planejamento clínico e coleta dos espécimes clínicos

Após criterioso exame clínico, radiográfico e anamnese do paciente, promoveu-se o isolamento absoluto do campo operatório com auxílio de dique de borracha. A desinfecção do dique foi realizada por meio de solução de polivinilpirrolidona iodada a 10%, com 1% de iodo ativo, por 5 minutos. Os dentes que não permitiram a realização do correto isolamento absoluto não foram incluídos no estudo (GOMES et al.⁹, 1994).

A abertura coronária foi realizada com pontas diamantadas esterilizadas, sob refrigeração com solução salina tamponada esterilizada. A coleta dos espécimes clínicos foi realizada introduzindo-se limas endodônticas e cones de papel absorventes esterilizados no interior do canal radicular até atingir sua porção mais apical, sendo realizada a coleta, em dentes multirradiculares, em apenas um canal. Os resíduos de dentina removidos foram transferidos para tubos contendo caldo de tioglicolato e enviados para o laboratório.

Após a primeira coleta dos espécimes clínicos, realizou-se o preparo biomecânico como descrito por Holland et al.¹² (1991), empregando-se suspensão aquosa saturada de hidróxido de cálcio para irrigação.

Com auxílio de uma seringa Carpule, os canais radiculares foram preenchidos com pasta de hidróxido de cálcio, em propilenoglicol. Antes do preenchimento do sistema de canais radiculares com hidróxido de cálcio, uma nova coleta de espécimes clínicos foi realizada para avaliar o efeito do pre-

paro biomecânico e da irrigação sobre a microbiota original do canal radicular.

O término do tratamento foi realizado através de técnicas preconizadas pela disciplina de endodontia da Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba e quando necessário, o paciente foi encaminhado para tratamento odontológico especializado em outras clínicas da própria Faculdade.

3) Isolamento bacteriano

Os espécimes sofreram diluições seriadas em caldo de tioglicolato e, de diluições pré-estabelecidas, alíquotas de 0,1mL foram inoculados em placas contendo ágar Brucella, acrescido de extrato de levedura (0,5%), hemina (0,5µg/mL) e menadiona (0,5µg/mL) e enriquecido com 5% de sangue desfibrinado de carneiro, para a determinação do número total de colônias, isolamento de *Porphyromonas* spp. e espécies pigmentadas de *Prevotella*, ágar *Mitis Salivarius* para o isolamento de estreptococos bucais, ágar eritromicina cristal violeta, para o isolamento de espécies bucais do gênero *Fusobacterium*, ágar TSBV, para o isolamento de *Actinobacillus actinomycescomitans*, ágar CFAT, para o isolamento de bactérias do gênero *Actinomyces*, ágar MacConkey, para o isolamento de enterobactérias e ágar Sabouraud dextrose para o isolamento de leveduras.

As placas contendo ágar Brucella enriquecido com sangue, hemina e menadiona (ágar sangue) foram incubadas, em duplicata, por 15 dias, em dessecadores de vidro tipo "Pyrex", a 37°C, em anaerobiose pela técnica da mistura gasosa (90% de N₂ e 10% de CO₂). As placas com ágar eritromicina cristal violeta e ágar TSBV foram incubadas em anaerobiose, em dessecadores de vidro, a 37°C, por 4 dias. As placas com ágar *Mitis Salivarius* e ágar CFAT foram incubadas em dessecadores de vidro com 5% de CO₂, a 37°C, por dois e sete dias, respectivamente. As placas de ágar MacConkey e Sabouraud Dextrose foram incubadas em aerobiose, a 37°C, por dois dias e sete dias, respectivamente.

Todos os espécimes também foram plaqueados, em duplicata, em ágar de tripticaseína de soja enriquecido de extrato de levedura (0,5%) e suplementados com 5% de sangue desfibrinado de carneiro e incubados em aerobiose, a 37°C, por 48 horas, para o isolamento de microrganismos aeróbios.

