

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste trabalho será disponibilizado somente a partir de 26/01/2018.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de São José dos Campos
Instituto de Ciência e Tecnologia

CASSIA CESTARI TOIA

**TRATAMENTO ENDODÔNTICO EM SESSÃO ÚNICA X MÚLTIPLAS
SESSÕES: correlação do sucesso após 1 ano de tratamento com
níveis de endotoxinas, carga microbiana e sinais/sintomas**

2017

CASSIA CESTARI TOIA

**TRATAMENTO ENDODÔNTICO EM SESSÃO ÚNICA X
MÚLTIPLAS SESSÕES: correlação do sucesso após 1 ano de
tratamento com níveis de endotoxinas, carga microbiana e
sinais/sintomas**

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de São José dos Campos, como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE, pelo Programa de Pós-Graduação em ODONTOLOGIA RESTAURADORA, Área de ENDODONTIA.

Orientadora: Prof^a. Tit. Marcia Carneiro Valera
Coorientadora: Prof^a. Dra. Flávia Goulart da Rosa Cardoso

São José dos Campos

2017

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2016]. Disponível em <http://www.ict.unesp.br/biblioteca/normalizacao>

Apresentação gráfica e normalização de acordo com as normas estabelecidas pelo Serviço de Normalização de Documentos da Seção Técnica de Referência e Atendimento ao Usuário e Documentação (STRAUD).

Toia, Cassia Cestari

Tratamento endodôntico em sessão única x múltiplas sessões: correlação do sucesso após 1 ano de tratamento com níveis de endotoxinas, carga microbiana e sinais/sintomas / Cassia Cestari Toia. - São José dos Campos : [s.n.], 2017. 127 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Odontologia Restauradora) - Pós-Graduação em Odontologia Restauradora - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2017.

Orientadora: Marcia Carneiro Valera

Coorientadora: Flávia Goulart da Rosa Cardoso

1. Endotoxinas. 2. Periodontite Apical. 3. Tomografia Computadorizada. I. Carneiro Valera, Marcia, orient. II. Goulart da Rosa Cardoso, Flávia, coorient. III. Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos. IV. Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' - Unesp. V. Universidade Estadual Paulista (Unesp). VI. Título.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Tit. Marcia Carneiro Valera

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Profº Adj. Claudio Antonio Talge Carvalho

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Profª. Associado José Flávio Affonso De Almeida

Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)

Faculdade de Odontologia de Piracicaba

São José dos Campos, 26 de Janeiro de 2017

DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho aos meus pais, **Claudio da Rocha Toia e Rose Meiri Cestari Toia**, primeiramente devido ao amor incondicional que têm por mim, sempre me apoiando tanto na área profissional, quanto na pessoal. Se não fosse pelo incentivo que recebi de vocês desde criança, eu não teria me dedicado aos estudos como venho me dedicando.*

A história de vida de vocês, que sempre batalharam para estudar e fazer diferença dentro nossa família, hoje para mim, não é somente um estímulo para continuar estudando e me aperfeiçoando cada vez mais, mas é um motivo de orgulho e gratidão.

Espero também ser motivo de orgulho para vocês, não somente em âmbito profissional e acadêmico, mas também pessoal.

Obrigada pai e mãe, por me fazerem sentir tão amada.

Amo vocês eternamente.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Agradeço, primeiramente...

A **Deus**, que com seu amor me sustentou até aqui, me orientando nas escolhas, guiando meus caminhos e me livrando de todo perigo e mal durante esse período de mestrado. Seu amor para comigo tem sido notado desde o ventre de minha mãe, e desde então me sinto uma pessoa privilegiada. Por muitas vezes queremos desistir, ir pelos caminhos mais fáceis, mas ao lembrarmos nossa origem, recebemos o refrigério que precisamos. Obrigada **Senhor Jesus**, pelo seu amor, uma vez que sem ele eu não estaria aqui. A sua Mãe, **Virgem Maria**, que é, e sempre será nossa mãe e por quem sempre recorri nos momentos mais difíceis, principalmente durante minha viagem aos Estados Unidos.

A minha mãe **Rose**, que sempre estudou comigo após seu horário de trabalho e me presenteou com sua criação na fé, me ensinando que sem Deus não conseguiria nada. Mãe, você fez a faculdade comigo, fez o mestrado também e tenho certeza que fará parte de minha vitória na vida profissional e pessoal.

Agradeço também ao meu pai **Claudio**, que sempre foi um pai presente e carinhoso, me estimulando a seguir uma carreira na Odontologia e na área acadêmica. Seu amor pela profissão é extremamente estimulante. Agradeço-te por permitir que te ajude na clínica, podendo iniciar contato com pacientes. Não vou me esquecer da forma com que fala com cada paciente, mostrando seu conhecimento e do orgulho que passa aos mesmos ao falar de mim.

Agradeço por cada sacrifício que fizeram para que eu pudesse estudar e ter uma vida maravilhosa.

Agradeço, especialmente...

A minha orientadora do mestrado, **Profa. Tit. Marcia Carneiro Valera**, que tanto me estimulou para que seguisse a área acadêmica desde minha graduação. Lembro-me quando a senhora permitiu que eu acompanhasse suas alunas de pós-graduação durante um atendimento clínico de seu projeto, o que foi extremamente importante para minha decisão. Obrigada professora por ter me estimulado a realizar minha especialização no melhor lugar possível e por ter depositado sua confiança em mim, permitindo que eu ficasse ausente dos compromissos da pós-graduação durante o período do curso.

Gostaria de agradecer ao conhecimento que a senhora passou durante este período de convivência, me ensinando conceitos tanto na parte clínica quanto nas apresentações e atividades realizadas durante o mestrado.

Além disso, se não fosse seu incentivo, eu não teria passado pela experiência de trabalhar no exterior. Foi um aprendizado tanto pessoal, quanto profissional. E espero poder retribuir com o que lá foi aprendido.

Agradeço-te pela forma com que a senhora trabalha, porque acredito que isso ajudará no diferencial. Apesar de meu jeito reservado, gostaria que soubesse que tenho grande carinho pela senhora.

Obrigada professora, por se preocupar também com nosso bem estar e por ter paciência para comigo.

Serei grata por tudo.

Que Deus abençoe a senhora e sua família.

A minha co-orientadora **Prof^a. Dra. Flávia Goulart da Rosa Cardoso**, que muito me ajudou com o projeto, estando sempre disponível. Você tem muita paciência para ajudar, o que irá te levar longe.

Agradeço-te por me estimular a estudar, ir atrás de congressos e novidades na Endodontia. Além disso, te considero uma irmã mais velha e uma pessoa na qual muito me espelho. Espero que você seja muito feliz, tanto em sua vida profissional, quanto pessoal.

Sou grata eternamente por tudo.

Deus te abençoe Flavinha.

Ao professor **Dr. Marco Cícero Bottino**, que apesar de não fazer parte deste estudo diretamente, foi o responsável pela realização e orientação de meu projeto de Bolsa BEPE realizado no exterior, no ano de 2016. Mais uma vez, gostaria de agradecer pela oportunidade que o senhor me deu de trabalhar em seu laboratório. Foi uma experiência maravilhosa, e com isso aprendi muito. Muito obrigada pela paciência que o senhor teve comigo durante esse tempo.

Obrigada, professor.

Aos meus familiares...

Agradeço aos meus avós, **Juracy Cestari e Ignês Guerreiro Cestari** pelo amor que têm por mim e pela ajuda que deram durante meu crescimento.

Agradeço também à família **Cestari** e família **Toia**, que sempre me incentivaram e se orgulharam de mim.

AGRADECIMENTOS

À **Faculdade de Odontologia de São José dos Campos** – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, através de seu Diretor **Prof. Dr. Estevão Tomomitsu Kimpara** e ao **Programa de Pós-graduação em Odontologia Restauradora**, na pessoa do Coordenador **Prof. Alexandre Borges**.

À **Capex** pela concessão de bolsa de mestrado. À **FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO – FAPESP** - que me concedeu a bolsa de iniciação científica, mestrado (Processo nº 2015/05397-1) e de estágio no exterior (BEPE).

Aos professores da banca:

Prof. Dr. José Flávio Affonso de Almeida, que aceitou fazer parte da composição de minha banca examinadora, contribuindo com seu conhecimento. Obrigada também pelos ensinamentos durante o período que realizei a especialização na UNICAMP.

Tais ensinamentos foram muito importantes para mim.

E ao **Prof. Adj. Cláudio Antônio Talge Carvalho**, que além ter sido presente desde a época de minha graduação, pode também estar presente neste período de mestrado. O senhor é uma pessoa muito querida de essência muito boa.

Aos professores:

Prof. Adj. Carlos Henrique Ribeiro Camargo, Prof. Adj. Ana Paula Martins Gomes, Prof. Assist. Dr. Frederico Canato Martinho e ao Prof. Renato Miotto, pelo convívio e desde minha graduação. Obrigada também pela influencia em minha formação acadêmica, pelos ensinamentos e atenção durante meu mestrado e estágio docência.

