

# BIOFILME E A PATOGÊNESE DAS LESÕES PERIRRADICULARES

<sup>1</sup>Márcia Valeria Boussada Vieira, <sup>2</sup>Jaime Omar Moreno Monsalve,  
<sup>1</sup>Weber Schmidt Pereira Lopes, <sup>4</sup>Ángela María Martínez Santamaría.

<sup>1</sup>Doutorandos em Endodontia da Universidade Estácio de Sá – RJ, (Brasil).

<sup>2</sup>Odontólogo U. Santo Tomás, Especialista em Endodoncia U. Santo Tomás, Doutorando em Endodontia da Universidade Estácio de Sá – RJ, (Brasil).

<sup>3</sup>Odontóloga U. Santo Tomás, Especialista em Periodontia Universidade Estácio de Sá-RJ (Brasil).

Autor responsable de correspondencia: Jaime Omar Moreno Monsalve

Correo electrónico: jaimeomarmorenomon@gmail.com

## Resumo

O controle de uma infecção endodôntica demanda um esforço concentrado de fatores gerais do hospedeiro e de medidas de tratamento a partir da compreensão da etiologia e patogênese das doenças endodônticas. Atualmente há uma tendência de se considerar as lesões perirradiculares como doença induzida por biofilme. Este artigo de revisão tem como objetivo apresentar o biofilme dentro do conceito de comunidade como unidade de patogenicidade. O conhecimento e a compreensão do conceito de comunidade são importantes, pois o aprimoramento do endodontista no campo da microbiologia é fundamental para o entendimento do processo infeccioso que se propõe a eliminar. Isto se justifica para poder elaborar estratégias que permitam tratar de forma previsível o dente acometido. [Vieira MVB, Moreno JO, Lopes WSP, Martínez AM. Biofilme e a patogênese das lesões perirradiculares. Ustasalud 2011; 10: 60 - 64]

**Palavras-chave:** Infecção endodôntica, Biofilme, Lesões perirradiculares, Patogenicidade bacteriana.

## BIOFILMS AND THE PATHOGENESIS OF THE APICAL PERIODONTITIS

### Abstract

The control of an endodontic infection requires a concerted effort of general host factors and treatment measures based upon the understanding of the etiology and pathogenesis of endodontic diseases. Currently there is a tendency to consider apical periodontitis as a disease induced by biofilm. This review aims to present the biofilm within the concept of community as the unit of pathogenicity. Knowledge and understanding of the concept of community is important, because improving the endodontist in the field of microbiology is essential for a better understanding of the infectious process to be eliminated.

**Key words:** Endodontic infection, Biofilm, Apical periodontitis, Bacterial pathogenicity.

Recibido para publicación: 30 de marzo de 2011. Aceptado para publicación: 2 de mayo de 2011.

## INTRODUÇÃO

A endodontia é a disciplina envolvida com o controle e a prevenção das infecções pulpares e perirradiculares.<sup>1</sup> Há uma tendência atualmente de se considerar as lesões perirradiculares como doença induzida por biofilme.<sup>2</sup> O controle de uma infecção endodôntica demanda um esforço concentrado de fatores gerais do hospedeiro e de medidas de tratamento a partir da compreensão da etiologia e patogênese das doenças endodônticas.<sup>3</sup>

Apesar de fatores físicos e químicos estarem envolvidos, bactérias são o principal agente etiológico das doenças pulpares e perirradiculares, e elas exercem um papel importante na indução e perpetuação de processos inflamatórios na polpa dental e periápice.<sup>4</sup> Por isso, em polpa viva, todos os cuidados precisam ser tomados para evitar e prevenir

a contaminação, enquanto que na necrose pulpar, como consequência desta, o ambiente endodôntico torna-se um habitat seletivo para o estabelecimento de uma microbiota mista, dominada por bactérias anaeróbias. Nos estágios finais do processo infeccioso, a organização bacteriana se assemelha a biofilme.<sup>5,6</sup> Este artigo de revisão tem por objetivo apresentar o biofilme endodôntico dentro do conceito de comunidade como unidade de patogenicidade.