4) Identificação dos isolados

Após o período de incubação, o número de colônias dos diferentes grupos microbianos isolados de cada canal radicular foi determinado com auxílio de contador de colônias. Os diferentes tipos morfocoloniais, presentes em placas com trinta e trezentas colônias, foram repicados para a obtenção de cultura pura e subsequente identificação.

Todos os isolados foram submetidos ao teste respiratório para caracterizar o seu relacionamento com o oxigênio atmosférico e determinar a relação entre o número de microrganismos anaeróbios obrigatórios, capnofílicos, anaeróbios facultativos e microaerófilos.

Cada tipo morfocolonial observado em microscópio estereoscópico foi submetido a uma avaliação morfotintorial pelo método de Gram e repicado para obtenção de cultura pura. A seguir os isolados foram identificados de acordo com suas características morfocoloniais, morfocelulares e bioquímico-fisiológicas (HOLT et al.¹³, 1994; GOMES et al.¹⁰, 1996).

5) Análise estatística

Os dados foram submetidos aos testes de Kruskal-Wallis e Fisher e o nível de significância adotado, na análise, foi de $\alpha < 0,05$.

RESULTADO

A Tabela 1 apresenta os principais microrganismos isolados das 58 amostras obtidas durante o estudo, previamente e após o preparo biomecânico. Previamente ao preparo biomecânico, o gênero *Streptococcus* foi o mais frequentemente observado, tendo sido isolado *Streptococcus milleri*, *S. mitis*, *S. sanguis*, *S. salivarius*, *S. oralis*, *S. defectivus*, *S. mutans*, *S. pyogenes* em 27,59%, 17,24%, 15, 52%, 15, 52%, 12,07%, 6,9%, 5,7% e 3,45%, das amostras, respectivamente. Outros isolados do gênero *Streptococcus* cuja identificação ao nível de espécie não foi obtida foram isolados de 29,31% das amostras.

Os principais isolados do gênero *Actinomyces* destacam-se *A. viscosus*, *A. naeslundii*, *A. israelii*, *A. odontolyticus*, *A. meyeri*, os quais foram isolados de 12,07%, 12,07%, 10,34%, 10,34% e 3,45% das amostras, respectivamente. *Actinomyces* sp. foi isolado de 13,79% dos sistemas de canais, contu-

do não puderam ser identificados ao nível de espécie.

Dentre os anaeróbios, as fusobactérias foram isoladas de 19 amostras, sendo que *Fusobacterium nucleatum* foi o mais prevalente. *F. necrophorum* foi isolado de três amostras (5,17%), enquanto *F. periodontium* foi recuperado de apenas uma amostra (1,72%). Dois isolados (3,45%) desse gênero não foram identificados ao nível de espécie. Outro anaeróbio, *Bacteroides fragilis* foi isolado de quatro das 58 amostras (6,9%).

Os bastonetes anaeróbios produtores de pigmento negro foram isolados de 25,86% das amostras, sendo que *Prevotella intermedia-nigrescens* foi observada em 20,69% dos dentes analisados, enquanto *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas* sp., *Prevotella loeschii* e *P. denticola* foram isoladas de 3,45%, 1,72%, 3,45% e 5,17% das amostras, respectivamente.

Eubacterium lentum, *E. nodatum* e *E. alactolytium* foram os principais isolados do gênero *Eubacterium*, sendo isolados de 8,62%, 10,34%, 6,9% das amostras, respectivamente. *Eubacterium* sp. foi isolado de 12,07% dos sistemas de canais coletados.

Dentre os bastonetes Gram-positivos merece destaque *Propionibacterium* sp., o qual foi isolado de oito amostras (13,79%). Os cocos Gram-positivos anaeróbios mais frequentemente isolados pertencem ao gênero *Peptostreptococcus*, sendo que *P. micros* e *P. anaerobius* foram recuperados de 17,24% e 6,9% das amostras, respectivamente.

Alguns cocos Gram-positivos anaeróbios não puderam ser identificados pelas suas características bioquímico-fisiológicas e demais características fenotípicas estudadas. Os mesmos mostraram grande diversidade metabólica e, como um grupo, foram isolados de 17,24% dos espécimes coletados.