Ao **Prof. Assistente Dr. Eduardo Bresciani**, que além de ter participado de minha formação na graduação, sempre se mostrou muito solícito e paciente. Agradeço por ter nos auxiliado com a análise estatística deste trabalho, parte fundamental para a realização da dissertação.

Ao **Prof. Assist. Dr. Luiz Roberto Coutinho Manhães Jr.**, que auxiliou no desenvolvimento da metodologia e nas tomografias dos pacientes.

A professora **Luciane Dias de Oliveira** que muito me auxiliou nas correções do meu projeto no exame de qualificação, A Prof. **Dra. Renata Falchete** que me auxiliou no treinamento de cultura celular e na confecção de meu projeto da Bolsa BEPE; Aos os professores do **Departamento de Odontologia Restauradora**, das disciplinas de Dentística e Prótese.

Aos Professores do curso de Especialização de Endodontia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – Unicamp: **Adriana, Brenda, Caio, José Flavio e Alexandre**, pela orientação nos casos clínicos, paciência e carinho durante esses dois anos de curso. A Experiência de cursar numa faculdade com outra filosofia foi excelente para meu crescimento profissional e amadurecimento pessoal. Agradeço especialmente a professora **Brenda** que permitiu que eu utilizasse o laboratório de endodontia para a confecção de VMGA III junto de seus alunos.

Aos amigos e colegas:

Daiana Cavalli, que além de dividir comigo o projeto de mestrado para o atendimento dos pacientes e realização dos procedimentos laboratoriais, também dividiu bons momentos, se tornando uma grande amiga que pretendo levar comigo além dos muros da faculdade.

Ao meu colega e amigo **Esteban Isai Flores Orozco** que também dividiu este trabalho comigo, sendo além de um grande parceiro, um grande amigo e irmão. Desejo que tenha muito sucesso.

A minha colega e amiga **Rayana Khoury**, pela qual me identifiquei desde o começo, se mostrando uma pessoa sempre solícita e querida. Obrigada por nos alegrar.

Divya, thank you very much for all your help during these 4 months in USA. It was a pleasure to work with you. I learned a lot. I miss you.

As minhas colegas e amigas: **Fernanda Carvalho, Claudia Ferreira e Alessandra Manchini**, que ingressaram comigo no mestrado e fizeram parte deste momento tão importante. “Clacla” e “Fefê” sentirei falta de vocês e do nosso convívio. “Alê”, nos vemos no doutorado.

Aos meus colegas e amigos, **Diego Rabelo, Carlos Henrique Ferrari, Felipe Mattos, Amjad Abu Hasna, Monique Costa Moreira França, Tatiane Sampaio** e aos demais colegas da pós-graduação: **Érica Crastechini, Lucélia Gonçalves, Laura Meirelles, Tania Mara, Danielle Avila, Rayssa Zapatta e Mazé** pela convivência.

Agradeço especialmente a **Débora Dantas, Marina Gullo, Ingrid Fernandes** e a **Letícia Grilo** que me acolheram desde a época em que eu era aluna especial, se tornando não só colegas de pós-graduação, mas também amigas pessoais, dividindo experiências e bons momentos.

Aos colegas de pós-graduação que me acolheram mesmo antes de ingressar no mestrado, sempre me incentivando: **Gleice Silva, Flavia Leal, Flavia Teixeira, Rafaela Vasconcelos, Ivani, Rose Soares, Rafael e Nádia Ferreira**.

Aos amigos da especialização, na qual dividimos experiências e conhecimentos. Desejo que Deus abençoe a cada um de vocês, e que a vida de vocês seja repleta de realizações tanto na área profissional quando na área pessoal. Espero manter contato com essas pessoas tão queridas ao longo de minha vida. **Alessandra, Sara, Jafra, Paula, Priscila, Grazielle, Ricardo, Humerto, Rafaela, Emanuel, Nathalye e Eloa**: obrigada por tudo.

Ao **Dr. Marco Antônio Rocco**, pelo auxílio nas análises tomográficas da pesquisa. Você foi muito importante para a realização deste trabalho. Obrigada também pela amizade e ensinamentos.

A minha colega e amiga **Maria Tereza de Albuquerque Pedrosa**, na qual me espelho como profissional e também tenho grande carinho. Você sempre me incentivou muito. Obrigada Terê.

Agradeço em especial as minhas amigas **Layla Rozemberg e Alessandra Ruy** que tanto me apoiaram durante esse período e no período em que estive nos Estados Unidos, sempre se preocupando comigo e **Mirelle Codato**, uma grande amiga que Deus me deu.

E também aos amigos que fiz nos Estados Unidos, durante o período em que lá estive, **Lisiane Ferreira, Luiz, Igor, Kate, Brian, Paulo, Luciana, Nate** e minha grande amiga **Cinara**, que se fez uma grande companheira.

Aos funcionários e amigos do Instituto de Ciência e Tecnologia da UNESP:

Sr. Carlos e Michelle, que tanto me ajudaram durante meu mestrado, às técnicas do departamento ***Fernanda Brito e Josiana Carneiro***, às secretárias do departamento, ***Liliane e Rosangela***. Agradeço também aos responsáveis pela Secretaria da Pós-Graduação, ***Bruno, Ivan e Sandra***, aos funcionários da triagem, que nos ajudaram durante a pesquisa. Aos funcionários da Disciplina da Radiologia, principalmente ao ***Alex***, que realizou as tomografias utilizadas nesse projeto.

Agradeço também aos outros funcionários que direta e indiretamente nos auxiliaram nesta pesquisa.

Aos alunos:

A todos os ***alunos da graduação e ex-alunos de iniciação científica***. Saibam que aprendi muito com vocês.

Aos pacientes:

Gostaria de agradecer especialmente a todos os pacientes que passaram por atendimento conosco durante a pesquisa, uma vez que foram parte determinante deste trabalho. Obrigada por depositarem sua confiança e por se comprometerem com nossa pesquisa.

Gostaria de agradecer especialmente ao ***Italo Emídio Viana***, que confiou em meu trabalho e que esteve disponível para a realização do controle tomográfico. Você sempre será um grande amigo.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	13
LISTA DE TABELAS.....	16
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	18
RESUMO	19
ABSTRACT	20
1 INTRODUÇÃO.....	21
2 REVISÃO DE LITERATURA	27
2.1 Relação da microbiota das infecções endodônticas primárias com sinais e sintomas	27
2.2 Endotoxinas.....	31
2.3 Sessão única x múltipla sessão no tratamento endodôntico.....	36
2.4 Radiografias periapicais x Tomografias computadorizadas de feixe cônico na destruição óssea periapical.....	43
3 PROPOSIÇÃO	47
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	48
4.1 Seleção de pacientes.....	48
4.2 Seleção dos casos.....	49
4.3 Divisão dos grupos experimentais.....	50
4.4 Intervenção Odontológica.....	51
4.5 Coletas do canal radicular.....	53
4.6 Preparo Biomecânico.....	54
4.7 Medicação Intracanal por 14 dias para o grupo de múltipla sessão.....	56
4.8 Obturação dos canais radiculares do grupo de múltipla sessão.....	57
4.9 Obturação dos canais radiculares do grupo de sessão única.....	58
4. 10 Restauração definitiva dos dentes tratados endodonticamente.....	59
4.11 Análise da presença de micro-organismos.....	60
4.12 Quantificação de Endotoxinas.....	63
4.13 Análise da volumetria da destruição óssea periapical.....	64

4.14 Volumetria dos canais radiculares.....	68
4.15 Acompanhamento após um ano de tratamento.....	69
4.16 Análise Estatística.....	70
5 RESULTADO.....	72
5.1. Monitoramento do tratamento endodôntico e sua efetividade em dentes com infecção endodôntica primária.....	72
5.1.1 Crescimento de micro-organismos aeróbios e anaeróbios.....	72
5.1.2 Quantificação de Endotoxinas (EU/mL).....	80
5.2 Sinais, sintomas clínicos e condições dos dentes tratados.....	84
5.2.1 Presença e tipo de dor antes da realização do tratamento.....	84
5.2.2 Condições do dente a ser tratado.....	85
5.3 Relação entre sinais e sintomas com níveis de endotoxinas, carga microbiana e volumetria de lesão e canais por TCFC.....	86
5.4 Relação dos níveis de endotoxinas (EU/mL), carga microbiana, características da coroa, volumetria inicial da lesão periapical (mm ³) e dos canais radiculares (mm ³) através do uso de TCFC.....	87
5.5 Controle Clínico, Radiográfico e Tomográfico após um ano de tratamento.....	88
5.5.1 Sinais e sintomas clínicos após um ano de tratamento.....	89
5.5.2 Condições e aspectos da Coroa após um ano de tratamento.....	89
5.5.3 Controle radiográfico e tomográfico após um ano de tratamento.....	90
5.6 Alteração da volumetria da lesão periapical (mm ³) em função do tipo de tratamento endodôntico.....	94
5.7 Alteração da volumetria da lesão periapical (mm ³) em função da carga microbiana (UFC/mL) e níveis de endotoxinas (EU/mL).....	95
6 DISCUSSÃO.....	96
7 CONCLUSÃO.....	102
REFERÊNCIAS.....	103
APÊNDICES.....	114
ANEXOS.....	123

