

Investigação do efeito do preparo químico mecânico sob as bactérias do complexo vermelho e sob os níveis de endotoxina, em canais radiculares e bolsas periodontais de dentes com lesões endo-periodontais combinadas

Palavras-chave: Complexo Vermelho, Lesões endodônticas-periodontais, Nested-PCR, Endotoxinas

Aluna: Maria Vitória Bello Avolio- Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Unicamp, Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP. Piracicaba, SP, Brasil

Co-orientadora: Rafaela Casadei Chapola- Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Unicamp, Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP. Piracicaba, SP, Brasil

Orientadora: Prof. Dra. Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes- Departamento de Odontologia Restauradora, Área de Endodontia, Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP. Piracicaba, SP, Brasil

1. Introdução

A polpa e o periodonto possuem relações embriológicas, anatômicas e funcionais, sendo uma via de mão dupla na disseminação de microrganismos;

O complexo vermelho é constituído por um grupo de bactérias Gram-negativas anaeróbias estritas (*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola*), altamente relacionadas à gravidade das patologias periodontais;

A máxima diminuição de patógenos durante o tratamento endodôntico é feita pelo preparo químico-mecânico, onde substâncias químicas auxiliares permeiam por onde os instrumentos não alcançam;

A clorexidina tem se destacado devido à sua ampla capacidade de ação antimicrobiana, substantividade e baixa citotoxicidade.

2. Objetivos

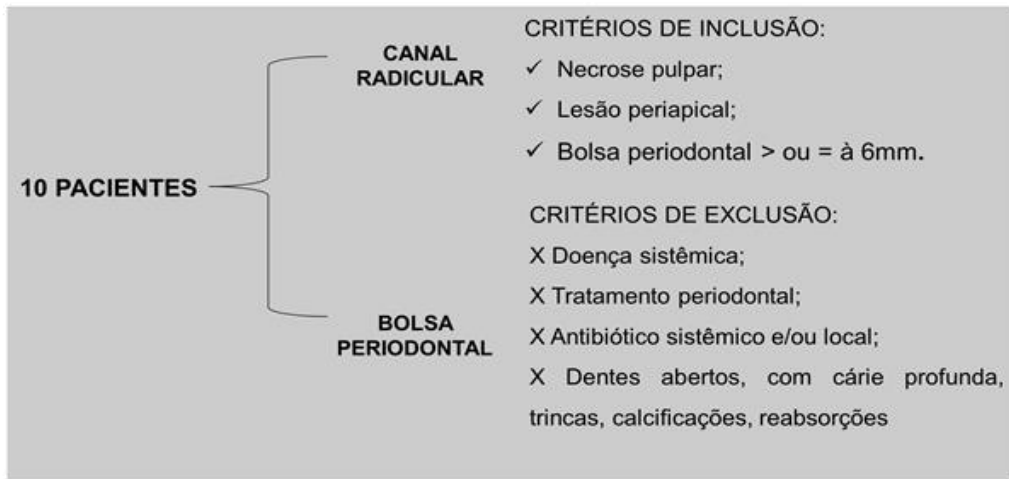
-Investigar a presença de bactérias do complexo vermelho em canais radiculares e em bolsas periodontais de dentes com lesões endodônticas-periodontais combinadas, pelo método Nested-PCR;

-Verificar a capacidade do preparo químico-mecânico em eliminar os microrganismos investigados;

-Analisar o efeito do preparo químico-mecânico na redução dos níveis de endotoxinas, nos canais radiculares e nas bolsas periodontais associadas.

3. Materiais e métodos

Nesse estudo foram analisadas amostras clínicas de 10 pacientes, sendo 10 bolsas periodontais e 10 canais radiculares, em concordância com os critérios de inclusão do trabalho, destacados no esquema a seguir.