O gênero *Staphylococcus* merece destaque entre os cocos Gram-positivos anaeróbios facultativos, particularmente as espécies *S. aureus*, *S. saprophyticus*, *S. epidermidis*, *S. lugdunensis* e *S. haemolyticus*, que foram isoladas de 6,9%, 5,17%, 8,62%, 3,45%, 5,17% e 3,45% das amostras, respectivamente. Isolados do gênero *Staphylococcus* não identificados ao nível de espécie foram recuperados de 8,62% das amostras.

Dentre os cocos Gram-positivos facultativos também merece destaque *Enterococcus faecalis*, que foi isolado de quatro sistemas de canais com

polpa necrótica (6,9%), e *E. faecium*, que foi recuperado de um espécime (1,72%).

Bastonetes Gram-negativos entéricos foram isolados de três amostras, perfazendo 5,17% dos sistemas de canais radiculares coletados. Foram isolados *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus vulgaris*.

O número de espécies bacterianas nos sistemas de canais variou de um (monoinfecção) a 12, sendo que a grande maioria das amostras produziu de quatro a seis espécies distintas, demonstrando o caráter predominantemente misto da microbiota. Em nove das 58 amostras observou-se monoinfecção.

A Tabela 1 apresenta também a microbiota isolada após a realização do preparo biomecânico. Após o preparo biomecânico, ocorreu uma redução do conteúdo séptico dos sistemas de canais de todos os dentes submetidos ao tratamento. Contudo, essa redução foi mais significativa entre os microrganismos dos gêneros *Actinomyces*, *Lactobacillus*, *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Eubacterium*, *Veillonella*, *Peptostreptococcus* e entre os bastonetes Gram-positivos anaeróbios.

As Tabelas 2 e 3 evidenciam as modificações na microbiota presente no interior dos canais radiculares de dentes com polpa necrótica pela realização do preparo biomecânico. Observou-se que os microrganismos anaeróbios obrigatórios são mais sensíveis a esses procedimentos e sua participação, na microbiota, tende a diminuir.

A Tabela 4 mostra, em termos quantitativos, a influência do preparo biomecânico com água de cal como irrigação sobre a microbiota de dentes com polpa necrótica. Considerou-se que o preparo biomecânico produziu uma redução significativa do conteúdo séptico quando a magnitude dessa redução ultrapassava 90% da microbiota observada no início do experimento.

Após o preparo biomecânico descrito, os anaeróbios que formavam o grupo numericamente mais significativo da microbiota antes do início do tratamento diminuíram significativamente sua frequência de isolamento, bem como seu percentual na população microbiana.

Após o preparo biomecânico, ocorreu uma redução significativa da microbiota em 41 amostras (70,69% dos espécimes clínicos). Em 14 amostras (24,14% dos espécimes clínicos) não foi possível se isolar microrganismos após o preparo biomecânico.

A Tabela 1 evidencia que os microrganismos dos gêneros *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas* e *Enterococcus* e os bastonetes Gram-negativos entéricos são mais resistentes ao preparo biomecânico. Os isolados do gênero

Enterococcus, por exemplo, no início do experimento foram isolados de quatro amostras, sendo que os mesmos continuaram a ser recuperados desses sistemas de canais mesmo após o preparo biomecânico.

Tabela 1 - Principais microrganismos isolados de 58 dentes com polpa necrótica e a sua frequência de isolamento antes e após a realização do preparo biomecânico

