

Lesões periapicais crônicas: revisão dos aspectos microbiológicos por diferentes métodos de investigação

Chronic periapical lesions: a review of microbiologic aspects by different investigations methods

Manoel BRITO JÚNIOR¹

Janir Alves SOARES²

Renata Sousa Tatagiba LUZ²

RESUMO

A necrose pulpar representa a cessação dos processos metabólicos do tecido pulpar, desestruturação e concomitante perda de suas defesas naturais. A partir da necrose pulpar, a cavidade pulpar torna-se progressivamente colonizada por vários micro-organismos habitantes da cavidade bucal e sistemas interligados. Assim, os dentes com necrose pulpar e áreas radiolúcidas periapicais apresentam inúmeros morfotipos microbiológicos no sistema de canais radiculares. Não obstante, de longa data, tem sido questionada a sobrevivência de micro-organismos nos granulomas periapicais. Nesta revisão, verificou-se que na atualidade, pela técnica da cultura microbiológica ou por métodos moleculares, cocos, bacilos e filamentosos, gram-negativos e positivos, predominantemente anaeróbios estritos, identificados no sistema de canais radiculares, também são recuperados na região periapical. Esses micro-organismos também são identificados pela coloração de Brown e Brenn ou pela microscopia eletrônica de varredura no ápice radicular e na estrutura da lesão, numa frequência que oscila de 4% a 100%. Estruturalmente, organizam-se num material amorfo, iodoso, de composição polissacarídica - os biofilmes periapicais.

Termos de indexação: Endodontia. Periodontite periapical. Granuloma periapical.

ABSTRACT

Starting from the pulp necrosis the pulp cavity becomes progressively colonized by several microorganisms' inhabitants of the oral cavity and interconnectives systems. Thus, the teeth with pulp necrosis and radiolucencies periapical areas present countless microbiological morfotypes in the root canal system. Nevertheless, of long date, the survival of the microorganisms in the periapical granuloms has been questioned. In this review it was verified that currently, by culture or molecular methods that the coccus, bacilli and filamentous, gram-negative and positive, predominantly strict anaerobes, identified in the root canal system also are recovered in the periapical lesions. Such microorganisms are also identified for the coloration of Brown and Brenn or for the scanning electronic microscopy in the root apex and in the structure of the lesion, in a frequency that oscillates from 4% to 100%. Structurally, they are organized in an amorphous material, muddy, of polysaccharide composition- the periapical biofilms.

Indexing terms: Endodontics. Periapical periodontitis. Periapical granuloma.

INTRODUÇÃO

Alterações inflamatórias provocadas por cárie, procedimentos restauradores e traumas, na dependência da sua intensidade e das condições intrínsecas de reação do tecido pulpar, podem afetar, em diferentes magnitudes, a sua fisiologia e evoluir para uma condição irreversível à normalidade. Conseqüentemente, num estágio mais avançado, instala-se a necrose pulpar que representa a cessação dos processos metabólicos do tecido pulpar, desestruturação e concomi-

tante perda de suas defesas naturais. Nesse contexto, a cavidade pulpar torna-se progressivamente colonizada por vários micro-organismos habitantes da cavidade bucal e sistemas interligados¹. Precocemente, num estágio de transição, entre a vitalidade e a necrose, sinais moleculares e/ou celulares chegam aos tecidos periapicais². Por conseguinte, em resposta ao conteúdo antigênico intracanal, representado pelos micro-organismos, bioprodutos da degradação pulpar e seus constituintes celulares, acumulam-se, nas circunjações do periápice, um diversificado número de células e mediadores da defesa orgânica, específica e inespecífica³.

¹ Universidade Estadual de Montes Claros, Curso de Odontologia, Departamento de Odontologia. Avenida Rui Braga, sn., Campus Universitário Prof. Darcy Ribeiro, Prédio 6, Vila Mauricéia, 39401089, Montes Claros, MG, Brasil. Correspondência para / Correspondence to: M BRITO JÚNIOR. E-mail: <manoelbritojr@gmail.com>.

² Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Faculdade de Odontologia. Diamantina, MG, Brasil.

