

# ASPECTOS MORFOLÓGICOS DOS BIOFILMES MICROBIANOS NA OSTEOMIELITE CRÔNICA SUPURATIVA E CORRELAÇÕES SENDO DODÔNTICA E PARENDO DODÔNTICA\*

## MORPHOLOGICAL ASPECTS OF MICROBIAL BIOFILMS IN SUPPURATIVE CHRONIC OSTEOMYELITIS AND ENDODONTIC AND PERIRADICULAR SURGERY CORRELATIONS

**Francisco Carlos RIBEIRO**

Doutor em Patologia Bucal pela FOB - USP

**Alberto CONSOLARO**

Professor Titular de Patologia Bucal da FOB - USP

\*Resumo da Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Bauru - USP, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Odontologia, área de Patologia Bucal.

---

Com o objetivo de analisar a distribuição das bactérias nas estruturas ósseas, utilizaram-se 20 casos de osteomielites crônicas supurativas. Utilizou-se da microscopia óptica em cortes corados pelas técnicas da H.E. e de Brown e Brenn. Os resultados evidenciaram bactérias Gram-positivas e Gram-negativas nas superfícies ósseas, nos osteoplastos, nos canais de Havers e de Volkmann e nos tecidos moles adjacentes. Inferiu-se que em lesão periapical inflamatória o componente bacteriano pode se localizar em regiões inacessíveis das estruturas ósseas, mesmo quando da realização de cirurgias parendodônticas. Concluiu-se que nas osteomielites crônicas supurativas as bactérias envolvem todas estruturas ósseas comprometidas organizando-se em colônias e em biofilmes microbianos, como estratégia de sobrevivência frente aos mecanismos de defesa do hospedeiro.

**UNITERMOS:** Biofilmes microbianos; Colônias bacterianas; Osteomielite crônica supurativa.

---

## INTRODUÇÃO

No tratamento endodôntico um dos tópicos que mais preocupa é o prognóstico de dentes portadores de necrose pulpar e lesões periapicais crônicas. A terapia endodôntica nesses casos ainda é preocupante devido a significativa porcentagem de fracassos<sup>16</sup>. Diversos fatores têm sido atribuídos como agentes associados às falhas da terapia endodôntica, incluindo: procedimentos endodônticos insatisfatórios, aspectos morfológicos dos dentes, reações do tipo corpo estranho, infecções extraradiculares e biofilmes microbianos<sup>5,18,20,23</sup>. Dentre esses fatores determinantes muitos são favorecedores da instalação e formação de biofilmes microbianos<sup>7,8,12,15</sup>. A ação dos biofilmes microbianos em dentes portadores de necrose pulpar e lesões periapicais pode ser em decorrência da sua instalação em áreas anatômicas favoráveis ou não instrumentadas ou atingidas de forma desejável. O envolvimento dos biofilmes microbianos não se limita aos dentes com lesões periapicais crônicas; esta forma de sobrevivência microbiana também está presente em doenças inflamatórias agudas e crônicas purulentas, em especial nos abscessos dentoalveolares.

A intrigante resistência dos biofilmes microbianos e a complexa morfologia estrutural óssea podem estar diretamente relacionadas às dificuldades clínico-terapêuticas nos casos da osteomielite crônica supurativa, que possivelmente podem ser extrapoladas para os casos de lesões periapicais inflamatórias agudas e crônicas, resguardadas as devidas proporções topográficas e as condições locais e sistêmicas do hospedeiro. Na mandíbula, a causa mais freqüente que leva à instalação de osteomielite crônica supurativa é o abscesso dentoalveolar. As osteomielites de um modo geral se instalam preferencialmente em pacientes sistemicamente debilitados como etilistas, diabéticos, anêmicos e leucêmicos ou em áreas ósseas esclerosadas, quer seja por fatores locais ou ainda como parte de doenças ósseas esclerosantes mono ou polioestóticas, tais como doença de Paget e displasia cementoóssea florida<sup>14</sup>.