Microrganismo	Frequência de isolamento N (%)	
	Antes do preparo	Depois do preparo
<i>Streptococcus</i> spp.	42 (72,41)	31 (53,45)
<i>Actinomyces</i> spp.	27 (46,55)	9 (15,52)
<i>Lactobacillus</i> sp.	22 (37,93)	10 (17,24)
<i>Fusobacterium</i> spp.	19 (32,76)	2 (3,45)
<i>Peptostreptococcus</i> sp.	16 (27,59)	4 (6,90)
BAPPN ¹	15 (25,86)	4 (6,90)
<i>Eubacterium</i> spp.	13 (22,41)	2 (3,45)
<i>Veillonella</i> sp.	13 (22,41)	0 (0,0)
BGPA ²	13 (22,41)	5 (8,62)
CGPA ³	10 (17,24)	4 (6,90)
CGPF ⁴	9 (15,52)	3 (5,17)
<i>Staphylococcus</i> spp.	8 (13,79)	6 (10,34)
<i>Enterococcus</i> spp.	4 (6,90)	4 (6,90)
<i>Bacteroides</i> spp.	4 (6,90)	0 (0,0)
BGNE ⁵	3 (5,17)	2 (3,45)
<i>Pseudomonas</i> spp.	3 (5,17)	2 (3,45)

1 Bastonetes anaeróbios Gram-negativos produtores de pigmento negro (*Prevotella* ou *Porphyromonas*).

2 Bastonetes Gram-positivos anaeróbios obrigatórios

3 Cocos Gram-positivos anaeróbios obrigatórios

4 Cocos gram-positivos anaeróbios facultativos

5 Bastonetes Gram-negativos entéricos

Tabela 2 - Participação dos diferentes grupos microbianos na microbiota de dentes com polpa necrótica previamente à realização do preparo biomecânico

Grupo Microbiano	Participação percentual na microbiota
Anaeróbios obrigatórios	71,74
Anaeróbios facultativos	17,66
Microaerófilos e capnofílicos	10,60

Tabela 3 - Participação dos diferentes grupos microbianos na microbiota de dentes com polpa necrótica após a realização do preparo biomecânico

Grupo Microbiano	Participação percentual na microbiota
Anaeróbios obrigatórios	41,12
Anaeróbios facultativos	35,98
Microaerófilos e capnofílicos	22,90

Tabela 4 - Contaminação microbiana do sistema de canais radiculares de dentes (n=58) com polpa necrótica em diferentes momentos do tratamento

Momento da coleta de espécime	Contaminação média
Previamente ao preparo biomecânico	$3,64 \cdot 10^5$
Após o preparo biomecânico	$0,0132 \cdot 10^5$

DISCUSSÃO

A ação de fluxo das soluções irrigadoras é tão importante para a sanitização dos canais radiculares quanto a sua capacidade de dissolver restos teciduais ou apresentar atividade antimicrobiana, como relatado por (BYSTRÖM & SUNDQVIST³ 1981). Desta forma, para compensar a discreta atividade inibitória da água de cal, realizou-se a irrigação com maior frequência.

Entre os microrganismos isolados antes do preparo biomecânico, verifica-se a predominância de anaeróbios obrigatórios, como também relatado na literatura (JANSEN et al.¹⁴, 1996; GATTI et al.⁷, 2000).

Os resultados também evidenciam um equilíbrio entre a participação de microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos na microbiota. Esse aspecto necessita ser melhor avaliado, desde que estudos como os de Fabricius et al.⁶ (1982) relataram um aumento progressivo na população de microrganismos anaeróbios e Gram-negativos na microbiota de canais radiculares expostos ao ambiente bucal com o passar do tempo.

O grupo microbiano mais prevalente nos espécimes clínicos coletados previamente à realização do preparo biomecânico foi representado por *Streptococcus* spp., merecendo destaque os estreptococos α -hemolíticos, embora os gêneros *Actinomyces*, *Lactobacillus*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*,

Prevotella, *Eubacterium* e *Veillonella* também tenham sido freqüentemente isolados.

De acordo com Sundqvist¹⁸ (1993), os estreptococos anaeróbios facultativos poderiam criar condições favoráveis à implantação e multiplicação dos anaeróbios obrigatórios no interior do sistema de canais em fases mais tardias da infecção.

