

Avaliação da suscetibilidade antimicrobiana de bactérias anaeróbias facultativas isoladas de canais radiculares de dentes com insucesso endodôntico frente aos antibióticos de uso sistêmico

Evaluation of antimicrobial susceptibility of facultative anaerobic bacteria isolated in root-filled teeth with persistent infection front to use of systemic antibiotics

Bárbara Trindade DI SANTI^a, Marlos Barbosa RIBEIRO^a, Marcos Sergio ENDO^{a*},
Brenda Paula Figueiredo de Almeida GOMES^a

^aFaculdade de Odontologia, UNICAMP – Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba, SP, Brasil

Resumo

Introdução: Bactérias associadas ao insucesso do tratamento endodôntico são capazes de adquirir e expressar resistência aos agentes antimicrobianos comumente empregados para tratar infecções, o que torna necessário, em determinadas situações, a realização de testes laboratoriais para detectar a resistência ou a suscetibilidade antimicrobiana desses micro-organismos. **Objetivo:** avaliar a suscetibilidade antimicrobiana das cepas de *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Actinomyces viscosus* e *Staphylococcus aureus* isoladas de canais radiculares de dentes com insucesso endodôntico. **Material e método:** Cepas clínicas de *Enterococcus faecalis* (n=3), *Enterococcus faecium* (n=3), *Actinomyces viscosus* (n=3) e *Staphylococcus aureus* (n=3), coletadas in vivo de canais radiculares com insucesso endodôntico, foram testadas quanto à suscetibilidade antimicrobiana por meio do método E-test em duplicata, utilizando os antibióticos: Amoxicilina (AC), Rifampicina (RI), Moxifloxacina (MX), Vancomicina (VA), Tetraciclina (TC), Ciprofloxacina (CI), Cloranfenicol (CL), Benzilpenicilina (PG), Amoxicilina + ácido clavulânico (XL), Doxiciclina (DC), Eritromicina (EM) e Azitromicina (AZ). **Resultado:** Todas as cepas clínicas testadas foram suscetíveis aos antibióticos AC, XL, PG, DC, MX, TC e VA. Todos os isolados das espécies de *S. aureus* foram suscetíveis aos 12 antibióticos testados. As cepas de *E. faecalis*, *E. faecium* e *A. viscosus* mostraram padrão de suscetibilidade intermediário contra EM. Algumas cepas de *E. faecalis* e *E. faecium* foram resistentes a AZ e RI. **Conclusão:** As cepas clínicas isoladas dos canais radiculares de dentes com insucesso endodôntico mostraram perfis diferentes de suscetibilidade antimicrobiana e nenhum isolado de *E. faecalis* e *E. faecium* apresentou-se suscetível a AZ e EM.

Descritores: Endodontia; bactéria; antibióticos.

Abstract

Introduction: Bacteria associated with failure endodontic treatment are capable of acquiring and expressing resistance against antimicrobial agents usually used to treat infections, which makes necessary, in some cases, laboratory tests in order to detect the resistance or antimicrobial susceptibility of these microorganisms. **Objective:** to evaluate the antimicrobial susceptibility of *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Actinomyces viscosus* and *Staphylococcus aureus* strains isolated from root canals of teeth with failure endodontic treatment. **Material and method:** *Enterococcus faecalis* (n=3), *Enterococcus faecium* (n=3), *Actinomyces viscosus* (n=3) and *Staphylococcus aureus* (n=3) clinical strains collected in vivo from root-filled canals with failure endodontic treatment had been their antimicrobial susceptibility tested by the E-test method in duplicate using the antibiotics: Amoxicillin (AC), Rifampicin (RI), Moxifloxacin (MX), Vancomycin (VA), Tetracycline (TC), Ciprofloxacin (CI), Chloranphenicol (CL), Benzilpenicillin (PG), Amoxicillin + clavulanic acid (XL), Doxycycline (DC), Erythromycin (EM) e Azithromycin (AZ). **Result:** all the clinical strains tested were susceptible to AC, XL, PG, DC, MX, TC e VA. All the isolated *S. aureus* strains were susceptible to the 12 tested antibiotics. *E. faecalis*, *E. faecium* and *A. viscosus* strains showed intermediary susceptibility pattern against EM. Some *E. faecalis* and *E. faecium* strains were resistant against AZ and RI. **Conclusion:** clinical strains isolated from radicular canals of teeth with failure endodontic treatment showed different antimicrobial susceptibility profiles, and none of *E. faecalis* or *E. faecium* strains appeared to be susceptible to AZ or EM.

Descriptors: Endodontics; bacteria; antibiotic.

INTRODUÇÃO

A terapia endodôntica tem por objetivo a total eliminação ou a diminuição significativa de micro-organismos patogênicos, por meio do preparo químico-mecânico. Bactérias e seus subprodutos são considerados os principais agentes etiológicos das patologias pulpares e periapicais¹, e provocam a persistência da infecção, devido à falha do tratamento endodôntico²⁻⁶ e/ou à microinfiltração coronária, que permite a recontaminação microbiana dos canais radiculares^{4,5,7}.