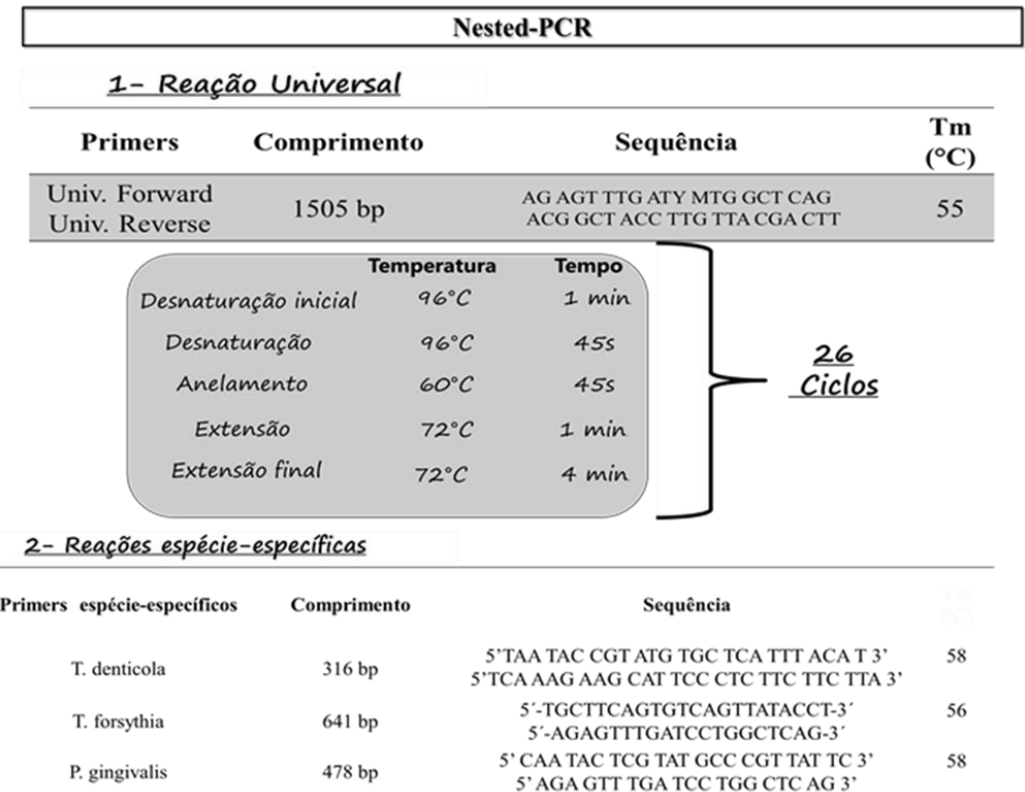
Foram feitas coletas das amostras clínicas, tanto nas bolsas periodontais (BP) quanto nos canais radiculares (CR) em 4 momentos do tratamento: BP1 (coleta periodontal inicial), CR1 (coleta endodôntica inicial), BP2 (coleta periodontal após o PQM) e CR2 (coleta endodôntica após o PQM).

As coletas periodontais foram feitas com auxílio de cones de papel absorventes, aprotogênicos e estéreis, colocados na bolsa periodontal mais profunda, por 1 minuto.

As coletas endodônticas foram feitas da mesma forma, sendo os cones de papel introduzidos até o comprimento aparente do dente, por 60 segundos.

Essas amostras coletadas foram armazenadas para posterior análise microbiológica.

Nested-PCR: a primeira análise foi feita pelo método do Nested-PCR, como designado pelo esquema a seguir, de forma a analisar a presença dos microrganismos de interesse para o estudo.



Quantificação de endotoxinas- método LAL: Essa análise foi realizada a partir do teste turbidimétrico Limulus Amebocyte Lysate, em que cada amostra entrou em contato com o reagente reconstituído LAL.

Quantificação de LPS pelo método de LAL



Figura 1. Processamento de endotoxinas pelo ensaio LAL. A - Kit de endotoxinas composto por água apirogênica, Tampão de reconstituição Pyrogen-5000 LAL, Reagente Pyrogen-5000 LAL e Endotoxina *E. coli* 055:B5; B - Leitor Biotek (ELX 808, Winooski, VT, EUA); C - Software WinQCL (Lonza, Walkersville, MD, EUA)

Após os testes, os dados foram coletados e analisados estatisticamente, sendo descritos a seguir.

4. Resultados

Os 10 dentes usados nesse estudo foram provenientes de 10 pacientes. Os dentes apresentavam, sem exceção, bolsas periodontais com profundidade de sondagem maior ou igual à 6mm, lesão no periápice e necrose da polpa. Além disso, eles eram do grupo dos incisivos, caninos, molares e pré-molares. Clinicamente, todos se apresentavam com mobilidade, tendo restaurações ou não (hígidos).