### Comunidade como patógeno

Tradicionalmente, o estudo da etiologia das principais doenças da cavidade oral tem sido baseado em reducionismo. Sob a ótica reducionista, muitos profissionais da saúde e microbiologistas são ensinados a procurar o “culpado”, o “patógeno causador”, que geralmente é um agente etiológico único de uma dada doença.<sup>6</sup>

## REVISIÓN DE TEMA

Nos últimos anos, em uma visão holística, existe uma tendência em considerar a comunidade bacteriana como a etiologia de infecções endógenas humanas, sendo esta uma unidade de patogenicidade.<sup>2,7</sup> O conhecimento e a compreensão do conceito de comunidade são importantes, pois o aprimoramento do endodontista no campo da microbiologia é fundamental para saber um pouco mais daquilo que se propõe a eliminar, ou seja, os microorganismos associados às doenças pulpares e perirradiculares. Isto se justifica para poder elaborar estratégias que permitam tratar de forma previsível o dente acometido. Entende-se que a comunidade é o conjunto integrado de populações que coexistem e interagem em um determinado ambiente.<sup>2</sup>

Essa tendência está suportada nos dados que são obtidos dos estudos sobre a patogenicidade de infecções mistas. Aliado a isso, temos as informações sobre a cooperação fisiológica do comportamento dos biofilmes multi espécies, interações bacterianas, redes alimentares e sistema *quorum sensing*, onde o resultado das propriedades da comunidade pode ser muito maior do que a soma dos componentes das populações. Deste modo, o trabalho em equipe é o que conta, ou seja, qualquer componente não pode ser totalmente entendido, exceto na sua relação com o todo.<sup>2,7</sup> O comportamento da comunidade bacteriana e o resultado das interações entre a comunidade/hospedeiro dependem de quais espécies compõem a comunidade e como a miríade de associações que estão ocorrendo dentro da comunidade afeta e modula a virulência das espécies. A alegada virulência de uma dada espécie difere quando a espécie está em cultura pura, em pares ou como parte de uma sociedade bacteriana maior (comunidade).<sup>2,7,8</sup>

Alguns estudos comunicam o perfil da comunidade bacteriana e alertam para o fato de que a composição da microbiota endodôntica difere consistentemente entre indivíduos sofrendo da mesma doença, isso denota a etiologia heterogênea para as lesões perirradiculares, na qual múltiplas combinações de espécies conduzem a resultado de doença semelhante. Além disso, informam que novas técnicas de biologia molecular e modernas técnicas anaeróbias têm revelado a diversidade microbiológica da infecção endodôntica e que, mais de 400 espécies de microorganismos podem ser encontradas combinadas nos canais infectados. Destacam também que o perfil da microbiota endodôntica varia entre os indivíduos, isto é, cada indivíduo acolhe uma combinação única em riqueza e abundância. Acrescentam que a severidade da doença, baseada na intensidade de sinais e sintomas ou respostas ao tratamento, pode estar relacionada à composição da comunidade

bacteriana e que, a variabilidade interindividual é mais pronunciada mesmo quando diferentes locais geográficos são estudados. Destarte, é fundamental compreender a ecologia e a patogenicidade da comunidade microbiana e isso depende do conhecimento de todos os componentes envolvidos, inclusive as que estão em baixos níveis no ambiente.<sup>2,7,9-13</sup> Este conceito tem sido aplicado a três principais doenças orais infecciosas: cárie, periodontite marginal e lesões perirradiculares.<sup>6,14-16</sup>

### Biofilme

O biofilme é uma comunidade microbiana multicelular séssil caracterizada por células que estão firmemente aderidas a uma superfície e imersas em uma matriz extracelular polimérica (usualmente polissacarídeos).<sup>14,17</sup>

Importante frisar que o estilo de vida em biofilme, ou seja, a capacidade de formar biofilme tem sido considerada como um fator de virulência.<sup>18</sup> A capacidade que os microorganismos têm para formação de comunidades pode ser considerada como essencial para a sobrevivência microbiana em praticamente todos os ambientes.<sup>14,19,20</sup>

Biofilmes são sistemas biológicos complexos, estruturalmente e dinamicamente organizados, que apresentam microbiota altamente diversificada, e que têm uma fisiologia coletiva respondendo em acordo aos desafios ambientais. As populações estão estrategicamente posicionadas para aperfeiçoar as interações metabólicas e a arquitetura resultante favorecendo no papel ecológico da comunidade.<sup>2,7,8,21</sup> As células bacterianas em biofilmes formam microcolônias (cerca de 15% em volume) que são incorporadas e distribuídas na matriz polimérica extracelular (cerca de 85% em volume) e separados por canais de água (22, 17, 23, 24). O biofilme dental pode atingir cerca de 300 ou mais camadas em espessura (23). O estilo de vida em comunidade proporciona às bactérias no biofilme inúmeras vantagens, que estão destacadas no quadro 1.<sup>17,22-24</sup>

Quadro 1. Vantagens da vida em biofilme.