A elevada freqüência de isolamento de *Streptococcus* spp., *Actinomyces* spp. e *Lactobacillus* sp. talvez esteja associada à existência de cárie extensa ou restaurações na maioria dos dentes com necrose pulpar, uma vez que esses microrganismos são freqüentemente isolados de dentina cariada (MASSEY et al.¹⁶, 1993), a despeito de todo o cuidado para a remoção desta estrutura previamente à abertura coronária.

Os anaeróbios obrigatórios Gram-negativos foram isolados de 25,86% dos espécimes, merecendo destaque *Prevotella intermedia-nigrescens* (20,69%). Esse patógeno oportunista tem sido isolado com grande freqüência de dentes com polpa necrótica (BRAUNER & CONRADS², 1995; SCHUMAN & TURNER¹⁷, 1999), enquanto que o papel de outras espécies do gênero *Prevotella* e do gênero *Porphyromonas* precisa ser mais bem avaliado, desde que a literatura apresenta dados conflitantes a respeito do isolamento desses patógenos a partir de espécimes clínicos obtidos de dentes com polpa necrótica.

No presente estudo, a associação de *Actinomyces* spp. e *Streptococcus* spp., foi bastante freqüente, e a disseminação desses patógenos através do sistema de canais ou por via hematogênica pode levar à ocorrência de actinomicose, desde que maioria dos casos de actinomicose na região periapical deriva da contaminação do periápice por bactérias do gênero *Actinomyces*, em particular *A. israelii*, que atingem o periápice a partir do sistema de canais infectados.

A participação de bactérias do gênero *Staphylococcus* nas infecções endodônticas, como também relatado no presente estudo, é de grande relevância, desde que estes cocos Gram-positivos, embora habitantes da pele e mucosas, são importantes agentes de processos infecciosos, em particular os quadros piogênicos (YOU et al.²², 1999). Os quadros de bacteremia e septicemia associada a esses microrganismos eram quase que, invariavelmente fatais na era pré-antibiótica e tendem a se tornar mais sérios e preocupantes em função da notável disseminação de genes de resistência a antimicrobianos nesse gênero.

Apesar da pequena freqüência de isolamento (6,9%) no presente estudo, os isolados de *Enterococcus faecalis* são de grande importância em Endodontia, visto que são associados com lesões periapicais crônicas e infecções persistentes no interior dos condutos radiculares, além de constituir microrganismo resistente a condições ambientais desfavoráveis e, por conseguinte, ser de difícil eliminação (DAHLÉN et al.⁵, 2000).

A microbiota dos canais radiculares após o preparo biomecânico foi constituída principalmente por microrganismos Gram-positivos e anaeróbios facultativos.

Nesse sentido, Sydney & Estrela¹⁹, 1996, também observaram que os microrganismos Gram-positivos eram menos sensíveis aos procedimentos biomecânicos. Os resultados dos testes para avaliar a atividade antimicrobiana de contato do hidróxido de cálcio também evidenciaram que os microrganismos Gram-positivos sobrevivem por um período maior de tempo na presença desse álcali, enquanto a concentração inibitória mínima para o mesmo também é maior nos isolados Gram-positivos.

Contudo, Gomes et al.¹⁰ (1996), avaliando o efeito do preparo biomecânico e irrigação, com hipoclorito de sódio a 2,5% sobre a microbiota de infecções endodônticas, relataram que este procedimento produzia uma redução maior nos anaeróbios obrigatórios e nos microrganismos Gram-positivos, como *Peptostreptococcus*. Os resultados, quando comparados, sugerem uma grande redução da população anaeróbia obrigatória como consequência do preparo biomecânico mas, no presente estudo, a redução foi mais significativa entre os microrganismos Gram-negativos.

Os microrganismos anaeróbios se mostraram mais sensíveis ao preparo biomecânico possivelmente porque esse procedimento afeta sobremaneira as complexas interações microbianas que se estabelecem no interior do sistema de canais e por permitir maior acesso ao oxigênio molecular, como sugerido por Gomes et al.¹⁰ (1996).

