

UNILEÃO  
CENTRO UNIVERSITÁRIO

CURSO DE GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

ANA HELOISA ELIAS LACERDA GUIMARÃES

**MICROBIOLOGIA DO BIOFILME EXTRARADICULAR EM LESÕES APICAIS  
PERSISTENTES**

JUAZEIRO DO NORTE-CE  
2019

ANA HELOISA ELIAS LACERDA GUIMARÃES

**MICROBIOLOGIA DO BIOFILME EXTRARADICULAR EM LESÕES APICAIS  
PERSISTENTES: REVISÃO DE LITERATURA.**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Odontologia do Centro Universitário Doutor Leão Sampaio, como pré-requisito para obtenção do grau de Bacharel.

Orientador: Me. Isaac de Sousa Araújo

JUAZEIRO DO NORTE-CE  
2019

ANA HELOISA ELIAS LACERDA GUIMARÃES

**MICROBIOLOGIA DO BIOFILME EXTRARADICULAR EM LESOES  
APICAIS PERSISTENTES**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Odontologia do Centro Universitário Doutor Leão Sampaio, como pré-requisito para obtenção do grau de Bacharel.

Aprovado em 09/12/2019.

BANCA EXAMINADORA

Isaac de Souza Araújo  
PROFESSOR (A) MESTRE (A) ISAAC DE SOUZA ARAÚJO

ORIENTADOR (A)

Aracelio Viana Colares  
PROFESSOR (A) DOUTOR (A) ARACELIO VIANA COLARES

MEMBRO EFETIVO

Renata Evaristo Rodrigues da Silva  
PROFESSOR (A) MESTRE (A) RENATA EVARISTO RODRIGUES DA SILVA

MEMBRO EFETIVO

## RESUMO

O biofilme extrarradicular é formado por um conglomerado de bactérias que persistem ao tratamento e ao retratamento endodôntico, e se encontra na porção externa do ápice dentário, mantendo e dando maior virulência a lesão periapical. Este trabalho tem por objetivo, descrever, através de uma revisão da literatura, os principais tipos bacterianos encontrados em amostras de biofilmes extrarradiculares em lesões apicais persistentes, caracterizando o perfil dessas espécies microbianas. Para tanto, foi realizado um levantamento bibliográfico nas bases de dados PubMed e SciELO, utilizando as palavras-chave “biofilme extrarradicular”, “microbiota”, e “lesões perirradiculares”, em português e inglês, selecionando, assim, 09 artigos para compor a pesquisa. As espécies bacterianas associadas a formação/composição de biofilmes extrarradiculares mais descritas na literatura foram as seguintes: *Fusobacterium nucleatum*, *Actinomyces*, *Porphyromonas*, *Propionibacterium*, entre outras em minoria. Houve um equilíbrio entre bactérias Gram positivas e negativas, porém estas são predominantemente anaeróbias. Por fim, constata-se que a flora que compõe o biofilme é muito diversa, necessitando ainda de estudos mais aprofundados sobre sua colonização e virulência.

**Palavras-chave:** Endodontia. Periodontite apical. Biofilmes.

## ABSTRACT

The extraradicular biofilm is formed by a conglomerate of bacteria that persists to endodontic treatment and retreatment, and is located in the external portion of the dental apex, maintaining and giving greater virulence to the periapical lesion. This paper aims to describe, through a literature review, the main bacterial types found in extraradicular biofilm samples in persistent apical lesions, characterizing the profile of these microbial species. For this, a bibliographic survey was conducted in the PubMed and SciELO databases, using the keywords “extraradicular biofilm”, “microbiota”, and “periradicular lesions”, in Portuguese and English, thus selecting 09 articles to compose the article. search. The bacterial species associated with formation / composition of extraradicular biofilms most described in the literature were: *Fusobacterium nucleatum*, *Actinomyces*, *Porphyromonas*, *Propionibacterium*, among others in the minority. There was a balance between Gram positive and negative bacteria, but these are predominantly anaerobic. Finally, it is found that the flora that makes up the biofilm is very diverse, requiring further studies on its colonization and virulence.

