

SIMARA MAIA PASSOS

Microbiologia das Infecções Endodônticas

**Faculdade de Odontologia
Universidade Federal de Minas Gerais
Belo Horizonte
2014**

SIMARA MAIA PASSOS

Microbiologia das Infecções Endodônticas

Monografia apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Especialista em Endodontia.

Orientadoras: Prof. Dra. Juliana Vilela Bastos

Prof. Dra. Maria Ilma Souza Cortes

Faculdade de Odontologia

Belo Horizonte

2014

AGRADECIMENTOS

À Deus pela minha vida e minha saúde.

Às professoras, aos colegas e à toda a equipe do curso de Especialização em Endodontia da UFMG pelos dias alegres, agradáveis e de sabedoria.

À orientadora e amiga Juliana Vilela pelo suporte no pouco tempo que lhe coube e principalmente pela confiança.

À Fundação Universitária Mendes Pimentel pela ajuda e oportunidade de fazer o curso.

À minha mãe, pessoa mais maravilhosa do mundo, por estar sempre ao meu lado.

Ao meu querido pai que apesar de longe tenho certeza que está me aplaudindo agora.

Ao Glaucon pelo amor, pela ajuda e paciência.

RESUMO

Os microrganismos desempenham um papel central na etiopatogenia das principais alterações pulpares e periapicais seja atuando como agentes causais primários sejam atuando como agentes secundários complicadores no processo da cicatrização dos tecidos. Considerando-se este protagonismo das infecções endodônticas pode-se considerar que a endodontia é a disciplina voltada para a prevenção, controle e eliminação dos microrganismos presentes na cavidade pulpar. Este fato faz com que o conhecimento das infecções endodônticas em todas as suas nuances seja essencial para que o profissional de endodontia possa obter o sucesso nas suas intervenções. Sendo assim, o presente estudo teve como objetivo apresentar uma revisão sobre os principais aspectos relacionados ao processo das infecções endodônticas: as vias de contaminação do sistema de canais radiculares (SCR), o padrão de colonização microbiana, os principais microrganismos envolvidos, seus mecanismos agressores e consequências para o hospedeiro. O estudo foi realizado com base em uma revisão de literatura utilizando-se os principais bancos de dados de odontologia e endodontia. Os resultados indicam que as infecções do sistema de canais radiculares é polimicrobiana, com maior prevalência de estreptococos e microrganismos anaeróbios. O *Enterococcus faecalis* vem sendo considerado como a principal espécie encontrada nos casos do sistema de canais radiculares obturados com lesões perirradiculares. A exposição do complexo dentina-polpa resultante de lesões cariosas ou traumáticas, representa a principal via de infecção do SCR.

Palavras-chave: Microbiota endodôntica, infecção do SCR, etiopatogenia das alterações pulpares, periapicopatias.

ABSTRACT

Microbiology of endodontic infections

Microorganisms play a central role in the pathogenesis of major pulp and periapical changes. Primary causal agents are acting as secondary agents complicating the process of tissue healing. Considering this role of endodontic infections, one can consider that endodontics is the discipline dedicated to the prevention, control and elimination of microorganisms in the pulp cavity. This fact makes the knowledge of endodontic infections in all its nuances essential for the professional endodontics to get success in their interventions. Thus, the present study aimed at reviewing the main aspects related to the process of endodontic infections: pathways of contamination of the root canal system (RCS), the pattern of microbial colonization, the main microorganisms involved, their attack mechanisms and consequences to the host. The study was based on a literature review using the major databases in dentistry and endodontics. The results indicate that infection of the root canal system is polymicrobial with a predominance of streptococci and anaerobes. *Enterococcus faecalis* has been considered as the main species found in cases of obturated root canals with apical periodontitis. The exposure of the dentin-pulp complex resulting from caries or traumatic injury, is the main route of infection of the RCS.

Keywords: Endodontic microbiota, infection of the RCS, the pathogenesis of pulp changes, periapicopathias.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	6
2 AS VIAS DE CONTAMINAÇÃO DO SISTEMA DE CANAIS RADICULARES	9
2.1 - Exposição de Túbulos Dentinários	9
2.2 - Exposição da Cavidade Pulpar	10
2.3 - Periodonto	11
2.4 - Via Anacorética	11
3 DETERMINANTES ECOLÓGICOS DA MICROBIOTA ENDODÔNTICA.....	13
3.1 - Potencial de Oxirredução – Redox	13
3.2 - Disponibilidade de Nutrientes.....	14
3.3- Interações Microbianas	15
4 CARACTERIZAÇÃO DA MICROBIOTA ENDODÔNTICA.....	17
4.1 - Considerações Técnicas	17
4.2 - Considerações Clínicas.....	20
4.2.1- Infecções Primárias	21
4.2.1.1 - Infecções Endodônticas em Dentes Decíduos.....	22
4.2.1.2 - Infecções Endodônticas em Dentes Traumatizados.....	23
4.2.2- Infecções Secundárias	23
4.2.3- Infecções Persistentes ou Refratárias	24
5 CONCLUSÕES	25
REFERÊNCIAS.....	27

1 INTRODUÇÃO

Os microrganismos representam os principais agentes etiológicos das patologias pulpares e periapicais. Embora fatores de natureza química ou física possam induzir uma patologia pulpar ou perirradicular, microrganismos presentes em uma lesão de cárie ou no SCR representam uma fonte de agressão persistente que além de induzirem alterações teciduais são capazes de perpetuá-las (Alves 2004).

As doenças infecciosas envolvem um hospedeiro frente à microrganismos com potenciais colonizadores e patogênicos. Em certas situações, tais microrganismos podem invadir locais normalmente estéreis do nosso organismo, tornando-se assim oportunistas (Tavares e Silva 2011).

Apesar da cavidade oral abrigar uma variada, abundante e complexa comunidade bacteriana, o tecido pulpar normalmente é protegido da infecção pela presença dos tecidos mineralizados coronários - esmalte e dentina e radiculares representados pela dentina e pelo cimento. Uma vez que estas barreiras tenham sido comprometidas, principalmente pelo processo da cárie, cria-se uma via de acesso para microrganismos e seus subprodutos atingirem a cavidade pulpar.

Dois estudos contribuíram particularmente para a compreensão do papel dos microrganismos na etiopatogenia das alterações pulpares e periapicais irreversíveis. Kakehashi *et al.* (1966) mostraram que, quando polpas de ratos gnotobióticos foram deixadas expostas à cavidade bucal, as polpas permaneceram vitais e nenhuma patologia periapical pode ser observada radiograficamente. Entretanto, após serem contaminados com a flora normal de outros animais as polpas expostas desenvolveram necrose pulpar seguida de periapicopatias. Dez anos mais tarde, Sundqvist (1976) demonstrou em dentes humanos necróticos intactos que lesões periapicais só se desenvolviam em dentes cujo SCR apresentava-se contaminado por bactérias.