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Radiografias periapicais de dentes com necrose pulpar e presença de lesão periapical com indicação de tratamento endodôntico.....	49
Figura 2 - Representação da divisão dos grupos experimentais.....	51
Figura 3 - Sequência da intervenção odontológica.....	53
Figura 4 – Coleta do conteúdo do canal radicular.....	54
Figura 5 - Sequência da intervenção odontológica.....	55
Figura 6 - Esquema da 1ª sessão de atendimento clínico para os casos de sessão múltipla.....	56
Figura 7 - Esquema da 2ª sessão de atendimento clínico para os casos de sessão múltipla.....	57
Figura 8 - Esquema de atendimento clínico realizado no grupo de sessão única.....	58
Figura 9 - Restauração definitiva dos dentes tratados endodonticamente....	60
Figura 10 - Diluições seriadas a partir da amostra matriz para a realização da semeadura do conteúdo dos canais radiculares, pelo método de cultura microbiológica.....	61
Figura 11 - Análise da presença de micro-organismos e contagem de contagem de unidades formadoras de colônias por mililitro.....	62

Figura 12 – Montagem da placa, reagentes e leitora utilizada na quantificação de endotoxinas.....	64
Figura 13 - Segmentação 2D da TCFC utilizando o longo eixo do dente.	65
Figura 14 - Imagem da TCFC da verificação pré-operatória transferidas para o <i>software</i> Nemotec® e segmentação 2D da lesão.....	67
Figura 15 - Imagem da TCFC da verificação pré-operatória transferidos para o <i>software</i> Nemotec® após criação das medidas nos diferentes planos de corte, formando um polígono que abrangesse todo o limite da lesão.....	67
Figura 16 - Imagem da TCFC da verificação pré-operatória transferidos para o <i>software</i> Nemotec® após criação das medidas do canal radicular nos diferentes planos de corte, formando um polígono que abrangesse todo o limite do canal.....	69
Figura 17 - Placas de Petri, após semeadura do conteúdo dos canais radiculares, pelo método de cultura microbiológica.....	72
Figura 18 - Valores de UFC/mL para micro-organismos aeróbios nos diferentes tempos de coleta para cada paciente estudado.....	75
Figura 19 - Valores de UFC/mL para micro-organismos anaeróbios nos diferentes tempos de coleta para cada paciente estudado.....	78
Figura 20 - Níveis de endotoxinas (EU/mL) na coleta inicial e final de todos os grupos experimentais.....	81
Figura 21 - Níveis de endotoxinas (EU/mL) nos diferentes tempos de	

coletas, para cada grupo experimental.....	83
Figura 22 - Presença de dor relatada pelos pacientes no início do tratamento.....	84
Figura 23 - Condições da coroa dos dentes submetidos aos tratamento.....	85
Figura 24 - Imagens Radiográficas e tomográficas de paciente.....	91
Figura 25 - Imagens Radiográficas e tomográficas de paciente.....	92
Figura 26 - Figura 26 – Cortes tomográficos iniciais e após um ano do tratamento (SM e SU)	93
Figura 27 - Figura 27 - Comparação entre a volumetria inicial e final das lesões periapicais (mm ³).....	94

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Porcentagem de canais que apresentam micro-organismos aeróbios e mediana e média de UFC/mL nos casos de sessão única e múltipla sessão.....	73
Tabela 2 - Porcentagem de canais que apresentam micro-organismos anaeróbios e mediana e média de UFC/mL nos casos de sessão única e múltipla sessão.....	74
Tabela 3 - Log ₁₀ de UFC/mL de micro-organismos aeróbios para todas as coletas realizadas durante o tratamento nos grupos de sessão única e múltipla.....	76
Tabela 4 - Log ₁₀ de UFC/mL para micro-organismos anaeróbios nos diferentes tempos de coletas, para cada grupo experimental.....	77
Tabela 5 - Log ₁₀ de UFC/mL para micro-organismos anaeróbios para todas as coletas realizadas durante o tratamento nos grupos de sessão única e múltipla.....	79
Tabela 6 - Log ₁₀ de UFC/mL para micro-organismos anaeróbios para as coletas iniciais e finais.....	79
Tabela 7 - Níveis de endotoxinas de 20 canais radiculares com necrose pulpar e presença de lesão periapical.....	80
Tabela 8 - Níveis de endotoxinas (EU/mL) em log ₁₀ nos diferentes tempos de coletas, para cada grupo experimental.....	82
Tabela 9 - Níveis de endotoxinas (EU/mL) para as coletas iniciais e finais	

em ambos grupos experimentais.....	83
Tabela 10 - Relação entre sinais e sintomas com volumetria de lesão e canais (mm ³), UFC/mL e EU/mL.....	86
Tabela 11 – Relação condições dos dentes tratados com volumetria de lesão e canais (mm ³), UFC/mL e EU/mL.....	87
Tabela 12 – Pacientes que apresentaram dor após finalização do tratamento.....	89
Tabela 13 – Condições de coroa e higiene dos pacientes após acompanhamento de um ano de tratamento.....	90
Tabela 14 – Média dos volumes iniciais e finais (mm ³) das lesões periapicais.....	95

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

2D	Duas Dimensões
3D	Três Dimensões
CLX	Clorexidina
CT	Comprimento de Trabalho
EU/MI	Unidades de Endotoxina por mL
HC+SS	Hidróxido de Cálcio + Solução Salina Fisiológica
LPS	Lipopolissacarídeos
MIC	Medicação Intracanal
NaOCl	Hipoclorito de Sódio
PBM	Preparo Biomecânico
PCR	Reação em Cadeia Polimerase
PMNs	Polimorfonucleares
RP	Radiografia Periapical
SCR	Sistema de canais radiculares
SM	Sessão Múltipla
SU	Sessão Única
TC	Tomografia Computadorizada
TCFC	Tomografia Computadorizada de Feixe Cônico
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral alfa
UFC/mL	Unidades formadoras de Colônia por mL

Toia CC. Tratamento endodôntico em sessão única x múltiplas sessões: correlação do sucesso após um ano de tratamento com níveis de endotoxinas, carga microbiana e sinais/sintomas [dissertação]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2017.

RESUMO

Os objetivos deste estudo foram: a) monitorar carga microbiana (UFC/mL) e níveis de endotoxinas (EU/mL) em dentes com infecção endodôntica primária submetidos a tratamento endodôntico em sessão única (SU) e múltiplas sessões (SM); b) relacionar (EU/mL) e (UFC/mL) com sinais e sintomas clínicos, volume do canal radicular e da lesão periapical (mm^3), através do uso de tomografia computadorizada de feixe cônico (TCFC); c) comparar o volume da lesão periapical (mm^3) antes e após um ano de tratamento nos grupos SU e SM; d) comparar a redução do volume da lesão periapical (mm^3) após um ano de tratamento com EU/mL e UFC/mL iniciais e antes da obturação; e) comparar taxa de sucesso encontrado após um ano de tratamento entre SU e SM. Foram selecionados vinte dentes com necrose pulpar e lesão periapical que foram submetidos à TCFC. Foram realizadas coletas do conteúdo do canal radicular: após abertura coronária (S1), após instrumentação com sistema reciprocante Reciproc[®] e irrigação com hipoclorito de sódio 2,5% (NaOCl) (S2), após uso de EDTA 17% (S3) e após medicação intracanal (MIC) a base de hidróxido de cálcio e solução salina fisiológica (S4). Os conteúdos foram avaliados quanto à atividade antimicrobiana por cultura microbiológica e quanto aos níveis de endotoxinas pelo teste *Lisado Amebócito de Limulus*. Foi realizada a volumetria dos canais radiculares e da destruição óssea periapical através da TCFC utilizando o *software* Nemotec[®]. Por fim, foi realizado controle do tratamento endodôntico, para comparar os tratamentos quanto ao processo de reparo da lesão periapical, relacionando o volume das lesões com os achados clínicos, radiográficos e da tomografia inicial. Os dados foram analisados estatisticamente. Os níveis de UFC/mL e EU/mL diminuíram após o PBM, porém a MIC e o EDTA 17% não interferiram nos resultados; UFC/mL e EU/mL não foram relacionadas a sinais/sintomas e volume da lesão periapical; porém houve correlação entre o volume da lesão periapical e os sinais e sintomas; não houve diferença estatística entre os tratamentos SU e SM na redução das lesões periapicais após um ano e não houve relação entre UFC/mL e EU/mL com a regressão da lesão. Conclui-se, portanto, que o tipo de intervenção (SU x SM) não influenciou no sucesso do tratamento endodôntico.

