

Isolamento e identificação de *Enterococcus sp* em infecções endodônticas primárias

Isolation and identification of Enterococcus sp in primary endodontic infections

Aurimar de Oliveira Andrade

Mestre em Odontologia pela UFF

Miriam Fátima Zaccaro Scelza

Professora Associada em Endodontia da UFF

Shirley de Souza Pinto

Professora Adjunta em Endodontia da UFF

Ana Luíza de Mattos Guaraldi

Raphael Hirata Júnior

Professores Adjuntos da Faculdade de Ciências Médicas – Uerj

RESUMO

Este estudo objetivou o isolamento e caracterização bioquímica de *Enterococcus sp* de canais radiculares portadores de necrose pulpar de 70 pacientes. Foram isoladas 35 amostras de *Enterococcus sp* em 50% dos pacientes (n = 35) com a seguinte prevalência: 33 amostras *Enterococcus faecalis* (94,28%), 1 amostra *Enterococcus faecium* (2,85%) e 1 amostra *Enterococcus durans* (2,85%). Dos dentes com cultura positiva, 20 apresentaram sintomatologia dolorosa. Odor fétido e secreção purulenta foram observados em três dentes (8,57%). Dos 35 pacientes com cultura positiva, quatro apresentaram edema no momento da coleta e apenas um paciente apresentou fístula. A espécie *E. faecalis* foi majoritária, estando relacionada aos sinais e sintomas.

Palavras-chave: *Enterococcus sp*; infecção endodôntica; microbiologia.

ABSTRACT

This study aimed the isolation and biochemical characterization of *Enterococcus sp* from necrotic endodontic infections of 70 patients. Thirty-five *Enterococcus* strains were isolated, according to the following prevalence: 33 *Enterococcus faecalis* strains (94,28%), 1 sample of *Enterococcus faecium* (2,85%) and 1 sample of *Enterococcus durans* (2,85%). Painful symptoms were observed from 20 patients. Fetid odor and purulent discharge were observed in three teeth (8,57%) and according to the presence of edema, 4 patients carried enterococci, and one patient (2,85%) presented fistulae drainage. *E. faecalis* was the major *Enterococcus* species isolated from root canal infections presenting signals and symptoms of peri-radicular inflammation.

Keywords: *Enterococcus sp*; endodontic infection; microbiologia.

Introdução

Os micro-organismos do gênero *Enterococcus* são cocos Gram-positivos e apresentam necessidades nutricionais variáveis e o crescimento pode requerer meios complexos, contendo soro ou sangue. A temperatura ótima de crescimento é de 35°C, porém, a maioria das amostras tolera temperaturas que variam de 10°C a 45°C. Os enterococos são distribuídos em ambientes diversos. Nos seres humanos fazem parte da microbiota do trato gastrointestinal, da cavidade oral e do trato geniturinário. Estes micro-organismos podem tolerar temperaturas equivalentes a 60°C por até 30 minutos e são capazes de crescer em meios contendo cloreto de sódio a 6,5% (11).

E. faecalis é capaz de colonizar os sistemas de canais radiculares, utilizando-se provavelmente dos substratos oriundos dos fluidos dos tecidos conjuntivos subjacentes (osso alveolar e ligamento periodontal). Dentre os fatores de virulência destacam-se as enzimas líticas, citolisinas, substâncias de agregação, feromônios e ácido lipoteicoico. *E. faecalis* também pode interferir com a ativação dos linfócitos e outros grupos celulares, contribuindo para o insucesso da terapêutica endodôntica (4). Além da sua habilidade para invadir e permanecer no interior dos túbulos dentinários apresenta elevada resistência aos curativos de demora utilizados entre sessões, inclusive aqueles à base de hidróxido de cálcio. Foi descrito que as cepas de *E. faecalis* possuem uma bomba de prótons capaz de proteger o citoplasma bacteriano do elevado pH conferido pelos produtos contendo hidróxido de cálcio. A espécie também é capaz de formar biofilmes onde as células bacterianas formam estruturas multicelulares coesas de difícil remoção pelo sistema imunológico, além de dificultar a atividade dos agentes antimicrobianos. Tais propriedades conferem aos *E. faecalis* grande poder agressivo aos tecidos perirradiculares e maior resistência ao controle das infecções endodônticas (6). O objetivo deste trabalho foi isolar, identificar e caracterizar bioquimicamente, *Enterococcus sp.* de canais radiculares de dentes com infecção endodôntica primária.