A principal via de acesso para a infecção do SCR é representada pela exposição dos túbulos dentinários, ou da própria cavidade pulpar devido ao processo de cárie ou

após fraturas coronárias. Entretanto, outras vias de infecção do SCR como a via retrograda ou anacorética também foram propostas (Siqueira Jr. *et al.*, 2012).

De acordo com a situação clínica em que se estabelecem, as infecções endodônticas podem ser classificadas em infecções primárias ou secundárias. A infecção primária representa a infecção inicial, decorrente da colonização do SCR após a necrose do tecido pulpar. A infecção secundária é caracterizada por microrganismos que não estavam presentes na infecção primária e que são introduzidos no SCR durante o TER, entre as sessões do tratamento ou mesmo após a conclusão do tratamento. A microbiota envolvida nestes dois tipos de infecção é diferente podendo variar também de acordo com a função do tempo de infecção (Siqueira Jr. e Roças 2009), da exposição do SCR ao meio oral ou não (Bruno *et al.*, 2008; Sassone *et al.* 2012).

A grande maioria dos microrganismos presentes nas infecções endodônticas são bactérias (Brauner e Conrads, 1995), embora os fungos, arqueias e vírus também tenham sido ocasionalmente relatados (Silva *et al.*, 2000; Siqueira Jr. *Et al.*, 2009).

Estima-se que cerca de 700 espécies microbianas habitam a cavidade oral humana sendo que, a princípio todas essas espécies tem a possibilidade de chegarem ao SCR (Estrela, 2004). Entretanto, um número restrito, variável, em média entre uma e doze espécies, foi detectado nos processos infecciosos endodônticos, em concentrações variadas. O padrão de colonização microbiana do SCR é regulado por uma série de determinantes ecológicos que atuam desde a fase de contaminação do SCR e selecionam o tipo de microrganismos que adentram a cavidade pulpar. Enquanto uma comunicação aberta com o SCR dá acesso a toda a saliva e placa bacteriana, a invasão via lesão cariosa seleciona as bactérias penetrantes para predominantemente incluir bactérias facultativas e anaeróbias. Entretanto, o destino das bactérias que colonizam o SCR é determinado por forças ecológicas que envolvem a disponibilidade de nutrientes, o potencial redox que determina a quantidade de oxigênio presente, a defesa do hospedeiro e as interações microbianas (Sundqvist, 1992; 1994).

O conhecimento da estrutura, constituição e organização da infecção do SCR, bem como de seus fatores determinantes é de grande importância no estabelecimento de estratégias terapêuticas que visem erradicar esta infecção e, conseqüentemente obtenção da cura após o TER.

2 AS VIAS DE CONTAMINAÇÃO DO SISTEMA DE CANAIS RADICULARES

Ao contrário da cavidade oral, a polpa e os tecidos periapicais são áreas do hospedeiro que, em condições de normalidade são estéreis e a presença de microrganismos nestes tecidos está sempre relacionada com a indução de patologias.

As principais vias de acesso para as bactérias alcançarem o tecido pulpar são os túbulos dentinários e a própria exposição pulpar. Entretanto a infecção retrograda, a partir do periodonto ou pela anacorese hematogênica também foram citadas como possíveis vias de acesso para microrganismos (Siqueira Jr et al. ,1996).

2.1 - Exposição de Túbulos Dentinários

A principal característica do tecido dentinário é a presença dos túbulos dentinários que são cilindros ocos, dentro da dentina, preenchidos pelo fluido dentinário e pelos prolongamentos citoplasmáticos dos odontoblastos nos dentes vitais. Estendem-se por toda a espessura da dentina, desde o limite amelo-dentinário até a polpa e apresentam-se em número e diâmetro variáveis de acordo com a proximidade da cavidade pulpar.

Estima-se que na dentina coronária existem 20000 túbulos dentinários por m² próximo ao esmalte e 45.000 túbulos por m² próximo ao tecido pulpar (Tem-Cate, 2008). Esta característica do tecido dentinário é responsável por sua característica altamente permeável sendo que a exposição dentinária representa a principal via de acesso para bactérias e seus subprodutos alcançarem a cavidade pulpar uma vez que o diâmetro dos túbulos dentinários é inteiramente compatível com aquele da maioria das bactérias encontradas na cavidade oral. Entretanto, a velocidade da invasão bacteriana via túbulos dentinários está diretamente relacionada com a condição do tecido pulpar.

Nos dentes vitais, a presença do próprio prolongamento citoplasmático do odontoblasto e do fluido dentinário, além de outros fatores tais como a deposição de

proteínas plasmáticas, como o fibrinogênio, e de anticorpos e componentes do sistema do complemento presentes no fluido dentinário podem retardar ou mesmo impedir a progressão de microrganismos através dos túbulos (Nagaoka et al, 1995; Love e Jenkinson, 2002;).

Por outro lado, túbulos dentinários de dentes necrosados ou tratados endodonticamente, são facilmente invadidos por bactérias (Nagaoka et al., 1995). A presença da lesão cáriosa representa a fonte mais comum de infecção da cavidade pulpar especialmente nas cavidades profundas quando a espessura da dentina atinge, no máximo 0,2 mm entre a cárie e o teto da câmara pulpar. A invasão bacteriana se dá pelo processo de proliferação da célula bacteriana podendo ser favorecida também pelo processo de mastigação (Hoshino et al., 1992).

Entretanto, deve-se ter em mente que, mesmo antes da invasão bacteriana no tecido pulpar, seus sub-produtos tais como enzimas, compostos sulfurados e amônia difundem-se através do fluido e alcançam o tecido pulpar induzindo alterações inflamatórias (Nissam et al., 1995; Khabbaz et al., 2000).

2.2 - Exposição da Cavidade Pulpar

A exposição direta do tecido pulpar pode ser traumática, iatrogênica, durante um procedimento operatório, ou em decorrência da cárie, colocando desta forma a cavidade pulpar em contato com o ambiente séptico da cavidade oral. Uma grande quantidade de microrganismos oriundos principalmente da saliva passam a colonizar a superfície do tecido pulpar descarregando grandes concentrações de produtos tóxicos que induzem o processo de inflamação pulpar.

A porção tecidual em contato direto com os microrganismos acaba por necrosar e não oferece resistência à invasão bacteriana que, através da proliferação celular, avança apicalmente no tecido pulpar provocando mais inflamação, necrose e infecção. Cria-se assim um ciclo que culmina com o comprometimento de todo o tecido pulpar.

A invasão bacteriana após a exposição direta do tecido pulpar também apresentará padrões diferenciados de acordo com a condição previa do tecido pulpar. Uma polpa vital sadia, exposta por trauma, apresenta mecanismos de defesa eficientes capazes de conter a invasão bacteriana, restringindo o processo inflamatório à região subjacente à área da exposição.