Com esse processo evolutivo da doença endodôntica, é desencadeada marcante alteração bioquímica e celular que, numa missão auto-protetora do periápice e, conseqüentemente, do organismo, iniciam, coordenadamente, a destruição tecidual, com reabsorção óssea e cimento-dentinária⁴⁻⁵. Esse quadro reabsorutivo estabelece o espaço condizente à organização de uma zona imunologicamente ativa e neutralizadora da infecção endodôntica, denominada genericamente de lesão periapical, sendo a mesma identificada, radiograficamente, mediante reabsorção da medular óssea e comprometimento parcial ou total da cortical alveolar⁴. Em função da sua constituição e organização histopatológica são denominados de abscesso dento-alveolares, cisto periodontal apical e granuloma apical³.

Concomitante à atividade clástica periapical, os micro-organismos avançam pela complexa anatomia do sistema de canais radiculares, com seus inúmeros túbulos dentinários e variadas ramificações⁵. Dentre estes, predominam os morfotipos: cocos gram-positivos, bacilos gram-positivos, bacilos gram-negativos e filamentosos gram-positivos⁵⁻⁶ que se proliferam pela presença de nutrientes e restos orgânicos na cavidade pulpar e estabelecem relações de cooperação e antagonismo, com predomínio de bactérias anaeróbias estritas⁷.

Desse modo, está bem definida a participação de micro-organismos na infecção intra-radicular e no desenvolvimento e manutenção das lesões periapicais. Entretanto, a infecção extra-radicular, estabelecida na superfície do cimento apical e na intimidade da lesão periapical, representava até décadas atrás, um raro achado microbiológico⁸⁻¹⁰. Não obstante, atualmente, esse tema tem sido bastante investigado e os resultados têm mudado muitos conceitos da infecção endodôntica.

O presente artigo revisa a literatura acerca dos aspectos microbiológicos das lesões periapicais crônicas investigados por diferentes métodos.

Micro-organismos nas lesões periapicais

Pelo método de Brown & Brenn

Walton & Ardjamand¹⁰ identificaram bactérias, por meio de coloração Brown & Brenn, predominantemente gram-positivas, em todos os canais radiculares de dentes de macacos analisados microscopicamente. No entanto, na maioria das amostras, os micro-organismos não ultrapassavam o limite do forame apical. Similarmente, Langeland et al.⁹ em estudo histopatológico e histobacteriológico de biópsias obtidas de 35 dentes

portadores de lesão periapical, verificaram que somente um caso apresentou, simultaneamente, bactérias no canal radicular e na região periapical.

Avaliando a distribuição de bactérias nos granulomas apicais, Ribeiro⁶ verificou na superfície apical, inúmeras bactérias gram-negativas e gram-positivas, predominantemente cocos e bacilos, isoladamente ou em placas firmemente aderidas, como se tivessem revestindo a superfície radicular. Ademais, em 92,8% da amostragem haviam micro-organismos distribuídos em colônias ou isoladamente, na intimidade do tecido granulomatoso. Recentemente, Ricucci et al.¹¹ avaliaram microbiologicamente 50 lesões periapicais aderidas em dentes extraídos e encontraram bactérias em todos os casos estudados. Em 18 casos de abscessos ou cistos foram encontradas bactérias no corpo das lesões.

Soares et al.⁵ induziram lesões periapicais em dentes de cães e sob rigorosa cadeia asséptica, realizaram o preparo biomecânico auxiliado pela solução de hipoclorito de sódio a 5,25%. Na mesma sessão, aplicaram-se, por 21 dias, pastas intracanalais à base de hidróxido de cálcio com diferentes veículos. Histologicamente foi verificado que os dentes não tratados endodonticamente apresentaram elevada frequência de micro-organismos em todos os sítios do sistema de canais radiculares e nas reabsorções cementárias. Interessantemente, similares aspectos histomicrobiológicos foram observados nos dentes que receberam protocolo de tratamento anti-séptico intracanal.

Pela técnica da cultura microbiológica e métodos moleculares

Em lesões periapicais primárias

Grossman⁸ pesquisou bacteriologicamente lesões periapicais com diâmetro radiográfico variando de 5 a 20mm. Alguns canais radiculares só foram obturados após obtenção, de no mínimo, 2 culturas bacteriológicas negativas, quando então foi realizada apicetomia e remoção da lesão. De uma amostragem de 109 casos, 93 (85,3%) confirmaram ausência de micro-organismos nos tecidos periapicais. Em contrapartida, do tecido homogeneizado de 16 amostras, Iwu et al.¹² verificaram crescimento bacteriano em 14 (88,0%), com média de $10^{2.2}$ ufc/ml. Nesse estudo foram isoladas 47 espécies bacterianas, com média de 1 a 6 por lesão, sendo 55,0% anaeróbias facultativas e 45,0% anaeróbias estritas.

