



**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 **Capes** 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. “Claucloau” 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 múltipla sessão (SM); b) relacionar (EU/mL) e (UFC/mL) com sinais e sintomas clínicos, volume do canal radicular e da lesão periapical (mm³), através do uso de tomografia computadorizada de feixe cônico (TCFC); c) comparar o volume da lesão periapical (mm³) antes e após um ano de tratamento nos grupos SU e SM; d) comparar a redução do volume da lesão periapical (mm³) 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 recíprocante 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 hypochlorite 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 através 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 intracanaís 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 reciprocantes 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 (Athanasiadis, 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.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Relação da microbiota das infecções endodônticas primárias com sinais e sintomas

Os micro-organismos e seus produtos exercem um papel importante no estabelecimento da necrose do tecido pulpar e na formação de lesão periapical, como resposta à necrose pulpar, traumatismo 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).

Kakehashi et al. (1965) compararam as alterações decorrentes de exposições pulpares não tratadas em ratos *germ-free*, ou seja, isentos de micro-organismos, e em ratos que portadores de microbiota convencional. Inicialmente, os animais tiveram a polpa de seus primeiros molares superiores expostas à alimentação estéril, e após 18 dias da exposição, foi verificado que no grupo dos ratos portadores de microbiota convencional, que os dentes apresentaram como resposta à exposição tecido pulpar necrosado, com tecido inflamatório crônico e abscesso na região periapical. No grupo de ratos *germ-free*, por sua vez, não foi observada necrose pulpar, granuloma apical ou abscessos. Havia somente um infiltrado inflamatório mínimo e um reparo da polpa dentária decorrente da deposição de dentina neoformada na área anteriormente exposta. Pode-se concluir, portanto, a partir deste estudo que os micro-organismos estão ligados de forma direta à etiologia das alterações pulpares e periapicais.

Nos anos 70, vários estudos sobre a microbiota dos canais infectados mostraram uma grande variedade de micro-organismos, sendo grande parte anaeróbios, responsáveis pela produção de enzimas e endotoxinas, resistentes à terapia antimicrobiana, resultando na persistência de lesões periapicais e dor (Zielke et al., 1976).

Sundqvist (1976) avaliou 32 canais de dentes unirradiculares, necrosados por injúria traumática, a partir de técnicas de identificação de micro-organismos anaeróbios estritos. Foram isoladas bactérias de 18 dos 19 dentes que apresentavam lesão periapical visível radiograficamente, havendo relação entre o

tamanho da lesão e a quantidade de espécies bacterianas presentes no interior dos canais radiculares. Bactérias anaeróbicas estritas representaram 90% dos micro-organismos isolados, havendo relação entre a sintomatologia e um maior número de micro-organismos encontrados no canal.

Zavistoski et al. (1980) descreveram uma técnica quantitativa de cultura bacteriana. As amostras foram coletadas com o auxílio de cones de papel, mantidas em solução salina, e cultivadas quantitativamente, a partir de diluições seriadas semeadas em diferentes meios de culturas. Essa técnica foi realizada em 10 dentes necrosados, sendo que em 9 amostras foram observados micro-organismos aeróbios e anaeróbios, reforçando a ideia de que as bactérias desempenham um papel significativo no desenvolvimento de patologias pulpares e periapicais.

Moller et al. (1981), com a intenção de confirmar o papel dos micro-organismos na etiopatogenia das lesões periapicais, induziram tanto de forma asséptica quanto séptica, necrose em dentes de macacos num período de 6 e 7 meses. As análises clínica, radiográfica, microbiológica e histológica evidenciaram que nos casos de polpas necrosadas não infectadas, os tecidos periapicais estavam ausentes de inflamação e com sinais de reparo; enquanto que naqueles dentes de polpa infectada, havia sempre o desenvolvimento de lesões periapicais.

Na década de 90, Sundqvist (1992) enfatizou a correlação entre o tamanho da lesão periapical e o número de espécies bacterianas presentes no interior do canal radicular, sendo que em dentes com lesões maiores apresentavam uma maior densidade de bactérias no interior dos canais radiculares.

Gomes et al. (2004) através de métodos de cultura microbiológica estudaram o perfil microbiano de 60 canais radiculares que apresentavam infecções primárias (n=41) e secundárias (n=19) e a associação das espécies encontradas com os sinais e sintomas. Como resultado, 70% dos micro-organismos isolados eram anaeróbios estritos, sendo que os mais frequentes eram *Peptostreptococcus micros* (35%), *Fusobacterium necrophorum* (23,3%), *Fusobacterium nucleatum* (11,7%), *Porphyromonas gingivalis* (6,7%) e *Porphyromonas endodontalis* (5%). As infecções endodônticas primárias foram caracterizadas por conterem microbiota mista com predominância em micro-

organismos anaeróbios estritos, em contraste com as infecções endodônticas secundárias, nas quais haviam de 1 a 2 espécies microbianas por canal radicular, sendo a maioria destes anaeróbios facultativos.