As lesões inflamatórias periapicais ocorrem predominantemente em pacientes sistemicamente saudáveis. As inflamações ósseas restritas a uma determinada região, sem tendências a disseminação nas áreas contíguas, são conceitualmente denominadas de osteítes, quer sejam agudas ou crônicas. Nas osteítes, um dos fatores limitadores está na condição sistêmica saudável do paciente. Como estas situações em certas áreas caracterizam quadros clínicos especiais e repetitivos, acabam por caracterizarem patologias com nomes próprios identificadores como o abscesso dentoalveolar e granuloma apical, verdadeiras osteítes periapicais.

Entre os eventos mais precoces observados na maioria das infecções bacterianas estão as interações moleculares entre os patógenos e as células do hospedeiro. Estas interações são tipicamente requeridas para colonização extracelular, envolvendo uma complexa cascata de

conversão cruzada na interface patógeno-hospedeiro<sup>22</sup>. A colonização dos tecidos do hospedeiro é freqüentemente mediada por adesinas sediadas na superfície das células bacterianas. As adesinas são responsáveis pelo reconhecimento e acoplagem aos receptores específicos localizados nas células do hospedeiro, desencadeando a ativação de sinais transdutores nas células do hospedeiro podendo levar a diversas conseqüências, incluindo a ativação das defesas inatas do hospedeiro ou a subversão de processos celulares que facilitam a invasão ou colonização bacteriana. Além disso, estas interações podem expressar novos genes no microorganismo, importantes no processo patogênico<sup>22</sup>.

No desenvolvimento do conhecimento atual sobre o papel das bactérias na etiopatogenia das doenças, bem como no seu prognóstico, os biofilmes microbianos recebem atenção muito especial e a cada nova evidência estabelecida, pontos obscuros e controvertidos passam a ser explicados, como por exemplo, a dificuldade medicamentosa e cirúrgica no tratamento das osteomielites crônicas supurativas e os insucessos endodônticos em dentes com necrose pulpar e lesões periapicais crônicas, mesmo após uma adequada cirurgia parendodôntica.

A formação do biofilme pode ser considerada como um ciclo desenvolvimental que começa quando bactérias livres ou planctônicas reconhecem uma superfície e aderem-se firmemente a ela. Para muitas bactérias, este processo requer flagelos ou adesinas em suas superfícies e dependem também de sinais nutricionais do ambiente<sup>7,8,15</sup>. Subseqüentemente, as células bacterianas aderidas multiplicam-se e ao mesmo tempo recrutam novas células planctônicas que se aderem a elas. O simples crescimento das bactérias sobre as superfícies, eventualmente, induziria ao extremo apinhamento, possivelmente morrendo muitas células bacterianas incapacitadas de obterem nutrientes. Ao mesmo tempo, metabólicos tóxicos derramados acumulariam entre as células densamente condensadas. Isto só não acontece, porque os biofilmes são estruturas altamente organizadas, a expensas de mensagens genéticas. A solução deste problema é criar espaços livres entre os aglomerados de células bacterianas. Bactérias aderidas migram suavemente da superfície enquanto secretam polissacarídeos extracelulares que servirão como matriz para o biofilme. Enquanto a estrutura biofilme desenvolve-se, aglomerados celulares formam estruturas lembrando pilares, com canais de água entre elas, pelos quais nutrientes e metabólicos celulares possam fluir livremente, funcionando como um sistema circulatório primitivo<sup>7,8,15</sup>.

As infecções relacionadas aos biofilmes microbianos apresentam características em comum. Estes se desenvolvem preferencialmente sobre superfícies inertes, como nos dispositivos médicos implantares, ou sobre tecidos necróticos, como nos seqüestros ósseos, ou ainda menos freqüentemente sobre tecidos vivos, como nos