Yamasaki et al.² avaliaram a dinâmica da infecção dos tecidos periapicais por meio da contagem de bactérias gram-negativas; da incidência de anaeróbios obrigatórios e facultativos; bem como do conteúdo de endotoxina, em

vários estágios da formação da lesão periapical, em molares de ratos. Verificaram que a quantidade de endotoxina aumentou gradualmente, no período de 1 a 70 dias. As bactérias gram-negativas foram isoladas com maior aumento no período de 1 a 14 dias, quando elevaram de 26,3% para 82,0%. A soma de bactérias anaeróbias aumentou gradualmente de 1 a 21 dias, elevando-se de $6,47 \times 10^2$ para $1,30 \times 10^5$ ufc/ml.

A microbiota do canal radicular e do trajeto de fístula foi estudada por Weiger et al.¹³. Foram isoladas 94 e 71 linhagens bacterianas no canal radicular e trajeto da fístula, respectivamente. No canal radicular as espécies mais frequentes foram *Prevotella intermedia*, *Prevotella buccae*, *Fusobacterium nucleatum* e *Lactobacillus plantarum*. Já no trajeto da fístula foram: *Fusobacterium nucleatum*, *P. intermedia* e *P. oralis*.

Rocha et al.¹⁴ avaliando a microbiota de 30 lesões periapicais humanas, isolaram 137 cepas. *Fusobacterium nucleatum* foi o anaeróbio obrigatório mais frequente e dentre os facultativos, houve destaque para o *Streptococcus mitis*. As infecções foram polimicrobianas, variando de 2 a 6, com uma média de 4 cepas por lesão periapical. Dentre os morfotipos identificados, os bacilos gram-negativos foram os mais prevalentes.

Sunde et al.¹⁵ utilizaram a técnica de hibridização de DNA para identificar bactérias em lesões periapicais de dentes assintomáticos, em 34 pacientes. Foram encontradas diversas espécies bacterianas tais como: *Campylobacter gracilis*, *Porphyromonas endodontalis*, *Propionibacterium acnes*, *Capnocytophaga gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum sp. nucleatum*, *Fusobacterium nucleatum sp. polymorphum*, *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola*, *Streptococcus constellatus* e *Actinomyces naeslundii*. Além disso, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* e *Bacteroides forsythus* foram detectados em mais de 60% das lesões investigadas.

Geibel et al.¹⁶ identificaram micro-organismos em lesões periapicais de 14 dentes usando a técnica de Reação de Cadeia em Polimerase (PCR). Todas as amostras apresentaram mais que uma espécie bacteriana, sendo as mais prevalentes: *M. micros*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *F. nucleatum* e *S. sanguinis*.

Em lesões periapicais refratárias ao tratamento endodôntico No relato de Tronstad et al.¹⁷, oito pacientes apresentavam áreas radiolúcidas periapicais com história de sérias enfermidades sistêmicas. Cinco deles apresentavam fístulas de longa data. Após a exposição cirúrgica, colheu-se exsudato do centro da lesão, seguido de enucleação. Foi verificado crescimento bacteriano em todas as amostras, e basicamente as mesmas bactérias foram encontradas nas três avaliações microbiológicas das respectivas lesões. Não houve apreciável diferença entre as espécies isoladas dos dentes com ou sem fístula.

Em outro estudo, Tronstad et al.¹⁸ avaliaram as condições bacteriológicas de um dente portador de lesão periapical refratária. Após terapia endodôntica bem como de antibioticoterapia sistêmica, verificaram que das seis espécies bacterianas identificadas inicialmente, o tratamento local/sistêmico eliminou somente quatro.

No estudo de Wayman et al.¹⁹, das 29 lesões sem comunicação com a cavidade bucal, 83,0% forneceram crescimento bacteriano. Treze culturas forneceram micro-organismos isolados e 11 foram polimicrobianas, com 2 a 6 espécies por amostra. As mais encontradas foram *Staphylococcus epidermidis*, *Fusobacterium nucleatum* e *Propionibacterium acnes*. Nas 29 lesões com possível comunicação com a cavidade bucal, 93,0% forneceram culturas positivas, contendo 2 a 8 espécies por lesão. *Bacteroides sp.* foram identificados em 17 lesões, sempre associados a outras bactérias. A principal diferença entre as lesões foi a média de bactérias, que nas lesões comunicantes foi de 2,86 e nas não comunicantes foi de 1,72 espécies.