Após o preparo biomecânico, culturas negativas foram obtidas de 24,13% dos sistemas de canais. Esse valor é compatível com resultados de Assed et al.¹ (1996), que observaram a ocorrência de cultura negativa em 29,2% dos canais após irrigação com solução de hipoclorito de sódio, mas muito inferiores aos de Vidal et al.²⁰ (1996), que obtiveram 85% de culturas negativas empregando a preparação en-

dosônica e água destilada e 62% quando a instrumentação manual foi utilizada em associação do hipoclorito de sódio a 5% na irrigação.

Nesse sentido, o preparo biomecânico priva as bactérias de sua fonte de nutrientes e permite o maior contato do sistema de canais radiculares com o oxigênio (SUNDQVIST¹⁸, 1993). Contudo quando se procede ao selamento dos canais permitindo que uma microbiota residual permaneça, a anaerobiose é restaurada e a proliferação microbiana tem início (SUNDQVIST¹⁸, 1993).

Pelo menos parcialmente, a contaminação residual após preparo biomecânico pode refletir a existência de ramificações no sistema de canais radiculares, as quais podem proteger a microbiota do preparo biomecânico, como relatado por Holland et al.¹¹ (1999), ou contaminação da superfície externa da raiz (KIRYU et al.¹⁵, 1994), a qual pode reinfetar o canal principal. Esse aspecto é de grande relevância, como sugerido por Byström & Sundqvist³ (1981), uma vez que o sistema de canais radiculares, mesmo após o preparo biomecânico ainda possui nutrientes capazes de permitir a multiplicação da microbiota residual no período

de tempo que vai da instrumentação dos canais até a obturação dos mesmos.

CONCLUSÕES

Os resultados permitiram concluir que:

- a microbiota associada aos sistemas de canais de dentes com polpa necrótica é complexa e tem o predomínio de anaeróbios obrigatórios;
- Os procedimentos empregados no preparo biomecânico foram capazes de reduzir significativamente a contaminação microbiana do interior do sistema de canais, sendo que os microrganismos anaeróbios mostraram-se os mais sensíveis a esses procedimentos.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Doutor Eloi Dezan Junior do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba – UNESP, pela orientação para a realização dos testes estatísticos.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the influence of the biomechanical procedures on the microbiota present in the necrotic root canal. Specimen from 58 teeth, were collected after the opening crown and after the root canal instrumentation. Serial dilutions were carried out in thioglycolate broth and aliquots were inoculated onto blood agar, Mitis salivarius agar, CVE, TSBV and CFAT agar, and incubated under anaerobiosis (10% CO₂ and 90% N₂) at 37°C for 15, two, four, four and seven days respectively. Aliquots also were inoculated in MacConkey agar, Sabouraud dextrose and TSA agar, were cultivated under aerobiosis at 37°C, for 2, 7, 2 days respectively. The isolated were identified in according to their fenotypic features. Statistic analysis was performed through Kruskal Wallis and Fisher method ($\alpha=0,05$). 71,74% of the isolates were strict anaerobes, 17,66% were facultative anaerobes and 10,60% were microaerophilic organisms. After the biomechanical procedures we found a significant reduction of the strict anaerobes. We conclude that the microbiota associated with the necrotic canal teeth was predominantly strict anaerobes, which showed to be susceptible to biomechanical procedures.