Nested-PCR

O microrganismo mais encontrado nos canais radiculares, na primeira coleta (antes do PQM), foi o *Treponema denticola* (100%, 10/10), seguido de *Porphyromonas gingivalis* (40%, 4/10) e *Tannerella forsythia* (20%, 2/10). Após o preparo químico mecânico, o mais frequente foi: *Tannerella forsythia* (50%, 5/10), seguido de *Treponema denticola* (40%, 4/10) e *Porphyromonas gingivalis* (40%, 4/10).

Nas bolsas periodontais os resultados foram: *Treponema denticola* (100%, 10/10), seguido de *Tannerella forsythia* (70%, 7/10) e *Porphyromonas gingivalis* (40%, 4/10). Após o preparo químico mecânico: *Treponema denticola* (90%, 9/10), seguido de *Tannerella forsythia* (50%, 5/10) e *Porphyromonas gingivalis* (50%, 5/10).

Os dados estão resumidos na tabela a seguir (tabela 1).

	CP 1	CP 2	CE 1	CE 2
<i>Treponema denticola</i>	100% (10/10)	90% (9/10)	100% (10/10)	40% (4/10)
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	40% (4/10)	50% (5/10)	40% (4/10)	40% (4/10)
<i>Tannerella forsythia</i>	70% (7/10)	50% (5/10)	20% (2/10)	50% (5/10)

Tabela 1. Frequência das espécies bacterianas *Treponema denticola*, *Porphyromonas gingivalis* e *Tannerella forsythia* nas bolsas periodontais (CP) e canais radiculares (CE), antes e depois do PQM (preparo químico-mecânico), respectivamente

*CP1: coleta na bolsa periodontal antes do PQM/ CP2: coleta na bolsa periodontal depois do PQM/ CE1: coleta no canal radicular antes do PQM/ CE2: coleta no canal radicular depois do CMP

Endotoxinas

Nas coletas iniciais dos canais radiculares, a média do valor de endotoxinas detectada foi de 18,92 EU/mL. Após o PQM, o valor mudou para 0,22 EU/mL, com percentual de redução de 99,43%.

Nas coletas iniciais das bolsas periodontais, a média do valor de endotoxinas detectada foi 184,63 EU/mL. Após o PQM, a média foi de 89,37 EU/mL, com percentual de redução de 72,45 %.

Os dados estão resumidos no Gráfico 1.

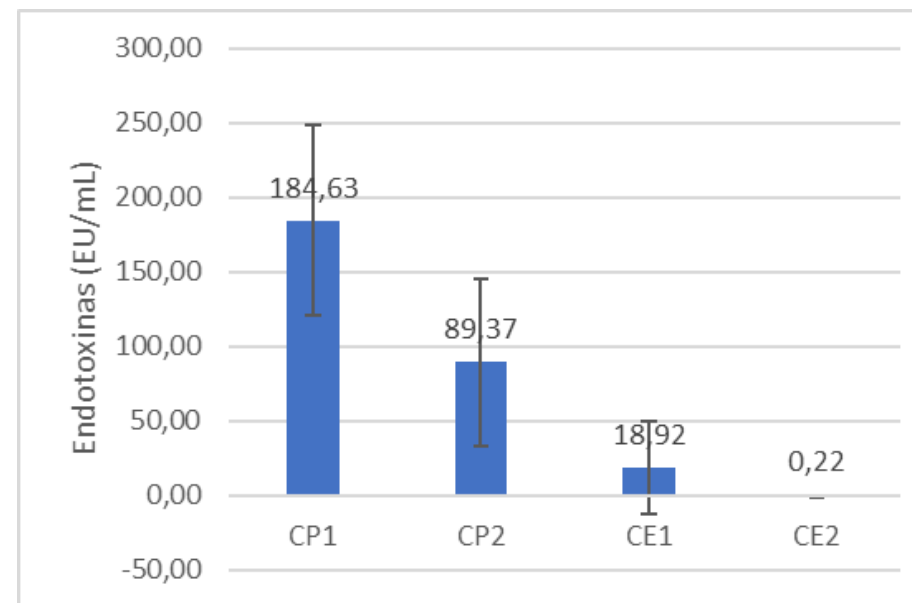


Gráfico 1. Média e desvio padrão das endotoxinas nos diferentes momentos de coleta (bolsa periodontal antes e depois do PQM e canal radicular antes e depois do PQM).