Vinte e oito lesões periapicais foram investigadas por Vigil et al.²⁰. Das 15 lesões sem comunicação com a cavidade bucal, foram recuperadas 23 espécies bacterianas em 10 (67,0%) amostras. As espécies predominantes foram *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis* e *Streptococcus intermedius*. Das 13 lesões com possível comunicação com a cavidade bucal, 12 amostras (92,0%) forneceram 30 espécies. Os resultados de antibiograma não apontaram significativa resistência aos antibióticos testados.

A microbiota de 13 lesões periapicais refratárias ao tratamento endodôntico e sem comunicação com a cavidade bucal, foram avaliadas por Abou-Rass & Bogen²¹. Amostras microbiológicas obtidas da periferia da lesão, do tecido inflamatório enucleado e do ápice após completar a enucleação da lesão, forneceram crescimento em 3, 8 e 13 casos, respectivamente. De um total de 41 espécies, 22 foram isoladas na região apical. As mais frequentes foram: *Actinomyces sp.* (31,8%); 22,7% para *Propionibacterium sp.*; *Streptococcus sp.* (18,2%) e *Staphylococcus sp.* (13,6%). O número médio de UFC variou de 2×10^1 a $2,2 \times 10^4$ /ml e os anaeróbios facultativos (83,5%) foram os predominantes.

Noguchi et al.²² analisaram microbiologicamente, pela técnica PCR, biofilmes de lesões periapicais refratárias de 27 pacientes. Foram identificadas 113 espécies bacterianas sendo que *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* e *Tannerella forsythensis* as mais frequentemente detectadas.

Lin et al.²³ investigaram, pelas técnicas de cultura bacteriana e hibridização de DNA, a presença de bactérias periodontopatogênicas em lesões periapicais persistentes

de 24 pacientes indicados para cirurgia paraendodôntica. Espécies bacterianas como *Treponema denticola*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis*, *Prevotella intermedia* e *Actinobacillus actinomycetemcomitans* foram identificadas em aproximadamente 30% dos casos, principalmente pelo método molecular.

Pela microscopia eletrônica de varredura

Nair²⁴ verificou bactérias isoladas ou em grupos, constituídas predominantemente de cocos, bastonetes, espiroquetas e formas filamentosas dentro ou ao longo de um epitélio que se invaginava do corpo da lesão periapical até a entrada do canal radicular. Vários morfotipos também foram observados na estrutura dos granulomas e cistos.

Tronstad et al.¹⁷ ao analisarem o ápice de um dente portador de lesão periapical crônica, verificaram nas criptas e fendas do cimento, próximas ao forame apical, bem como entre as células e fibras do tecido periodontal justaposto, uma placa bacteriana periapical - biofilme periapical. Em sua constituição predominavam cocos e bacilos, infiltrados ou aderidos num material extracelular, amorfo e liso.

Em outro estudo de Tronstad et al.²⁵, numa amostragem de 10 dentes portadores de lesões periapicais crônicas, refratárias, observaram que os ápices estavam cobertos por um material contínuo, liso e amorfo, que se estendia das adjacências do forame.

Lomçali et al.²⁶ avaliaram as superfícies radiculares dos 3mm apicais de 17 raízes, obtidas de dentes com avançada lesão por cárie, assintomáticos e com radiolucidez periapical. Certificaram extensas áreas de reabsorção lacunar, com estrutura fibrilar em suas depressões, geralmente contendo bactérias. Células fúngicas foram vistas em duas amostras. A superfície adjacente ao forame apresentava formação de placas em múltiplas camadas, infiltradas por bactérias num material extracelular liso.

Leonardo et al.⁴ observaram nos ápices dos dentes com lesão periapical, uma superfície cementária desnuda de fibras em quase toda a sua extensão. Havia áreas microscópicas de reabsorção que abrigavam elevada quantidade de micro-organismos em seu interior, formando biofilmes.