**Keyword:** Endodontics. Apical periodontitis. Biofilms.

## **LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1 – Distribuição das variáveis de análise dos artigos que compuseram a amostra.....</b>	<b>14</b>
---	-----------

## **LISTA DE FIGURAS**

<b>Figura 1 – Fluxograma descritivo do percurso metodológico utilizado.....</b>	11
---	----

## **LISTA DE SIGLAS**

<b>DNA</b>	Ácido Desoxirribonucleico.
<b>MEV</b>	Microscopia Eletrônica de Varredura.
<b>PCR</b>	Reação em Cadeia da Polimerase.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	8
<b>2 METODOLOGIA.....</b>	10
<b>3 RESULTADOS.....</b>	12
<b>3.1 Discussão.....</b>	15
<b>4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	19
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	20

## 1 INTRODUÇÃO

O canal radicular em toda sua extensão anatômica abriga a polpa dentária, responsável pela resposta sensorial aos estímulos estressores, de ordem física, química ou biológica, refletida, na maioria das vezes, através do sintoma de dor, resultante de um processo inflamatório, que pode evoluir para um quadro infeccioso, se não tratado. Quando este processo patológico evolutivo é iniciado, em que somente a restauração do dente não é mais suficiente, é então adotado o tratamento endodôntico, que consiste na remoção parcial ou total da polpa dentária infectada, visando a redução ou eliminação da infecção intraradicular e/ou periapical (SIQUEIRA JUNIOR et al., 2018).

Embora agentes físicos e químicos possam causar inflamação à polpa, micro-organismos e seus produtos representam o principal fator causador de agressões ao tecido pulpar, e podem persistir mesmo após aos processos terapêuticos químico e mecânico da endodontia, por conta da anatomia dos canais radiculares, nem sempre acessíveis, ou porque os instrumentais e soluções irrigadoras não são suficientes na erradicar a infecção, deixando resíduos ou produtos que facilitam a colonização das bactérias (SIQUEIRA JUNIOR et al., 2018).

Quando acontece a resistência bacteriana ou uma falha na técnica empregada no tratamento endodôntico, os microrganismos se tornam mais difíceis de serem eliminados, pois apesar da flora bacteriana mais encontrada nos canais serem de bactérias gram negativas e facultativas, quando as mesmas resistem, há uma facilidade de colonização de novas bactérias, formando uma flora mista, com capacidade adaptativa. (SIQUEIRA JUNIOR et al., 2018).

As bactérias mais presentes no insucesso endodôntico, identificadas por meio de cultura, são anaeróbias facultativas ou estritas, que por se tratar de microrganismos que resistiram a um tratamento já proposto, o número de espécies nesses casos é limitado, podendo haver os tipos de bactérias: *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Actinomyces*, *Prevotella*, *Staphylococcus*, *Gemella*, *Fusobacterium*, *Veilonella*, *Lactobacillus*, *Propionibacterium* e *Haemophilus*. A continuidade da infecção intraradicular para os tecidos periradiculares a torna, em alguns casos, inalcançável ao tratamento endodôntico convencional, pois a colonização dessas bactérias forma um biofilme extrarradicular, composto por um misto de bactérias selecionados e alto poder de virulência (SIGNORETT et al., 2013).

O biofilme bacteriano está presente em todos os dentes com necrose pulpar e lesão periapical, onde o ligamento apical e a superfície externa do ápice radicular foram afetados, apresentando-se estruturado e organizado com maior massa microbiana e constituído por diferentes morfotipos bacterianos, evidenciando a heterogeneidade da colonização microbiana em infecções endodônticas de longa duração. Assim, o conhecimento acerca da microbiota envolvida em lesões periradiculares persistentes é de primordial importância para diminuição dos casos de insucessos na terapia endodôntica, além da produção de subsídios para adequações da prática clínica diária visando a saúde dos pacientes.

Além do mais, o biofilme bacteriano apical é clinicamente importante pois, devido a esta localização, este se torna resistente aos agentes antimicrobianos e não podem ser removidos completamente apenas com o preparo biomecânico, se constituindo em um obstáculo à terapia endodôntica convencional pela consequente perpetuação da infecção periapical (LEONARDO et al., 2002).

O objetivo desse trabalho foi descrever, através de uma revisão de literatura, os principais tipos bacterianos encontrados em biofilmes extraradiculares associados a lesões apicais persistentes, caracterizando o perfil das espécies microbianas encontradas em biofilmes extraradiculares, além de descrevendo os testes histopatológicos mais comumente utilizados na identificação destas espécies microbianas.

## 2 METODOLOGIA

O desenho metodológico desta revisão integrativa seguiu o proposto por Souza, Silva e Carvalho (2010) através da realização das seguintes etapas: elaboração da pergunta norteadora, busca ou amostragem na literatura, coleta de dados, análise crítica dos estudos incluídos, discussão dos resultados e síntese do conhecimento. Tais etapas foram detalhadas, a fim de explicitar o rigor metodológico desta pesquisa.