casos das endocardites bacterianas<sup>14</sup>. Os biofilmes crescem lentamente, em um único ou em vários locais, e as infecções por eles provocadas geram, na maioria das vezes, discretos sintomas. As células bacterianas sésseis liberam antígenos e estimulam a produção de anticorpos, mas estes não desempenham o seu papel com eficácia, pois estas células bacterianas encontram-se mergulhadas em uma matriz polissacáride, produzidas por elas mesmas, dificultando a resposta imunológica<sup>6</sup>. Mesmo naqueles indivíduos com respostas humoral e celular normais estas infecções causadas por biofilmes são raramente resolvidas pelos mecanismos de defesa do hospedeiro<sup>13</sup>. A terapia antibiótica rotineiramente reverte os sintomas causados pelas células bacterianas planctônicas desprendidas dos biofilmes, mas falha em eliminar as bactérias sepultadas em seu interior<sup>15</sup>. Por estas razões, infecções relacionadas aos biofilmes microbianos mostram, freqüentemente, recorrências após os ciclos da terapia antibiótica até que a população sésseil seja removida cirurgicamente do hospedeiro<sup>8</sup>. O presente trabalho propôs estudar a distribuição das bactérias planctônicas, colônias bacterianas e dos biofilmes microbianos nas estruturas ósseas comprometidas pela osteomielite crônica supurativa e correlacionar os achados com situações clínicas endodônticas e parodontodônticas.

## MATERIALEMÉTODOS

### Obtenção, seleção e preparação da amostra

A amostra procedeu dos arquivos do laboratório de Anatomia Patológica da Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo, enviada por vários profissionais liberais, clínicas universitárias e privadas para fins de diagnóstico microscópico, ao longo do período de 1963 a 1999.

Nos arquivos foram resgatados todos os casos cujos diagnósticos anatomopatológicos foram de osteomielite crônica supurativa. As lâminas respectivas de cada caso foram reanalisadas e novos cortes foram providenciados para fins de novas colorações em Hematoxilina-Eosina e de Brown e Brenn. Assim, a amostra resultou em 20 casos com material suficiente para serem estudados.

### Análise microscópica: critérios

As lâminas inicialmente foram analisadas em menor aumento, sendo seqüencialmente analisadas em aumentos maiores até a objetiva 100x com óleo de imersão. Cada caso foi analisado inicialmente em H.E. e em seguida nos cortes corados em Brown e Brenn. Após analisar todos os casos de forma descritiva, os cortes foram reanalisados e a presença de fenômenos inflamatórios, degenerativos associados ou não com a presença de bactérias e biofilmes microbianos foi registrada em quadros demonstrativos.

A presença das bactérias e dos biofilmes microbianos quanto as suas características morfológicas e distribuição

nos vários elementos estruturais ósseos foi também registrada em quadros demonstrativos.

As leituras das lâminas foram realizadas em microscópios ópticos binoculares (Olympus CBA) e fotomicrografadas pelo aparelho fotomicroscópio da marca (Zeiss), pertencentes à Patologia da Faculdade de Odontologia de Bauru, USP.

## RESULTADOS

### Observações relativas a cortical óssea

As superfícies das corticais ósseas apresentaram-se irregulares e freqüentemente relacionadas às células bacterianas; pela coloração de Brown e Brenn pode-se identificar diferentes morfotipos Gram-positivos e Gram-negativos. Nas proximidades da superfície óssea, as células bacterianas apresentavam-se livres ou em colônias, em algumas ocasiões, circundadas por células inflamatórias, ou fazendo parte do exsudato inflamatório.

Destacou-se a presença dos biofilmes microbianos representados por extensas películas de bactérias intimamente relacionadas à superfície óssea, denunciando-se uma firme aderência esta pela continuidade estrutura. Estes biofilmes microbianos também foram vistos no interior e nas superfícies dos sistemas de Havers e canais de Volkmann. Os osteoplastos apresentavam-se ora vazios, ora preenchidos por densas colônias bacterianas representadas na grande maioria das vezes por bactérias Gram-negativas, estendendo-se pelos canalículos intercomunicantes anteriormente ocupados pelos prolongamentos dos osteócitos.

Pela coloração de Brown e Brenn os morfotipos bacterianos observados com maior freqüência foram cocos e bacilos Gram-positivos e Gram-negativos, e menos freqüentemente os espirilos. As bactérias Gram-positivas apresentavam-se individualizadas, enquanto as Gram-negativas em forma de borrões avermelhados. Poucas células inflamatórias foram vistas nas proximidades da superfície óssea afetada, em comparação com a maciça presença bacteriana.