Palavras-chave: Endotoxinas; Periodontite Apical. Tomografia computadorizada

Toia CC. *Single visit x multiple visit endodontic treatment: correlation of success after 1 year of treatment with endotoxin levels, microbial load and signs / symptoms [dissertation]. São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2017.*

ABSTRACT

The aim of this study was: a) to investigate microbial load (UFC/mL) and endotoxin levels (EU/mL) in primary endodontic infections in permanent teeth submitted to endodontic treatment in single visit (SV) versus multiple visit (MV) treatment; b) to correlate EU/mL and UFC/mL with clinical signs and symptoms and root canal and periapical lesion volume (mm³) using cone beam computed tomography (CBCT); c) to compare the periapical lesion volume (mm³) before and after one year follow up in the SV and MV groups; d) to compare the reduction of periapical lesion volume (mm³) after one year of treatment with EU/mL and CFU/mL in the beginning of the treatment and before the obturation process; E) to compare the success rate after one year follow up between SV and MV. Twenty teeth with pulp necrosis and periapical lesion were selected and submitted to CBCT. Root canal contents were collected: after coronary opening (S1), after the instrumentation with Reciproc[®] and irrigation with sodium hipoclorite 2,5% (S2), after irrigation with EDTA 17% (S3) and after intracanal medication for 14 days with calcium hydroxide paste and physiological saline solution (S4). Antimicrobial activity was evaluated by microbiological culture and endotoxin levels by the Lysed Amebocyte Limulus test. Root canal volumetry and bone destruction were analyzed through the CBCT using Nemotec[®] software. Finally, one year follow up visit was conducted to compare both treatments regarding the periapical lesion healing process correlating the volume of lesions with clinical, radiographic and initial tomography findings. Data obtained were statistically analyzed. UFC/mL and EU/mL levels decreased after biomechanical preparation, but intracanal medication and EDTA 17% did not interfere the results; CFU/mL and EU/mL were not related to signs/symptoms and periapical lesion volume. However there was a correlation between the periapical lesion volume and the signs/symptoms. There was no statistical difference between the SV and SM treatments about the reduction of the periapical lesions after one year follow up and there was no relation between CFU/mL and EU/mL with regression of the periapical lesion. It was concluded, therefore, that the type of intervention (SV x MV) did not influence the success of endodontic treatment.

Keywords: Endotoxins; Periapical lesion; Computed tomography.

1 INTRODUÇÃO

As infecções endodônticas estão associadas à presença da microbiota comensal oral, que coloniza e se prolifera no sistema de canais radiculares (SCR) como consequência de necrose pulpar, traumatismo do elemento dental, presença de lesões cariosas ou restaurações defeituosas (Kirkevang et al., 2007) ou até mesmo devido a um tratamento endodôntico falho (Moreno et al., 2013).

Com a função de eliminar o maior número de micro-organismos e evitar posterior “recontaminação” do SCR e periápice, o sucesso do tratamento endodôntico decorre principalmente da neutralização de tecido necrótico, dos micro-organismos e seus produtos no SCR (Sjogren, 1990; Gutmann, 1992; Unal 2011), uma vez que os mesmos representam importante papel no estabelecimento da lesão periapical (Takehashi et al., 1965). Além disso, a condição do elemento dental, condições de saúde do paciente, sinais e sintomas, presença da lesão periapical, técnicas de instrumentação e obturação empregadas (Sjogren et al., 1990) são fatores importantes para o sucesso do tratamento.

Estudos utilizando cultura microbiológica e métodos moleculares mostraram que as infecções endodônticas primárias são polimicrobianas, com presença de micro-organismos Gram-positivos e Gram-negativos, predominando alguns gêneros de bactérias, principalmente as anaeróbias (Sundqvist 1992; Gomes et al., 2004; Siqueira Jr., Rocas, 2005; Sakamoto et al., 2007). Algumas bactérias anaeróbias envolvidas com sintomas clínicos exercem papel na patogênese das infecções inflamatórias periapicais (Jacinto et al., 2003; Gomes et al., 2004), estando relacionadas a canais radiculares com lesão periapical visível radiograficamente (Sundqvist, 1992; Assed et al., 1996).

Estes micro-organismos possuem a capacidade de se organizar em biofilme, que são estruturas elaboradas e complexas, dificultando a limpeza do SCR e afetando o prognóstico do tratamento endodôntico (Al-Ahmad et al., 2014; Chu et al., 2006).

Além disso, durante a morte ou multiplicação celular, as bactérias Gram-negativas liberam as endotoxinas, que são lipopolissacarídeos (LPS), presentes

na membrana externa das mesmas, que podem permanecer agregadas à parede celular ou serem liberadas na forma solúvel. Sabe-se que a liberação das endotoxinas causa importantes efeitos biológicos (Barthel et al., 1997), como a secreção de citocinas pró-inflamatórias (Hong et al., 2004; Tang et al., 2011), os quais levam à reação inflamatória e reabsorção óssea periapical (Yamasaki et al., 1992). Ademais, os altos níveis de endotoxinas têm sido associados com o desenvolvimento de dor espontânea (Horiba et al., 1991; Khabbaz et al., 2001, Jacinto et al., 2005, Cardoso et al., 2015) e sintomatologia como dor à palpação (Jacinto et al., 2005) e dor à percussão (Martinho, Gomes, 2008), uma vez que contribuem com a liberação de substâncias vasoativas e neurotransmissores nas terminações nervosas dos tecidos periapicais (Seltzer, Farber, 1994).

As endotoxinas são moléculas estáveis ao calor, compostas de polissacarídeos (açúcares polimerizados), lipídios (complexos contendo ácidos graxos) e proteínas. LPS é composto, em termos moleculares, por três segmentos covalentemente ligados: o *Lipídio A*, o *Core* e o *Antígeno O*. O *Lipídio A* é a região da molécula responsável por seus efeitos tóxicos (Rietschel, Brade, 1992). Além da estrutura química, muito se tem pesquisado sobre o mecanismo de ação de endotoxinas. Quando liberadas, endotoxinas estimulam as células competentes a liberar mediadores químicos (Rietschel, Brade, 1992).

O LPS age sobre macrófagos (Rietschel, Brade, 1992), neutrófilos (Munford, Hall, 1986) e fibroblastos (Day et al., 1998) levando a liberação de mediadores químicos inflamatórios, como fator de necrose tumoral (TNF) (Blix, Helgeland, 1998), interleucinas (IL) IL-1, IL-5, IL-8 (Matsushita et al., 1999), interferon alfa e prostaglandinas. Além disso, LPS é citotóxico (Horiba et al., 1989) e um potente estimulador de produção de óxido nítrico (Blix, Helgeland, 1998).

Como mencionado anteriormente, além de causar reação inflamatória, o LPS adere nos tecidos mineralizados atuando como potente estimulador de reabsorção óssea, atuando na síntese e liberação de citocinas que ativam os osteoclastos (Jiang et al., 2003), desempenhando um papel importante na reabsorção óssea associada às lesões periapicais (Torabinejad et al., 1985).

A diminuição da densidade mineral óssea causada pela infecção endodôntica aparece na radiografia como uma área radiolúcida em torno do ápice radicular (Bender, 1997). O tamanho da radiolucência periapical antes e após o

tratamento endodôntico é rotineiramente comparado com o uso de radiografia periapical (RP) em duas dimensões (2D).

No entanto, estudos *in vitro* e *in vivo* confirmaram que a RP é de uso limitado para detectar radiolucência periapical (Bender, 1997; Paula-Silva et al., 2009), uma vez que a exatidão desse método é menor, devido a sobreposição dos tecidos adjacentes, a espessura do osso cortical sobrejacente, ou principalmente, a baixa eficácia deste método de avaliar a profundidade (vestíbulo-lingual) de uma lesão periapical (Stavropoulos, Wenzel, 2007; Low et al., 2008; Bornstein et al., 2011; Tsai et al., 2012).

Assim, a reconstrução da imagem em três dimensões (3D) torna-se possível através do advento da tomografia computadorizada de feixe cônico (TCFC), que pode ser favorável ao diagnóstico e estudo das imagens, além de possuir uma dose relativamente baixa de radiação em comparação a outras tomografias utilizadas na medicina (Hirsch et al., 2008; Pauwels et al., 2012).

A tomografia computadorizada de feixe cônico (TCFC) tem sido uma das maiores evoluções tecnológicas alcançadas pela odontologia, uma vez que vem se aproximando do clínico cada vez mais, com o intuito de suprir as limitações da radiografia convencional durante os passos operatórios (Durack, Patel, 2012), e inclusive desvendar a composição do elemento dentário e osso adjacente, o que auxilia tanto no planejamento quanto no acompanhamento do tratamento endodôntico (Bornstein et al., 2011). Através de TCFC é possível distinguir qual a raiz ou quais as raízes estão envolvidas na lesão periapical, assim como seu volume e localização exata no interior do tecido ósseo (Stavropoulos, Wenzel 2007; Paula-Silva et al., 2009; Bornstein et al., 2011).

Assim, os benefícios da TCFC são indiscutíveis devido à alta resolução das imagens obtidas, evitando um falso diagnóstico que poderia resultar em erro no plano de tratamento (Cheng et al., 2011), principalmente nos casos de periodontite periapical (Estrela, 2008), uma vez que por muitas vezes através da TCFC é possível se detectar a destruição óssea associada a infecção endodôntica antes mesmo dessa ser evidenciada a través do método radiográfico convencional (Paula-Silva, 2009).