A exposição experimental de polpas de macacos demonstrou que após 1 semana de exposição o infiltrado inflamatório se restringia a 2 mm abaixo do sítio de exposição. Após 1 mês de exposição a polpa ainda apresentava características de vitalidade embora o infiltrado inflamatório tenha sido observado mais profundamente no tecido pulpar (Cvek, 1992).

2.3 - Periodonto

Microrganismos presentes na bolsa periodontal podem atingir a câmara pulpar, utilizando-se dos túbulos dentinários expostos na junção esmalte cimento ou após a remoção do cimento durante os procedimentos de raspagem ou curetagem da superfície radicular durante um tratamento periodontal. Além disso, bactérias presentes na bolsa periodontal podem ter acesso ao SCR através de canais laterais ou acessórios ou mesmo do forame apical. Esta via retrograda de infecção do SCR é conhecida como lesão de endopério.

Existem evidências de que a contaminação da cavidade pulpar a partir do ligamento periodontal só acontece quando a doença periodontal atinge o forame apical lesando o feixe vaso-nervoso apical e causando a necrose do tecido pulpar (Langeland et al., 1974). Estudos microbiológicos de dentes necrosados com bolsas periodontais profundas sugerem que a infecção pulpar teve origem na bolsa periodontal (Kobayashi et al, 1990; Kurihara et al., 1995).

2.4 - Via Anacorética

Desde os estudos clássicos de Sundqvist (1976), a presença de microrganismos tem sido relatada no SCR de dentes hígidos (Bruno et al, 2009).

A via anacorética tem sido proposta para explicar o desenvolvimento de infecções endodônticas em dentes hígidos. Proposta por Grossman (1967) esta via se baseia na atração de microrganismos presentes na circulação durante uma bacteremia transitória pelo tecido pulpar necrosado ou isquêmico devido à ruptura do feixe vascular. Esta via foi demonstrada em estudos experimentais (Gier e Mitchell, 1968; Delivanis et al,1981) mas não pode ser comprovada no estudo realizado por Möller et al (1981), no qual polpas de macacos induzidas à necrose asséptica permaneceram isentas de germes após um período de 6 a 7 meses, o que depõe contra a teoria da via anacorética.

Outra hipótese para explicar a infecção endodôntica em dentes traumatizados sem exposição pulpar seria a presença de trincas no esmalte que, mesmo imperceptíveis clinicamente, permitem o acesso de bactérias aos túbulos dentinários. Na ausência do fluido dentinário, os túbulos representam uma via de acesso direto até o tecido pulpar necrosado que não oferece resistência à invasão bacteriana que se dá por meio de proliferação celular (Love, 1996, 2002, 2004).

3 DETERMINANTES ECOLÓGICOS DA MICROBIOTA ENDODÔNTICA

A biologia dos microrganismos que colonizam o SCR é regulada por muitos fatores. Inicialmente, uma seleção já acontece dependendo da via de acesso para que os microrganismos cheguem ao SCR, conforme descrito no item anterior. Enquanto uma comunicação aberta entre a cavidade pulpar e a cavidade oral permite que toda a flora presente na saliva e na placa bacteriana tenha acesso ao SCR, a invasão bacteriana via lesão cáriosa seleciona as bactérias penetrantes para predominantemente incluir estreptococos e bastonetes Gram-positivos facultativos e anaeróbios. Uma triagem mais seletiva ainda ocorre na via retrograda e na via anacorética.

Entretanto, após atingirem a cavidade pulpar, outros determinantes ecológicos tais como o potencial de oxirredução, a disponibilidade de nutrientes e as interações microbianas exercem uma pressão seletiva sobre os microrganismos que conseguem atingir a cavidade pulpar determinando quais deles serão capazes de colonizar o SCR (Sunqvist, 1992; 1994).

3.1 - Potencial de Oxirredução – Redox

De um modo geral, o potencial redox de um substrato pode ser entendido como a quantidade de oxigênio disponível uma vez que é o fator que mais contribui para o aumento do potencial redox. O agente oxidante, no caso o oxigênio oxida nutrientes; ao ser reduzido, ou seja, ao ganhar elétrons.

Os microrganismos variam no grau de sensibilidade ao potencial redox do meio de multiplicação e podem, de acordo com o Eh requerido, ser divididos em grupos, como: Aeróbios: exigem Eh positivo para o seu crescimento (presença de oxigênio); anaeróbios: requerem Eh negativo para seu crescimento (ausência de oxigênio) sendo que o oxigênio chega a ser tóxico para a célula, porque gera peróxidos letais ao microrganismo; facultativos: multiplicam-se em Eh positivo e negativo. Imediatamente antes da instalação do processo infeccioso, as condições da

cavidade pulpar favorecem microrganismos aeróbios que, por este motivo, são os primeiros colonizadores do SCR.

Com a evolução do processo infeccioso e da necrose pulpar ocorre uma diminuição do aporte sanguíneo e conseqüentemente, menor disponibilidade de oxigênio fazendo com que haja uma diminuição do potencial Eh o que contribui para a dominância das bactérias anaeróbias.

Na dinâmica de uma infecção endodôntica, anaeróbios estritos são invasores secundários. Nos estágios iniciais, bactérias anaeróbias facultativas são a maioria. Em, aproximadamente, sete dias após o estabelecimento da infecção, 50% da microbiota já é composta de anaeróbios obrigatórios. Em três meses, a proporção desses anaeróbios pode chegar a 85% e, em seis meses, 90% (Fabricius, 1982).

3.2 - Disponibilidade de Nutrientes

A disponibilidade de nutrientes também representa um importante fator determinante da colonização microbiana sendo que as possíveis fontes de nutrientes no SCR são o próprio tecido pulpar necrótico, a difusão do exsudato inflamatório e fluidos corporais através do forame apical e canais laterais, acessórios e túbulos dentinários expostos ao ligamentos periodontal e a difusão de fluido bucal via lesão cariada e túbulos dentinários, ou por infiltração do material obturador.

Estudos experimentais sugerem que no SCR acontecem três fases nutritivas: na primeira fase, os carboidratos seriam utilizados, gerando ácido láctico e fórmico; subsequentemente, proteínas sofreriam hidrólise, alguns aminoácidos passariam a ser fermentados e os carboidratos restantes, derivados de glicoproteínas séricas, seriam mobilizados; e, na terceira e última fase, ocorreria a progressiva degradação proteica, com expressiva fermentação de aminoácidos e peptídeos (Sundqvist, 1992).

Desta forma, a sucessão de nutrientes disponíveis - carboidratos, proteínas, glicoproteínas e aminoácidos, respalda a sequência de eventos que faz com que a

microbiota, inicialmente sacarolítica, passe gradualmente a ser dominada por microrganismos proteolíticos num processo dinâmico de infecção do SCR.

