

Inter-relação entre *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans* e os tratamentos endodônticos.

Interrelation between *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans* and the endodontic treatments.

Monica Naufel de Sousa¹, Alessandra Teixeira de Macedo², Julliana Ribeiro Alves dos Santos^{*1,2,3}

Resumo: Os insucessos dos tratamentos endodônticos estão associados, em parte, à presença de uma microbiota resistente, sendo a bactéria mais recorrente, o *Enterococcus faecalis*, e *Candida albicans* o principal fungo isolado dos canais radiculares. Nesta revisão, foram coletados dados sobre insucessos no tratamento endodôntico, em face da resistência da *E. faecalis*, *C. albicans*, biofilme, no período de Junho de 2016 a Fevereiro de 2017, com uma pesquisa qualitativa, descritiva e analítica de artigos científicos, em periódicos indexados nas bases de dados: *Scielo* e *PUBMED*. A anatomia interna dos dentes com seus sistemas de canais radiculares e a presença dos canalículos nas suas paredes, conjugados à formação do biofilme, aumentam os mecanismos de virulência dos microrganismos, dificultando a ação tanto do sistema imunológico, como das substâncias antimicrobianas, contribuindo para o fracasso nos tratamentos endodônticos, haja vista a dificuldade de alcançar a sanificação dos canais radiculares. Essa revisão de literatura tem o escopo de traçar a inter-relação entre o insucesso endodôntico e a presença do *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans*, por terem mecanismos resistentes ao tratamento endodôntico.

Palavras-chaves: *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*, biofilme, insucessos endodônticos.

Abstract: The failures of the endodontic treatments are associated, in part, to the presence of a resistant microbiota, being the bacteria more applicant the *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans* fungus isolated from the main root canals. In this review, we collected data from June 2016 to February 2017 about failures in the endodontic treatment, resistance of *E. faecalis*; of *C. albicans*; and biofilm, with a qualitative, descriptive and analytical research of scientific papers in journals indexed in the databases: *Scielo* and *PUBMED*. The internal anatomy of the teeth with root canal systems and the presence of the canaliculi in your walls, in conjunction to the formation of biofilm, increase the virulence mechanisms of microorganisms, impeding the action of the immune system, so much as the antimicrobial substances, contributing to the failure in endodontic treatments, given the difficulty of achieving the sanitization of the root canals. This literature review has the scope to trace the interrelation between endodontic failure and the presence of *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*, for having root canal therapy-resistant mechanisms.

Keywords: *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*, Biofilm, endodontic, failures.

1 - Mestranda em Biologia Parasitária - Universidade Ceuma

2 - Acadêmica - Biomedicina da Universidade Ceuma

3 - Docente - Universidade Ceuma

Introdução

Estrela *et al.*¹ esclarece que o tratamento endodôntico é constituído por fases, que devem ser realizadas perfeitamente para produção do resultado desejado. Tais fases se dividem em: diagnóstico, planejamento das fases operatórias, obediência a princípios biológicos e mecânicos do tratamento de canal, utilização de medicamentos, materiais e técnicas biocompatíveis, restauração adequada do dente e controle pós-tratamento.

No entanto, nem sempre se consegue obter êxito com os tratamentos endodônticos, ainda que obedecidas tais etapas. Sunde *et al.*² definiram uma taxa entre 10 a 20% de insucessos, entre os dentes com lesões periapicais, que foram devidamente tratados endodônticamente. Este estudo foi corroborado pelos achados de Moghaddam *et al.*³ que, ao avaliarem o sucesso da terapia realizada, de forma multidisciplinar, em dentes tratados endodonticamente, por um período de até 10 anos, após a obturação do canal, observaram taxas de 83 a 98% de sobrevivência dos dentes tratados.

Os fracassos dos tratamentos endodônticos estão alicerçados, em parte, na incapacidade de neutralizar a microbiota, presente no sistema de canais, durante o tratamento^{4,5} existindo, nesse sentido, uma grande preocupação no mundo científico, em tentar solucionar essa lacuna, ou seja, encontrar um mecanismo eficaz no combate dessa microbiota presente no sistema de canais, uma vez que o sucesso do tratamento será contemplado com efetiva eliminação dos microrganismos dentro do canal⁶, ou pelo menos uma

diminuição significativa da microbiota^{7,8}.