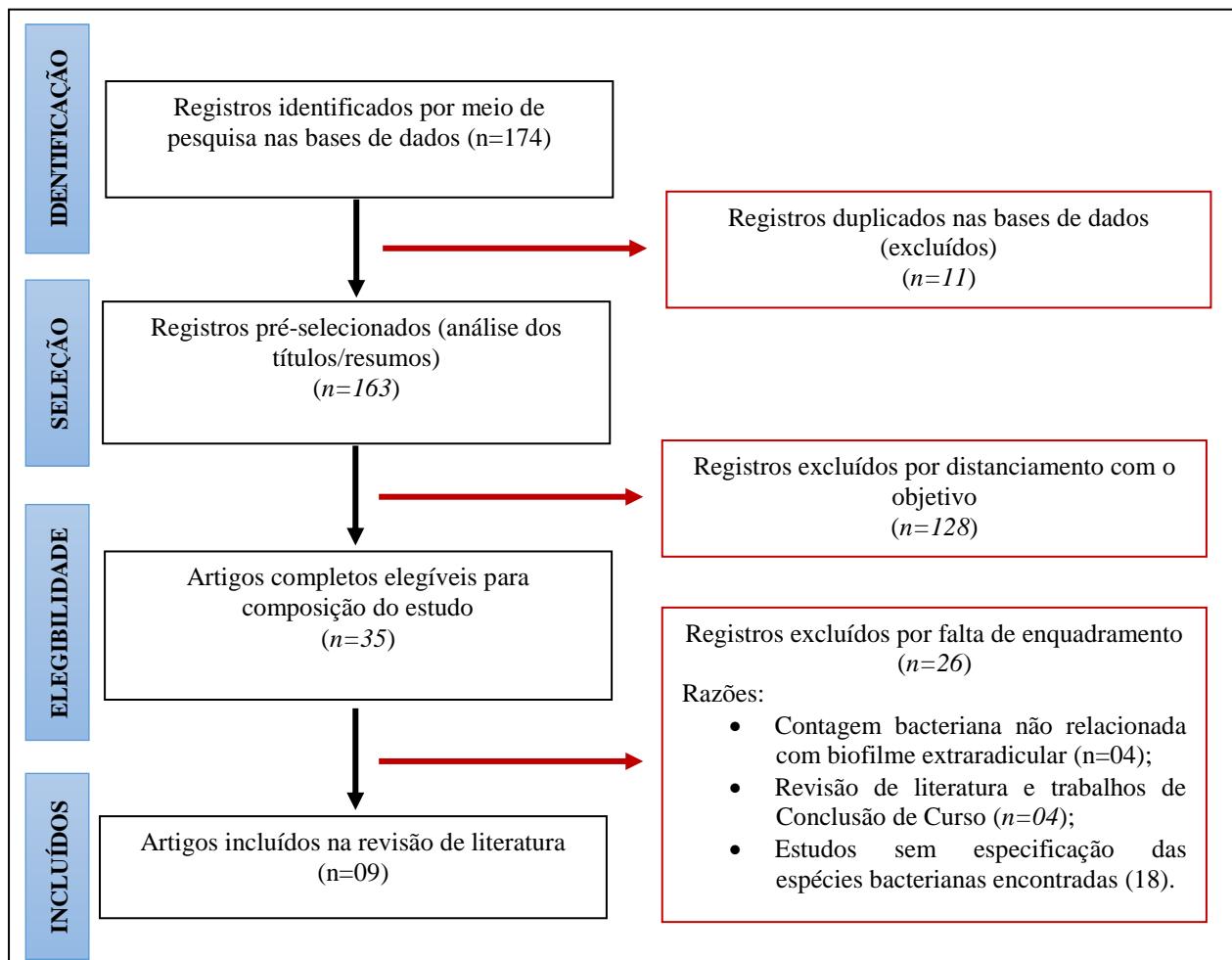
Tendo em vista os objetivos desta pesquisa, citados anteriormente, a questão norteadora foi, mais especificamente, a seguinte: Quais as principais bactérias encontradas no biofilme extra radicular associado a lesões endodônticas persistentes?

A partir da questão norteadora, as buscas foram realizadas junto às bases de dados PubMed e SciELO, por dois revisores independentes, mediante os seguintes termos de busca em português: “biofilme extrarradicular”, “periodontite apical” e “microbiologia”; e em inglês “*Extrarradicular biofilms*”, “*Periapical Periodontitis*” e “*microbiota*”.