VANTAGENS DA VIDA EM BIOFILME
Criação de um habitat mais amplo para crescimento de uma microbiota mais diversa.
Aumento da diversidade metabólica e eficiência devido à cadeia alimentar.
Proteção contra microorganismos concorrentes, contra defesas do hospedeiro, agentes antimicrobianos e estresse ambiental.
Facilita intercambio genético.
Aumento da patogenicidade.

Estima-se que infecções por biofilme compreendem 65% a 80% das infecções bacterianas que afetam os seres humanos no mundo desenvolvido.<sup>25</sup> Fortes evidências indicam que as lesões perirradiculares são doenças induzidas por biofilme.<sup>2,26,27</sup> Os biofilmes parecem estar mais presentes em associação com processos patológicos de longa duração, incluindo grandes lesões e cistos.<sup>28</sup>

Os biofilmes são o método preferido de crescimento para a maioria das espécies bacterianas. Além disso, os biofilmes orais podem conter 30 ou mais espécies bacterianas, e isto pode ser devido ao fato de que a maioria das espécies de bactérias orais pode aderir a outras espécies também orais.<sup>29</sup>

Bactérias ou microcolônias de bactérias no biofilme comunicam-se umas com as outras quando a densidade celular é suficiente. Esta comunicação, que é denominada *quorum sensing*, tem o potencial para influenciar a estrutura do biofilme encorajando o crescimento de espécies benéficas ao biofilme e desencorajando o crescimento de competidores. Dessa forma, a comunicação célula-célula e a transferência de informações genéticas dentro do biofilme, permitem à bactéria mudar em resposta ao seu meio ambiente, e a estrutura do biofilme proporciona uma defesa eficiente contra os mecanismos protetores do hospedeiro e a agentes antimicrobianos.<sup>8,27,29</sup>

Comunidades bacterianas organizadas em biofilmes, geralmente, possuem uma agressividade pequena na geração de dano tecidual imediato, mas são altamente perigosas porque podem estimular uma inflamação persistente gerando um dano tecidual colateral.<sup>2</sup> Além disso, os biofilmes servem como um foco em potencial para as manifestações agudas por liberação de células planctônicas suficientes para iniciar uma infecção aguda.<sup>7</sup> O dano tecidual e a inflamação resultante são geralmente proporcionais à densidade e à composição de espécies no biofilme.<sup>7</sup>

### Patogênese microbiana

A maioria das patologias pulpares e perirradiculares são doenças de etiologia microbiana. Microorganismos e seus produtos desempenham um papel essencial na indução, progressão e perpetuação de tais doenças.<sup>30-32</sup>

O fato de que os microorganismos organizados em comunidades e aderidos a uma superfície seriam a causa da maioria das infecções, colocou uma ênfase nas propriedades de virulência e estratégias de sobrevivência das bactérias em biofilme.<sup>27</sup> A tendência atual em microbiologia médica é compreender a comunidade microbiana como patógeno.<sup>15</sup>

Na última década os estudos moleculares na microbiologia endodôntica contribuíram para preencher uma lacuna no conhecimento do comportamento destas comunidades na causa da doença, já que os métodos tradicionais de cultivo em laboratório não atendiam mais às perguntas dos pesquisadores ou ofereciam informação que não permitia a compreensão do comportamento destas comunidades.<sup>2</sup>

Mais de 400 espécies de microorganismos podem ser encontradas nos canais infectados em combinação, freqüentemente envolvendo muitas espécies nas infecções primárias e em menor número nas infecções secundárias e/ou persistentes.<sup>6</sup>

Em torno de 20 a 40 espécies têm sido detectadas mais freqüentemente e então consideradas como candidatos a patógenos endodônticos. O fato de muitos estudos moleculares ou de cultura da microbiota endodôntica mostrarem a composição de espécies diferentes e mais prevalentes associadas com a mesma doença clínica proporcionam forte evidência para o conceito de comunidade como patógeno.<sup>2</sup>

A patogênese da doença é bastante complexa e envolve uma multiplicidade de fatores relacionados às bactérias e ao hospedeiro.<sup>33</sup> Com a infecção pulpar, o egresso de bactérias e seus produtos aos tecidos perirradiculares induzem alterações inflamatórias e imunológicas no periápice na tentativa de conter a disseminação da infecção, estabelecendo-se com isso, um equilíbrio entre defesa e agressão.<sup>4</sup> As lesões perirradiculares podem ser agudas e crônicas. As infecções agudas geralmente são causadas por alta virulência bacteriana na comunidade. Isso devido à presença de espécies virulentas e/ou ocorrência de sinergismo entre as espécies. Elas são também relacionadas às células bacterianas em estado planctônico em quantidades elevadas e com alguma capacidade de invadir o tecido, com a diminuição da resistência do hospedeiro. As crônicas estão usualmente associadas com baixa virulência da comunidade bacteriana envolvida, mas representam uma fonte de agressão persistente aos tecidos, já que da forma como estão organizadas em biofilme e devido à inacessibilidade para as defesas do hospedeiro por causa da localização anatômica da infecção, surgem respostas inflamatórias destrutivas.<sup>14,18,22,23,33-38</sup>