Contudo, Estrela *et al.*¹ ressaltam que se não bastasse a resistência do *Enterococcus faecalis* ao tratamento endodôntico, pode ocorrer a contaminação do canal por este micro-organismo, após o tratamento, através da infiltração nas restaurações coronárias insatisfatórias, realizadas posteriormente à obturação do canal. *Candida albicans* é outro micro-organismo que pode ser encontrado nos sistemas de canais radiculares e está relacionado a infecções microbianas resistentes.⁹ Nesse sentido, é necessário um alerta para a realização de restaurações do elemento dental após a obturação do canal, pois essa restauração irá funcionar como uma blindagem do dente contra a penetração de microrganismos presentes na cavidade oral.

De modo geral, pontua-se a importância de estudos que tenham o objetivo de revisar os fatores microbiológicos que contribuem para a falha do tratamento endodôntico, pois só dessa forma podem ser traçadas estratégias capazes de alcançar a sanificação do sistema de canais radiculares, reduzindo os insucessos desses tratamentos.

Material e Métodos

Constitui-se de um estudo de revisão bibliográfica realizado entre agosto de 2016 a fevereiro de 2017, com abordagem qualitativa, descritiva e analítica, através da pesquisa em revistas científicas indexadas e artigos científicos da base de dados *Scielo* e *PubMed*. A revisão de literatura foi realizada através da pesquisa de artigos com pertinência temática, de modo a

contemplar os mecanismos de virulência dos microrganismos mais apontados na literatura, como resistentes ao tratamento endodôntico. A temática é ampla e muito discutida, o que acarreta em uma limitação de abordar todos os microrganismos resistentes ao tratamento endodôntico. Para a pesquisa de dados, foram utilizados os seguintes descritores: tratamento endodôntico, biofilme, *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*, resistência.

Revisão da Literatura

Entraves para a neutralização da microbiota nos canais radiculares: Anatomia dental.

Sabe-se que o escopo no tratamento de canal é intervir no sistema de canais radiculares neutralizando a agressão microbiana e eliminando o biofilme bacteriano, extinguindo, dessa forma, o quadro da doença infecciosa que está instalada¹. A grande dificuldade para a neutralização desta microbiota alberga uma variedade de fatores, dentre eles, a anatomia interna do dente, à medida que este possui um sistema de canais radiculares que fica fora do alcance da defesa imunológica e do uso sistêmico dos antibióticos^{8,5}. Ademais, essa anatomia é um entrave para a ação das substâncias antimicrobianas utilizadas na irrigação e curativo dos canais radiculares⁷.

Na parede interna dos dentes, temos os túbulos dentinários, onde as bactérias e fungos também podem penetrar e contaminar em profundidade a dentina, tornando muitas vezes impossível a sanificação do canal, ou seja, a

neutralização dessa microbiota invasiva¹⁰.

Microbiota resistente

As primeiras pesquisas demonstraram que a microbiota bacteriana presente em canais que tiveram fracassos, na terapêutica endodôntica, era em número reduzido, com predominância de bactérias gram-positivas, sendo a espécie isolada mais recorrente o *Enterococcus faecalis*. Tais estudos registraram também a presença do fungo *Candida albicans*^{4,9}. Na realidade, esses são patógenos oportunistas, frequentemente encontrados em infecções polimicrobianas, no trato gastrointestinal, cavidade oral e outros locais não estéreis, haja vista serem semelhantes às condições que favorecem a infecção de ambos os patógenos⁹.

Oportuno salientar que esses estudos foram corroborados por Baumgartner, Watts e Xia¹² que apontaram a *Candida albicans* como a levedura mais recorrente em infecções resistentes nos tratamentos de canais radiculares.