UNITERMS

Anaerobes bacteria; endodontic, biomechanical procedures

REFERÊNCIAS

1. Assed S, Ito IY, Leonardo MR, Silva LAB, Lopatin DE. Anaerobic microorganisms in root canals of human teeth with chronic apical periodontitis detected by indirect immunofluorescence. *Endod Dent Traumatol* 1996; 12: 66-9.
2. Brauner AW, Conrads G. Studies into the microbial spectrum of apical periodontitis. *Int Endod J* 1995; 28: 244-8.
3. Byström A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scand J Dent Res* 1981; 89: 321-8.
4. Byström A, Happonen RP, Sjögren V, Sundqvist G. Healing of periapical lesions of pulpless teeth after endodontic treatment with controlled sepsis. *Endod Dent Traumatol* 1987; 3: 58-63.
5. Dahlén G, Samuelson W, Molander A, Reit C. Identification and antimicrobial susceptibility of enterococci isolated from the root canal. *Oral Microbiol Immunol* 2000; 15: 309-12.
6. Fabricius L, Dahlén G, Öhman AE, Möller AJR. Predominant indigenous oral bacteria isolated from infected root canals after varied times of closure. *Scand J Dent Res* 1982; 90: 134-44.
7. Gatti JJ, Dobeck JM, Smith C, White RR, Socransky SS, Skobe Z. Bacteria of asymptomatic periradicular endodontic lesions identified by DNA-DNA hybridization. *Endod Dent Traumatol* 2000; 16: 197-204.
8. Georgopoulou M, Kontakiotis E, Nakou M. Evaluation of the antimicrobial effectiveness of citric acid and sodium hypochlorite on the anaerobic flora of the infected root canal. *Int Endod J* 1994; 27: 139-43.
9. Gomes BPFA, Drucker DB, Lilley JD. Association of specific bacteria with some endodontic signs and symptoms. *Int Endod J* 1994; 27(6): 291-8.
10. Gomes BPFA, Lilly JD, Drucker DB. Associations of endodontic symptoms and signs with particular combinations of specific bacteria. *Int Endod* 1996; 29p: 69-75.
11. Holland R, González AC, Nery MJ, Souza V, Otoboni Filho JA, Bernabé PFE. Efecto de los medicamentos colocados en el interior del conducto, hidrosolubles y no hidrosolubles en el proceso de reparación de dientes de perro con lesión periapical. *Endodencia* 1999; 17: 90-100.
12. Holland R, Souza V, Otoboni Filho JÁ, Nery MJ, Bernabé PFE, Mello W. Técnicas mistas de preparo de canal radicular. *Rev Paulista Odontol* 1991; 13: 17-23.
13. Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Taley JT, Williams ST. *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 9 ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994. 787 p.
14. Jansen HJ, Vanderhoeven JS, Walhi S, Göertz JHC, Bakkaren JAJM. The importance of immunoglobulin-beakdown supporting the growth of bacteria in oral abscesses. *J Clin Periodontol* 1996; 23: 717-23.
15. Kiryu T, Hoshino E, Iwaku M. Bacteria invading periapical cementum. *J Endod* 1994; 20: 169-72.
16. Massey W, Romberg D, Hunter N, Hume W. The association of carious dentin microflora with tissue changes in human pulpitis. *Oral Microbiol Immunol* 1993; 8: 30-5.
17. Schuman N, Turner JE. The clinical significance of beta hemolytic streptococci of the milleri group in oral abscesses. *J Clin Pediatr Dent* 1999; 23: 137-42.
18. Sundqvist G. Ecologia de la flora del conducto radicular. *Endodencia* 1993; 22: 22-7.
19. Sydney GB, Estrela C. Influence of root canal preparation on anaerobic bacteria in teeth with asymptomatic apical periodontitis. *Braz Endod J* 1996; 1: 7-10.
20. Vidal JCL, Yorio VP, O'neil JCP. Estudio microbiológico comparativo de técnicas de instrumentación manual y endosónica. *Odonto Post Grado* 1996; 3: 20-2.
21. Yoshida M, Kukushima H, Yamamoto K, Ogawa K, Toda T, Sogawa H. Correlation between clinical symptoms and microorganisms isolated from root canals of teeth with periapical pathoses. *J Endod* 1987;13: 24-8.
22. You YO, Kim KJ, Min BM, Chung EP. *Staphylococcus lugdunensis* – a potential pathogen in oral infection. *Oral Surg. Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1999; 87: 297-302.

Recebido em: 01/10/03

Aprovado em: 15/12/03

Luís Fernando Landucci
Faculdade de Odontologia – UNESP
Avenida Eng Francisco José Longo, 777
CEP: 12245-000 – Jd São Dimas
São José dos Campos – SP
landucci.unesp@zipmail.com.br