Material e Método

• Seleção dos Pacientes, Coleta e Processamento do Material Clínico

Os pacientes participantes do estudo apresentavam boas condições de saúde sistêmica e não tinham sido atendidos em hospitais ou medicados com antibióticos pelo menos seis meses antes da realização da coleta. As amostras para a pesquisa foram obtidas de 70 (setenta) pacientes submetidos a tratamento endodôntico na Clínica de Endodontia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal Fluminense (CEP/UFF nº 025/06), com diagnóstico de polpa necrosada. Os indivíduos participantes da pesquisa receberam esclarecimento sobre a importância do estudo e o material clínico foi colhido somente após a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido. A elaboração de fichas clínicas objetivou as análises relativas à sintomatologia

dolorosa, aos aspectos radiográficos, presença de odor, secreção purulenta, edema e fístula nos indivíduos envolvidos na pesquisa quando da coleta de material dos dentes com canais radiculares com necrose pulpar. Apenas pacientes portadores de dentes com diagnóstico de polpa necrosada sem prévio tratamento endodôntico ou acesso prévio da cavidade oral ao sistema de canais radiculares (câmara pulpar sem comunicação com a cavidade oral), foram incluídos no estudo. O acesso aos canais radiculares foi realizado sob isolamento absoluto, respeitando as condições de assepsia (após remoção do biofilme supragengival e utilização tópica de agente antisséptico (clorexidina a 2%) e irrigação intensa com soro fisiológico). Cones de papel esterilizados foram introduzidos cuidadosamente até o terço cervical e médio dos canais, removidos após 30 segundos e introduzidos em tubos contendo meios estéreis específicos para o crescimento de microrganismos anaeróbios facultativos, incluindo *Enterococcus sp*: Caldo Enterococcosel e Caldo Eosina e Azul de Metileno (EMB) (ambos fornecidos pela BBL – Becton & Dickinson). Em todas as ocasiões os meios semeados foram transportados para a Disciplina de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade do Estado do Rio de Janeiro e incubadas até 48/37°C. Aliquotas dos meios de cultivo líquidos foram semeados por esgotamento nos meios Agar Mac Conkey (Merck Darmstadt, DE), Agar Cled (Becton, Dickinson and Company, USA), Agar Sangue (Becton, Dickinson and Company, USA) e Agar Soja Trypticaseína – TSA (Merck Darmstadt, DE). Todos os procedimentos envolvendo a semeadura nos meios de cultura foram realizados no interior de capelas de fluxo laminar.

Caracterização Fisiológica das Amostras Microbianas

A partir do crescimento microbiano em placas de Agar Sangue, foram selecionadas colônias sugestivas de enterococos. Cada colônia sugestiva de *Enterococcus sp.* foi repicada isoladamente para meio de cultura TSA e, após crescimento (24h/37°C) foram preparados esfregaços em lâminas de vidro e corados pelo método de Gram, os esfregaços foram observados ao microscópio óptico com aumento de 100X. Os cocos Gram-positivos suspeitos de *Enterococcus sp.* foram caracterizados segundo proposto por TEIXEIRA & FACKLAM (2003). A observação da produção da catalase foi feita por metodologia convencional com a utilização de lâmina de vidro. Após preparo, em solução salina fisiológica estéril (NaCl 0,85%), de suspensão espessa de microrganismos cultivados por 24h/37°C em placas de TSA, uma gota de peróxido de hidrogênio a 3% (v/v) foi colocada sobre o esfregaço. Os *Enterococcus sp.* são negativos neste teste, porém, algumas poucas amostras podem produzir pseudocatalase (5, 11). Para a análise da tolerância ao cloreto de sódio a 6,5% foram utilizadas placas de TSA (Agar Soja triptica-seína – Merck Darmstadt DE) acrescidas de cloreto de sódio a 6,5%. O crescimento microbiano nessas condições é uma das características do gênero *Enterococcus* (5, 11). As cepas

microbianas também foram cultivadas em placas de agar bile-esculina. O crescimento em Agar contendo 40% de bile bovina (Difco Laboratories, Detroit-MI) e a utilização concomitante da esculina também constitui prova chave para a identificação bioquímica de *Enterococcus sp.* (5, 11).