Com o advento de métodos, mais modernos, utilizando a biologia molecular, observou-se uma maior variedade de microrganismos em dentes com insucesso no tratamento endodôntico, alargando com isso o registro do número de espécies até então conhecidas. Essa identificação de novas estirpes foi possibilitada pelo uso do método de PCR, que é muito mais sensível do que os métodos convencionais, como a cultura, além de possuir a capacidade de detectar espécies ou estirpes difíceis ou impossíveis de serem cultivadas. Contudo, o *Enterococcus faecalis* continuou

sendo a espécie dominante nos casos de fracasso do tratamento endodôntico^{13,5}.

A presença comum do *Enterococcus faecalis*, em canais que tiveram falhas no tratamento, sugere que esse patógeno oportunista seja um entrave para o sucesso do tratamento endodôntico^{14, 15}.

O fator de virulência do *Enterococcus faecalis* poder estar associada à habilidade desta bactéria invadir os túbulos dentinários e aderir ao colágeno, possibilitando a sua sobrevivência, crescimento e reinfecção. Além disso, a presença de suas enzimas líticas, citolisinas, substância de agregação e ácido lipoteicoico contribuem para a sua grande virulência^{14, 16}.

Ademais, o *Enterococcus faecalis* se beneficia da oportunidade criada pela remoção dos outros microrganismos, durante o preparo do canal radicular, além da sua capacidade de crescer em meios com baixos nutrientes⁴. De Oliveira *et al.*¹⁶ destacam que o *Enterococcus faecalis* é capaz de se nutrir utilizando os fluidos do tecido conjuntivo subjacente do osso alveolar e do ligamento periodontal, colonizando o sistema de canais radiculares.

Pontua-se que, nos tratamentos endodônticos, a fase do preparo do canal, quando sob a ação mecânica de limas endodônticas, farta irrigação e aspiração, possibilita o controle da infecção, uma vez que as substâncias utilizadas possuem propriedades antimicrobianas e conseguem ter alcance em áreas muitas vezes inacessíveis, promovendo a neutralização e a dissolução tecidual^{17, 6}. Dentre as substâncias irrigadoras utilizadas, o hipoclorito de sódio é a mais comum,

podendo ser selecionada em diferentes concentrações. Entretanto, Giardino *et al.*¹⁸ advertem que a sua alta tensão superficial pode afetar a sua capacidade de penetrar nos túbulos dentinários e desse modo comprometer a ação antimicrobiana esperada.

Wang *et al.*¹⁹ esclarecem que a clorexidina 2% vem sendo utilizada como material irrigador, por apresentar uma significativa ação contra o *Enterococcus faecalis*, em estudos *in vitro*. Porém as pesquisas *in vivo* demonstraram uma baixa atividade antimicrobiana dessa substância, o que, aliado a incapacidade de dissolver tecidos necróticos remanescentes do interior dos canais radiculares, afasta a sua aceitação como irrigador de escolha.

Outra fase do tratamento endodôntico é o curativo de canal. O hidróxido de cálcio é a medicação mais utilizada como curativo de demora no tratamento dos sistemas de canais. Contudo, tem efetividade limitada na erradicação de bactérias dentro dos canais radiculares⁸, haja vista ter solubilidade e difusão baixas, agindo, desse modo, somente em contato com os microrganismos¹³. A atividade antimicrobiana do hidróxido de cálcio está associada à liberação de íons de hidroxila no meio aquoso, acreditando-se que o seu efeito letal sobre as bactérias estaria relacionado aos seguintes mecanismos: danos a membrana citoplasmática das bactérias, desnaturação proteica e danos no DNA bacteriano⁸.

Porém, o *Enterococcus faecalis* utiliza a bomba de prótons, para manter resistência sobre o hidróxido de cálcio, pois assim mantém o pH ácido no interior da célula

bacteriana, evitando a alcalinização da célula bacteriana⁵.

Como já comentado, os microrganismos podem sobreviver ao hidróxido de cálcio também em virtude das estirpes se agruparem em nichos, formando biofilmes, onde a medicação não consegue alcançar⁸.

Encontra-se, na literatura, o uso de associações de antibióticos como forma de combater a microbiota do sistema de canais radiculares. Nesse sentido, o trabalho de Sabrah, Yassen e Gregory²⁰ com o uso de antibióticos diretamente dentro dos canais endodônticos, onde realizou associações de metronidazol, ciprofloxacino e minociclina (TAP), e associações de metronidazol e ciprofloxacino (DAP), demonstrando a eficácia dessas associações no combate do biofilme formado pelo *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans*.