Segundo as recomendações da AAE (*American Association of Endodontists*) e AAOMR (*American Academy of Oral and Maxillofacial Radiology*)

(EUA, 2015) a utilização da TCFC se faz necessária quando a existência de fatores pré-operatórios, tais como a presença e o tamanho real da lesão periapical desempenham um papel importante no resultado do tratamento endodôntico.

Além da necessidade de um bom diagnóstico, o sucesso do tratamento endodôntico decorre da neutralização de tecido necrótico, micro-organismos e seus produtos no sistema de canais radiculares (Sjogren, 1990; Gutmann, 1992; Unal, 2011) através do preparo biomecânico.

Simultaneamente à modelagem do SCR, muitas substâncias químicas auxiliares e medicações intracanalais são utilizadas. O hipoclorito de sódio (NaOCl) é uma solução irrigadora mundialmente utilizada (Ercan et al., 2004; McGurkin-Smith et al., 2005; Tanomaru Filho et al., 2006), sendo conhecido por dissolver tecido necrótico, possuir baixa tensão superficial e ação detergente (Haapasalo et al., 2005), além de possuir atividade antimicrobiana de amplo espectro. Porém, não é capaz de eliminar totalmente as endotoxinas (de Oliveira, 2007; Maekawa et al., 2013; Xavier et al., 2013), e seu uso em altas concentrações pode originar irritação nos tecidos periapicais (Oncag et al., 2003).

Estudos demonstraram a importância do uso de uma medicação intracanal (MIC) com o objetivo de potencializar a limpeza do sistema de canais e túbulos dentinários e impedir que os micro-organismos se multipliquem no intervalo entre sessões de tratamento em situações em que há a necessidade de interrupção do tratamento durante a sessão (Bystrom, Sundqvist, 1981, 1983; Bystrom et al., 1985; Valera et al., 2009; Ferreira et al., 2015).

O hidróxido de cálcio é amplamente utilizado pela sua ação antimicrobiana, capacidade solvente de tecidos e indutor de mineralização. A atividade antimicrobiana do mesmo está associada a seu alto pH (Salgado et al., 2009), que é dependente da disponibilidade de íons hidroxila na pasta (Siqueira, Lopes, 1999). Além disso, possui efetiva ação sobre endotoxinas, pois os íons hidroxila promovem hidrólise da porção lipídica da endotoxina, neutralizando parcialmente seus efeitos biológicos (Safavi, Nichols, 1993, 1994). Para ser utilizado no interior dos canais, o hidróxido de cálcio tem sido associado com vários veículos que devem permitir a liberação lenta e gradual de íons de cálcio e hidroxila (Fava, Saunders, 1999), dentre eles: solução salina fisiológica, água

destilada, soluções anestésicas, propilenoglicol, glicerina, e outros (Fava, Saunders, 1999).

Devido à busca por um tratamento cada vez mais eficaz, a endodontia contemporânea está sendo contemplada por mudanças, tanto em suas concepções, quanto em suas técnicas, com a inclusão de novos materiais e instrumentais. Com o objetivo de facilitar os procedimentos clínicos, o interesse por dinamismo proporcionou uma busca por tratamentos que impliquem em menor custo ao profissional e menor tempo clínico. O uso de localizadores apicais (Parekh, Taluja, 2011) sistemas rotatórios e recíprocos de níquel titânio (Cheung, Liu, 2009), assim como a irrigação com ultrassom e o uso de tomografia computadorizada (TC), não somente auxiliam no aumento do sucesso do tratamento, mas também o tornam mais rápido (Wong et al., 2014). É desta forma que o tratamento endodôntico em sessão única, que consiste na neutralização do conteúdo tóxico, preparo biomecânico e obturação em uma mesma sessão (Peters et al., 2002), foi bastante difundido.

A realização do tratamento endodôntico em única sessão em dentes necrosados com lesão periapical ainda é questionada (Athanassiadis, 2007, Figini, 2008; Wong et al., 2015), especialmente quando se trata de casos com processos agudos ou fístulas (Silveira et al., 2007), embora possua como vantagem menor probabilidade de “recontaminação” entre as sessões (Silveira et al., 2007). Existem vários argumentos a favor e contra esse procedimento, uma vez que há complexidade no tratamento, o que exige uma análise mais detalhada frente às diversas situações clínicas.

Ao comparar o sucesso do tratamento endodôntico realizado em uma ou múltiplas sessões, a maior parte dos estudos consideram que não há diferenças entre os mesmos (Penesis et al., 2008; Wong et al., 2015). Considera-se sucesso a ausência de sinais e sintomas clínicos e a falta de evidência radiográfica de alterações periapicais. No entanto, a maioria destes estudos não avaliam estes resultados considerando a volumetria da lesão periapical inicial e após 12 meses. Portanto, este estudo foi conduzido para avaliar o sucesso endodôntico, por meio de testes microbiológicos e controle tomográfico de dentes com necrose pulpar e periodontite apical submetidos ao tratamento endodôntico imediatamente após a

conclusão do tratamento e após um ano de preservação clínica, radiográfica e tomográfica, comparando tratamento em sessão única e múltiplas sessões.

7 CONCLUSÃO

Diante do exposto, pode-se concluir que:

- a) A carga microbiana e os níveis de endotoxinas diminuiram após o preparo biomecânico utilizando NaOCl 2,5% e Reciproc[®], porém a MIC e o EDTA 17% não interferiram nos resultados;
- b) Endotoxinas e carga microbiana não foram relacionadas a sinais e sintomas e nem ao volume das lesões periapicais;
- c) Houve correlação entre o volume das lesões com sinais e sintomas clínicos;
- d) Não houve diferença estatística entre tratamentos em sessão única e múltiplas sessões na redução da volumetria das lesões periapicais (mm³) após um ano;
- e) Não houve relação entre carga microbiana e níveis de endotoxinas inicial, ou antes da obturação com a regressão da lesão;
- f) O tipo de tratamento: sessão múltipla e sessão única não interferem no sucesso do tratamento endodôntico.

REFERÊNCIAS*

Abella F, Patel S, Duran-Sindreu F, Mercade M, Bueno R, Roig M. An evaluation of the periapical status of teeth with necrotic pulps using periapical radiography and cone-beam computed tomography. *Int Endod J*. 2014 Apr;47(4):387-96. doi: 10.1111/iej.12159. Epub 2013 Jul 26.

Al-Ahmad A, Ameen H, Pelz K, Karygianni L, Wittmer A, Anderson AC, et al. Antibiotic resistance and capacity for biofilm formation of different bacteria isolated from endodontic infections associated with root-filled teeth. *J Endod* 2014;40:223-230.

American Association of Endodontists; American Academy of Oral and Maxillofacial Radiology. Use of cone beam computed tomography in endodontics Joint Position Statement of the American Association of Endodontists and the American Academy of Oral and Maxillofacial Radiology. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 111 (2) (2011), pp. 234–237.

Assed S, Ito IY, Leonardo MR, Silva LA, Lopatin DE. Anaerobic Microorganisms in root canals of human teeth with chronic apical periodontitis detected by indirect immunofluorescence. *Endod Dent Traumatol*. 1996 Apr;12(2):66-9.

Athanassiadis B, Abbott PV, Walsh LJ. *Aust Dent J*. The use of calcium hydroxide, antibiotics and biocides as antimicrobial medicaments in endodontics. 2007 Mar;52(1 Suppl):S64-82. doi: 10.1111/iej.12159.

Barthel CR, Levin LG, Reisner HM, Trope M. TNF-alpha release in monocytes after exposure to calcium hydroxide treated *Escherichia coli* LPS. *Int Endod J*. 1997 May;30(3):155-9.

Bender IB. Factors influencing the radiographic appearance of bony lesions. *J Endod*. 1997 Jan;23(1):5-14.

Bender IB, Seltzer S. Roentgenographic and direct observation of experimental lesions in bone: I. 1961. *J Endod*. 2003 Nov;29(11):702-6.

Blix IJ, Helgeland K. LPS from *Actinobacillus actinomycetemcomitans* & production of nitric oxide in murine macrophages J774. *Eur J Oral Sci*. 1998 Feb;106(1):576-581.

* Baseado em: International Committee of Medical Journal Editors Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical journals: Sample References [Internet]. Bethesda: US NLM; c2003 [atualizado 04 nov 2015; acesso em 25 jan 2016]. U.S. National Library of Medicine; [about 6 p.]. Disponível em: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

Bornstein MM, Lauber R, Sendi P, Von Arx T. Comparison of periapical radiography and limited cone-beam computed tomography in mandibular molars for analysis of anatomical landmarks before apical surgery. *J Endod*. 2011 Feb;37(2):151-7. doi: 10.1016/j.joen.2010.11.014.

Bystrom A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scand J Dent Res*. 1981 Aug;89(4):321-8.

Bystrom A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the effect of 0.5 percent sodium hypochlorite in endodontic therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1983;55(3):307-12

Bystrom A, Claesson R, Sundqvist G. The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. *Endod Dent Traumatol*. 1985 Oct;1(5):170-5.