*CP1: coleta na bolsa periodontal antes do PQM/ CP2: coleta na bolsa periodontal depois do PQM/ CE1: coleta no canal radicular antes do PQM/ CE2: coleta no canal radicular depois do CMP

- Bactérias e LPS foram encontrados em 100% dos casos;
- *Treponema denticola* foi encontrada em 100% dos casos nas Bolsas Periodontais e nos Canais Radiculares;
- O percentual de redução das endotoxinas nos canais foi de 99,43% e nas bolsas periodontais de 72,45%.

5. Discussão

Através do método Nested-PCR, pudemos observar que a espécie *Treponema denticola* foi a mais frequentemente detectada, nas bolsas periodontais, antes e após o PQM. Resultados semelhantes foram encontrados no estudo de Berber, 2009. O predomínio dessa espécie pode ser explicado devido à forma helicoidal que as bactérias do gênero espiroquetas possuem, o que confere a elas a capacidade de adentrarem-se nos tecidos periodontais mais profundos (Foschi et al., 2005, Rôças et al., 2003).

Além disso, *Treponema denticola* esteve presente em 100% dos casos iniciais em ambos os sítios, o que ocorreu de uma forma semelhante com *Porphyromonas gingivalis*. Esses resultados sugerem que as vias de comunicação, entre polpa e periodonto, podem ser importantes fatores etiopatogênicos, envolvidos no desenvolvimento e manutenção das lesões endo-periodontais (Berber, 2009; Gomes et al., 2015, Duque et al., 2018)).

Com relação à concentração de endotoxinas, inicialmente ao PQM, nas bolsas periodontais, apresentou valores elevados, fato que pode ser explicado devido à maior prevalência de Gram-negativos, em bolsas periodontais profundas (Paster et al., 2000). Após o PQM, foi observado uma redução de 72,45% desses níveis, o que novamente enfatiza a grande relevância que as vias de comunicação anatômica possuem, dentro das lesões endo-periodontais combinadas (Martinho et al., 2010).

6. Conclusões

- *Treponema denticola* foi a espécie mais prevalente nas bolsas periodontais, antes e após o PQM;
- O PQM foi capaz de alterar a carga microbiana, tanto nos CR's quanto nas BP's;
- O PQM reduziu os níveis endotóxicos nos CR's e nas BP's dos dentes analisados.

7. Bibliografia

- Berber VB. Identificação da microbiota das lesões endo-periodontais por cultura e PCR e sua suscetibilidade ao preparo químico-mecânico e a medicações intracanal entre sessões de atendimento [tese]. Piracicaba: Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas; 2009.
- Gomes BP, Berber VB, Kokaras AS, Chen T, Paster BJ. Microbiomes of endodontic- periodontal lesions before and after chemomechanical preparation. J Endod. 2015 Dec;41(12):1975-84.
- Paster BJ, Olsen I, Aas JA, Dewhirst FE. The breadth of bacterial diversity in the human periodontal pocket and other oral sites. Periodontol 2000. 2006 Aug;42:80-7.
- Foschi F, Cavrini F, Montebugnoli L, Stashenko P, Sambri V, Prati C. Detection of bactéria in endodontic samples by polymerase chain reaction assays and association with defined clinical signs in Italian patients. Oral Microbiol Immunol. 2005;20:289–295.
- Duque TM. Análise microbiológica por PCR, quantificação de endotoxinas e monitoramento inflamatório em pacientes com doença periodontal crônica. tese]. Piracicaba: Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas; 2016.
- Siqueira JF, Jr, Rocas IN. Treponema species associated with abscesses of endodontic origin. Oral Microbiol Immunol. 2004;19:336–339.
- Martinho FC, Chiesa WM, Marinho AC et al. Clinical investigation of the efficacy of chemomechanical preparation with rotary nickel-titanium files for removal of endotoxin from primarily infected root canals. J Endod. 2010 Nov;36(11):1766-9