Apesar do resultado satisfatório obtido, com essas associações de antibióticos, não se pode esquecer que tais alternativas podem acarretar em resistência bacteriana ao longo do tempo, bem como podem desenvolver processos alérgicos.

Biofilme

A capacidade de associação de microrganismos, através do biofilme, representa um fator preocupante para a sanificação do sistema de canais radiculares, sendo um importante fator de virulência a ser combatido. O biofilme dental, conceituado a partir de equipes multidisciplinares, corresponde ao conjunto de microcolônias organizadas como estruturas comunitárias de células de

microrganismos, dentro de uma matriz polimérica aderida a uma superfície. São conhecidos como modelos protetores que favorecem o crescimento dos microrganismos, conferindo-lhes proteção em meios hostis²¹.

Costerton²¹ destaca que os biofilmes protegem a microbiota do ataque de antibióticos e das defesas do hospedeiro, alertando para a mudança de paradigma, onde o ecossistema natural de bactérias não pode ser mais percebido como um simples agrupamento de células individuais, mas sim, como uma complexa organização de um grande número de espécies de bactérias, com surpreendentes variedades fenotípicas, proporcionando a transferência de genes entre si.

Mohammadi *et al.*²³ esclarece que esses microrganismos suportam grandes variações físicas e morfológicas, em resposta a alterações nos seus ambientes. Assim, os microrganismos podem se ajustar a diferentes gradientes químicos, nutrientes e variação de oxigênio para sobreviver, além de fornecerem à comunidade uma gama de genes, que possibilita às células de bactérias um mecanismo de comunicação, conhecido como *quorum sensing*.

Sen, Piskin e Demirci²⁴ utilizando scanner de microscopia eletrônica, observaram a densa camada formada por colônias isoladas de bactérias e de fungos nas paredes do canal e no espaço intra e inter tubular da dentina. Os biofilmes polimicrobianos, que contêm leveduras como a *Candida albicans*, estão associados ao aumento da tolerância a diferentes antibióticos, tanto em biofilmes com bactérias gram-positivas e gram-negativas. O aumento da resistência

do biofilme a antibióticos está associado a produção do β -1-3-glucan, por esta levedura, o que sugere importância clínica e consequências no tratamento dessas infecções polimicrobianas²⁵.

Kishen, George e Kumar²⁶ ao analisarem a interação do *Enterococcus faecalis* e a dentina observaram que esse microrganismo tem habilidade de induzir a precipitação da apatita da dentina, promovendo a sua calcificação. Assim esta capacidade de formar biofilme calcificado distinto em um carbonato rico em fosfato de cálcio, pode ser mais um fator associado à virulência do *Enterococcus faecalis*.

Desse modo a capacidade de organização desses microrganismos, formando biofilmes representa um fator de virulência a mais, aliado a tantos outros dessa microbiota resistente aos tratamentos endodônticos.

Cruz *et al.*¹¹ pesquisou a interação polimicrobiana da *Candida albicans* e *Enterococcus faecalis*, revelando que o *Enterococcus faecalis* inibiu a secreção de hifas da *Candida albicans*, sendo essa inibição prejudicial à levedura. Esse estudo foi realizado através de compostos secretados pela célula bacteriana, em um modelo alternativo de *C. elegans*. Entretanto, existe a necessidade de mais estudos que avaliem, até que ponto, essa interação é realmente maléfica para a manutenção da microbiota resistente, ou se em algum momento a coexistência dessas duas estirpes pode, de alguma forma, contribuir para o insucesso dos tratamentos endodônticos. Perspectivas que visem eliminação de *Enterococcus faecalis* e de *Candida albicans* nos canais radiculares.

A literatura é rica em pesquisas, cujo principal escopo é a eliminação do *Enterococcus faecalis*, da *Candida albicans* e de outros microrganismos do interior dos canais radiculares. Nesse viés, são buscadas novas técnicas, novos materiais irrigadores, novos curativos de canais e até mesmo novos cimentos obturadores de canal, que consigam eliminar essa microbiota resistente e assim alargar as taxas de sucesso nos tratamentos endodônticos.