### Observações relativas ao trabeculado ósseo

Nos espécimes, pode-se observar nas paredes das trabéculas ósseas, tanto nas superfícies regulares como nas lacunas de Howship, densos biofilmes microbianos revelados Gram-positivos e Gram-negativos pela técnica de coloração de Brown e Brenn, incluindo-se cocos, bacilos e menos freqüentemente por formas espiraladas. Por vezes, esses biofilmes apresentavam-se também no interior dos osteoplastos. Notou-se também a presença de colônias bacterianas distribuídas aleatoriamente no conteúdo necrótico dos espaços medulares. A presença de células bacterianas planctônicas nas proximidades dos biofilmes e das colônias bacterianas completava o quadro.

Pela técnica de coloração da hematoxilina-eosina pode-se observar nos espaços medulares, na maioria dos

espécimes analisados, a presença de discreto infiltrado inflamatório constituído predominantemente por polimorfonucleares, relacionados às células bacterianas e acompanhado de exsudato purulento e/ou hemorrágico com distribuição difusa. Em determinados cortes microscópicos notou-se a presença de microrganismos nos vacúolos dessas células fagocitárias.

#### Observações relativas ao tecido mole adjacente

Os cortes microscópicos correspondentes às lesões dos tecidos moles adjacentes ao osso infectado revelaram severo infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear. As células inflamatórias apresentavam-se distribuídas difusamente na porção central da lesão, permeadas por exsudato ora hemorrágico, ora purulento. Em alguns cortes além de células pseudoxantomatosas, notou-se também a presença de corpúsculos hialinos de Russel.

Em vários espécimes observaram-se células bacterianas planctônicas e coagregadas em colônias relacionadas às áreas de tecido necrótico. Pela técnica de coloração de Brown e Brenn sugeriu-se ainda a presença de cocos e bacilos Gram-positivos e Gram-negativos no interior de células macrofágicas. Cordões de células epiteliais semelhantes aos restos epiteliais de Malassez foram vistos somente em dois cortes microscópicos.

#### DISCUSSÃO

A partir da análise deste material, supostamente, poderíamos correlacionar com as áreas vizinhas dos abscessos dentoalveolares crônicos e granulomas apicais, que representam osteíte periapicais. Ao mesmo tempo, poderíamos contribuir também para o entendimento das razões que fazem das osteomielites crônicas supurativas, doenças tão difíceis de serem debeladas, quer seja cirurgicamente, quer seja de forma medicamentosa, pois os antibióticos devem ser específicos, de preferência locais e administrados por longos períodos.

Os locais mais afetados pelas osteomielites crônicas supurativas estão nos ossos longos, como tibia, fêmur, úmero e rádio, sobretudo na extremidade superior da tibia e inferior do fêmur. Em particular, na região bucomaxilofacial, quase sempre ela envolve a mandíbula. Isto ocorre provavelmente porque tem uma única fonte vascular e é mais esclerosada, com espaços medulares reduzidos, dificultando a acomodação do exsudato e do infiltrado inflamatório<sup>2</sup>.

Pela microscopia eletrônica de transmissão, GRISTINA<sup>12</sup>, em 1985, evidenciou a presença de colônias bacterianas aderidas aos seqüestros ósseos obtidos daquelas áreas infectadas. Isto fez com que além do exsudato inflamatório, os fragmentos de tecido mineralizado passassem também a serem analisados, tanto pelos exames microbiológicos quanto pelas microscopias óptica e eletrônica. Assim resolveu-se

adotar o procedimento da detecção bacteriana nos tecidos comprometidos ou envolvidos na osteomielite crônica supurativa, pois os microrganismos se imiscuem nas irregularidades ósseas e se organizam em películas nas superfícies corticais e trabeculares.