Objetivando avaliar a incidência de micro-organismos nos ápices de dentes com lesões periapicais primárias, Siqueira Jr & Lopes²⁷ selecionaram 27 dentes com lesões periapicais aderidas. Após processamento para Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) micro-organismos foram vistos nas proximidades do forame apical, mas restritas ao canal radicular. As formas mais frequentes foram cocos e bacilos. Apenas uma amostra

(4%) apresentou um agregado de micro-organismos além do forame. Em contrapartida, Leonardo et al.²⁸ ao analisarem, comparativamente, ápices de dentes extraídos portadores de vitalidade pulpar ou com necrose pulpar associada ou não à rarefação óssea periapical, verificaram que todos os dentes com radiolucidez periapicais apresentaram biofilmes periapicais.

Sunde et al.²⁹ selecionaram 36 dentes, cujos ápices e lesões foram avaliados pela técnica da cultura, MEV e Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET). Em 97,2% das lesões foi verificado crescimento microbiológico, sendo 94,2% polimicrobianas. Foram identificadas 67 espécies, sendo 51,0% de anaeróbios, variando de 1 a 11 espécies por lesão e 79,5% eram gram-positivos. *Staphylococcus sp.* foram recuperados de 61,1% das lesões. Grânulos sulfúricos foram recuperados em 9 lesões, dos quais 7 apresentavam crescimento positivo para *Actinomyces sp.*

Noiri et al.³⁰ examinaram morfologicamente, por MEV, a participação de biofilmes extra-radulares em 11 dentes com periodontite apical refratária. Em 90% dos dentes foram encontrados biofilmes, constituídos principalmente por cocos, bacilos e filamentosos, cobrindo a superfície radicular. Já Ferreira et al.³¹ usaram a MEV para examinar o ápice dentário de um dente com lesão periapical refratária, submetido à apicetomia. Foram encontradas formas de cocos e fungos ao redor do forame na porção externa radicular.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nessa revisão de literatura ficou evidenciada elevada incidência de micro-organismos nas lesões periapicais crônicas, por diferentes métodos de investigação, principalmente nas adjacências do forame apical.

Na região periapical, principalmente na superfície cementária, os micro-organismos se organizam num engenhoso sistema amorfo, iodoso, de composição polissacarídica, rico em canais de comunicação, denominado biofilme.

Colaboradores

M BRITO-JÚNIOR e JA SOARES participaram da concepção, do levantamento bibliográfico, do desenvolvimento e da revisão final do artigo. RST LUZ participou do levantamento bibliográfico do artigo.