Assim, Souza *et al.*⁶ realizaram um estudo em que foi avaliada a associação do preparo biomecânico, utilizando-se o hipoclorito e a terapia fotodinâmica. Tal terapia utiliza um fotossensibilizador ativado pela luz do laser, na presença de oxigênio, resultando na formação de radicais livres capazes de causarem a morte de microrganismos. Assim, a associação entre essas duas técnicas revelou-se mais eficaz que a sua utilização isolada.

Ademais, vivencia-se uma infinidade de associações de produtos ao hidróxido de cálcio. O omeprazol é um bom exemplo da tentativa de interromper a bomba de prótons utilizada pelo *Enterococcus faecalis*, para manutenção de seu pH interno, evitando assim a ação bactericida do hidróxido de cálcio²⁷. Produtos naturais também estão sendo testados com a finalidade de aumentar a capacidade bactericida do hidróxido de Cálcio.

Assim, espera-se que esse entrave, representado pelo insucesso na sanificação dos canais radiculares, seja vencido, aumentando, desse modo, os índices de sucesso nos tratamentos endodônticos.

Conclusão

Ante todo o exposto, constata-se a necessidade da realização de pesquisas que tenham como escopo a busca de substâncias mais eficazes para irrigação e curativos dos canais radiculares, que venham melhorar a atividade antimicrobiana dentro do canal, tendo em vista a necessidade de vencer os entraves da anatomia interna dos dentes e do biofilme microbiano, mas sempre com o entendimento de que esses fármacos devem ter compatibilidade biológica, para assim possibilitar uma ação mais abrangente sobre a microbiota presente no sistema de canais, com segurança as estruturas biológicas contíguas. A economicidade na realização da técnica deve ser outro fator a ser levado em conta, de modo a alargar o acesso a saúde bucal e sistêmica consequentemente.

Isto posto, constata-se que o *Enterococcus faecalis* e *Candida*

Referências

1. Estrela C, Holland R, Estrela CRDA, AlencarAHG, Sousa-Neto MD, Pécora JD. (2014). Characterization of successful root canal treatment. *Brazilian dental journal*, 25(1), 3-11.
2. Moghaddam AS, Radafshar G, TaramsariM, Darabi F. (2014). Long-term survival rate of teeth receiving multidisciplinary endodontic, periodontal and prosthodontic treatments. *Journal of oral rehabilitation*, 41(3), 236-242.
3. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjögren, U. (1998). Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 85(1), 86-93.
4. Evans M, Davies JK, Sundqvist G, Figdor, D. (2002). Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. *International Endodontic Journal*, 35(3), 221-228.
5. Souza LC, Brito PR, De OliveiraJCM, Alves FR., Moreira EJ, Sampaio-Filho HR, ... & SiqueiraJF. (2010). Photodynamic therapy with two different photosensitizers as a supplement to instrumentation/irrigation procedures in promoting intracanal

albicans fazem parte desta microbiota resistente aos tratamentos endodônticos, possuindo mecanismos de virulência que dificultam em muito a sanificação do sistema de canais radiculares, justificando a preocupação do profissional, inclusive, em estender o acompanhamento do caso mesmo após o fechamento do canal, ante a necessidade de blindagem, ou seja, a confecção de restaurações satisfatórias, capazes de evitar a infiltração marginal em suas bordas, além da realização do controle clínico e radiográfico do tratamento, de forma a confirmar o seu resultado.

Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflitos de interesse quanto à publicação do presente trabalho.