Na osteomielite crônica supurativa, o antibiograma nem sempre é fiel, pois muitos tipos bacterianos estão inacessíveis aos meios tradicionais de coleta por estarem imiscuídos nas anfractuosidades oferecidas pelos osteoplastos, lacunas de Howship, espaços interlamelares, canalículos ósseos, canais de Volkmann, canais de Havers, como também nos espaços medulares.

Os meios de cultura e as condições para tal nem sempre são repetidas como *in vivo*, por exemplo, a anaerobiose. Assim, a detecção de bactérias pelas técnicas microbiológicas tradicionais, apresenta limitações inerentes ao método de estudo.

A detecção precisa de bactérias em tecidos não é possível pelas histotécnicas de rotina, como a da hematoxilina e eosina, especialmente quando individualizadas e distribuídas na forma planctônica; em colônias e na forma de biofilmes microbianos são detectáveis nesta técnica de rotina. A técnica mais utilizada para se detectar morfotipos é a de Gram modificada para tecidos a partir dos trabalhos de Brown e Brenn, sendo conhecida atualmente como técnica de coloração de Brown e Brenn e utilizada em vários estudos, como o de BOHÓRQUEZ AVILA; ROCHA; CONSOLARO<sup>3</sup> e o de RIBEIRO<sup>20</sup>, quando se estudou a distribuição das bactérias nas estruturas mineralizadas de dentes portadores de necrose pulpar e granuloma apical.

A partir dos questionamentos acima, pudemos rever que nas regiões da cortical óssea, canais de Volkmann, canais de Havers, canalículos ósseos, irregularidades, lamelas, lacunas de Howship e nos osteoplastos as bactérias foram encontradas ora isoladamente, ora organizadas em colônias bacterianas ou biofilmes microbianos. Frequentemente, as formas bacterianas planctônicas encontravam-se próximas às células inflamatórias ou no interior destas.

As mesmas correlações não foram observadas tão frequentemente em relação às formas sésseis. Isto provavelmente acontece porque nesta estratégia de sobrevivência, as células bacterianas encontram-se seqüestradas no interior de uma matriz constituída basicamente por polissacarídeos e água que as protege dos agentes agressores, inclusive do sistema imunológico. Algumas proteínas encontradas nas membranas das células bacterianas, quando francamente expostas aos reconhecedores de antígenos do nosso organismo, desencadeiam a resposta imunológica, mecanismo utilizado na eliminação do agente agressor.

Nos biofilmes microbianos, esta situação não acontece porque os açúcares, substâncias não imunogênicas, cobrem as proteínas estranhas das células bacterianas inviabilizando a resposta imunológica. De acordo com KHOURY<sup>13</sup>, mesmo naqueles indivíduos

com resposta humoral e celular normais as infecções causadas por biofilmes microbianos são raramente resolvidas pelos mecanismos de defesa do hospedeiro

No planejamento cirúrgico, a anamnese e a biossegurança assumem papel de relevância fundamental para o sucesso clínico. Mesmo nos casos daquelas extrações dentárias que aparentemente não oferecem dificuldades, os dados semiológicos devem ser valorizados, por exemplo, pacientes portadores de alcoolismo crônico, devem ser tratados como pacientes de alto risco. Em 1990, DAVIES; CARR<sup>10</sup> relataram casos de osteomielite crônica supurativa após extração dentária em pacientes com história de alcoolismo crônico. Baseados em trabalhos anteriores, os autores sugerem ainda que mesmo naqueles pacientes que ingerem pequenas doses de álcool, porém com certa frequência, em detrimento de não apresentarem manifestações clínicas da doença, o seu sistema imunológico provavelmente já esteja alterado.

Os procedimentos técnicos empregados nas cirurgias parendodônticas expõem na maioria das vezes, tanto a cortical óssea como o osso trabecular, por longo tempo. Isto, por si só, justifica o emprego de enxágües com anti-sépticos bucais no controle da microbiota bucal, além dos procedimentos de biossegurança empregados rotineiramente, por se tratar de uma região altamente contaminada.