A fim de garantir a representatividade da amostra, assim como a confiabilidade e a fidedignidade dos resultados, foram incluídos nesta pesquisa ensaios clínicos (in vivo) relacionados a infecção radicular persistente primária ou secundária, revisados por pares, publicados na íntegra português ou inglês, e que obtiveram amostras de canais radiculares humanos. Foram excluídos do presente estudo artigos de revisão de literatura, documentos do tipo editoriais, resenhas, notícias ou cartas veiculadas em periódicos científicos, capítulos de livros e livros. Foram excluídos, ainda, artigos cujos recortes metodológicos foram considerados distantes do objetivo do presente estudo, incluindo todos aqueles que a pesquisa não foi realizada em humanos. Além disso, na fase final de triagem, foram excluídos registros em que a contagem bacteriana não estava relacionada com biofilme extrarradicular; teses, monografias, dissertações; e estudos sem especificação das espécies bacterianas encontradas. O levantamento bibliográfico ocorreu sem restrição de data de publicação, além de incluir uma busca manual pelas referências descritas nos estudos pré-selecionados nas bases de dados.

A figura 1 sintetiza o processo de seleção dos artigos até a escolha final da amostra a ser analisada nesta pesquisa. A partir das palavras-chave, foram identificados um total de 174 registros. Após a exclusão dos duplicados (n=11), foi realizada uma análise detalhada do título e resumo dos artigos resultantes para eliminação daqueles que não são relevantes ou não respondem ao objetivo proposto para este estudo (n=128). A partir de então, os artigos

elegíveis foram lidos na íntegra para validar sua adequação à análise qualitativa e variáveis de estudo desejadas, restando apenas 09 artigos que foram lidas na íntegra e incluídas na análise final.



**FIGURA 1.** Fluxograma descritivo do percurso metodológico utilizado.

Os dados extraídos dos artigos que compuseram a amostra foram tabulados com distribuição nas seguintes categorias de análise: referência do estudo, método de análise, caracterização da amostra (tamanho, sexo e grupo dentário) e resultado microbiológico (espécies mais prevalente e classificação quanto ao teste de Gram e dependência de oxigênio).

### 3. Resultados

A busca na literatura realizada pelos dois revisores revelou uma quantidade razoável de artigos potencialmente elegíveis (174 registros). Porém o desfecho do percurso metodológico, em conformidade com os critérios de elegibilidade, resultou em 09 artigos para análise.

Em relação a infecções extrarradiculares persistentes, a literatura é menos densa, com um número decididamente menor de artigos e estudos clínicos. A maioria desses estudos é composto por pesquisas clínicas que que objetivam identificar as espécies bacterianas presentes em biofilmes extrarradiculares. Todas as amostras estudadas foram compostas pelas porções apicais de dentes submetidos a procedimento cirúrgico, de pacientes diagnosticados com lesões apicais crônicas persistentes.

Os artigos elegíveis para a amostra foram lidos na íntegra e as informações relevantes foram categorizadas na Tabela 1.

Do total de estudos que compuseram a amostra, quatro utilizaram a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), quatro autores utilizaram processos bioquímicos (Reação em Cadeia da Polimerase – PCR) para visualização e identificação das espécies bacterianas e um empregou o uso das duas técnicas.

Os estudos envolveram ao todo a análise de 137 espécimes, sendo a maior parte (51,09%) oriundas de pacientes do sexo feminino. Um dos artigos não trouxe especificação da amostra quanto ao sexo.

Quando a distribuição por grupamento dentário, a amostra total se mostrou bastante heterogênea, com preponderância de dentes anteriores, incisivos e caninos, superiores ou inferiores (56,2%). Dentre os dentes multiradiculares, houve uma maior prevalência de molares nas amostras estudadas.

As espécies bacterianas associadas a formação/composição de biofilmes extrarradiculares mais descritas na literatura foram as seguintes: *Fusobacterium nucleatum* (4 estudos), *Actinomyces* (4 estudos), *Porphyromonas* (3 estudos), *Propionibacterium* (3 estudos). Houve um equilíbrio entre bactérias classificadas com Gram positivas e negativas, porém estas são predominantemente anaeróbias.