As bactérias exercem sua patogenidade através de mecanismos diretos e/ou indiretos (Quadro 2). Os fatores bacterianos causam os danos diretos às células do hospedeiro e/ou dano à matriz intercelular do tecido conjuntivo. Esses fatores envolvem os produtos secretados, incluindo enzimas, exotoxinas e produtos finais metabólicos.<sup>33</sup> Porém, as bactérias ainda podem causar severa destruição aos tecidos

e estimular reações imunes do hospedeiro para sua defesa através de seus componentes estruturais. Tais componentes causam dano indireto quando são liberados para os tecidos perirradiculares e agem como moduladores de estímulos para o desenvolvimento de reações imunes do hospedeiro não só capazes de defender o hospedeiro contra infecção, mas também de causar severa destruição dos tecidos.<sup>33</sup>

**Considerações finais**

Uma visão mais holística da comunidade microbiana em geral, como unidade de patogenicidade,

requer uma observação, atualização e o acompanhamento dos estudos para formar a base do conhecimento para a atuação clínica fundamentada nas evidências científicas.

Decisões endodônticas de compromisso precisam ser tomadas à luz do conhecimento dos fatores bacterianos envolvidos na patogênese das lesões perirradiculares, daí ser imprescindível a busca constante para a compreensão do processo visando melhores resultados para o tratamento endodôntico.

**Quadro 2.** Fatores de virulência bacteriana.

<b>Componentes Estruturais Dano Indireto</b>	<b>Produtos Secretados Dano Direto</b>	<b>Produtos Metabólicos Finais Dano Direto</b>
Lipopolissacarídeo		
Peptidoglicano		
Ácido lipoproteico	Enzimas	Compostos voláteis de enxofre
Proteína de membrana externa	Exotoxinas	Ácidos graxos de cadeia curta
Vesícula de membrana externa	Peptídeos bacterianos	Poliaminas
Lipoproteínas	N-formilados	Indol
Fímbrias	Proteínas de Choque térmico	Amônia
Exopolissacarídeos		
Flagelos		
DNA Bacteriano		

**Referências bibliográficas**

- Siqueira JF Jr, Rôças, IN, Lopes HP. Microbiologia endodôntica. In: Endodontia: biologia e técnica. 3. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2010. p. 103-146.
- Siqueira JF Jr, Rôças, IN. Community as the unit of the pathogenicity: An emerging concept as to the microbial pathogenesis of the apical periodontitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009;107: 870 - 878.
- Haapasalo M, Endal U. Control and elimination of endodontic infection. *Roots* 2006;1: 15 - 22.
- Alves FRF. Compreendendo a etiologia das infecções endodônticas. *Rev Biociên* 2004;10: 67 - 71.
- Siqueira JF Jr. Reaction of periradicular tissues to root canal treatment: benefits and drawbacks. *Endod Topics* 2005; 10: 123 – 147.
- Siqueira JF Jr, Rôças, IN. Distinctive features of the microbiota associated with different forms of apical periodontitis. *J Oral Microbiol* 2009; 1.
- Siqueira JF Jr. Treatment of Endodontic Infections. London: Quintessence Publishing, 2011.
- Parsek MR, Greenberg EP. Sociomicrobiology: the connections between quorum sensing and biofilms. *Trends Microbiol* 2005; 13: 27 - 33.
- Blome B, Braun A, Sobarzo V, Jepsen S. Molecular identification and quantification of bacteria from endodontic infections using real-time polymerase chain reaction. *Oral Microbiol Immunol* 2008; 23: 384 - 390.
- Rôças IN, Siqueira JF Jr, Aboim MC, Rosado AS. Denaturing gradient gel electrophoresis analysis of bacterial communities associated with failed endodontics treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004; 98: 741 - 749.
- Rôças IN, Hulsmann M, Siqueira JF Jr. Microorganisms in root canal-treated teeth from a German population. *J Endod* 2008; 34: 926 - 931.
- Sakamoto M, Siqueira JF Jr, Rôças IN, Benno Y. Molecular analysis of the root canal microbiota associated with endodontic treatment failures. *Oral Microbiol Immunol* 2008; 23: 275 - 281.
- Siqueira JF Jr, Rôças IN. Polymerase chain reaction-based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004; 97: 85 - 94.
- Costerton JW. The biofilm primer. Berlin: Heidelberg: Springer-Verlag, 2007.
- Kuramitsu HK, He X, Lux R, Anderson MH, Shi W. Interspecies interactions within oral microbial communities. *Microbiol Mol Biol Rev* 2007; 71: 653 - 670.
- Marsh PD. Are dental diseases examples of ecological catastrophes? *Microbiology* 2003; 149: 279 - 294.
- Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15: 167 - 193.
- Hall-stoodley L, Costerton JW, Stoodley P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nat Rev Microbiol* 2004; 2: 95 - 108.
- Marsh PD. Dental plaque as a microbial biofilm. *Caries Res* 2004; 38: 204 – 211.