No trabeculado ósseo, os biofilmes foram mais comuns do que nas superfícies da cortical óssea. Isto acontece graças às peculiaridades anatômicas e ambientais destas estruturas, e porque a penetrabilidade bacteriana nos casos de mandíbula se faz via endodôntica, de acesso quase direto para o trabeculado. A aderência bacteriana às superfícies não acontece ao acaso. Fatores locais como, disponibilidade de nutrientes, pH, temperatura, umidade, receptores de superfície estão envolvidos no desencadeamento de cascatas genéticas que levam certas espécies bacterianas a produzirem uma matriz gelatinosa, altamente complexa, constituída por diferentes polissacarídeos<sup>7,8,12,13,15</sup>.

As trabéculas ósseas intimamente relacionadas às lesões periapicais, como, por exemplo, nos abscessos dentoalveolares e granulomas apicais, principalmente em se tratando de infecções persistentes pós-tratamento endodôntico, podem apresentar biofilmes microbianos, principalmente naqueles casos, que mesmo efetuando a cirurgia parendodôntica, os processos infecciosos persistem. Os espaços medulares podem abrigar bactérias planctônicas e colônias bacterianas. Para isto se faz necessário uma avaliação microscópica criteriosa dos fragmentos ósseos obtidos durante os procedimentos cirúrgicos.

Quanto aos tecidos moles adjacentes aos focos osteomielíticos as bactérias apresentaram-se com maior frequência sob a forma planctônica. Em apenas uns poucos casos colônias bacterianas foram observadas no interior da lesão. Por contigüidade, os processos infecciosos podem afetar os tecidos de suporte dentário

acarretando em danos ao ligamento periodontal e facilitando a formação de biofilmes sobre o cimento radicular, podendo levar à perda do dente. Nos protocolos cirúrgicos de casos de osteomielite, quase sempre se inclui a exodontia dos dentes envolvidos ou relacionados à área afetada, pois o prognóstico não é bom quando se tenta preservar dentes afetados.

Além da via direta e por contigüidade, as bactérias podem também infectar o osso através da via hematogênica. Este padrão de osteomielite atinge qualquer parte do esqueleto, porém com maior frequência os ossos longos. São frequentemente infecções monomicrobianas<sup>9,11,19</sup>. Em geral, inicia-se na região metafisária, por ser uma área onde os vasos são mais tortuosos, em forma de alça, fazendo com que a circulação se torne mais lenta. O exsudato purulento propaga-se da metafise em direção ao canal medular da diáfise, e posteriormente invade os canais ósseos de Volkmann e de Havers até atingir a parte externa da cortical. Momentaneamente o pus acumula-se entre a cortical e o periósteo induzindo reação periosteal com neoformação óssea ou periostite ossificante, por muito tempo, denominada também de osteomielite de Garrè<sup>2</sup>.

Algumas das espécies bacterianas que fazem parte da microbiota das osteomielites crônicas supurativas dos maxilares, como *Staphylococcus aureus*, *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus spp*, *Peptostreptococcus ssp*, *Bacteroides spp*, *Proteus*, *Actinomyces spp*, *Eikenella*, *Arachinia*, *Coccidioides*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Treponema* e *Klebsiella*, *Candida albicans* podem ser também encontradas nos canais radiculares e nas lesões periapicais, inclusive nos abscessos dentoalveolares.

Os *Staphylococcus aureus* são os patógenos isolados com maior frequência nas osteomielites crônicas supurativas, tanto nas infecções mono como polimicrobianas. Estes patógenos têm mostrado ao longo dos anos propriedade em adquirir resistência aos antibióticos, como também alta capacidade em formar biofilmes, demonstrados experimentalmente *in vivo* e *in vitro* e relatados em vários trabalhos de pesquisa<sup>9,17,21</sup>. Os mecanismos exatos que justificam porque somente algumas espécies bacterianas são capazes de formar biofilmes ainda não foram esclarecidos.

Considerando a alta frequência dos biofilmes microbianos nas osteomielites crônicas supurativas podemos agora entender claramente a necessidade dos procedimentos cirúrgicos associados ao emprego de antibioticoterapia local e sistêmica, por longo tempo, no seu tratamento.