As principais causas do insucesso do tratamento endodôntico são as infecções intrarradiculares e estas são caracterizadas pela persistência ou pelo surgimento da periodontite apical após a obturação do canal radicular. Em casos de retratamento endodôntico, micro-organismos têm sido isolados em 100% dos dentes tratados endodônticamente, após a remoção do material obturador⁶. A microbiota de um dente com insucesso endodôntico e lesão periapical mostra-se diferente daquela encontrada em dentes com necrose pulpar^{2-4,8}, predominando bactérias anaeróbias facultativas Gram-positivas^{6,8-10}.

A particularidade da microbiota encontrada nos canais de dentes com insucesso endodôntico deve-se a um processo de seleção dependente da resistência específica de determinados micro-organismos ao preparo químico-mecânico (PQM) e à medicação intracanal⁶, bem como tal particularidade da microbiota é devida à capacidade de sobreviver em condições ecológicas modificadas no interior do sistema de canais radiculares, em um meio nutricional restrito, no qual as relações entre bactérias são mínimas. *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Actinomyces viscosus* e *Staphylococcus aureus* são bactérias anaeróbias facultativas, Gram-positivas, frequentemente encontradas em canais radiculares de dentes com insucesso endodôntico^{3,10}. Tais bactérias e seus subprodutos estão diretamente relacionados aos casos de insucesso do tratamento endodôntico, seja em complicações durante as intervenções, no pós-operatório imediato (processos inflamatórios agudos) ou mediato (com lesões persistentes e refratárias)¹¹.

O insucesso dos tratamentos endodônticos também tem sido associado à resistência dos micro-organismos patogênicos aos medicamentos utilizados para combatê-los. Esse mecanismo de resistência resulta de alterações fisiológicas ou estruturais da célula bacteriana, que representa uma estratégia de sobrevivência ao ataque abusivo dos agentes antimicrobianos¹². Estudos têm revelado um aumento surpreendente da resistência antimicrobiana das bactérias que são comumente encontradas nos canais radiculares de dentes com infecção endodôntica. Tais bactérias possuem mecanismos que conferem resistência a uma variedade de antibióticos comumente utilizados na terapêutica¹³⁻¹⁷, principalmente as cepas de *Enterococcus* spp.

A resistência aos agentes antimicrobianos pode ser adquirida por uma mutação no DNA existente ou por aquisição de um novo DNA^{13,14}. *Enterococcus* spp. tem adquirido determinantes genéticos que conferem resistência a várias classes de antibióticos, incluindo Eritromicina, Tetraciclina, Cloranfenicol e, mais recentemente, Vancomicina^{13,14,17,18}. Embora a incidência de cepas resistentes seja mais pronunciada em infecções hospitalares ou sistêmicas¹⁵, estudos

através de isolados bacterianos de infecções endodônticas têm demonstrado o surgimento de resistência bacteriana, principalmente ao regime terapêutico convencional utilizado em procedimentos odontológicos^{16,19}. Embora antibióticos de uso sistêmico não sejam normalmente utilizados no tratamento de infecções intrarradiculares associadas a lesões periapicais crônicas, em pacientes com risco de desenvolvimento de endocardite bacteriana, estes se tornam um importante complemento à terapêutica endodôntica, sendo utilizados em regimes profiláticos²⁰.

Fator de virulência significa qualquer componente do micro-organismo que seja exigido para causar ou potencializar dano ao hospedeiro. Recentemente, Preethet et al.²¹ encontraram provas de que *efaA*, um potente gene de virulência do *E. faecalis*, associado com a endocardite infecciosa, pode ser encontrado em cepas de *E. faecalis* detectado em canais radiculares infectados resistentes à terapia endodôntica. Como *E. faecalis*, *E. faecium*, *A. viscosus* e *S. aureus* têm sido frequentemente isolados de infecções endodônticas persistentes e secundárias^{2-4,6}, a caracterização da resistência aos antibióticos de bactérias persistentes após o tratamento endodôntico continua a ser um foco importante de pesquisa microbiológica.

Desta maneira, o objetivo deste trabalho foi avaliar a suscetibilidade de cepas de *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Actinomyces viscosus* e *Staphylococcus aureus* isoladas de canais radiculares de dentes com insucesso endodôntico frente aos agentes antimicrobianos utilizados na terapêutica odontológica.

MATERIAL E MÉTODO

Este trabalho teve a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa, que considerou satisfeitas as condições de inclusão.

Seleção dos Casos, Procedimento Clínico e Coleta das Amostras

Foram incluídos neste estudo 15 dentes unirradiculares tratados endodônticamente e com lesão periapical, de pacientes que não haviam feito uso de antibióticos nos últimos três meses anteriores à coleta. Além disso, o dente apresentava-se sem doença periodontal, sem fratura radicular e sem exposição do canal ao meio bucal, e possibilitava o isolamento absoluto.