20. Schaudinm C, Gorur A, Keller D, Sedqhezadeh PP, Costerton JW. Periodontitis: An archetypical biofilm disease. *J Am Dent Assoc* 2009; 140: 978 - 986.
21. Hall-stoodley L, Stoodley P. Evolving concepts in biofilm infections. *Cell Microbiol* 2009; 11: 1034 - 1043.
22. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 1999; 284: 1318 - 1322.
23. Socransky SS, Haffajjee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontol 2000* 2002; 28: 12 - 55.
24. Stoodley P, Sauer K, Davies DG. Biofilms as complex differentiated communities. *Annu Rev Microbiol* 2002; 56: 187 - 209.
25. Costerton B. Microbiol ecology comes of age and joins the general ecology community. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 16983 - 16984.
26. Chavez de Paz L. Redefining the persistent infection in root canals: possible role of biofilm communities. *J Endod* 2007; 33: 652 - 662.
27. Svensäter G, Bergenholtz G. Biofilms in endodontic infections. *Endod Topics* 2004; 9:27 - 36.
28. Ricucci D, Siqueira JF Jr. Biofilms and apical periodontitis: study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings. *J Endod* 2010; 36: 1277 - 1288.
29. Tronstad L, Sunde PT. The evolving new understanding of endodontic infections. *Endod Topics* 2003; 6: 57 - 77.
30. 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; 20: 340 - 349.
31. Möller AJ, R, Fabricius L, Dahlén G, Ohman AE, Heyden G. Influence on periapical tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. *Scand J Dent Res* 1981; 89: 475 - 484.
32. Sundqvist G. Bacteriological studies of necrotic dental pulps [Dissertation]. Umea Sweden: University of Umea; 1976.
33. Siqueira JF Jr, Rôças IN. Bacterial pathogenesis and mediators in apical periodontitis. *Braz Dent J* 2007; 18: 267 - 280.
34. Beloin C, Valle J, Latour - Lambert P, Faure P, Kzreminski M, Balestrino D, et al. Global impact of mature biofilm lifestyle on *Escherichia coli* K-12 gene expression. *Mol Microbiol* 2004; 51: 659 - 674.
35. Brady RA, Leid JG, Calhoun JH, Costerton JW, Shirtliff ME. Osteomyelitis and the role of biofilms in chronic infection. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2008; 52: 3 - 22.
36. Costerton JW, Veeh R, Shirtliff M, Pasmore M, Post C, Ehrlich G. The applications of biofilm science to the study and control of chronic bacterial infections. *J Clin Invest* 2003; 112: 1666 - 1477.
37. Furukawa S, Kuchma SL, O'Toole GA. Keeping their options open: acute versus persistent infections. *J Bacteriol* 2006; 188: 1211 - 1217
38. Sauer K., Camper AK, Ehrlich GD, Costerton JW, Davies DG. *Pseudomonas aeruginosa* displays multiple phenotypes during development as a biofilm. *J Bacteriol* 2002; 184: 1140 - 1154.

## Correos electrónicos de los autores:

Márcia Valéria Boussada Vieira: [mvieirabrasil@gmail.com](mailto:mvieirabrasil@gmail.com), Jaime Omar Moreno Monsalve: [jaimeomarmorenomon@gmail.com](mailto:jaimeomarmorenomon@gmail.com),  
Weber Schmidt Pereira Lopes: [weberejf@gmail.com](mailto:weberejf@gmail.com), Angela María Martínez Santamaria: [gotzonemiren@hotmail.com](mailto:gotzonemiren@hotmail.com)