3.3- Interações Microbianas

A interação microbiana é outro mecanismo principal que regula a flora do SCR. De modo geral, nas interações de sinergismo ou cooperação os produtos do metabolismo de um microrganismo é utilizado como fonte de nutrientes essenciais por outro membro da comunidade bacteriana. Estas interações foram primeiramente descritas por Sundqvist (1992) que demonstrou a chance de certas bactérias serem encontradas juntas na flora do canal radicular. Essas interações são geralmente as mesmas que aquelas encontradas na placa subgengival, no dorso da língua e nas criptas das tonsilas.

Cocos anaeróbios produtores de pigmento negro (*Prevotella* e *Porphyromonas*) são exemplos de bactérias que possuem requerimentos nutricionais muito específicos. Os mesmos são dependentes de vitamina K e hemina. A vitamina K pode ser produzida por outras bactérias (Gibbons et al 1964). A hemina se torna disponível quando a hemoglobina é quebrada, porém algumas bactérias podem produzi-la.

No ambiente endodôntico, também podem ocorrer interações de antagonismo nas quais substâncias oriundas do metabolismo de um determinado microrganismo inibem ou inviabilizam a sobrevivência de outros microrganismos num mesmo habitat. Como exemplos podemos citar, entre outros, o peróxido de hidrogênio, tóxico a bactérias anaeróbias e o lactato, oriundo do metabolismo dos carboidratos, que tem capacidade de acidificar o pH, tendo influência sobre microrganismos ácido-lábeis e selecionando os ácidos resistentes (Estrela, 2004).

Além destas interações, a agregação bacteriana é um outro parâmetro a ser considerado na ecologia do ecossistema do SCR. Grandes aglomerações bacterianas podem ser encontradas aderidas às paredes do canal formando biofilmes, altamente organizados, sugerindo a formação de uma comunidade clímax, onde os microrganismos se encontram em equilíbrio dinâmico entre si e com o meio (Siqueira Jr. et al, 2002).

Nestas comunidades, cada espécie exerce um papel específico importante para a própria manutenção da comunidade. Quanto mais organizada esta comunidade maior o seu potencial patogênico e mais difícil será a sua eliminação durante a terapia endodôntica, pois bactérias compondo biofilmes também foram observadas se estendendo para o interior dos túbulos dentinários sugerindo que também nesta região existe disponibilidade de nutrientes (Siqueira Jr. et al, 1996; Peters et al., 2001; Siqueira Jr. et al, 2002).

4 CARACTERIZAÇÃO DA MICROBIOTA ENDODÔNTICA

A caracterização da microbiota endodôntica tem sido objeto de uma vasta gama de estudos e a interpretação e análise destes resultados deve levar em consideração fatores técnicos relacionados à metodologia empregada nos diferentes tipos de estudos para a identificação dos microrganismos e os aspectos clínicos tais como o tipo de infecção.

4.1 - Considerações Técnicas

Os primeiros relatos de microrganismos no SCR datam do século passado com os estudos pioneiros do século passado realizados por Miller em 1894. Este estudioso foi o primeiro a descrever a presença de uma microbiota característica do SCR que variava de acordo com a exposição ou não da cavidade pulpar e de acordo com a região do canal radicular canal uma vez que a flora microbiana foi diferente nos terços coronal, médio e apical do canal radicular. Estes estudos deram origem à uma primeira fase do estudo da microbiota endodôntica cujos resultados ressaltavam a presença de microrganismos facultativo e/ou aero tolerantes, compreendendo, principalmente, estreptococos alfa e gama e enterococos e, com menor frequência, estafilococos coagulase-positivos e estreptococos β -hemolíticos.

A segunda fase das pesquisas em microbiologia endodôntica teve início com os trabalhos clássicos de Möller (1966) e Sundqvist (1976) a partir do aperfeiçoamento da técnica bacteriológica. Procedimentos assépticos de coleta de amostra, métodos de transporte do material capazes de proteger os microrganismos oxigênio-lábeis, meios de cultura ricos em nutrientes e técnicas anaeróbias de manipulação e incubação do material permitiram reconhecer a presença e a significância dos microrganismos anaeróbios nas infecções endodônticas e periapicais.

Por fim, mais recentemente, o advento de métodos sofisticados de biologia molecular deram início à terceira fase das pesquisa sobre microrganismos da cavidade endodôntica. Estes métodos não só confirmaram a maioria dos estudos anteriores usando o método de cultura, como também permitiram expandir

significativamente a lista de patógenos endodônticos putativos uma vez que permitiu o reconhecimento de novos patógenos que jamais haviam sido identificados em canais pelos métodos de cultura (Siqueira e Roças, 2003; 2005).

A superioridade dos métodos genéticos em detectar a presença de bactérias no canal radicular se dá pelo fato de que inúmeras espécies são incultiváveis, e ainda não foram caracterizadas e desse modo permanecem indetectáveis em estudos por métodos tradicionais de identificação (Tavares e Silva, 2011).

Além disso, a aplicabilidade de métodos moleculares não é efetiva somente na detecção de bactérias incultiváveis, mas também na identificação mais confiável de diversas espécies bacterianas, particularmente aqueles que necessitam de nutrientes específicos e são consequentemente difíceis de crescer em meios de cultura (Tavares e Silva, 2011).

Inúmeras espécies bacterianas só foram identificadas a partir da utilização de métodos moleculares, dentre estas pode-se citar *Tannerella forsythia*, *Treponema s*, *Prevotella tanneriae*, *Filifactor alocis*, *Dialister pneumosintes*, *Haemophilus aphrophilus*, *Eubacterium infirmum*, e *Centipeda periodontii*, todos reconhecidos como patógenos periodontais (Tavarese Silva, 2011).

Um dos métodos genéticos citados na literatura para a identificação de microrganismos presentes no canal radicular é a Reação de cadeia da polimerase (PCR) seguida do sequenciamento genético. Gabardo *et al.* (2009) também relataram que através da utilização da Reação de cadeia da polimerase (PCR) foi possível identificar uma nova espécie de *actinomiceto*, o *Actinomyces radidentis*, que estava relacionado com um caso de insucesso terapêutico. O mesmo se deu com o *Treponema denticola*, localizado em infecções endodônticas. A presença deste último microrganismo não pôde ser relacionada aos sinais ou sintomas específicos de patologias endodônticas. Trata-se de um microrganismo Gram-negativo, anaeróbio estrito e com diversos fatores de virulência, o que aponta para a necessidade de atenção quanto a uma possível relação com a patogênese de lesões periapicais. Além de ser empregada na identificação de espécies, variações da PCR tornaram-se valiosos instrumentos para a investigação da diversidade clonal

de patógenos associados com comprometimento endodôntico, como o caso do *Fusobacterium nucleatum* presente na polpa necrosada (Gabardo *et al.* 2009).