Referência	Método de análise	Caracterização da amostra			Resultado microbiológico	
		tamanho	sexo	grupo dentário	espécies mais prevalentes	Teste Gram, dependência de oxigênio
Noguchi et al. (2005)	PCR	27	8 homens 19 mulheres	10 incisivos superiores 01 canino superior 08 pré-molares superiores 02 molares superiores 01 incisivo inferior 01 canino inferior 01 pré-molar inferior 3 molares inferiores	1. <i>Porphyromonas gingivalis</i> 2. <i>Tannerella forsythensis</i> 3. <i>Fusobacterium nucleatum</i>	1. Gram-negativa, anaeróbia 2. Gram-negativa, anaeróbia 3. Gram-negativa, anaeróbia
Fujii et al. (2009)	MEV	20	14 homens 06 mulheres	19 incisivos 1 molar	1. <i>Propionibacterium acnes</i> 2. <i>Staphylococcus epidermidis</i> 3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 4. <i>Fusobacterium nucleatum</i>	1. Gram-positiva, anaeróbia 2. Gram-positiva, aeróbia 3. Gram-negativa, aeróbia 4. Gram-negativa, anaeróbia
Lingyun et al. (2010)	MEV	02	Feminino	Incisivos inferiores	1. <i>Streptococcus sanguinis</i> 2. <i>Porphyromonas endodontalis</i> 3. <i>Prevotella oralis</i>	1. Gram-positiva, anaeróbia facultativas 2. Gram-negativa, anaeróbia obrigatórios 3. Gram-negativa, anaeróbia obrigatória
Signorett et al. (2011)	MEV	01	Feminino	Molar inferior	1. <i>Actinomyces meyeri</i> 2. <i>Propionibacterium propionicum</i> 3. <i>Parvimonas micra</i> 4. <i>Bacteroides ureolyticus</i>	1. Gram-positiva, anaeróbia obrigatória 2. Gram-positiva, anaeróbia 3. Gram-positiva, anaeróbia 4. Gram-negativa, anaeróbia obrigatória
Wang et al. (2012)	PCR	23	12 homens 11 mulheres	Incisivos superiores	1. <i>Actinomyces sp.</i> 2. <i>Propionibacterium</i>	1. Gram-positiva, anaeróbia obrigatória 2. Gram-positiva, anaeróbia
Huerta et al. (2015)	MEV e Espectroscopia Raman	20	13 homens 7 mulheres	Dentes anteriores superiores e inferiores	1. <i>Aerococcus Viridans</i> 2. <i>Aerococcus uriniae</i> 3. <i>Listeria spp</i> 4. <i>Lactococcus lactis spp. cremoris</i>	1. Gram-positiva, anaeróbia 2. Gram-positiva, anaeróbia 3. Gram-positiva, anaeróbia facultativa 4. Gram-positiva, anaeróbia facultativa.
Siqueira Junior et al.	PCR	10	3 homens	Não informado	1. <i>Proteobacteria</i>	1. Gram-negativa, anaeróbia

**TABELA 1.** Continuação.

(2016)			7 mulheres		2. <i>Firmicutes</i> 3. <i>Fusobactérias</i> 4. <i>Actinobactérias</i> 5. <i>Pseudomonas</i>	2. Gram-positiva, anaeróbias 3. Gram-negativa, anaeróbias 4. Gram-positiva, anaeróbias 5. Gram-negativa, anaeróbias
Ayala et al. (2017)	MEV	04	Não informado	1º molares superiores e inferiores	1. <i>Enterococcus faecium</i> 2. <i>Actinomyces israelli</i> 3. <i>Streptococcus Intermedius</i>	1. Gram-positiva, anaeróbias facultativos 2. Gram-positiva, anaeróbia obrigatória 3. Gram-positiva, anaeróbias facultativos
Pereira et al. (2017)	PCR	30	13 homens 17 mulheres	1º molar superior e inferior	1. <i>Fusobacterium. Nucleatum</i> 2. <i>Porphyromonas gingivalis</i> 3. <i>Tannerella forsythia</i>	1. Gram-negativa, anaeróbia 2. Gram-negativa, anaeróbia 3. Gram-negativa, anaeróbia

**TABELA 1.** Distribuição das variáveis de análise dos artigos que compuseram a amostra.

Legenda: MEV- Microscopia Eletrônica de Varredura; PCR- Reação em Cadeia da Polimerase.

Fonte: Próprio autor.

### 3.1 DISCUSSÃO

Em relação às infecções extrarradiculares persistentes, especificamente correlacionados a biofilmes extrarradiculares, a literatura é mais escassa, apresentando um número menor de artigos científicos, em sua maioria estudos clínicos. A maioria desses estudos são relatos de casos que não apontam as causas microbiológicas da infecção, porém não descrevem as espécies bacterianas envolvidas na formação do biofilme extrarradicular.

As infecções que acometem os canais radiculares, as chamadas infecções endodônticas, podem ter muitas origens, sendo objetivo de vários estudos e, até mesmo associando-as com o metabolismo sistêmico do hospedeiro (RICUCCI et al., 2016).