Antes da intervenção, foram realizadas a descontaminação da face externa do paciente e a anestesia local na região do dente envolvido. O dente recebeu uma profilaxia, sendo então realizado o isolamento absoluto. Em seguida, foi concretizada a desinfecção do campo operatório, com *swabs* estéreis e umedecidos, em água oxigenada 30% (v/v), NaOCl 2,5% por 30 segundos cada, e subsequente neutralização com solução estéril de tiosulfato de sódio 5%. A abertura coronária foi realizada com ponta esférica diamantada em alta rotação e irrigação com soro fisiológico estéril. Ao adquirir a forma de contorno e conveniência, o campo operatório e a câmara pulpar foram descontaminados novamente, com as mesmas soluções. Finalizada a abertura coronária, foi realizada a desobturação do canal radicular sem o uso de solventes, utilizando brocas de Largo #2, Gates-Glidden (#5, #4, #3 e #2) em baixa rotação associadas a limas manuais (Maillefer/Dentsply, Ballaigues, Suíça). Ao atingir o comprimento pré-operatório determinado na radiografia com

uma lima K #15, foi utilizado o localizador foraminal (Novapex, Forum Technologies, Rishon le-zion, Israel), para confirmar a patência apical e obter o comprimento de trabalho. Com auxílio do microscópio clínico (Opto Eletrônica S.A., São Carlos, SP) e uma tomada radiográfica periapical, foi verificada a remoção do material obturador.

Para as coletas das amostras microbiológicas dos canais radiculares, cones de papel absorventes estéreis foram introduzidos no comprimento de trabalho, permanecendo nesta posição por 60 s. Depois de retirado o cone do interior do canal radicular, estes foram introduzidos em tubos do tipo *Eppendorf* contendo 1,0 mL de meio de transporte *Viability Medium Göteborg Agar* – VMGA III. As amostras identificadas foram transportadas para processamento por cultura microbiológica, imediatamente após o término do procedimento clínico.

Micro-Organismos Isolados dos Canais Radiculares de Dentes com Insucesso do Tratamento Endodôntico

Após a coleta e o processamento das amostras, as colônias bacterianas isoladas foram plaqueadas em uma placa contendo BHI + 5% de sangue desfibrinado de carneiro, sendo incubadas em cabine de CO₂ (Jouan, IG 150, Saint-Herblain, França). A morfologia bacteriana após incubação foi verificada através da coloração de Gram e as bactérias foram testadas quanto à produção de catalase.

Realizada a análise fenotípica, as bactérias foram selecionadas para realização do teste bioquímico no intuito de identificar cepas clínicas de *Enterococcus faecalis* (n=3), *Enterococcus faecium* (n=3), *Actinomyces viscosus* (n=3) e *Staphylococcus aureus* (n=3). Foram utilizados o teste bioquímico API 20 Strep e o API 20 Staph (BioMérieux SA, Marcy-l'Etoile, França), para especificação desses micro-organismos isolados. Os kits forneceram gabaritos para finalizar a identificação, que pode ser verificada através do *site* do fabricante. Apenas como controle positivo, foi realizado processamento molecular por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR), utilizando um *primer* espécie-específico para validar cada espécie bacteriana investigada.

Teste de Suscetibilidade Antimicrobiana (E-Test) dos Isolados Clínicos

O sistema do E-test consiste em uma fita plástica de 50 mm de comprimento e 3 mm de largura, que contém, em um lado, um gradiente de concentração de antibiótico, e do outro, uma escala numérica que indica a concentração do medicamento. A fita do E-test pode detectar uma concentração inibitória mínima (CIM), que varia de 0,016 a 256 µg/mL, com um total de 29 diferentes concentrações, que são agrupadas de duas em duas, representando 15 níveis de diluição²².

Cepas clínicas de *E. faecalis*, *E. faecium*, *A. viscosus* e *S. aureus* isoladas de canais radiculares de dentes com insucesso endodôntico tiveram sua suscetibilidade antimicrobiana testada através do método E-test (AB Biodisk, Solna, Suécia). Os agentes antimicrobianos testados foram: Amoxicilina (AC), Rifampicina (RI), Moxifloxacina (MX), Vancomicina (VA), Tetraciclina (TC), Ciprofloxacina (CI), Cloranfenicol (CL), Benzilpenicilina (PG), Amoxicilina + ácido clavulânico (XL), Doxiciclina (DC), Eritromicina (EM) e Azitromicina (AZ).