A microscopia eletrônica também é um recurso que permite a observação de cocos e de fungos no forame apical. Por meio dela são encontradas no ápice radicular pela investigação molecular: *Pseuramibacter alactolyticus* gen. nov., comb. nov. (*Eubacterium alactolyticum*), *Treponema denticola*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas endodontalis*, *Filifactor alocis* comb. nov. (*Fusobacterium alocis*), *Dialister pneumosintes*, *Porphyromonas gingivalis* e *Tannerella forsythensis* corrig. gen. nov., comb. nov. (*Bacteroides forsythus*) (Siqueira *et al.*, 2011).

Técnicas como a impressão, como a eletroforese em gel por gradiente de desnaturação (DGGE), e o polimorfismo de comprimento do fragmento por restrição terminal (T-RFLP), também tem sido empregadas com eficácia para determinar a estrutura da comunidade microbiana. A hibridização por fluorescência in situ (FISH) pode medir a abundância de espécies a prover informação da distribuição espacial nos tecidos. Dentre outras aplicações, os micro e macro ensaios de hibridização DNA-DNA, PCR espécie-específica, nested PCR, Multiplex PCR, e real-time PCR são técnicas que podem ser utilizadas para avaliar um grande número de amostras clínicas frente a várias espécies alvo.

O Checkerboard DNA–DNA hybridization é uma técnica molecular que permite a identificação de uma grande variedade de espécies bacterianas de várias amostras clínicas utilizando apenas uma única membrana de nylon. Esta técnica tem sido utilizada com sucesso no estudo da microbiota da saliva (Sachdeo *et al.* 2008), na placa supragengival (Haffajee *et al.* 2008), placa subgengival (Haffajee *et al.* 2008, Teles *et al.* 2008), tecidos moles orais (Mager *et al.* 2003, Sachdeo *et al.* 2008), dentaduras (Sachdeo *et al.* 2008), implantes (Gerber *et al.* 2006) e infecções endodônticas (Siqueira *et al.* 2000, Brito *et al.* 2007, Sassone *et al.* 2007, 2008, Tavares *et al.* 2011).

4.2 - Considerações Clínicas

As infecções endodônticas apresentam uma natureza polimicrobiana com um evidente predomínio de bactérias anaeróbias estritas, principalmente nas infecções primárias, independentemente da metodologia adotada. A composição da microbiota pode variar entre indivíduos, entre os tipos de infecção, se primária ou secundária, de acordo com o tempo de infecção, de acordo com o quadro clínico e ainda de acordo com a localização geográfica (Siqueira e Roças, 2009).

Métodos de cultura e de biologia molecular tem coletivamente revelado a natureza polimicrobiana das infecções endodônticas com um evidente predomínio de bactérias anaeróbias estritas principalmente nas infecções primárias. Entretanto, outros tipos de microrganismos também foram identificados em menor quantidade nas infecções endodônticas.

Fungos, particularmente espécies de *Cândida*, foram encontrados em infecções primárias (Baumgartner et al., 2000; Lana et al, 2001; Egan et al, 2002; Siqueira Jr. et al, 2002). Archeias, procariontes diferentes das bactérias também foram identificadas no SCR de dentes portadores de lesões perirradiculares crônicas primárias (Vianna et al., 2006; Vickerman et al., 2007).

A presença de vírus no SCR foi relatada em dentes vitais de pacientes portadores da AIDS (Glick et al, 1991) e herpes vírus foi identificado em lesões perirradiculares tendo sido implicados na etiopatogenia das lesões perirradiculares seja através de um mecanismo de ação direta da infecção viral seja através de um mecanismo indireto reduzindo as defesas locais e favorecendo a proliferação bacteriana na porção mais apical do canal radicular (Siqueira et al., 2011).

Na Tabela 1 abaixo estão apresentados os microrganismos mais frequentemente detectados nas infecções endodônticas, de acordo com o tipo de infecção:

Tabela 1: Infecções endodônticas e microrganismos mais frequentemente detectados

Infecção Primária	Infecção Secundária	Infecção Persistente
<i>Fusobacterium</i>	<i>Enterococcus Klebsiella</i>	<i>Actinomyces</i>
<i>Streptococcus Prevotella</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Enterococcus</i>
<i>Eubacterium</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Eubacterium</i>
<i>Actinomyces</i>	<i>Acinetobacter</i>	<i>Propionibacterium</i>
<i>Campylobacter</i>	<i>Escherichia Fungos</i>	<i>Fungos</i>
<i>Propionibacterium</i>		
<i>Porphyromonas</i>		
<i>Peptostreptococcus</i>		

Fonte: Siqueira Júnior e Lopes (1999)

4.2.1- Infecções Primárias

Na dinâmica de uma infecção endodôntica, as espécies bacterianas que inicialmente penetram o tecido dentinário são as anaeróbias facultativas, como aquelas pertencentes aos gêneros *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus* e microrganismos filamentosos (Siqueira Júnior, 2001). Anaeróbios estritos são invasores secundários sendo que, em, aproximadamente, sete dias após o estabelecimento da infecção, 50% da microbiota já é composta de anaeróbios obrigatórios.

Em três meses, a proporção desses anaeróbios pode chegar a 85% e, em seis meses, 90% (Fabricius, 1982). Infecções primárias normalmente são constituídas por comunidades mistas compostas por 10 a 20 espécies em média com 10^3 a 10^5 células bacterianas por canal.

As bactérias encontradas no SCR pertencem a 9 dos 13 filos existentes na cavidade oral a saber: *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Spirochaetes*, *Fusobacteria*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Synergistes*, TM7 e SR1 (Siqueira et al., 2011). Embora bactérias anaeróbias Gram-negativas sejam as mais frequentes vários bacilos e cocos Gram-positivos também têm sido detectados na microbiota mista do SCR (Siqueira et al., 2009).

Existem evidências de que a microbiota endodôntica em uma infecção primária pode variar de acordo com o tempo de infecção sendo que quanto maior o diâmetro da lesão periapical mais complexa é a microbiota, com mais espécies e maior número de células (Sundqvist, 1976; Figdor e Sundqvist, 2007; Roças e Siqueira, 2008).

Além disso, também foram relatadas diferenças na constituição da microbiota endodôntica de acordo com o tipo de lesão perirradicular, se aguda ou crônica. Estudos transversais sugeriram diferenças nas espécies e na carga bacteriana em canais de dentes sintomáticos em comparação a casos sintomáticos (Sundqvist, 1976; Roças et al, 2002; Roças e Siqueira, 2002; 2005; Siqueira et al., 2004). Além disso, canais associados a fístulas também foram relatados abrigando um maior número de espécies (Roças e Siqueira, 2008).