Identificação Bioquímica Bioquímica Convencional

Após os testes fisiológicos, as amostras suspeitas de enterococos foram divididas em cinco grupos baseados na produção de ácidos a partir de manitol e sorbose (ambos realizados em meio líquido Heart infusion broth - HIB (Difco)) contendo púrpura de bromocresol como indicador de pH e na capacidade de descarboxilar a arginina (em base de descarboxilação de aminoácidos de Möeller). Depois de agrupadas, as cepas foram identificadas através de provas adicionais que incluíram a fermentação de açúcares tais como arabinose, rafinose, sorbitol, inulina, sacarose e a capacidade de crescer em meio contendo 0,04% de telurito de potássio (11). Durante a realização dos ensaios, as amostras foram mantidas através de passagem em placas de Agar soja Trypticaseína (TSA – Merck Darmstadt, DE) e mantidas estocadas.

Identificação por Sistema Miniaturizado

A identificação através do sistema de galerias miniaturizadas API 20 strep (Biomérieux, La Balme, Les Grottes, France) foi realizada segundo as instruções do fabricante. As amostras foram semeadas em Agar sangue durante 24 horas em atmosfera de anaerobiose (visualização do padrão de hemólise em anaerobiose) e em seguida utilizadas para formação de uma suspensão de trabalho em meio de suspensão do kit de identificação. Em seguida, 100 µL da suspensão foram utilizados para preencher as células das galerias e o material foi mantido em câmara úmida em estufa a 37°C. As reações foram aferidas após 4 e 24 horas de incubação. Quando necessários, testes adicionais: crescimento em 6,5% de NaCl, crescimento a 45°C e fermentação de salicina foram realizados para a confirmação do isolado P40 como *E. durans*. Os resultados numéricos foram confirmados pelo sistema APIWEB, utilizando a database da Biomérieux (1).

Resultados

Frequência de Isolamento de *Enterococcus sp* a partir de Dentes com Canais Radiculares com Necrose Pulpar

No presente estudo, 35 amostras de *Enterococcus sp* (50% dos dentes) foram isoladas a partir dos canais radiculares com necrose pulpar, cujas câmaras pulpares não apresentavam comunicação com a cavidade bucal. As culturas foram positivas em 16 dos 27 pacientes do sexo masculino (59,25%) e em 19 dos 43 pacientes do sexo feminino (44,18%). Apesar do maior número de pacientes do gênero feminino no estudo, o maior percentual relativo de isolamento de *Enterococcus sp.* ocorreu em indivíduos do gênero masculino (Tabela

I). A tabela II mostra a distribuição do isolamento das espécies de *Enterococcus sp.* entre os gêneros feminino e masculino, isoladas dos sistemas de canais radiculares com necrose pulpar. Foram encontradas as espécies: *E. faecalis* (33 cepas - 94,2%), *E. faecium* (01 cepa - 2,85%) e *E. durans* (01 cepa - 2,85%). Ocorreu crescimento de *Enterococcus sp.* apenas em Caldo EMB em coletas provenientes de sete dentes, indicando que a sementeira em diferentes tipos de meios de cultura pode auxiliar na recuperação dos micro-organismos.

Tabela I. Percentual de isolamento de *Enterococcus sp.* de pacientes portadores de dentes com necrose pulpar por gênero/dente

| Gênero/Nº de dentes ¹ | Culturas positivas para <i>Enterococcus sp.</i> | Percentual de isolamento |
|----------------------------------|---|--------------------------|
| Feminino – 43 | 19 | 44,18% |
| Masculino – 27 | 16 | 59,25% |
| Total – 70 | 35 | 50% |

¹As coletas de material foram obtidas de um dente por paciente.

Tabela II. Percentual de isolamento de *Enterococcus sp.* em pacientes portadores de dentes com canais com necrose pulpar por gênero/espécie

| Espécies | Percentual de isolamento em pacientes | | |
|--------------------|---------------------------------------|------------|------------|
| | Total | Feminino | Masculino |
| <i>E. faecalis</i> | 33 (94,2%) | 18 (94,8%) | 15 (93,8%) |
| <i>E. faecium</i> | 1 (2,85%) | 1 (5,3%) | – |
| <i>E. durans</i> | 1 (2,85%) | – | 1 (6,2%) |
| Total | 35 | 19 | 16 |

Sintomatologia Dolorosa

Em um total de 35 pacientes com culturas positivas, 20 (57,14%) relataram sintomatologia dolorosa prévia ao tratamento endodôntico (Tabela III). Dentre os 19 pacientes do sexo feminino com cultura positiva, 11 (57,89%) relataram a presença de sintomatologia dolorosa. Nove (56,25%) dos 16 pacientes do sexo masculino relataram sintomatologia dolorosa. Não houve diferença significativa quando da relação entre o isolamento de *Enterococcus sp.* e a presença de sintomatologia dolorosa ($P > 0,05$).