Para preparar o inóculo, após 24 h de incubação da espécie bacteriana em placas de ágar sangue, as colônias bacterianas foram transferidas para o meio líquido Brain Heart Infusion (BHI) e agitadas, para atingir a turbidez que equivale ao padrão 0,5 de McFarland (Nefelobac, Probac, São Paulo, SP, Brasil), que foi verificado no espectrofotômetro (FEMTO 432, Marconi, São Paulo, SP, Brasil) com comprimento de onda de 800 nm. Placas contendo 4 mm de espessura de Luria Bertani Agar (LB, Índia) foram utilizadas para o repique das cepas. A semeadura foi realizada em toda extensão da placa, uniformemente, através de *swab* estéril, umedecido na suspensão bacteriana. Após a secagem das placas (10 a 15 minutos), as fitas de E-test foram previamente removidas do congelador e distribuídas nas placas com o auxílio de pinça estéril para cada substância a ser testada. O experimento foi executado em duplicata e em fluxo laminar.

As placas contendo as bactérias anaeróbicas facultativas foram imediatamente incubadas em uma estufa de CO₂, a 37°C, e a leitura realizada após 24 e 48 h de incubação (Figura 1). Os valores das CIM foram determinados pela leitura no ponto de intersecção entre o halo de inibição em forma de elipse e a fita do E-test, considerando o ponto de inibição completa de crescimento. Os valores de CIM50 e CIM90 correspondem às concentrações inibitórias mínimas para 50% e 90% dos isolados, respectivamente. De acordo com as recomendações do fabricante, a interpretação dos valores das CIMs do E-test em diferentes categorias de sensibilidade foi realizada seguindo o guia de interpretação da CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) (Tabela 1).

RESULTADO

A Tabela 2 representa os valores encontrados na leitura do E-test para os isolados clínicos testados.

A maioria das cepas clínicas testadas mostrou-se suscetível frente aos antibióticos (Tabela 2). Entretanto, para alguns isolados (1 e 3)



Figura 1. Isolado clínico de *Staphylococcus aureus* e fita E-test de Amoxicilina (AC).

Tabela 1. Valores interpretativos de pontos de corte equivalentes das concentrações inibitórias mínimas – CIM ($\mu\text{g/mL}$) dos antimicrobianos avaliados (NCCLS - M100 S15)

Agentes antimicrobianos	Suscetível	Resistente
Amoxicilina (AC)	≤ 8	≥ 16
Rifampicina (RI)	≤ 1	≥ 4
Moxifloxacina (MX)	≤ 2	≥ 8
Vancomicina (VA)	≤ 4	≥ 32
Tetraciclina (TC)	≤ 4	≥ 16
Ciprofloxacina (CI)	≤ 1	≥ 4
Cloranfenicol (CL)	≤ 8	≥ 32
Benzilpenicilina (PG)	≤ 8	≥ 16
Amoxicilina + ácido clavulânico (XL)	≤ 8	≥ 16
Doxiciclina (DC)	≤ 4	≥ 16
Eritromicina (EM)	$\leq 0,5$	≥ 8
Azitromicina (AZ)	≤ 2	≥ 8

Tabela 2. Vlores das CIMs ($\mu\text{g/mL}$) dos antibióticos e classificação em suscetível (S), intermediário (I) e resistente (R), baseada nos valores interpretativos da NCCLS (M100 S15) de *Enterococcus faecalis* (n=3), *Enterococcus faecium* (n=3), *Actinomyces viscosus* (n=3) e *Staphylococcus aureus* (n=3) isolados dos canais radiculares

	Isolado 1				Isolado 2				Isolado 3			
	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>	<i>A. viscosus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>	<i>A. viscosus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>	<i>A. viscosus</i>	<i>S. aureus</i>
AC	0,142 (S)	0,5 (S)	0,19 (S)	0,125 (S)	0,31 (S)	0,75 (S)	0,19 (S)	0,125 (S)	0,44 (S)	0,5 (S)	0,19 (S)	0,125 (S)
RI	1 (S)	4 (R)	0,012 (S)	0,008 (S)	7 (R)	3 (I)	0,012 (S)	0,008 (S)	1 (S)	4 (R)	0,002 (S)	0,008 (S)
MX	0,44 (S)	0,38 (S)	0,064 (S)	0,032 (S)	0,31 (S)	0,38 (S)	0,047 (S)	0,032 (S)	1,25 (S)	0,5 (S)	0,25 (S)	0,032 (S)
VA	0,44 (S)	3 (S)	2 (S)	0,5 (S)	2 (S)	4 (S)	2 (S)	0,5 (S)	2,5 (S)	4 (S)	0,5 (S)	0,5 (S)
TC	0,19 (S)	0,75 (S)	2 (S)	0,5 (S)	0,75 (S)	0,75 (S)	3 (S)	0,5 (S)	0,44 (S)	1 (S)	2 (S)	0,5 (S)
CI	1,5 (I)	1,5 (I)	0,125 (S)	0,125 (S)	1 (S)	1 (S)	0,125 (S)	0,125 (S)	0,87 (S)	1 (S)	1 (S)	0,125 (S)
CL	8 (S)	8 (S)	6 (S)	3 (S)	10 (I)	12 (I)	6 (S)	3 (S)	6 (S)	14 (I)	8 (S)	3 (S)
PG	1,5 (S)	0,5 (S)	0,125 (S)	0,064 (S)	1 (S)	0,75 (S)	0,19 (S)	0,064 (S)	1 (S)	0,75 (S)	0,016 (S)	0,064 (S)
XL	0,38 (S)	0,75 (S)	0,19 (S)	0,19 (S)	0,44 (S)	0,75 (S)	0,25 (S)	0,19 (S)	0,5 (S)	0,75 (S)	0,064 (S)	0,19 (S)
DC	0,15 (S)	0,25 (S)	0,125 (S)	0,38 (S)	0,38 (S)	0,38 (S)	0,19 (S)	0,19 (S)	0,25 (S)	0,25 (S)	0,19 (S)	0,19 (S)
EM	1 (I)	2 (I)	2 (I)	0,094 (S)	1 (I)	3 (I)	2 (I)	0,125 (S)	1,75 (I)	3 (I)	0,016 (S)	0,25 (S)
AZ	14 (R)	4 (I)	4 (I)	0,25 (S)	3,5 (I)	6 (I)	4 (I)	0,19 (S)	3 (I)	10 (R)	4 (I)	2 (S)