Cardoso FG, F Correlation between Volume of Apical Periodontitis Determined by Cone-beam Computed Tomography Analysis and Endotoxin Levels Found in Primary Root Canal Infection. . *J Endod*. 2015 Jul;41(7):1015-9. doi: 10.1016/j.joen.2015.02.005.

Cardoso FG, Chung A, Martinho FC, Camargo CH, Carvalho CA, Gomes BP, Valera MC. Investigation of Bacterial Contents From Persistent Endodontic Infection and Evaluation of Their Inflammatory Potential. *Braz Dent J*. 2016 Jul-Aug;27(4):412-8. doi: 10.1590/0103-6440201600520.

Cheng L, Zhang R, Yu X, Tian Y, Wang H, Zheng G, Hu T. A comparative analysis of periapical radiography and cone-beam computerized tomography for the evaluation of endodontic obturation length. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2011 Sep;112(3):383-9. doi: 10.1016/j.tripleo.2011.04.025.

Cheung GS, Liu CS. A retrospective study of endodontic treatment outcome between nickel-titanium rotary and stainless steel hand filing techniques. *J Endod*. 2009 Jul;35(7):938-43. doi: 10.1016/j.joen.2009.04.016.

Chong BS, Pitt Ford TR. The role of intracanal medication in root canal treatment. *Int Endod J*. 1992 Mar;25(2):97-106.

Chu F, Kearns DB, Branda SS, Kolter R, Losick R. Targets of the master regulator of biofilm formation in *Bacillus subtilis*. *Mol Microbiol*. 2006 Feb;59(4):1216-28.

Conrads G, Gharbia SE, Gulabivala K, Lampert F, Shah HN. The use of a 16s rDNA directed PCR for the detection of endodontopathogenic bacteria. *J Endod*. 1997 Jul;23(7):433-8.

Day AL, Langkamp HH, Bowen LL, Ascencio F, Agarwal S, Piesco NP. Signal transduction during LPS-mediated activation of pulp fibroblasts. *J Dent Res*. 1998;77:673.

- De Oliveira LD, Jorge AO, Carvalho CA, Koga-Ito CY, Valera MC. In vitro effects of endodontic irrigants on endotoxins in root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007 Jul;104(1):135-42. Epub 2007 Mar 26.
- De-Deus G, Canabarro A. Strength of recommendation for single-visit root canal treatment: grading the body of the evidence using a patient-centered approach. *Int Endod J.* 2016 Feb 15. doi: 10.1111/iej.12621. [Epub ahead of print]
- DiRenzo A, Gresla T, Johnson BR, Rogers M, Tucker D, BeGole EA. Postoperative pain after 1- and 2-visit root canal therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2002;93(5):605–10.
- Dodge JS. Immediate root filling. *Dent Cosmos* 1887;29:234-5.
- Durack C, Patel S. Cone beam computed tomography in endodontics. *Braz Dent J.* 2012;23(3):179-91.
- El Mubarak AH, Abu-bakr NH, Ibrahim YE. Postoperative pain in multiple-visit and single-visit root canal treatment. *J Endod.* 2010 Jan;36(1):36-9. doi: 10.1016/j.joen.2009.09.003.
- Ercan E, Ozekinci T, Atakul F, Gui K. Antibacterial activity of 2% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite in infected root canal: in vivo study. *J Endod.* 2004 Feb;30(2):84-7. doi: 10.1016/j.joen.2009.09.003.
- Estrela C, Bueno MR, Azevedo BC, Azevedo JR, Pécora JD. A new periapical index based on cone beam computed tomography. *J Endod.* 2008 Nov;34(11):1325-31. doi: 10.1016/j.joen.2008.08.013. Epub 2008 Sep 17.
- Farber PA, Seltzer S. Endodontic microbiology. I. Etiology. *J Endod.* 1988 Jul;14(7):363-71.
- Fava LR, Saunders WP. Calcium hydroxide past: classification and clinical indications. *Int Endod J* 1999;32:257-82.
- Ferreira NS, Martinho FC, Cardoso FG, Nascimento GG, Carvalho CA, Valera MC. Microbiological profile resistant to different intracanal medications in primary endodontic infections. *J Endod.* 2015 Jun;41(6):824-30. doi: 10.1016/j.joen.2015.01.031. Epub 2015 Apr 17.
- Figini L, Lodi G, Gorni F, Gagliani M. Single versus multiple visits for endodontic treatment of permanent teeth: a Cochrane systematic review. *J Endod.* 2008 Sep;34(9):1041-7. doi: 10.1016/j.joen.2008.06.009. Review.
- Foschi F, Cavrini F, Montebugnoli L, Stashenko P, Sambri V, Prati C. Detection of bacteria in endodontic samples by polymerase chain reaction assays & association with defined clinical signs in Italian patients. *Oral Microbiol Immunol.* 2005 Oct;20(5):289-95.

Friedman S, Abitbol S, Lawrence HP. Treatment outcome in endodontics: the Toronto Study. Phase 1: initial treatment. *J Endod.* 2003 Dec;29(12):787-93.

Gesi A, Hakeberg M, Warfvinge J, Bergenholtz G. Incidence of periapical lesions and clinical symptoms after pulpectomy—a clinical and radiographic evaluation of 1- versus 2-session treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006;101(3):379–88.

Gill GS, Bhuyan AC, Kalita C, Das L, Katak R, Bhuyan D. Single Versus Multi-visit Endodontic Treatment of Teeth with Apical Periodontitis: An in vivo Study with 1-year Evaluation. *Ann Med Health Sci Res.* 2016 Jan-Feb;6(1):19-26. doi: 10.4103/2141-9248.180265.

Gomes BP, Pinheiro ET, Gade-Neto CR, Sousa EL, Ferraz CC, Zaia AA, et al. Microbiological examination of infected dental root canals. *Oral Microbiol Immunol.* 2004 Apr;19(2):71-6.

Gomes BP, Jacinto RC, Pinheiro ET, Sousa EL, Zaia AA, Ferraz CC, et al. *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas endodontalis*, *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens* in endodontic lesions detected by culture and by PCR. *Oral Microbiol Immunol.* 2005 Aug;20(4):211-5.

Gomes BP, Jacinto RC, Pinheiro ET, Sousa EL, Zaia AA, Ferraz CC, et al. Molecular analysis of *Filifactor alocis*, *Tannerella forsythia*, & *treponema denticola* associated with primary endodontic infections & failed endodontic treatment. *J Endod.* 2006 Oct;32(10):937-40.

Gomes BP, Martinho FC, Vianna ME. Comparison of 2.5% sodium hypochlorite & 2% chlorhexidine gel on oral bacterial lipopolysaccharide reduction from primarily infected root canals. *J Endod.* 2009 Oct;35(10):1350-3.

Gutmann JL. Clinical, radiographic, and histologic perspectives on success and failure in endodontics. *Dent Clin North Am.* 1992;36(2):379–92.

Haapasalo M, Ranta H, Ranta K, Shah H. Black-pigmented *Bacteroides* spp. in human apical periodontitis. *Infect Immun.* 1986 Jul;53(1):149-53.

Haapasalo M, Endal U, Zandi H, Coil J. Eradication of endodontic infection by instrumentation and irrigation solutions. *Endod Top.* 2005 Jun;10:71-102.

Hirsch E, Wolf U, Heinicke F, Silva MA. Dosimetry of the cone beam computed tomography Veraviewepocs 3D compared with the 3D Accuitomo in different fields of view. *Dentomaxillofac Radiol.* 2008 Jul; 37(5):268–73. doi: 10.1259/dmfr/23424132.

Hofheinz RH. Immediate root filling. *Dent Cosmos.* 1892;34:182-6.

Hong CY, Lin SK, Kok SH, Cheng SJ, Lee MS, Wang TM, Chen CS, Lin LD, Wang JS. The role of lipopolysaccharide in infectious bone resorption of periapical lesion. *J Oral Pathol Med*. 2004 Mar;33(3):162-9.

Horiba N, Maekawa Y, Abe Y, Ito M, Matsumoto T, Nakamura H, et al. Cytotoxicity against various cell lines of lipopolysaccharides purified from *Bacteroides*, *Fusobacterium*, & *Veillonella* isolated from infected root canals. *J Endod*. 1989 Nov;15(11):530-4.

Horiba N, Maekawa Y, Abe Y, Ito M, Matsumoto T, Nakamura H. Correlations between endotoxin & clinical symptoms or radiolucent areas in infected root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1991 Apr;71(4):492-5.

Imura N, Zuolo ML. Restauração Intra-radicular. In: Imura N, Zuolo ML.

Endodontia para o clínico geral. São Paulo: Artes Médicas, 1998. p. 207-27.

Inglis O. Some considerations pertaining to immediate root filling. *Br J Dent Sci*. 1904;47:122-7.

Jacinto RC, Gomes BP, Ferraz CC, Zaia AA, Filho FJ. Microbiological analysis of infected root canals from symptomatic and asymptomatic teeth with periapical periodontitis and the antimicrobial susceptibility of some isolated anaerobic bacteria. *Oral Microbiol Immunol*. 2003 Oct;18(5):285-92.