Aspectos Radiográficos

O registro radiográfico inicial realizado antes do acesso e da coleta do material clínico possibilitou a classificação dos elementos dentários apresentando ou não lesão perirradicular. Os dentes apresentando polpa necrosada foram classificados como: a- dentes sem lesão perirradicular; b- dentes com lesão definida; c- dentes com lesão não definida. A Tabela III mostra a distribuição, entre os gêneros, dos elementos dentários apresentando ou não lesões perirradiculares definidas ou indefinidas. Não ocorreu diferença significativa ($P > 0,05$) entre a presença de lesão radiográfica definida e não definida, com o isolamento de *Enterococcus sp.* As cepas de *E. faecium* e *E. durans* foram isoladas de casos de dentes com lesão perirradicular não definidas.

Presença de Odor

Seis dos 70 pacientes atendidos durante a realização do estudo apresentaram odor fétido durante o acesso aos canais radiculares. O isolamento dos enterococos ocorreu em 3 (8,57%) pacientes. Dentre estes, dois pacientes do sexo feminino e um do sexo masculino apresentaram a espécie *E. faecalis* (Tabela III).

Presença de Secreção Purulenta

A observação de secreção purulenta durante o primeiro atendimento também foi observada em cinco pacientes. Três dentes com cultura positiva para *E. faecalis* apresentaram secreção purulenta intracanal no momento da coleta. Tal fato ocorreu em dois pacientes do sexo feminino e um paciente do sexo masculino (Tabela III).

Presença de Fístula

A drenagem externa (presença de fístula) também foi observada em apenas dois pacientes dos 70 envolvidos no estudo. Em um deles foi isolada a espécie *E. faecalis* (Tabela III).

Presença de Edema

Cinco pacientes apresentaram edema ao primeiro atendimento visando o tratamento endodôntico. Dentre os 35 pacientes com cultura positiva, 4 (11,42%) eram portadores de edema no momento da coleta, dois do sexo masculino e dois do sexo feminino. Em todas as circunstâncias foi isolada a espécie *E. faecalis* (Tabela III).



Tabela III. Percentual de culturas positivas de *Enterococcus sp* em relação aos aspectos radiográficos (presença ou ausência de lesão perirradicular), sintomatologia dolorosa e sinais clínicos

| Gênero | Aspectos radiográfico | | | Dor | Sinais clínicos | | | |
|-----------|-----------------------|---|----|-----|-----------------|---------|--------------------|------|
| | ¹ SL | D | LI | | Edema | Fístula | Secreção Purulenta | Odor |
| Masculino | 7 | 5 | 4 | 9 | 2 | - | 1 | 1 |
| Feminino | 5 | 9 | 5 | 11 | 2 | 1 | 2 | 2 |

¹SL: dentes sem lesão, LD: dentes com lesão definida e LI: dentes com lesão indefinida.

Discussão

Apesar da importância dos enterococos como agentes microbianos envolvidos nas infecções endodônticas refratárias, estudos dedicados ao isolamento e caracterização das cepas do gênero *Enterococcus* em investigações relativas à microbiota dos canais radiculares vêm encontrando uma baixa prevalência de *E. faecalis* nas infecções endodônticas primárias, variando de 13% a 4% dos isolamentos (2, 3). Nesta investigação foram isoladas 35 amostras de *Enterococcus sp* de um total de 70 pacientes com diagnóstico de necrose pulpar, perfazendo assim uma prevalência de 50%. A identificação de *Enterococcus sp* nos canais radiculares de dentes de seres humanos através de métodos de cultivo foi feita pela primeira vez por MEJARE (7), que isolou e identificou as espécies *E. faecalis* e *E. faecium*. FERRARI *et al.* (2), em estudo incluindo enterococos, enterobactérias e fungos, identificaram *E. faecalis*, *E. faecium* e *E. casseliflavus*. Foram isoladas e identificadas 33 amostras de *E. faecalis* (94,28%), uma amostra de *E. faecium* (2,86%) e uma amostra de *E. durans* (2,86%). Esta última espécie pela primeira vez isolada e identificada em canais radiculares de dentes de seres humanos. É oportuno ressaltar que para a identificação da espécie *E. durans* foram necessárias provas adicionais tais como crescimento na presença de NaCl a 6,5% e à temperatura de 45°C/48h, além da fermentação de salicina. Estas provas adicionais diferenciaram a espécie *E. durans* da espécie *Lactococcus lactis*. Os resultados da identificação bioquímica convencional foram concordantes com a identificação pelo sistema API 20 Strep. Deve ser ressaltado que, comparando com os estudos anteriores envolvendo dentes com infecção endodôntica primária, a presente investigação foi a que mais isolou e caracterizou bioquimicamente, cepas de *Enterococcus sp*. Talvez a metodologia empregada possa ter corroborado com a aproximação dos resultados de cultura com as detecções pelos métodos moleculares, onde o material foi coletado e imediatamente semeado em dois meios seletivos diferentes, permitindo o crescimento microbiano em amostras diferentes. Nos trabalhos anteriormente citados, o material coletado foi submetido aos meios de transporte tais como VMGA III, que pode permitir o crescimento de micro-organismos anaeróbios estritos. Estes micro-organismos