S = Suscetível, I = Intermediário, R = Resistente, AC = Amoxicilina, RI = Rifampicina, MX = Moxifloxacina, VA = Vancomicina, TC = Tetraciclina, CI = Ciprofloxacina, CL = Cloranfenicol, PG = Benzilpenicilina, XL = Amoxicilina + Ácido Clavulânico, DC = Doxiciclina, EM = Eritromicina, AZ = Azitromicina.

de *E. faecalis* e *E. faecium*, as cepas apresentaram-se resistentes (R) frente a Azitromicina (AZ) e Rifampicina (RI). Além disso, algumas cepas de *E. faecalis*, *E. faecium* e *A. viscosus* dos isolados 1, 2 e 3 apresentaram-se na escala intermediária (I) frente aos antibióticos Rifampicina (RI), Ciprofloxacina (CI), Cloranfenicol (CL), Eritromicina (EM) e Azitromicina (AZ). Todas as cepas de *S. aureus* mostraram-se suscetíveis frente aos 12 antibióticos testados.

DISCUSSÃO

Gomes et al.²³ encontraram, em um monitoramento das infecções endodônticas primárias, que algumas bactérias mostraram um aumento na resistência frente aos antibióticos testados ao longo

do tempo, mostrando a necessidade de se verificar periodicamente a suscetibilidade dessas bactérias encontradas no interior do canal radicular.

Sabe-se que bactérias anaeróbias facultativas Gram-positivas têm um papel importante nas infecções endodônticas secundárias e/ou persistentes^{4,6,10}. Desta forma, o presente estudo se propôs a investigar a suscetibilidade antimicrobiana de cepas de *E. faecalis*, *E. faecium*, *A. viscosus* e *S. aureus* isoladas frequentemente de dentes com insucesso endodôntico⁶, frente aos antibióticos comumente empregados na Odontologia.

O E-test é um teste padrão amplamente utilizado em microbiologia médica, fácil de utilizar e interpretar, além de ser confiável para

se testar a suscetibilidade antimicrobiana de bactérias envolvidas em infecções endodônticas^{16,24}. De acordo com os resultados obtidos, levando-se em consideração os valores de concentração inibitória mínima (CIM) determinados pela NCCLS, todas as cepas de *E. faecalis*, *E. faecium*, *A. viscosus* e *S. aureus* mostraram-se 100% suscetíveis a Benzilpenicilina (PG), Amoxicilina (AC), Amoxicilina + ácido clavulânico (XL), Vancomicina (VA) e Moxifloxacina (MX), corroborando com os achados de outros estudos^{9,17,19,25}. Este resultado confirma a utilização da penicilina e seus derivados como antibióticos de primeira escolha no tratamento de infecções de origem endodôntica, e a utilização na terapêutica profilática contra a endocardite bacteriana^{16,24}.

Nos casos de pacientes que apresentam hipersensibilidade à penicilina e seus derivados, faz-se necessária a utilização de outros grupos de antibióticos, sendo a Eritromicina (EM) e a Azitromicina (AZ) medicamentos prescritos por alguns dentistas. Entretanto, no presente estudo, observou-se que *E. faecalis* e *E. faecium* apresentaram resistência a esses dois antibióticos, concordando com os achados de Endo et al.¹⁷, que citaram a AZ com menor eficácia contra *Enterococcus* spp. Além disso, *E. faecalis* isolado de infecções endodônticas persistentes, mostrou resistência frente a EM e AZ (20% e 60%, respectivamente)⁹. Em desacordo, Lins et al.²⁶ mostraram que cepas de *E. faecalis* foram sensíveis à EM. Os resultados apontam uma discordância na literatura que pode ser explicada pela resistência a determinados antibióticos derivada de mutações no DNA bacteriano^{13,14,18}.