Apesar de grande parte das causas de insucessos ser de origem profissional, muitas vezes também há a persistência dessas bactérias, o que gera uma infecção secundária ou persistente. É possível que essas bactérias persistam mesmo com condições aceitáveis de tratamento químico e mecânico, que reduzem 95 a 99% os níveis bacterianos, quando associado a mecânica de instrumentais que consigam alcançar todas as entranhas e istmos do canal. Mesmo com essa estimativa, após finalizado o preparo biomecânico, em 30 à 60% dos canais tem persistência de bactérias e lesões periapicais. Essas lesões refratárias ocorrem principalmente em canais que já tinham uma lesão apical antes do tratamento, mas não eliminando a possibilidade de dentes apenas com necrose, sem lesão também não apresentarem reparo nas mesmas, ocasionando lesão persistente (SIQUEIRA JUNIOR et al., 2018).

Vários estudos indicam que a periodontite apical persistente pode ser induzida por bactérias que colonizam a área extrarradicular, particularmente na região periapical inflamada. Essas bactérias extrarradiculares podem formar biofilmes na superfície da raiz que são ecossistemas bem organizados, como consequência do qual o processo de cicatrização não pode ser alcançado (LINGYUN et al., 2010; WANG et al., 2012; HUERTA et al., 2015).

Partido desta confirmação as pesquisas que compuseram a amostra deste estudo compartilharam de objetivo semelhante: identificar, caracterizar e/ou descrever as espécies microbiológicas presentes nos biofilmes extrarradiculares de periodontites apicais persistentes. Para tanto, utilizaram-se de Microscopia eletrônica de Varredura (MEV) ou PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Segundo Signorett et al. (2011) a técnica de visualização por MEV possibilita a investigação da superfície das amostras com magnificações da ordem de centenas de milhares de vezes, além de permitir a realização de microanálises por espectroscopia, que possibilita a identificação e mapeamento dos elementos químicos

presentes no material e, assim, sua identificação. Já o método de PCR permite a amplificação, detecção e quantificação do DNA de amostras para a detecção de patógenos e diagnóstico de doenças infecciosas, diminuindo o risco de contaminação da amostra e dando maior precisão (NOGUCHI et al., 2005).

Del Fabro (2013) aponta algumas desvantagens das técnicas moleculares: não conseguem distinguir entre células viáveis e não viáveis, ou entre microrganismos extracelulares nos tecidos periapicais e fagocitados microrganismos. Além disso, algumas espécies bacterianas mostram relações muito próximas, então as informações genéticas não permitem que suas sequências de DNA sejam facilmente distinguidas com pelo método PCR. Tais fatos podem sugerir inconsistências nos resultados apresentados pelos estudos que utilizam tais metodologias.

Com o objetivo de examinar a presença de bactérias nas superfícies apicais das raízes de dentes associados a lesões perirradiculares crônicas, Siqueira Junior (2001) analisaram vinte e sete dentes com lesões perirradiculares associadas ao vértice radicular após a extração. A análise utilizando microscopia eletrônica de varredura evidenciou tipos morfológicos bacterianos, incluindo coagregações de cocos e bastonetes, em formato de "espiga de milho" totalmente desenvolvida. Os autores concluíram que bactérias podem colonizar superfícies extrarradiculares, formando agregados bem desenvolvidos.

Nos estudos avaliados nesta pesquisa houve um equilíbrio entre bactérias classificadas com Gram positivas e negativas, porém com predomínio de microrganismos anaeróbias. Fujii et al. (2009) afirma que a descoberta de uma microbiota mais variada forma uma flora mais complexa e mais resistência quando se torna biofilme. E, por essa vasta variedade, não se pode afirmar que a formação de um biofilme extra radicular está ligada somente a falhas no tratamento endodôntico ou se, se trata de uma flora que não está presente nos canais radiculares e por tanto não são eliminados com as técnicas do tratamento.

Siqueira Júnior (2001) destaca que a infecção extrarradicular pode ser dependente ou independente das bactérias intraradiculares. Por exemplo, no caso de infecção dependente, uma vez que a infecção intraradicular é resolvida por tratamento endodôntico, a infecção extrarradicular resolve automaticamente também. Pelo contrário, quando a infecção extrarradicular é independente, os microrganismos persistem mesmo após o sucesso terapêutico endodôntico. Em suma, a infecção extrarradicular é necessariamente causada pela infecção intraradicular, no entanto, não está claro qual componente, extra ou o intraradicular, é responsável pela manutenção e propagação da infecção crônica.

Ricucci et al. (2016), descreveram uma série de três casos de pacientes com sintomas

persistentes após tratamento endodôntico. A análise histopatológica e histobacteriológica das patologias mostraram colônias de bactérias flutuantes no lúmen das lesões, na superfície radicular apical externa, preenchendo ramificações apicais e entre camadas de cimento descolado da superfície radicular. Os autores também observaram que, em dois casos, nenhuma bactéria foi detectada no canal principal obturado, concluindo que diferentes formas de infecção extrarradicular foram associadas com sintomas nestes casos, levando, a curto prazo, falha endodôntica resolvida apenas por cirurgia periapical.