4.2.1.1 - Infecções Endodônticas em Dentes Decíduos

Bactérias predominantemente anaeróbias constituem fatores primordiais da contaminação da polpa dentária dos dentes decíduos. Bactérias aeróbias e anaeróbias facultativas também participam desta microbiota, principalmente na região coronária de dentes com exposição pulpar por cárie (Godoy, 1999).

A infecção em canais radiculares de dentes decíduos humanos portadores de necrose pulpar e lesão periapical é polimicrobiana, com grande quantidade de microrganismos e maior prevalência de *streptococos* e microrganismos anaeróbios (Pazelli et al., 2003; Ruvierre et al., 2007)).

Utilizando a técnica MDA e do Checkerboard, Tavares et al. (2011) conseguiram detectar a presença de 83 espécies de bactérias em dentes decíduos. As mais presentes neste estudo foram *Prevotella intermedia*, encontradas em 96.9% das amostras, seguida pela *Neisseria mucosa* (65.2%), *Prevotella nigrescens* (56.2%), *Tannerella forsythia* (56.2%), *Prevotella denticola* (53.1%) e *Fusobacterium nucleatum ss vincentii* (50.0%). As espécies menos prevalentes foram *Enterococcus faecalis* (3.2%) e *Eikenella corrodens* (3.1%).

4.2.1.2 - Infecções Endodônticas em Dentes Traumatizados

Referências específicas sobre a microbiota de dentes traumatizados são relativamente raras. Grosman (1967) definiu a anacorese hematogênica como a atração que tecidos inflamados, debilitados ou necrosados exercem sobre bactérias presentes na circulação sanguínea durante uma bacteremia.

Essas bactérias passam a colonizar esses tecidos alterados, estabelecendo, assim, um processo infeccioso. Sundqvist (1976) avaliou as condições bacteriológicas de 32 canais de dentes unirradiculares com coroas intactas, sem cáries ou restaurações, e portadores de necrose pulpar pós trauma.

Seus resultados demonstraram 88 cepas bacterianas isoladas nos dentes portadores de lesões periapicais sendo que 94,3% das cepas isoladas eram anaeróbias. Bruno et al. (2009) avaliaram a presença de microorganismos em dentes humanos traumatizados com coroas intactas e diagnóstico clínico de necrose pulpar. Microorganismos foram identificados em 85% dos dentes, independentemente do fato da coroa estar intacta. Balmotte et al (2010) avaliaram a microbiota endodôntica, em dentes permanentes jovens, com fraturas coronárias sem exposição pulpar, portadores de necrose pós traumáticas. Os autores observaram, utilizando-se da técnica de cultura, que a constituição da microbiota destes canais era semelhante à de dentes permanentes com rizogênese completa.

4.2.2- Infecções Secundárias

As infecções secundárias são causadas por microorganismos que não estavam na infecção primária e que penetram no canal radicular durante o tratamento endodôntico, entre as sessões ou mesmo após a conclusão do tratamento. Algumas espécies que não são membros da microbiota oral tais como *Pseudomonas aeruginosa*, *Escheria Coli* e *Stapylococcus aureus* são mais comumente encontradas em infecções secundárias, sendo introduzidas no canal durante o tratamento endodôntico devido à quebra da cadeia asséptica (Siquera Jr. et al, 2011).

4.2.3- Infecções Persistentes ou Refratárias

As infecções persistentes ou refratárias são causadas por microrganismos remanescentes de infecções primárias ou secundárias, que resistiram aos procedimentos intracanais de desinfecção. A investigação dos microrganismos presentes neste tipo de infecção pode fornecer informações importantes sobre microrganismos que tem o poder de influenciar o prognóstico do tratamento, participando assim da etiologia de infecções refratárias.

Bactérias Gram-positivas facultativas, particularmente *Enterococcus faecalis*, são as predominantes. Fungos também foram encontrados em frequências relativamente altas quando comparados às infecções primárias (Tavares et al, 2011).

Rôças e Siqueira (2011) utilizaram a técnica PCR para caracterizar a microbiota em 47 dentes com canais obturados. Neste estudo os microrganismos mais encontrados foram *E. faecalis* (64%), seguidos pelo *Streptococcus spp.* (21%) e *T. forsythia* (14%).

Zhang et al. (2012) observaram que *P. micra*, *S. moorei*, *Dialister invisus*, *E. faecalis* e *F. nucleatum* foram as espécies mais comuns numa microbiota em dentes com tratamento endodôntico não satisfatório.

Rôças e Siqueira (2012) consideram que a periodontite apical pós tratamento endodôntico é uma doença inflamatória que causa muito mal estar devido a infecção persistente. Os autores destacam que em dentes tratados endodonticamente estudos moleculares tem revelado que a *Enterococcus faecalis* é a bactéria mais frequente. Além disso, a taxa relacionada com vários outros gêneros, incluindo *Streptococcus*, *Dialister*, *Fusobacterium*, *Filifactor*, *Parvimonas*, *Prevotella*, *Propionibacterium*, e *Pyramidobacter*, também foram detectados em dentes já tratados endodonticamente.

5 CONCLUSÕES

As infecções endodônticas representam a principal causa de alterações pulpares e periapicais.

A exposição do complexo dentina-polpa resultante de lesões cariosas ou traumáticas, representa a principal via de infecção do SCR.

A colonização do SCR, bem como a composição da microbiota endodôntica é influenciada por alguns fatores como a disponibilidade de oxigênio, o pH do ambiente, disponibilidade de nutrientes, interação bacteriana e o mecanismo de defesa do hospedeiro.

Dentre as técnicas disponíveis para identificação de microrganismos no SCR pode-se citar os métodos de cultura, métodos moleculares e métodos genéticos.

As infecções endodônticas são polimicrobianas sendo que a quantidade de microrganismos, bem como a composição da microbiota podem variar de acordo com o tipo de infecção – se primária, secundária ou refratária e de acordo com a metodologia empregada para identificação dos microrganismos.

Nas infecções endodônticas primárias predominam as espécies anaeróbias facultativas, como aquelas pertencentes aos gêneros *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus* e microrganismos filamentosos.

Nas infecções secundárias predominam as espécies *Pseudomonas aeruginosa*, *Escheria Coli* e *Stapylococcus aureus*.

A microbiota de dentes com insucesso do tratamento endodôntico é composta predominantemente de bactérias gram-positivas anaeróbias facultativas.

A microbiota na dentição decídua possui características similares àquela apresentada na dentição permanente.

O *Enterococcus faecalis* vem sendo considerado como a principal espécie encontrada nos casos do sistema de canais radiculares obturados com lesões perirradiculares.