As cepas de *S. aureus* e uma cepa de *A. viscosus* mostraram-se suscetíveis à EM, enquanto que somente *S. aureus* (100%) mostrou-se suscetível à AZ. Portanto, a AZ, comparada à EM, apresentou menor eficácia frente aos micro-organismos estudados. Tais resultados evidenciam que ambas as substâncias não são as primeiras escolhas nos casos de infecção endodôntica secundária e/ou persistente, necessitando de mais estudos que investiguem seu poder bactericida frente aos principais micro-organismos encontrados em casos de insucesso do tratamento endodôntico.

Lins et al.²⁶ observaram em seu estudo que cepas de *E. faecalis* isoladas de casos de infecção endodôntica primária foram resistentes à Tetraciclina (TC). Já os resultados do presente trabalho discordam deste dado e apontam que todos os micro-organismos testados apresentaram suscetibilidade à TC, assim como a Vancomicina (VA), a Doxiciclina (DC) e a Moxifloxacina (MX). Como se trata de cepas bacterianas coletadas de biofilmes distintos – já que nos casos de infecção primária há uma diversidade e um número maior de micro-organismos envolvidos e uma interação entre eles –, não é possível uma comparação direta entre os estudos, apesar de terem sido realizados com a mesma espécie bacteriana. Em um recente estudo reportado por Skucaite et al.¹⁶, 40% dos isolados endodônticos de infecções primária e secundária foram resistentes a TC, enquanto que, em outro estudo¹⁹, duas de seis cepas não foram suscetíveis. DC e MX obtiveram excelentes resultados no presente estudo com todas as cepas estudadas; entretanto, a DX mostrou resultados inferiores, em que foram observados 8,3% de cepas bacterianas resistentes a esse antibiótico¹⁷.

Todas as cepas analisadas no presente estudo se mostraram suscetíveis à VA, sendo que estudos prévios da suscetibilidade de enterococos orais também demonstraram alta suscetibilidade desses micro-organismos a esse fármaco^{27,28}. Entretanto, a literatura sugere que a VA deva ser empregada somente no tratamento de infecções graves, já que possui amplo espectro de ação, o que não condiz com a prática endodôntica em geral¹.

Neste estudo, o Cloranfenicol (CL) apresentou 100% de eficácia frente a *S. aureus* e *A. viscosus*, e suscetibilidade intermediária frente a alguns isolados de *E. faecalis* e *E. faecium*. Estes resultados estão de acordo com Sedgley et al.²⁹, que encontraram 91% dos enterococos orais sensíveis ao CL, o que comprova a suscetibilidade intermediária a esse antibiótico. A Ciprofloxacina (CI) também se mostrou com suscetibilidade intermediária neste estudo, condizendo com o estudo de Rams et al.³⁰, que encontraram apenas 10,6% de resistência intermediária nos isolados de *E. faecalis*.

A Rifampicina (RI) foi o antibiótico que apresentou uma baixa eficácia neste estudo, com 33,3% das cepas de *E. faecalis* e 66,6% das cepas de *E. faecium* resistentes. Por outro lado, no estudo de Sedgley et al.³¹, todas as cepas estudadas de *E. faecalis* se mostraram sensíveis, o que pode sugerir um desenvolvimento da resistência dessas bactérias com o passar dos anos. Essa sugestão implica na necessidade de monitoramentos periódicos e mais detalhados a fim de verificar os mecanismos desenvolvidos pelos micro-organismos que resultam em sua resistência frente a esse fármaco.

Diversos estudos microbiológicos envolvendo dentes com insucesso endodôntico têm sido realizados para se obter uma melhor eficácia no tratamento das infecções relacionadas ao complexo de canais radiculares. Contudo, visto que as bactérias desenvolvem periodicamente resistência às principais drogas utilizadas, devem-se realizar estudos constantes sobre a ação desses medicamentos na terapêutica antimicrobiana.

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos e das condições experimentais utilizadas neste trabalho, pode-se concluir que:

- As cepas de todos os micro-organismos testados (*Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Actinomyces viscosus* e *Staphylococcus aureus*) foram suscetíveis à Amoxicilina (AC) e à associação de Amoxicilina + ácido clavulânico (XL).
- Todos os isolados foram suscetíveis a Doxiciclina (DC), Moxifloxacina (MX), Vancomicina (VA), Benzilpenicilina (PG) e Tetraciclina (TC), enquanto a maioria foi suscetível à Ciprofloxacina (CI) e ao Cloranfenicol (CL). Eritromicina (EM), Azitromicina (AZ) e Rifampicina (RI) apresentaram pouca eficácia sobre os isolados dos canais radiculares de dentes com insucesso endodôntico.