O insucesso do tratamento endodôntico é muitas vezes associado a colonização de bactérias como *enterococcus faecalis*, porém no presente estudo foi observado que essa bactéria está mais comumente presente na flora intraradicular, e após o tratamento ou retratamento endodôntico, quando surgem infecções secundárias, essas bactérias mais comuns na infecção primária, em maior quantidade, não sobrevivem ao tratamento e não se associam ao biofilme extra radicular que é formado, pela persistência das lesões. Ou seja, mesmo que as bactérias mais presentes em infecções intraradiculares sejam a *enterococcus faecalis*, em alguns casos, mesmo em minoria, as bactérias de mais virulência são as que sobrevivem aos tratamentos e retratamentos endodônticos, se associam e formam um biofilme extra radicular (AYALA et al., 2017; FUJII. et al., 2009; PEREIRA et al., 2017).

As espécies bacterianas mais encontradas, associadas a formação/composição de biofilmes extrarradiculares, foram: *Fusobacterium nucleatum* (4 estudos), *Actinomyces* (4 estudos), *Porphyromonas* (3 estudos), *Propionibacterium* (3 estudos).

Dentre as espécies encontradas, o *Propionibacterium* é uma espécie bacteriana alta capacidade de agregação bacteriana para a formação de biofilme polimicrobiano com outras espécies de bactérias, sendo encarado por alguns autores com o principal vilão do biofilme (FUJII et al., 2009; SIGNORETT et al., 2011; WANG et al., 2012).

Na literatura também existe relato de alguns tipos de grânulos, que são aglomerados bacterianos, contendo variados estípites e espécies de bactérias, o que pode criar uma matriz celular, e uma cápsula membranosa em volta do biofilme, que de certa forma protege essas bactérias de intervenções tanto mecânicas, químicas e antimicrobianas (SUNDE et al., 2002).

Todas as bactérias presentes no estudo estão envolvidas em canais, que já passaram por tratamento endodônticos, para periodontite apical, porém retornaram por não haver reparação da lesão. Sugerindo que as lesões apicais possuem uma etiologia heterogênea, e multiespécies, já que de caso para caso há uma diversidade muito grande de bactérias. O autor abre uma pauta de que esse impacto do biofilme extrarradicular, pode ser estudado de uma forma que possa ser prevenido, já mesmo durante o tratamento inicial ou retratamento, para

que não chegue à fase de uma flora tão virulenta e mista de difícil erradicação (SIQUEIRA JUNIOR et al., 2016)

O conhecimento da microbiota relacionada às infecções endodônticas constitui premissa fundamental para o desenvolvimento de ações terapêuticas mais efetivas, principalmente nos casos de infecções que persistem ao tratamento e reintervenções endodônticas (SUNDE et al., 2002).

#### **4 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Este estudo observou que uma grande variedade de microrganismos, compreendendo bactérias Gram positivas e negativas, com predominância de anaeróbias, forma o biofilme extraradicular em lesões apicais persistentes. As espécies *Fusobacterium nucleatum*, *Actinomyces*, *Porphyromonas* e *Propionibacterium* estavam presentes em um maior número de amostras analisadas pela literatura. A partir das limitações desta pesquisa, sugere-se estudos mais aprofundados sobre colonização e virulência das espécies que formam o biofilme extraradicular.

## REFERÊNCIAS

AYALA, L. A. H.; AMARO, A. M. G.; RODRIGUEZ, R. O.; GIRÓN, C. B. T. **cultivo e identificación de microorganismos y su organización em forma de biofilm em ápices radiculares em infecciones endodônticas.** Facutad de Estomatología, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, 2017.

DEL FABRO, M.; SAMARANAYAKE, L. P.; LOLATO, A.; WEINSTEIN, T.; TASCHIERI, S. Analysis of the secondary endodontic lesions focusing on the extraradicular microorganisms: an overview. **Journal of Investigative and Clinical Dentistry** v. 4 p. 1-11, 2013.

FUJII, R.; SALTO, Y.; TOKURA, Y.; NAKAGAWA, K. L.; OKUDA, K.; ISHIHARA, K. Characterization of bacterial flora in persistente apical periodontitis lesions. **Oral microbial immunol** v. 24 p. 502-505, 2009.

HUERTA, S. M. N.; DOMINGUEZ, J. D. N.; AMARO, A. N. G.; PINÁ, A. A.; ANDRADE, C. A.; IBARRA, J. A. Z. Caracterización del biofilm en el tercio apical de órganos dentários extraídos por enfermedad periodontal. **Ver Mex Periodontal** v. 3 p. 110-120, 2015.