Os conhecimentos da evolução clínica deste significativo processo infeccioso e sua etiopatogenia são fatores preponderantes para a aplicação da terapia adequada. Sugere-se que o espraiamento e a colonização das células bacterianas nas estruturas ósseas estejam à mercê de distúrbios que afetam o sistema imunológico, inclusive os circunstanciais. Desta maneira, o cirurgião-

dentista desempenha um papel fundamental na prevenção ou no diagnóstico precoce das osteomielites crônicas supurativas nos ossos maxilares. Prevenir a cárie dentária, a necrose pulpar e as periapicopatias, diagnosticando-as e tratando-as precocemente significa também evitar e diminuir a prevalência das osteomielites crônicas supurativas. Considerando que em pacientes saudáveis, instala-se um processo inflamatório ósseo mais limitado denominado osteíte, dar às pessoas educação, condições de vida adequada com trabalho para todos e acesso aos sistemas de saúde para os doentes, implica prevenir e abortar a osteomielite crônica supurativa da história natural das doenças.

## CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos, considerando-se as limitações inerentes à metodologia empregada; pode-se verificar:

1. a presença de células bacterianas planctônicas, colônias bacterianas e de biofilmes na cortical óssea, envolvendo tanto suas superfícies, como também os canais de Havers e de Volkmann e os osteoplastos;

2. a presença de células bacterianas planctônicas, colônias bacterianas e de biofilmes microbianos no trabeculado ósseo, envolvendo os espaços medulares, as superfícies das trabéculas ósseas e os osteoplastos;

3. a presença de células bacterianas planctônicas e colônias bacterianas no interior das lesões dos tecidos moles adjacentes.

**Também se pode inferir:** em lesão periapical inflamatória decorrente da necrose pulpar, as colônias bacterianas, as bactérias planctônicas e os biofilmes microbianos podem se localizar em regiões inacessíveis, nas estruturas ósseas, mesmo quando da realização de cirurgias parendodônticas, podendo explicar assim alguns insucessos.

**Assim, pode-se concluir:** nas osteomielites crônicas supurativas as bactérias envolvem todas estruturas ósseas comprometidas pelo processo inflamatório, organizando-se ora em colônias, ora em biofilmes microbianos, como estratégia de sobrevivência frente aos mecanismos de defesa do hospedeiro. Fundamenta-se assim, a necessidade do desbridamento cirúrgico vigoroso associado à medicação antibiótica local e sistêmica para o tratamento das osteomielites crônicas supurativas, além do controle das condições ósseas locais predisponentes e do estado sistêmico debilitado associado.

## ABSTRACT

Twenty cases of suppurative chronic osteomyelitis were used aiming the analysis of bacteria distribution in bone structures. Slices were stained using H.E. and Brown and Brenn techniques and analysed under light microscopy. The results revealed Gram positive and Gram

negative bacteria on bone surfaces, in the osteoplasts, Havers and Volkmann channels as well as in the surrounding soft tissue. It was deduced that in inflammatory periapical lesion the bacterial component can be located in inaccessible regions of bone structures, even when periradicular surgeries are performed. It was concluded that in suppurative chronic osteomyelitis bacteria involve all compromised bone structures, arranging in colonies and microbial biofilms, as a survival strategie against host defense mechanisms.