REFERÊNCIAS

- ALVES, F. R. F. Compreendendo a etiologia microbiana das infecções endodônticas. **Rev. biociênc.**, Taubate, v.10, n. 1-2, p. 67-71, jan./jun. 2004.
- BAUMGARTNER JC, WATTS CM, XIA T. Occurrence of *Candida albicans* in infections of endodontic origin. **J Endod.** 2000 Dec; 26(12):695-8.
- BAUMOTTE, K; BOMBANA, C.; CAI, S. AntoniMicrobiologic endodontic status of young traumatized tooth. **Dental Traumatology**; v. 27, p. 438-441, 2011.
- BERGENHOLTZ G. Micro-organisms from necrotic pulp of tramatized teeth. **Odontol Revy.** 1974, 25 (4); 347-58.
- BRAUNER, A. W.; CONRADS, G. Studies into the microbial spectrum of apical periodontitis. **Int. Endod. J.**, v. 28, n. 5, p. 244-281, 1995.
- BRITO LC, TELES FR, TELES RP, FRANÇA EC, RIBEIRO-SOBRINHO AP, HAFFAJEE AD, SOCRANSKY SS. Use of multiple-displacement amplification and checkerboard DNA-DNA hybridization to examine the microbiota of endodontic infections. **J Clin Microbiol.** 2007 Sep;45(9):3039-49. Epub 2007 Jul 18.
- BROSCO VH, BERNARDINELI N, TORRES SA, CONSOLARO A, BRAMANTE CM, DE MORAES IG, GARCIA RB. Bacterial leakage in root canals obturated by different techniques. Part 1: microbiologic evaluation. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2008 Jan; 105(1):e48-53.
- BRUNO, K. F.; ALENCAR, A. H.; ESTRELA, C.; BATISTA, A. Microbiological and microscopic analysis of the pulp of non-vital traumatized teeth with intact crowns. **J Appl Oral Sci.**; v. 17, n. 5, p. 508-14, Sep-Oct, 2009.
- CVEK M. Prognosis of luxated non-vital maxillary incisors treated with calcium hydroxide and filled with gutta-percha. A retrospective clinical study. **Endod Dent Traumatol.** 1992 Apr; 8(2):45-55.
- DAHLÉN, G.; MOLLER, A. J. R. Microbiology of endodontic infections. In: SLOTS, J.; TAUBMAN, M.A. **Contemporary Oral Microbiology and Immunology.** St. Louis: Mosby, cap. 24, p. 444-475, 1992.
- DELIVANIS PD, SNOWDEN RB, DOYLE RJ. Localization of blood-borne bacteria in instrumented unfilled root canals. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol.** 1981 Oct; 52(4):430-2.
- DEPLAZES P, PETERS O, BARBAKOW F. Comparing apical preparations of root canals shaped by nickel-titanium rotary instruments and nickel-titanium hand instruments. **J Endod.** 2001 Mar; 27(3):196-202.

EGAN MW, SPRATT DA, NG YL, LAM JM, MOLES DR, GULABIVALA K Prevalence of yeasts in saliva and root canals of teeth associated with apical periodontitis. **Int Endod J**. 2002 Apr;35(4):321-9.

ESTRELA, C. R. A. **Eficácia antimicrobiana de soluções irrigadoras de canais radiculares**. (Dissertação). 95f. Mestrado profissional em Medicina Tropical. Universidade Federal de Goiás, Goiânia. 2000.

FABRICIUS L, DAHLÉN G, OHMAN AE, MÖLLER AJ. Predominant indigenous oral bacteria isolated from infected root canals after varied times of closure. **Scand J Dent Res**. 1982 Apr;90(2):134-44.

GABARDO, M. C. L. Microbiologia do insucesso do tratamento endodôntico. **Revista Gestão & Saúde**, Curitiba, v. 1, n. 1, p. 11-17. 2009.

GEORGE, M.; IVANCAKOVÁ, R. Root Canal Microflora. **Acta Medica**, v. 50, n. 1, p. 7-15, 2007.

GERBER J, WENAWESER D, HEITZ-MAYFIELD L, LANG NP, PERSSON GR. Comparison of bacterial plaque samples from titanium implant and tooth surfaces by different methods. **Clin Oral Implants Res**. 2006 Feb; 17(1):1-7.

GIBBONS RJ, ENGLE LP. Vitamin k compounds in bacteria that are obligate anaerobes. **Science**. 1964 Dec 4; 146(3649):1307-9.

GIER RE, MITCHELL DF. Anachoretic effect of pulpitis. **J Dent Res**. 1968 Jul-Aug; 47 (4):564-70.

GLICK M, TROPE M, BAGASRA O, PLISKIN ME. Human immunodeficiency virus infection of fibroblasts of dental pulp in seropositive patients. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**. 1991 Jun;71(6):733-6.

GODOY, V. L. **Distribuição de bactérias planctônicas, colônias bacterianas e biofilmes microbianos em dentes decíduos com pulpite ou necrose pulpar**. (Tese de Doutorado). 163f. Faculdade de Odontologia de Baurú. Área de Odontopediatria. Baurú, 1999.

GROSSMAN LI. Origin of microorganisms in traumatized, pulpless, sound teeth. **J Dent Res**. 1967; 46: 551-53.

HOSHINO E, ANDO N, SATO M, KOTA K. Bacterial invasion of non-exposed dental pulp. **Int Endod J**. 1992 Jan;25(1):2-5.

JESUS, G. E. M.; ANJOS NETO, D. A. Microbiologia associada às lesões periapicais. Cadernos de Graduação. **Ciências Biológicas e da Saúde**, Aracaju, v. 1, n.17, p. 125-134, out. 2013.

KAKEHASHI S, STANLEY HR, FITZGERALD RJ. The effects of surgical exposures of dental pulps in germfree and conventional laboratory rats. **J South Calif Dent Assoc**. 1966 Sep; 34(9):449-51.

KHABBAZ MG, ANASTASIADIS PL, SYKARAS SN. Determination of endotoxins in caries: association with pulpal pain. **Int Endod J**. 2000 Mar; 33(2):132-7.

KOBAYASHI T, HAYASHI A, YOSHIKAWA R, OKUDA K, HARA K. The microbial flora from root canals and periodontal pockets of non-vital teeth associated with advanced periodontitis. **Int Endod J**. 1990 Mar; 23(2):100-6.

KURIHARA H, KOBAYASHI Y, FRANCISCO IA, ISOSHIMA O, NAGAI A, MURAYAMA Y. A microbiological and immunological study of endodontic-periodontic lesions. **J Endod**. 1995 Dec; 21(12):617-21.

LANA MA, RIBEIRO-SOBRINHO AP, STEHLING R, GARCIA GD, SILVA BK, HAMDAN JS, NICOLI JR, CARVALHO MA, FARIAS LDE M. Microorganisms isolated from root canals presenting necrotic pulp and their drug susceptibility in vitro. **Oral Microbiol Immunol**. 2001 Apr; 16(2):100-5.