KALED, G. H.; FARIA M. I. A.; HECK, A. R.; ARAGÃO, E. M.; MORAIS, S. H.; SOUZA, R.C. Retratamento endodôntico: análise comparativa da efetividade da remoção da obturação dos canais radiculares realizada por três métodos. **Revista Gaúcha de Odontologia (Online)**, v. 59, n. 1, p. 103-108, 2011.

LEONARDO, M. R.; ROSSI, M. A.; SILVA, L.A.; ITO, I. Y.; BONIFA, K. C. E. M. Evaluation of bacterial biofilm and microorganisms on the apical external root surface of human teeth. **Journal of endodontics**, v. 28, n. 12, p.815-818, 2002.

LINGYUN, S.; YANG, G.; YU, C.; WANG, H. **Surgical endodontic treatment of refractory periapical periodontitis with extraradicular biofilm.** Departament of operative dentistry an endodontics, school of stomatology, fourth military medical university, China, 2010.

NOGUCHI, N.; NOIRI, Y.; NARIMTSU, M.; EBISU, S. Identification and localization of extraradicular biofilm-forming bactéria associated with refractory endodontic pathogens. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 71, n. 12, p. 8738-8743, 2005.

NOIRI, Y.; EHARA, A.; KAWAHARA, T.; TAKEMURA, N.; EBISU, S.; Participation of bacterial biofilms in refractory and chronic periapical periodontitis. **Journal of endodontics**, v. 28, 2n. 10, p. 679-683, 2002.

PEREIRA, R. S.; RODRGUES, V. A. A.; FURTADO, W. T.; GUEIROS, S.; PEREIRA, G. S.; CAMPOS, M. J. Microbial analysis of root canal and periradicular lesion associated to teeth with endodontic failure. **doi: 10.1016/j.anaerobe**, 2017.

RICUCCI, D.; CANDEIO, G. T. M.; BUGEA, C.; SIQUEIRA JUNIOR, J. F. Complex apical intraradicular infection and extraradicular mineralized biofilms as the cause of wet canals treatment failure: report of 2 cases. **Journal of endodontics**, v. 42, n. 3, p. 509-515, 2016.

SIGNORETT, F.; ENDO, M. S.; GOMES, B.; MONTAGNER, F.; TOSELLLO, F. B.; JACINTO, R. C.; Persistent Extraradicular Infection in Root-filled Asymptomatic Human Tooth: Scanning Electron Microscopic Analysis na Microbial Investigation after Apical Microsurgery. **Journal of endodontics**, v. 37, n. 12, p. 1696-1700, 2011.

SIGNORETT, F.; ENDO, M. S.; GOMES, B.; MONTAGNER, F.; JACINTO, R. C. Investigation of cultivable bacteria isolated from longstanding retreatment-resistant lesions of teeth with apical periodontitis. **Journal of endodontics**, v. 39, n. 10, p. 1240-1244, 2013.

SIQUEIRA JUNIOR, J. F. Aetiology of root canal treatment failure: why well treated teeth can fail. **International endodontic journal**, v. 34, n. 1, p. 1-10, 2001.

SIQUEIRA JUNIOR, J. F.; ANTUNES, H. S.; RÔÇAS, I. N.; RACHID, C. T. C. C.; ALVES, F. R. F. microbiofilme no sistema apical dos canais radiculares de dentes com pós-tratamento de periodontite apical. **DOI: 10.1371/journal.pone.0162887**, Rio de Janeiro, Brasil, 2016.

SIQUEIRA JUNIOR, J. F.; ROCAS, I. N.; ALVES, M. F. M.; PEREZ, A. R.; RICUCCI, D. Unprepared root canal surface areas, causes, clinical implications, and therapeutic strategies. **Brazilian oral research**, v. 32, 2018.

SOUZA, M. T. D.; SILVA, M. D. D.; CARVALHO, R. D. Revisão integrativa: o que é e como fazer. **Einstein (São Paulo)**, v.8, n.1, p.102-106, 2010.

SUND, P. T.; OSLEN, I.; GILBERTO, J. D.; TRONSTAD, L.; Microbiota of periapical lesions refractory to endodontic therapy. **Journal of endodontics**, v. 28, n. 4, p. 304-310, 2002.

WANG, J.; CHEN, W.; JIANG, Y.; LIANG, J. Imaging of extraradicular biofilm using combined scanning electron microscopy and stereomicroscopy. **Microscopy research and technique**, v. 76, n. 9, p. 979-983, 2012.