**Uniterms:** Microbial biofilms; Bacterial colonies; Suppurative chronic osteomyelitis

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ARIJI, Y. et al. Florid cemento-osseous dysplasia. **Oral Surg.**, v.78, n.3, p.391-6, Sept. 1994.
2. BOGLIOLO, L. **Patologia**. 3.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1981.
3. BOHÓRQUEZ AVILA, S.P.; ROCHA, R.S.S.; CONSOLARO, A. Avaliação da presença e localização de bactérias nos canais radiculares e nas lesões periapicais crônicas pelo método de coloração de Brown e Brenn. **Rev. FOB**, v.3, n.1/4, p.25-31, jan./dez. 1995.
4. BRADY, F.A.; ROGER, S.M.; SAPP, P. Osteomyelitis of mandible as a complicating factor in Paget's disease of bone. **Brit. J. Oral Surg.**, v.17, n.1, p.33-42, July 1979.
5. BYSTRÖM, A. et al. Healing of periapical lesions of pulpless teeth after endodontic treatment with controlled aseptis. **Endod. dent. Traumat.**, v.3, n.2, p.58-63, Apr. 1987.
6. COCHRANE, D.M. et al. Antibody response to *Pseudomonas aeruginosa* surface protein antigens in a rat model of chronic lung infection. **J. Med. Microbiol.**, v.27, n.4, p.255-61, 1988.
7. COSTERTON, J.W. Cleaning techniques for medical devices: biofilms. **Biomed. Instrum. Technol.**, v.31, n.3, p.222-6, May/June 1997.
8. COSTERTON, J.W.; STEWART, P.S.; GREENBERG, E.P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. **Science**, v.284, p. 1318-22, May 1999.
9. DAUM, R. S. et al. A model of *Staphylococcus aureus* bacteremia, septic arthritis, and osteomyelitis in chickens. **J. Orthop. Res.**, v.8, n.6, p.804-13, Nov. 1990.
10. DAVIES, H.T.; CARR, R.J. Osteomyelitis of the mandible: a complication of routine dental extractions in alcoholics. **Brit. J. Oral Maxillofac. Surg.**, v.28, n.3, p.185-8, June 1990.
11. EMSLIE, K.R.; OZANNE, N.R.; NADE, S.M.L. Acute haematogenous osteomyelitis and experimental model. **J. Pathol.**, v.141, n.2, p.157-67, Oct. 1983.

12. GRISTINA, A.G. Adherent bacterial colonization in the pathogenesis of osteomyelitis. **Science**, v.228, n.4702, p.990-3, May 1985.
13. KHOURY, A.E. et al. Prevention and control of bacterial infections associated with medical devices. **Amer. Soc. Artif. Intern. Organs. Trans.**, v.38, p. 174-8, 1992.
14. LAMBE, D.W. et al. Foreign – body – associated experimental osteomyelitis induced with *Bacteroides fragilis* and *Staphylococcus epidermidis* in rabbits. **Clin. Orthop.**, v.266, p.285-94, May 1991.
15. LAPPIN-SCOTT, H.M.; COSTERTON, J.W. **Microbial biofilms**. New York, Cambridge University Press, 1995.
16. LEONARDO, M.R.; LEAL, J.M. **Endodontia: tratamento de canais radiculares**. 2.ed. São Paulo, Panamericana, 1998.
17. MARRIE, T.J.; NELLIGAN, J.; COSTERTON, J.W. A scanning and transmission electron microscopic study of an infected endocardial pacemaker lead. **Circulation**, v.66, n.6, p.1339-41, Dec. 1982.
18. NAIR RAMACHANDRAN, P.N. Light and electron microscopic studies of root canal flora and periapical lesions. **J. Endod.**, v.13, n.1, p.29-9, Jan. 1987.
19. PATTERSON, A.L. et al. Development of chronic mandibular osteomyelitis in a miniswine model. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v.51, n.12, p.1358-62, Dec. 1993.
20. RIBEIRO, F.C. **Distribuição das bactérias nas estruturas mineralizadas de dentes com necrose pulpar e granuloma apical**. Bauru, 1997. 172p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo. /Orientador: Prof. Dr. Alberto Consolaro/
21. SLAVKIN, H.C. Emerging and re-emerging infectious diseases: a biological evolutionary drama. **J. Amer. dent. Ass.**, v.128, n.1, p.108-12, Jan. 1997
22. SOTO, G.E.; HULTGREN, S.J. Bacterial adhesins: common themes and variations in architecture and assembly. **J. Bacter.**, v.181, n.4, p.1059-71, Feb. 1999.
23. TRONSTAD, L.; BARNETT, F. CERCONE, F. Periapical bacterial plaque in teeth refractory to endodontic treatment. **Endod. Dent. Traumat.**, v.6, n. 2, p.73-7, Aug. 1990.