durante o transporte poderiam ser capazes de produzir bacteriocinas capazes de inibir os *Enterococcus sp*, comprometendo a viabilidade bacteriana durante os procedimentos de transporte.

Alguns pesquisadores detectaram *E. faecalis* em materiais provenientes de infecção endodôntica primária através de técnicas moleculares. ROÇAS *et al.* (8), em estudo relativo à infecção endodôntica primária, correlacionou os achados pela técnica de PCR e por métodos de cultivo. O estudo contou com 50 casos e a detecção pela técnica de PCR atingiu 33% (7 de 21 casos) de canais radiculares com periodontite apical aguda e 5% (1 de 19 casos) de amostras de secreções purulentas de abscessos perirradiculares. A prevalência foi de 18% (9 de 50 casos) dos casos de infecção endodôntica primária. ZOLETTI *et al.* (12) detectaram *E. faecalis* por PCR e identificaram por procedimentos convencionais de cultivo, além de fazerem a comparação dos dois métodos em relação à sua eficácia. O estudo contou com 50 casos e, dos 27 casos em que os canais radiculares estavam associados a lesões perirradiculares, *E. faecalis* foi detectado em 22 casos (81,5%) por PCR e 5 casos (18,5%) por métodos de cultivo. Na comparação entre os dois métodos em relação a 23 dentes (também incluídos no estudo) com canais radiculares associados a lesões perirradiculares com evidências de destruição óssea, a espécie *E. faecalis* foi detectada em 18 casos (78%) através de PCR e em 3 casos (13%) pelos métodos de cultivo.

Em estudo relacionado à microbiota das infecções endodônticas primárias, SASSONE *et al.* (10) avaliaram 15 dentes com fístula e 15 dentes sem fístula pelo método de Checkerboard com a hibridização do DNA-DNA. Foi observado que cinco casos que apresentaram fístula e quatro que não apresentaram, tinham relatos de sintomatologia dolorosa. Neste estudo foram detectadas 40 espécies microbianas de um total de 30 amostras. Algumas espécies estiveram presentes em mais de 75% das amostras: *E. faecalis*, *F. nucleatum sp.vincentii*, *P. gingivalis*, *V. parvula*, *C. gracilis* e *N. mucosa*. A espécie *E. faecalis* foi detectada em 90% das amostras, índice considerado muito alto devido a esta espécie estar geralmente associada aos casos de fracasso da terapia endodôntica, com prevalência relativamente baixa nas infecções

endodônticas primárias. Paralelamente, quatro espécies foram detectadas em casos que não apresentavam fístula: *E. faecalis*, *S. anginosus*, *C. sputigena* e *C. gingivalis*. Na presente investigação, apenas dois pacientes apresentaram fístula no momento da coleta de material e um deles apresentou crescimento da espécie *E. faecalis*. Devido ao pequeno número de dentes apresentando fístulas no momento da coleta de material, é importante que as investigações acerca da colonização dos canais de dentes apresentando fístula por *E. faecalis* sejam ampliadas, visando a correlação da presença da espécie com a formação de abscessos.

Adicionalmente, as fichas clínicas objetivaram a detecção de sintomatologia dolorosa, presença de odor fétido, secreção purulenta intracanal e edema. A sintomatologia dolorosa foi relatada em 20 (57,14%) dos 35 pacientes que apresentaram cultura positiva para *E. faecalis*. Tais dados apresentam concordância com o estudo de SASSONE *et al.* (9) que avaliaram a microbiota da infecção endodôntica primária associada à sintomatologia dolorosa de 60 dentes, utilizando o método Checkerboard pela técnica de hibridização DNA-DNA. Foi detectada uma média de 24 espécies nas 60 amostras (7 a 38 espécies por amostra) e os dentes que apresentaram sintomatologia dolorosa albergavam uma média de 26 espécies detectadas (11 a 38 por amostra).