Jacinto RC, Gomes BP, Shah HN, Ferraz CC, Zaia AA, Souza-Filho FJ. Quantification of endotoxins in necrotic root canals from symptomatic & asymptomatic teeth. *J Med Microbiol*. 2005 Aug;54(Pt 8):777-83.

Jiang J, Zuo J, Chen SH, Holliday LS. Calcium hydroxide reduces lipopolysaccharide-stimulated osteoclast formation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2003 Mar;95(3):348-54.

Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The Effects of Surgical Exposures of Dental Pulp in Germ-Free and Conventional Laboratory Rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1965 Sep;20:340-9.

Kerekes K, Tronstad L. Long-term results of endodontic treatment performed with a standardized technique. *J Endod*. 1979 Mar;5(3):83-90.

Kells CE. Immediate root filling. *Dent Cosmos*. 1887;29:366-7.

Khabbaz MG, Anastasiadis PL, Sykaras SN. Determination of endotoxins in the vital pulp of human carious teeth: association with pulpal pain. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2001 May;91(5):587-93.

Kirkevang LL, Vaeth M, Hörsted-Bindslev P, Bahrami G, Wenzel A. Risk factors for developing apical periodontitis in a general population. *Int Endod J*. 2007 Apr;40(4):290-9. Epub 2007 Feb 1.

Leonardo MR, Silva RA, Assed S, Nelson-Filho P. Importance of bacterial endotoxin (LPS) in endodontics. *J Appl Oral Sci.* 2004 Jun;12(2):93-8.

Leonardo MR. *Endodontia: Tratamento de canais radiculares: princípios técnicos e biológicos.* São Paulo: Artes Médicas; 2005.

Low KM, Dula K, Burgin W, Von Arx T. Comparison of periapical radiography and limited cone-beam tomography in posterior maxillary teeth referred for apical surgery. *J Endod.* 2008 May;34(5):557–62. doi: 10.1016/j.joen.2008.02.022.

Maekawa LE, Valera MC, Oliveira LD, Carvalho CA, Camargo CH, Jorge AO. Effect of zingiber officinale and propolis on microorganisms and endotoxins in root canals. *J Appl Oral Sci.* 2013 Jan-Feb;21(1):25-31.

Martich GD, Boujoukos AJ, Suffredini AF. Response of man to endotoxin. *Immunobiology.* 1993 Apr;187(3-5):403-16.

Martinho FC, Gomes BP. Quantification of endotoxins & cultivable bacteria in root canal infection before & after chemomechanical preparation with 2.5% sodium hypochlorite. *J Endod.* 2008 Mar;34(3):268-72. doi: 10.1016/j.joen.2007.11.015. Epub 2008 Jan 31.

Martinho FC, Chiesa WM, Leite FR, Cirelli JA, Gomes BP. Correlation between clinical/radiographic features and inflammatory cytokine networks produced by macrophages stimulated with endodontic content. *J Endod.* 2012 Jun; 38(6):740-5. doi: 10.1016/j.joen.2012.02.021. Epub 2012 Apr 18.

Martinho FC, Leite FR, Nascimento GG, Cirelli JA, Gomes BP. Clinical investigation of bacterial species and endotoxin in endodontic infection and evaluation of root canal content activity against macrophages by cytokine production. *Clin Oral Investig.* 2014 Feb 13. doi: 10.1007/s00784-014-1198-1. Epub 2014 Feb 13.

Matsushita K, Tajima T, Tomita K, Takada H, Nagaoka S, Torii M. Inflammatory cytokine production & specific antibody responses to lipopolysaccharide from endodontopathic black-pigmented bacteria in patients with multilesional periapical periodontitis. *J Endod.* 1999 Dec;25(12):795-9.

Mattison GD, Haddix JE, Kehoe JC, Progulske-Fox A. The effect of *Eikenella corrodens* endotoxin on periapical bone. *J Endod.* 1987 Dec;13(12):559-65.

McGurkin-Smith R, Trope M, Caplan D, Sigurdsson A. Reduction of intracanal bacteria using GT rotary instrumentation, 5.25% NaOCl, EDTA, and Ca(OH)₂. *J Endod.* 2005 May;31(5):359-63.

Metska ME, Parsa A, Aartman IHA, Wesselink PR, Ozok AR. Volumetric changes in apical radiolucencies of endodontically treated teeth assessed by cone-beam computed tomography 1 year after orthograde retreatment. *J Endod.* 2013 Dec;39(12):1504-9. doi: 10.1016/j.joen.2013.08.034. Epub 2013 Oct 15.

Moller AJ, Fabricius L, Dahlen G, Ohman AE, Heyden G. Influence on periapical tissues of indigenous oral bacteria & necrotic pulp tissue in monkeys. *Scand J Dent Res*. 1981 Dec;89(6):475-84.

Moreno JO, Alves FR, Gonçalves LS, Martinez AM, Rôças IN, Siqueira JF Jr. Periradicular status and quality of root canal fillings and coronal restorations in an urban Colombian population. *J Endod*. 2013 May;39(5):600-4. doi: 10.1016/j.joen.2012.12.020. Epub 2013 Feb 15.

Munford RS, Hall CL. Detoxification of bacterial lipopolysaccharides (endotoxins) by a human neutrophil enzyme. *Science*. 1986 Oct;234(4773):203-5.

Neelakantan P, Sharma S. Pain after single-visit root canal treatment with two single-file systems based on different kinematics--a prospective randomized multicenter clinical study. *Clin Oral Investig*. 2015 Dec;19(9):2211-7. doi: 10.1007/s00784-015-1448-x. Epub 2015 Mar 15.

Nicopoulou-Karayianni K, Bragger U, Patrikiou A, Stassinakis A, Lang NP. Image processing for enhanced observer agreement in the evaluation of periapical bone changes. *Int Endod J*. 2002 Jul;35(7):615-22.

Onçağ O, Hoşgör M, Hilmioğlu S, Zekioğlu O, Eronat C, Burhanoğlu D. Comparison of antibacterial and toxic effects of various root canal irrigants. *Int Endod J*. 2003 Jun;36(6):423-32.

Ordinola-Zapata R, Bramante CM, Duarte MH, Ramos Fernandes LM, Camargo EJ, de Moraes IG, et al. The influence of cone-beam computed tomography and periapical radiographic evaluation on the assessment of periapical bone destruction in dog's teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2011 Aug;112(2):272-9. doi: 10.1016/j.tripleo.2011.01.031. Epub 2011 May 6.

Orstavik D, Kerekes K, Eriksen HM. The periapical index: a scoring system for radiographic assessment of apical periodontitis. *Endod Dent Traumatol*. 1986 Feb;2(1):20-34.

Orstavik D. Radiographic evaluation of apical periodontitis and endodontic treatment results: a computer approach. *Int Dent J*. 1991 Apr;41(2):89-98.

Pamboo J, Hans MK, Kumaraswamy BN, Chander S, Bhaskaran S. Incidence and factors associated with flare-ups in a post graduate programme in the Indian population. *J Clin Exp Dent*. 2014 Dec 1;6(5):e514-9. doi: 10.4317/jced.51578. eCollection 2014.

Paredes-Vieyra J, Enriquez FJ. Success rate of single- versus two-visit root canal treatment of teeth with apical periodontitis: a randomized controlled trial. *J Endod*. 2012 Sep;38(9):1164-9. doi: 10.1016/j.joen.2012.05.021.

Parekh V, Taluja C. Comparative study of periapical radiographic techniques with apex locator for endodontic working length estimation: an ex vivo study. *J*

Contemp Dent Pract. 2011 Mar 1;12(2):131-4.

Patel S, Dawood A, Whaites E, Pitt Ford T. The potential applications of cone beam computed tomography in the management of endodontic problems. *Int Endod J*. 2007 Oct;40(10):818–30. Epub 2007 Aug 14.

Paula-Silva FW, Hassan B, Bezerra da Silva LA, Leonardo MR, Wu MK. Outcome of root canal treatment in dogs determined by periapical radiography and cone-beam computed tomography scans. *J Endod*. 2009 May;35(5):723-6. doi: 10.1016/j.joen.2009.01.023.

Pauwels R, Theodorakou C, Walker A, Bosmans H, Jacobs R, Horner K, et al. Dose distribution for dental cone beam CT and its implication for defining a dose index. *Dentomaxillofac Radiol*. 2012 Oct;41(7):583-93.

Penesis VA, Fitzgerald PI, Fayad MI, Wenckus CS, BeGole EA, Johnson BR. Outcome of one-visit and two-visit endodontic treatment of necrotic teeth with apical periodontitis: a randomized controlled trial with one-year evaluation. *J Endod*. 2008 Mar;34(3):251-7. doi: 10.1016/j.joen.2007.12.015.

Paredes-Vieyra J, Enriquez FJ. Success rate of single- versus two-visit root canal treatment of teeth with apical periodontitis: a randomized controlled trial. *J Endod*. 2012 Sep;38(9):1164-9. doi: 10.1016/j.joen.2012.05.021.

Peters LB, Wesselink PR. Periapical healing of endodontically treated teeth in one and two visits obturated in the presence or absence of detectable microorganisms. *Int Endod J*. 2002 Aug;35(8):660-7. doi: 10.1016/j.joen.2009.01.023.