- reduction of *Enterococcus faecalis*. *Journal of Endodontics*, 36(2), 292-296.
6. Santi BTD, Ribeiro MB, Endo MS, De Almeida Gomes BPF. (2015). Avaliação da suscetibilidade antimicrobiana de bactérias anaeróbias facultativas isoladas de canais radiculares de dentes com insucesso endodôntico frente aos antibióticos de uso sistêmico. *Rev Odontol UNESP*, 44(4), 200-206.
 7. Siqueira JF, Lopes HP. (1999). Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. *International Endodontic Journal*, 32(5), 361-369.
 8. Ashraf, H., Samiee, M., Eslami, G., & Hosseini, M. R. G. (2007). Presence of *Candida albicans* in root canal system of teeth requiring endodontic retreatment with and without periapical lesions. *Iranian endodontic journal*, 2(1),
 9. Safavi KE, Spngberg LS, Langeland K. (1990). Root canal dentinal tubule disinfection. *Journal of Endodontics*, 16(5), 207-210.
 10. Cruz MR, Graham CE, Gagliano BC, Lorenz MC, Garsin DA. (2013). *Enterococcus faecalis* inhibits hyphal morphogenesis and virulence of *Candida albicans*. *Infection and immunity*, 81(1), 189-200.
 11. Baumgartner JC, Watts CM, Xia T. (2000). Occurrence of *Candida albicans* in infections of endodontic origin. *Journal of endodontics*, 26(12), 695-698.
 12. Sathorn C, Parashos P, Messer H. (2007). Antibacterial efficacy of calcium hydroxide intracanal dressing: a systematic review and meta-analysis. *International endodontic journal*, 40(1), 2-10.
 13. Love RM. (2001). *Enterococcus faecalis*—a mechanism for its role in endodontic failure. *International endodontic journal*, 34(5), 399-405.
 14. Zoletti GO, Siqueira JF, Santos KRN. (2006). Identification of *Enterococcus faecalis* in Root-filled Teeth With or Without Periradicular Lesions by Culture-dependent and—Independent Approaches. *Journal of endodontics*, 32(8), 722-726.
 15. De Oliveira AA, Scelza MFZ, De Souza Pinto S, De Mattos Guaraldi AL, Júnior RH. (2011). Isolamento e identificação de *Enterococcus sp* em infecções endodônticas primárias. *Revistas*, 68(1), 20.
 16. Holland R, Scares IJ, Scares IM. (1992). Influence of irrigation and intracanal dressing on the healing process of dogs' teeth with apical periodontitis. *Dental Traumatology*, 8(6), 223-229.
 17. Giardino L, Ambu E, Becce C, Rimondini L, Morra M. (2006). Surface tension comparison of four common root canal irrigants and two new irrigants containing antibiotic. *Journal of Endodontics*, 32(11), 1091-1093.
 18. Wang CS, Arnold RR, Trope M, Teixeira FB. (2007). Clinical efficiency of 2% chlorhexidine gel in reducing intracanal bacteria. *Journal of endodontics*, 33(11), 1283-1289.
 19. Sabrah AH, Yassen GH, Gregory RL. (2013). Effectiveness of antibiotic medicaments against biofilm formation of *Enterococcus faecalis* and *Porphyromonas gingivalis*. *Journal of endodontics*, 39(11), 1385-1389.
 20. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. (1999). Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, 284(5418), 1318-1322.

21. Costerton B. (2004). Microbial ecology comes of age and joins the general ecology community. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(49), 16983-16984.
22. Mohammadi Z, Palazzi F, Giardino L, Shalavi S. (2013). Microbial biofilms in endodontic infections: an update review. *Biomedical journal*, 36(2), 59.
23. Sen BH, Piskin B, Demirci T. (1995). Observation of bacteria and fungi in infected root canals and dentinal tubules by SEM. *Dental Traumatology*, 11(1), 6-9.
24. De Brucker K, Tan Y, Vints K, De Cremer K, Braem A, Verstraeten N, Thevissen K. (2015). Fungal β -1, 3-glucan increases ofloxacin tolerance of *Escherichia coli* in a polymicrobial *E. coli/Candida albicans* biofilm. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 59(6), 3052-3058.
25. Kishen A, George S, Kumar R. (2006). *Enterococcus faecalis*-mediated biomineralized biofilm formation on root canal dentine in vitro. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 77(2), 406-415.
26. Cogo DM. *Potencialização da ação do hidróxido de cálcio pelo inibidor da bomba de prótons omeprazol sobre o Enterococcus faecalis* [dissertação]. Rio Grande do Sul: Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul: 2012.