Além da espécie *E. faecalis* outros micro-organismos foram detectados como prevalentes em dentes apresentando sintomatologia dolorosa: *Fusobacterium nucleatum ssp. vincentii*, *Veillonella parvula*, *Treponema socranski* e *Campylobacter gracilis*.

Conclusão

- *Enterococcus sp* foram isolados e identificados a partir de espécimes clínicos oriundos de canais radiculares de dentes com diagnóstico de necrose pulpar, com prevalência de 50%. Três espécies de *Enterococcus sp* foram isoladas e identificadas: *E. faecalis* (94,28%), *E. faecium* (2,86%) e *E. durans* (2,86%).

- A espécie *E. faecalis* foi a única que se associou aos dentes com situações clínicas de dor, edema, drenagem de secreção purulenta intracanal e fístula.

- Sintomatologia dolorosa foi verificada em 20 (57,14%) dos 35 pacientes com cultura positiva e na análise dos aspectos radiográficos, 14 pacientes (40%) apresentaram lesão definida no momento da coleta.

- Dentre os 35 dentes que apresentaram cultura positiva, em três (8,57%) foram observados odor fétido e drenagem de secreção purulenta intracanal. A presença de edema foi verificada em quatro dentes (11,42%).

Referências Bibliográficas

1. BOSSHARD, P. P., ABELS, S., ALTWEGG, M. *et al.* Comparison of conventional and molecular methods for identification of aerobic catalase-negativo gram-positive cocci in the clinical laboratory. *J. Clin. Microbiol.* 2004, 42 (5): 2065-2073.
2. FERRARI, P. H. P., CAI, S., BOMBANA, A. C. Effect of endodontic procedures on enterococci, enteric bacteria and yeasts in primary endodontic infection. *Int. Endod. J.* 2005, 38: 372-80.
3. GOMES, B. P. F. A., SOUSA, E. L. R., ZAIA, A. A. *et al.* Enterococcus faecalis in dental root canals detected by culture and by polymerase chain reaction analysis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006, 102: 247-53.
4. LEE, W., LIM, S., SON, H. Sonicated extract of Enterococcus faecalis induces cell cycle arrest in phytohemagglutinin-activated human lymphocytes. *J. Endod.* 2004, 30: 209-12.
5. MAC FADIN, J. F. Biochemical test for identification of medical bacteria. 3. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000.
6. MC HUGH, C. P., ZANG, P., MICHALEK, S. Ph required to kill Enterococcus faecalis in vitro. *J. Endod.* 2004, 30: 218-9.
7. MEJARE, B. *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* in infected dental root canals at filling and their susceptibility to azidocillin and some comparable antibiotics. *Odontol. Rev.* 1975.
8. ROÇAS, I. N., SIQUEIRA Jr., J. F., SANTOS, K. R. Association of *Enterococcus faecalis* with a different forms of periradicular diseases. *J. Endod.* 2004, 30 (5): 315-20.
9. SASSONE, L. M., FIDEL, R. A., FAVERI, M. *et al.* A microbiological profile of symptomatic teeth with primary endodontic infections. *J. Endod.* 2008a, 34 (5): 541-45.
10. SASSONE, L. M., FIDEL, R., FAVERI, M. *et al.* Microbiological evaluation of primary endodontic infections in teeth with and without sinus tract. *Int. Endod. J.* 2008b, 41: 508-15.
11. TEIXEIRA, L. M., FACKLAM, R. R. *Enterococcus*. In: MURRAY, B. E., BARON, E. J., JORGENSEN, J. H. *et al.* (eds). *Manual of Clinical Microbiology*. 8. ed. EUA: American Society for Microbiology Press. 2003, 422-33.
12. ZOLETTI, G. O., SIQUEIRA Jr., J. F., SANTOS, K. R. N. Identification of *Enterococcus faecalis* in root-filled teeth with periradicular lesions by culture dependent and independent approaches. *J. Endod.* 2006, 32 (8): 722-26.

Recebido em: 02/03/2011 / Aprovado em: 30/03/2011

Raphael Hirata Júnior

Faculdade de Ciências Médicas/Uerj - Depto. de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia

Av. Vinte e oito de Setembro, 87 fundos – prédio Américo Piquet Carneiro, 3º andar – Vila Isabel

Rio de Janeiro/RJ, Brasil - CEP: 20551-030

E-mail: hirata@uerj.br