Pitts DL, Williams BL, Morton TH, Jr. Investigation of the role of endotoxin in periapical inflammation. *J Endod*. 1982 Jan;8(1):10-8.

Rietschel ET, Brade H. Bacterial endotoxins. *Sci Am*. 1992 Aug;267(2):54-61.

Risso PA, Cunha AJ, Araujo MC, Luiz RR. Postobturation pain and associated factors in adolescent patients undergoing one- and two-visit root canal treatment. *J Dent*. 2008;36(11):928–34.

Safavi KE, Nichols FC. Effect of calcium hydroxide on bacterial lipopolysaccharide. *J Endod*. 1993 Feb;19(2):76-8.

Safavi KE, Nichols FC. Alteration of biological properties of bacterial lipopolysaccharide by calcium hydroxide treatment. *J Endod*. 1994 Mar;20(3):127-9.

Sakamoto M, Siqueira JF Jr., Rocas IN, Benno Y. Bacterial reduction and persistence after endodontic treatment procedures. *Oral Microbiol Immunol*. 2007 Feb;22(1):19-23.

Salgado RJ, Moura-Netto C, Yamazaki AK, Cardoso LN, de Moura AA, Prokopowitsch I. Comparison of different irrigants on calcium hydroxide medication removal: microscopic cleanliness evaluation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009 Apr;107(4):580-4. doi: 10.1016/j.tripleo.2008.12.008.

Sathorn C, Parashos P, Messer H. Australian endodontists' perceptions of single and multiple visit root canal treatment. *Int Endod J.* 2009 Sep;42(9):811-8. doi: 10.1111/j.1365-2591.2009.01587.x.

Schein B, Schilder H. Endotoxin content in endodontically involved teeth. 1975. *J Endod.* 2006 Apr;32(4):293-5.

Schulz KF, Altman DG, Moher D, for the CONSORT Group. CONSORT 2010 Statement: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *Ann Int Med.* 2010;152.

Seltzer S, Farber PA. Microbiologic factors in endodontology. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1994;78:634-45.

Seol JH, Cho BH, Chung CP, Bae KS. Multiplex polymerase chain reaction detection of black-pigmented bacteria in infections of endodontic origin. *J Endod.* 2006 Feb;32(2):110-4.

Silveira AM, Lopes HP, Siqueira JF Jr, Macedo SB, Consolaro A. Periradicular repair after two-visit endodontic treatment using two different intracanal medications compared to single-visit endodontic treatment. *Braz Dent J.* 2007;18(4):299-304.

Siqueira Jr JF, Lopes HP. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. *Int Endod J.* 1999;32:361-75.

Siqueira Jr JF. Taxonomic changes of bacteria associated with endodontic infections. *J Endod.* 2003 Oct;29(10): 619-23.

Siqueira Jr JF, Rocas IN. Exploiting molecular methods to explore endodontic infections: Part 1 - current molecular technologies for microbiological diagnosis. *J Endod.* 2005 Jun;31(6):411-23.

Siqueira Jr JF, Rocas IN. Community as the unit of pathogenicity: an emerging concept as to the microbial pathogenesis of apical periodontitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009 Jun;107(6):870-8. doi: 10.1016/j.tripleo.2009.01.044.

Sjogren U, Hagglund B, Sundqvist G, Wing K. Factors affecting the long-term results of endodontic treatment. *J Endod.* 1990 Oct;16(10):498-504.

Sjogren U, Figdor D, Persson S, Sundqvist G. Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Int Endod J.* 1997 Sep;30(5):297-306.

Soltanoff W. A comparative study of the single-visit and the multiple-visit edodontic procedure. *J Endod.* 1978 Sep;4(9):278-81.

Stavropoulos A, Wensel A. Accuracy of cone beam dental CT, intraoral digital and conventional film radiography for the detection of periapical lesions. An ex vivo study in pig jaws. *Clin Oral Investig.* 2007 Mar;11(1):101-6..

Strindberg LZ. The dependence of the results of pulp therapy on certain factors. *Acta Odont Scand* 1956:14.

Sundqvist G. Bacteriologic studies of necrotic dental pulps [dissertation]. Sweden: University of Umea; 1976.

Sundqvist G. Ecology of the root canal flora. *J Endod.* 1992 Sep;18(9):427-30.

Tang Y, Sun F, Li X, Zhou Y, Yin S, Zhou X. Porphyromonas endodontalis lipopolysaccharides induce RANKL by mouse osteoblast in a way different from that of Escherichia coli lipopolysaccharide *J Endod.* 2011 Dec;37(12):1653-8. doi: 10.1016/j.joen.2011.08.015.

Tanomaru Filho M, Yamashita JC, Leonardo MR, da Silva LA, Tanomaru JM, Ito IY. In vivo microbiological evaluation of the effect of biomechanical preparation of root canals using different irrigating solutions. *J Appl Oral Sci.* 2006 Apr;14(2):105-10.

Torabinejad M, Eby WC, Naidorf IJ. Inflammatory & immunological aspects of the pathogenesis of human periapical lesions. *J Endod.* 1985 Nov;11(11):479-88.

Trallero T. Immediate root canal filling. *Dent Cosmos.* 1901;43:1405.

Trope M, Delano EO, Orstavik D. Endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: single vs. multivisit treatment. *J Endod.* 1999 May;25(5):345-50.

Tsai P, Torabinejad M, Rice D, Azevedo B. Accuracy of cone-beam computed tomography and periapical radiography in detecting small periapical lesions. *J Endod.* 2012 Jul;38(7):965–70. doi: 10.1016/j.joen.2012.03.001.

Unal CG, Kececi AD, Kaya BU, Tac AG. Quality of Root Canal Fillings Performed by Undergraduate Dental Students. *Eur J Dent.* 2011 Jul; 5(3): 324–30.

Valera MC, Silva KC, Maekawa LE, Carvalho CA, Koga-Ito CY, Camargo CH, Lima RS. Antimicrobial activity of sodium hypochlorite associated with intracanal medication for *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis* inoculated in root canals. *J Appl Oral Sci.* 2009 Nov-Dec;17(6):555-9.

Valera MC, Maekawa LE, Chung A, Cardoso FG, Oliveira LD, Oliveira CL, et al. The effect of sodium hypochlorite & ginger extract on microorganisms & endotoxins in endodontic treatment of infected root canals. *Gen Dent J.* 2014 May-Jun;62(3):25-9.

- Valera MC, Cardoso FG, Maekawa LE, Camargo CH, de Oliveira LD, Carvalho CA. In vitro antimicrobial and anti-endotoxin action of *Zingiber Officinale* as auxiliary chemical and medicament combined to calcium hydroxide and chlorhexidine. *Acta Odontol Scand*. 2015;73(7):556-61. doi: 10.3109/00016357.2014.949846.
- Van der Borden WG, Wang X, Wu MK, Shemesh H. Area and three dimensional volumetric changes of periapical lesions after root canal treatments. *J Endod*. 2013 Oct;39(10):1245–9. doi: 10.1016/j.joen.2013.07.001.
- Vera J, Siqueira JF Jr, Ricucci D, Loghin S, Fernández N, Flores B, Cruz AG. One- versus two-visit endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: a histobacteriologic study. *J Endod*. 2012 Aug;38(8):1040-52. doi: 10.1016/j.joen.2012.04.010.
- Vianna ME, Horz HP, Conrads G, Zaia AA, Souza-Filho FJ, Gomes BP. Effect of root canal procedures on endotoxins & endodontic pathogens. *Oral Microbiol Immunol*. 2007 Dec;22(6):411-8.
- Weiger R, Rosendahl R, Löst C. Influence of calcium hydroxide intracanal dressings on the prognosis of teeth with endodontically induced periapical lesions. *Int Endod J*. 2000 May;33(3):219-26.
- Wong AW, Zhang C, Chu CH. A systematic review of nonsurgical single-visit versus multiple-visit endodontic treatment. *Clin Cosmet Investig Dent*. 2014 May 8;6:45-56. doi: 10.2147/CCIDE.S61487. eCollection 2014.
- Wong AW Tsang CS, Zhang S, Li KY, Zhang C, Chu CH. Treatment outcomes of single-visit versus multiple-visit non-surgical endodontic therapy: a randomised clinical trial. *BMC Oral Health*. 2015 Dec 19;15:162. doi: 10.1186/s12903-015-0148-x.
- Xavier AC, Martinho FC, Chung A, Oliveira LD, Jorge AO, Valera MC, Carvalho CA. One-visit versus two-visit root canal treatment: effectiveness in the removal of endotoxins and cultivable bacteria. *J Endod*. 2013 Aug;39(8):959-64. doi: 10.1016/j.joen.2013.04.027.
- 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 Oct;18(10):501-4.
- Zavistoski J, Dzink J, Onderdonk A, Bartlett J. Quantitative bacteriology of endodontic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1980 Feb;49(2):171-4.
- Zielke DR, Hegggers JP, Harrison JW. A statistical analysis of anaerobic versus aerobic culturing in endodontic therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1976 Dec;42(6):830-7.