REFERÊNCIAS

1. Soares JA. Microbiota dos canais radiculares associada às lesões periapicais crônicas e sua significância clínica. *JBE*. 2002;3(9):106-17.
2. Yamasaki M, Nakane A, Kumazawa M, Hashioka K, Horiba N, Nakamura H. Endotoxin and gram-negative bacteria in the rat periapical lesions. *J Endod*. 1992;18(10):501-4.
3. Consolaro A, Ribeiro FC. Periapicopatias: etiopatogenia e inter-relações dos aspectos clínicos, radiográficos e microscópicos e suas implicações terapêuticas. In: Leonardo MR, Leal JM. *Endodontia: tratamento de canais radiculares*. 3ª ed. São Paulo: Panamericana; 1998. p.77-102.
4. Leonardo MR, Silva LAB, Rossi MA, Ito IY, Bonifácio KC. Evaluation biofilm and microorganisms on the external root surface in human teeth. *J Endod*. 2002;28(12):815-8.
5. Soares JA, Leonardo MR, Silva LAB, Tanomaru Filho M, Ito IY. Histomicrobiologic aspects of the root canal system and periapical lesions in dogs' teeth after rotary instrumentation and intracanal dressing with Ca(OH)₂ pastes. *J Appl Oral Sci*. 2006;14(5):355-64.
6. Ribeiro FC. *Distribuição das bactérias nas estruturas mineralizadas dos dentes com necrose pulpar e granuloma apical [dissertação]*. Bauru: Universidade de São Paulo; 1997.
7. Sundqvist G. Ecology of the root canal flora. *J Endod*. 1992;18(9):427-30.
8. Grossman LI. Bacteriologic status of periapical tissue in 150 cases of infected pulpless teeth. *J Dent Res*. 1959;38(1):101-4.
9. Langeland K, Block RM, Grossman LI. A histopathologic and histobacteriologic study of 35 periapical endodontic surgical specimens. *J Endod*. 1977;3(1):8-23.
10. Walton RE, Ardjamand K. Histological evaluation of the presence of bacteria in induced periapical lesions in monkeys. *J Endod*. 1992;18(5):216-27.
11. Ricucci D, Pascon EA, Ford TR, Langeland K. Epithelium and bacteria in periapical lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006;101(2):239-49.
12. Iwu C, Macfarlane TW, Mackenzie D, Stenhouse D. The microbiology of periapical granulomas. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1990;69(4):502-5.
13. Weiger R, Manncke B, Werner H, Lost C. Microbial flora of sinus tracts and root canals of non-vital teeth. *Endod Dent Traumatol*. 1995;11(1):15-9.
14. Rocha MMNP, Moreira JLB, Menezes DB, Cunha MPSS, Carvalho CBM. Estudo bacteriológico de lesões periapicais. *Rev Odontol Univ São Paulo*. 1998;12(3):215-23.
15. Sunde PT, Tronstad L, Eribe ER, Lind PO, Olsen I. Assessment of periradicular microbiota by DNA-DNA Hybridization. *Endod Dent Traumatol*. 2000;16(5):191-6.
16. Geibel MA, Schu B, Callaway AS, Gleissner C, Willershausen B. Polymerase chain reaction based simultaneous detection of selected bacterial species associated with closed periapical lesions. *Eur J Med Res*. 2005;10(8):333-8.
17. Tronstad L, Barnett F, Riso K, Slots J. Extraradicular endodontic infections. *Endod Dent Traumatol*. 1987;3(2):86-90.
18. Tronstad L, Kreshtool D, Barnett F. Microbiological monitoring and results of treatment of extraradicular endodontic infection. *Endod Dent Traumatol*. 1990;6(3):129-36.
19. Wayman BE, Murata SM, Almeida RJ, Fowler CB. A bacteriological and histological evaluation of 58 periapical lesions. *J Endod*. 1992;18(4):152-5.
20. Vigil GV, Wayman BE, Dazey SE, Fowler CB, Bradley Jr DV. Identification and antibiotic sensitivity of bacteria isolated from periapical lesions. *J Endod*. 1997;23(2):110-4.
21. Abou-Rass M, Bogen G. Microorganisms in closed periapical lesions. *Int Endod J*. 1998;31(1):39-47.
22. Noguchi N, Noiri Y, Narimatsu M, Ebisu S. Identification and localization of extraradicular biofilm-forming bacteria associated with refractory endodontic pathogens. *Appl Environ Microbiol*. 2005;71(12):8738-43.
23. Lin S, Sela G, Sprecher H. Periopathogenic bacteria in persistent periapical lesions: an in vivo prospective study. *J Periodontol*. 2007;78(5):905-8.
24. Nair PNR. Light and electron microscopic studies of root canal flora and periapical lesions. *J Endod*. 1987;13(1):29-39.
25. Tronstad L, Barnett F, Cervone F. Periapical bacterial plaque in teeth refractory to endodontic treatment. *Endod Dent Traumatol*. 1990;6(2):73-7.
26. Lomçali G, Sen BH, Çankaya H. Scanning electron microscopic observations of apical root surfaces of teeth with apical periodontitis. *Endod Dent Traumatol*. 1996;12(2):70-6.
27. Siqueira Jr JF, Lopes HR. Bacteria on the apical root surfaces of untreated teeth with periradicular lesions: a scanning electron microscopy study. *Int Endod J*. 2001;34(3):216-20.
28. Leonardo MR, Rossi MA, Bonifácio KC, Silva LA, Assed S. Scanning electron microscopy of the apical structure of human teeth. *Ultrastruct Pathol*. 2007;31(4):321-5.
29. Sunde PT, Olsen I, Debelian GJ, Tronstad L. Microbiota of periapical lesions refractory to endodontic therapy. *J Endod*. 2002;28(4):304-10.
30. Noiri Y, Ehara A, Kawahara T, Takemura N, Ebisu S. Participation of bacterial biofilms in refractory and chronic periapical periodontitis. *J Endod*. 2002;28(10):679-83.
31. Ferreira FB, Ferreira AL, Gomes BP, Souza-Filho FJ. Resolution of persistent periapical infection by endodontic surgery. *Int Endod J*. 2004;37(1):61-9.

Recebido em: 28/4/2009

Versão final reapresentada em: 5/11/2009

Aprovado em: 17/12/2009