¹ Chambers HF. Antimicrobial agents: protein synthesis inhibitors and miscellaneous antibacterial agents. In: Brunton B, Chabner B, Knollman B, editores. Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. 10 ed. New York: McGraw-Hill; 2001. p. 1239-72.

REFERÊNCIAS

1. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1965 Set;20(3):340-9. [http://dx.doi.org/10.1016/0030-4220\(65\)90166-0](http://dx.doi.org/10.1016/0030-4220(65)90166-0). PMID:14342926.
2. Molander A, Reit C, Dahlén G, Kvist T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J.* 1998 Jan;31(1):1-7. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2591.1998.t01-1-00111.x>. PMID:9823122.
3. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjögren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1998 Jan;85(1):86-93. [http://dx.doi.org/10.1016/S1079-2104\(98\)90404-8](http://dx.doi.org/10.1016/S1079-2104(98)90404-8). PMID:9474621.
4. Schirrmeyer JF, Liebenow AL, Pelz K, Wittmer A, Serr A, Hellwig E, et al. New bacterial compositions in root-filled teeth with periradicular lesions. *J Endod.* 2009 Feb;35(2):169-74. <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2008.10.024>. PMID:19166766.
5. Endo MS, Martinho FC, Zaia AA, Ferraz CC, Almeida JF, Gomes BP. Quantification of cultivable bacteria and endotoxin in post-treatment apical periodontitis before and after chemo-mechanical preparation. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2012 Oct;31(10):2575-83. <http://dx.doi.org/10.1007/s10096-012-1598-6>. PMID:22565224.
6. Endo MS, Ferraz CC, Zaia AA, Almeida JF, Gomes BP. Quantitative and qualitative analysis of microorganisms in root-filled teeth with persistent infection: monitoring of the endodontic retreatment. *Eur J Dent.* 2013 Jul;7(3):302-9. <http://dx.doi.org/10.4103/1305-7456.115414>. PMID:24926210.
7. Ray HA, Trope M. Periapical status of endodontically treated teeth in relation to the technical quality of the root filling and the coronal restoration. *Int Endod J.* 1995 Jan;28(1):12-8. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2591.1995.tb00150.x>. PMID:7642323.
8. Hancock HH 3rd, Sigurdsson A, Trope M, Moiseiwitsch J. Bacteria isolated after unsuccessful endodontic treatment in a North American population. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2001 Maio;91(5):579-86. <http://dx.doi.org/10.1067/moe.2001.113587>. PMID:11346739.
9. Pinheiro ET, Gomes BP, Ferraz CC, Teixeira FB, Zaia AA, Souza FJ Fo. Evaluation of root canal microorganisms isolated from teeth with endodontic failure and their antimicrobial susceptibility. *Oral Microbiol Immunol.* 2003 Abr;18(2):100-3. <http://dx.doi.org/10.1034/j.1399-302X.2003.00058.x>. PMID:12654099.
10. Zhang C, Hou BX, Zhao HY, Sun Z. Microbial diversity in failed endodontic root-filled teeth. *Chin Med J (Engl).* 2012 Mar;125(6):1163-8. PMID:22613548.
11. Ricucci D, Siqueira JF Jr. Apical actinomycosis as a continuum of intraradicular and extraradicular infection: case report and critical review on its involvement with treatment failure. *J Endod.* 2008 Set;34(9):1124-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2008.06.002>. PMID:18718379.
12. Forbes GM, Collins BJ, McCullough CA, Coombs GW, Robins PD. Short duration therapy for *Helicobacter pylori* in Western Australia: the impact of metronidazole resistance. *Aust N Z J Med.* 1998 Feb;28(1):13-7. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1445-5994.1998.tb04452.x>. PMID:9544380.
13. Murray BE. The life and times of the Enterococcus. *Clin Microbiol Rev.* 1990 Jan;3(1):46-65. PMID:2404568.
14. Morrison D, Woodford N, Cookson B. Enterococci as emerging pathogens of humans. *Soc Appl Bacteriol Symp Ser.* 1997;83(S1):89S-99S. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2672.83.s1.10.x>. PMID:9436321.
15. Poeschl PW, Spusta L, Russmueller G, Seemann R, Hirschl A, Poeschl E, et al. Antibiotic susceptibility and resistance of the odontogenic microbiological spectrum and its clinical impact on severe deep space head and neck infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010 Ago;110(2):151-6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tripleo.2009.12.039>. PMID:20346713.
16. Skuicaite N, Peceliene V, Vitkauskienė A, Machiulskienė V. Susceptibility of endodontic pathogens to antibiotics in patients with symptomatic apical periodontitis. *J Endod.* 2010 Oct;36(10):1611-6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2010.04.009>. PMID:20850663.
17. Endo MS, Signoretti FG, Kitayama VS, Marinho AC, Martinho FC, Gomes BPFA. Culture and molecular detection of *Enterococcus faecalis* from patients with failure endodontic treatment and antimicrobial susceptibility of clinical isolates. *Braz Dent Sci.* 2014 Jul-Set;17(3):83-91. <http://dx.doi.org/10.14295/bds.2014.v17i3.1016>.
18. Mundy LM, Sahn DF, Gilmore M. Relationships between enterococcal virulence and antimicrobial resistance. *Clin Microbiol Rev.* 2000 Oct;13(4):513-522.
19. Al-Ahmad A, Ameen H, Pelz K, Karygianni L, Wittmer A, Anderson AC, et al. Antibiotic resistance and capacity for biofilm formation of different bacteria isolated from endodontic infections associated with root-filled teeth. *J Endod.* 2014 Feb;40(2):223-30. <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2013.07.023>. PMID:24461408.
20. Abbott PV, Hume WR, Pearman JW. Antibiotics and endodontics. *Aust Dent J.* 1990 Feb;35(1):50-60. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1834-7819.1990.tb03028.x>. PMID:2108659.
21. Preethee T, Kandaswamy D, Hannah R. Molecular identification of an *Enterococcus faecalis* endocarditis antigen *efaA* in root canals of therapy-resistant endodontic infections. *J Conserv Dent.* 2012 Oct;15(4):319-22. <http://dx.doi.org/10.4103/0972-0707.101886>. PMID:23112476.
22. Bolmström A. Susceptibility testing of anaerobes with Etest. *Clin Infect Dis.* 1993 Jun;16(Suppl 4):S367-70. http://dx.doi.org/10.1093/clinids/16.Supplement_4.S367. PMID:8324149.
23. Gomes BP, Jacinto RC, Montagner F, Sousa EL, Ferraz CC. Analysis of the antimicrobial susceptibility of anaerobic bacteria isolated from endodontic infections in Brazil during a period of nine years. *J Endod.* 2011 Ago;37(8):1058-62. <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2011.05.015>. PMID:21763894.