LANGELAND K, RODRIGUES H, DOWDEN W. Periodontal disease, bacteria, and pulpal histopathology. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**. 1974 Feb; 37(2):257-70.

LOVE RM, JENKINSON HF. Invasion of dentinal tubules by oral bacteria. **Crit Rev Oral Biol Med**. 2002; 13(2):171-83.

MAGER DL, XIMENEZ-FYVIE LA, HAFFAJEE AD, SOCRANSKY SS. Distribution of selected bacterial species on intraoral surfaces. **J Clin Periodontol**. 2003 Jul; 30(7):644-54.

MURAD C, FARINIUK LF, FIDEL S, FIDEL RA, SASSONE LM. Bacterial leakage in root canals filled with calcium hydroxide paste associated with different vehicles. **Braz Dent J**. 2008; 19(3):232-7.

NAGAOKA S, MIYAZAKI Y, LIU HJ, IWAMOTO Y, KITANO M, KAWAGOE M. Bacterial invasion into dentinal tubules of human vital and nonvital teeth. **J Endod**. 1995 Feb; 21(2):70-3.

NOBREGA, L. M. M. et al. Treponema diversity in root canals with endodontic failure. **European Journal of Dentistry**, v. 7, jan. p. 61-68, 2013,

PAZELLI LC, FREITAS AC, ITO IY, SOUZA-GUGELMIN MC, MEDEIROS AS, NELSON-FILHO P. Prevalence of microorganisms in root canals of human deciduous teeth with necrotic pulp and chronic periapical lesions. **Pesqui Odontol Bras**. 2003 Oct-Dec; 17(4):367-71. Epub 2004 Apr 19.

RÔÇAS, I. N.; SIQUEIRA, J. E. Comparison of the in vivo antimicrobial effectiveness of sodium hypochlorite and chlorhexidine used as root canal irrigants: a molecular microbiology study. **J. Endod.**; v. 37, n. 2, p. 143-50, feb. 2011.

RÔÇAS, I. N.; SIQUEIRA, J. E. Characterization of Microbiota of Root Canal-Treated Teeth with Posttreatment Disease. **Journal of Clinical Microbiology**; v.50, n. 5, p. 1721-724. 2012.

RUVIÉRE DB, LEONARDO MR, DA SILVA LA, ITO IY, NELSON-FILHO P. Assessment of the microbiota in root canals of human primary teeth by checkerboard DNA-DNA hybridization. **J Dent Child (Chic)**. 2007 May-Aug; 74(2):118-23.

SACHDEO A, HAFFAJEE AD, SOCRANSKY SS. Biofilms in the edentulous oral cavity. **J Prosthodont**. 2008 Jul; 17(5):348-56. doi: 10.1111/j.1532-849X.2008.00301.x.

SILVA, L. A. B.; PERASSI, F. T.; IVO, I.Y.; YAMASHITA, J. C. A presença de fungos nas infecções endodônticas. **Faculdade de Odontologia de Lins**. UNIMEP, v.12, n. 2, jan./dez. 2000.

SIQUEIRA JÚNIOR, J. F.; DE UZEDA M.; FONSECA M. E. A scanning electron microscopic evaluation of in vitro dentinal tubules penetration by selected anaerobic bacteria. **J. Endod.** v. 22, n. 6, p. 308-310, 1996.

SIQUEIRA JÚNIOR, J. F.; LOPES, H. P. **Endodontia: biologia e técnica**. Rio de Janeiro: Medsi, 1999, 650 p.

SIQUEIRA JÚNIOR, J. F. Endodontic infections: concepts, paradigms and perspectives. **Oral Surg. Oral Med. Oral Path.**, v. 94, n. 3, p. 281-293, Sept. 2002.

SIQUEIRA JR., J. F.; RÔÇAS, I. N. Clinical Implications and Microbiology of Bacterial Persistence after Treatment Procedures. **J Endod**, v. 34, n. 11, p.129-130, 2008.

SIQUEIRA, J. F. et al. Bacterial Leakage in Coronally Unsealed Root Canals Obturated with 3 Different Techniques. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 90, n. 5, p. 647-650, nov. 2011.

SKUČAITĖ, N.; PEČIULIENĖ, V.; MAČIULSKIENĖ, V. Microbial infection and its control in cases of symptomatic apical periodontitis: a review. **Medicina (Kaunas)**, v. 45, n. 5, p. 343- 350, 2008.

SUNDQVIST G. Ecology of the root canal flora. **J Endod**. 1992 Sep; 18(9):427-30.

SUNDQVIST G. Taxonomy, ecology, and pathogenicity of the root canal flora. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**. 1994 Oct; 78(4):522-30.

TAKLAN, S. A Bacteriological Study of the Pulp of Intact Non-vital Teeth. **International Endodontic Journal**. Volume 7, Issue 2, pages 75–77, July 1974. Article first published online: 25 SEP 2007 | DOI: 10.1111/j.1365-2591.1974.tb01125.x

TAVARES, W. L.; TELES, R.P.; MASSARA, M. L.; RIBEIRO SOBRINHO, A. P.; HAFFAJEE, A. D.; SOCRANSKY, S. S.; NEVES DE BRITO, L.C. Microbiota of deciduous endodontic infections analysed by MDA and Checkerboard DNA-DNA hybridization. **Int Endod J.**; v. 44, n.3, p. 225-35, mar. 2011.

TAVARES, F. A.; SILVA, D. V. **Microbiologia endodôntica: uma revisão do processo.** (Monografia). 38f. Especialização em Endodontia. Instituto de Educação em Saúde – IES. Belo Horizonte, 2011.

TROPE M, CHOW E, NISSAN R. In vitro endotoxin penetration of coronally unsealed endodontically treated teeth. **Endod Dent Traumatol.** 1995 Apr; 11(2):90-4.

VIANNA ME, CONRADS G, GOMES BP, HORZ HP. Identification and quantification of archaea involved in primary endodontic infections. **J Clin Microbiol.** 2006 Apr; 44(4):1274-82.

VICKERMAN MM, BROSSARD KA, FUNK DB, JESIONOWSKI AM, GILL SR. Phylogenetic analysis of bacterial and archaeal species in symptomatic and asymptomatic endodontic infections. **J Med Microbiol.** 2007 Jan; 56(Pt 1):110-8.

YOUNG G, TURNER S, DAVIES JK, SUNDQVIST G, FIGDOR D. Bacterial DNA persists for extended periods after cell death. **J Endod.** 2007 Dec; 33(12):1417-20. Epub 2007 Oct 22.

ZHANG, C. et al. Microbial diversity in failed endodontic rootfilled teeth. **Chin. Med. J.**, v. 125, n. 6, p .1163-1168, 2012.