24. Jacinto RC, Montagner F, Signoretti FG, Almeida GC, Gomes BP. Frequency, microbial interactions, and antimicrobial susceptibility of *Fusobacterium nucleatum* and *Fusobacterium necrophorum* isolated from primary endodontic infections. *J Endod.* 2008 Dez;34(12):1451-6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2008.08.036>. PMID:19026872.
25. LeCorn DW, Vertucci FJ, Rojas MF, Progulske-Fox A, Bélanger M. In vitro activity of amoxicillin, clindamycin, doxycycline, metronidazole, and moxifloxacin against oral Actinomyces. *J Endod.* 2007 Maio;33(5):557-60. <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2007.02.002>. PMID:17437871.
26. Lins RX, Andrade AO, Hirata R Jr, Wilson MJ, Lewis MA, Williams DW, et al. Antimicrobial resistance and virulence traits of *Enterococcus faecalis* from primary endodontic infections. *J Dent.* 2013 Set;41(9):779-86. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdent.2013.07.004>. PMID:23851130.
27. Rams TE, Feik D, Young V, Hammond BF, Slots J. Enterococci in human periodontitis. *Oral Microbiol Immunol.* 1992 Ago;7(4):249-52. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-302X.1992.tb00034.x>. PMID:1408361.
28. Dahlén G, Samuelsson W, Molander A, Reit C. Identification and antimicrobial susceptibility of enterococci isolated from the root canal. *Oral Microbiol Immunol.* 2000 Out;15(5):309-12. <http://dx.doi.org/10.1034/j.1399-302x.2000.150507.x>. PMID:11154422.
29. Sedgley CM, Lennan SL, Clewell DB. Prevalence, phenotype and genotype of oral enterococci. *Oral Microbiol Immunol.* 2004 Abr;19(2):95-101. <http://dx.doi.org/10.1111/j.0902-0055.2004.00122.x>. PMID:14871348.
30. Rams TE, Feik D, Mortensen JE, Degener JE, van Winkelhoff AJ. Antibiotic susceptibility of periodontal *Enterococcus faecalis*. *J Periodontol.* 2013 Jul;84(7):1026-33. <http://dx.doi.org/10.1902/jop.2012.120050>. PMID:23106507.
31. Sedgley CM, Molander A, Flannagan SE, Nagel AC, Appelbe OK, Clewell DB, et al. Virulence, phenotype and genotype characteristics of endodontic *Enterococcus* spp. *Oral Microbiol Immunol.* 2005 Fev;20(1):10-9. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-302X.2004.00180.x>. PMID:15612939.

CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

*AUTOR PARA CORRESPONDÊNCIA

Marcos Sergio Endo, Rua Campos Sales, 133, apto 702. Zona 07, 87020-080 Maringá – PR, Brasil,
e-mail: marcossendo@gmail.com

Recebido: Novembro 18, 2014

Aprovado: Fevereiro 2, 2015