Com o desenvolvimento de técnicas moleculares foi possível identificar de forma mais precisa a microbiota dos canais radiculares infectados, sendo que foram detectados micro-organismos por muitas vezes difíceis de serem cultivados ou até mesmos aqueles que até então não haviam sido encontrados em infecções endodônticas (Siqueira, 2003; Gomes et al., 2006). Como consequência a essa evolução, a microbiota endodôntica foi melhor definida (Siqueira, Rocas, 2005), permitindo correlacionar a presença de determinados micro-organismos, (Leonardo et al., 2004) com sinais e sintomas, bem como com a presença de fístulas e reabsorções radiculares.

Gomes et al. (2005) realizaram estudo com o intuito de verificar a presença de micro-organismos anaeróbios estritos através de métodos de cultura microbiológica e molecular. Os micro-organismos detectados foram mais frequentes em dentes com lesão primária do que secundária, sendo o *P. gingivalis* o mais freqüente.

Ainda em 2005, Foschi et al. avaliaram a presença de micro-organismos em canais radiculares de dentes com lesões periapicais, associando as espécies encontradas com sinais e sintomas clínicos. Foram realizadas coletas do conteúdo do canal radicular de 62 dentes, com cones absorventes, sendo as amostras submetidas à análise de PCR. *Enterococcus faecalis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola* foram detectadas, sendo que *T. denticola* estava associada com presença de reabsorção óssea e o *E. faecalis* foi identificado em casos de insucesso do tratamento endodôntico.

Martinho et al. (2012) estudaram a correlação entre sinais e sintomas clínicos e radiográficos e os níveis de interleucinas (IL-1 β , IL-6, IL-10), fator de necrose tumoral (TNF- α) e prostaglandina E2 (PGE2) produzidas por macrófagos estimulados com conteúdo coletado de canais radiculares de dentes com infecções endodônticas primárias. Verificaram que a presença de exsudato e o tamanho da lesão periapical possuem relação direta com IL-6 e TNF- α , havendo

correlação positiva entre PGE2, IL-1 β , TNF- α com presença de exsudato, ao passo que IL-6 e PGE2 foram correlacionados com dor a palpação.

Posteriormente, em 2014, Martinho et al. investigaram a presença de diferentes espécies de bactérias Gram-negativas em dentes necrosados e portadores de lesão periapical, níveis de endotoxinas e os níveis de IL-1 β , IL-6, IL-10 e de TNF- α produzidas por macrófagos estimulados, avaliando sua relação com achados clínicos e radiográficos. Os resultados evidenciam presença de DNA bacteriano em todas as amostras, sendo *Prevotella nigrescens* a espécie mais frequentemente encontrada. Os altos níveis de toxinas bacterianas estavam relacionados com dor a palpação e presença de exsudato. Além disso, foi verificado que micro-organismos Gram-negativos e endotoxinas desempenham um importante papel no desenvolvimento de sinais e sintomas clínicos, além de maior destruição óssea periapical.

Os métodos de cultura e identificação permitiram conhecer inúmeras espécies bacterianas, sendo que 261 das 391 são exclusivas das infecções primárias (Siqueira, Rocas, 2009). Diversos grupos de bactérias Gram-Negativas foram detectados nas infecções primárias, sendo que aquelas de pigmento negro foram nomeadas classificadas em dois gêneros: *Prevotella* e *Porphyromonas*. As espécies *Prevotella*, especialmente *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *P. tannerae*, *P. baroniae* e *P. denticola*, estiveram entre as mais frequentemente detectadas em infecções primárias. Das espécies *Porphyromonas*, *P. endodontalis* e *P. gingivalis* foram consistentemente encontradas em infecções endodônticas, e são suspeitas de apresentar um papel na etiologia de abscessos agudos (Haapasalo et al., 1986; Seol et al., 2006). Outro patógeno importante, *Tannerella forsythia*, um anaeróbio Gram-negativo que até então nunca havia sido detectado em canais radiculares por cultura, foi pela primeira vez relatada em infecções endodônticas primárias em um estudo com PCR específica da espécie (Conrads et al., 1997). Estudos posteriores com diferentes abordagens de biologia molecular confirmaram que *T. forsythia* é uma espécie comum da microbiota endodôntica (Cardoso et al, 2016)

2.2 Endotoxinas

A alta prevalência de micro-organismos anaeróbios Gram-negativos tem sido relacionada com canais radiculares com lesões apicais visíveis radiograficamente (Assed et al., 1996; Sundqvist, 1992). Durante a morte ou multiplicação celular, as bactérias Gram-negativas liberam as endotoxinas, compostas por lipopolissacarídeos (LPS), que se agregam à membrana externa das mesmas, podendo permanecer agregadas à parede celular ou serem liberadas na forma solúvel. Sabe-se que a liberação das endotoxinas causam importantes efeitos biológicos (Barthel et al., 1997), os quais levam à reação inflamatória (Rietschel, Brade, 1992) e reabsorção óssea periapical (Yamasaki et al., 1992).

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 não causam lesões nas células ou nos tecidos diretamente, mas estimulam as células competentes a liberar mediadores químicos (Rietschel, Brade, 1992).

Além disso, 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).

Uma vez liberada, durante a multiplicação ou morte bacteriana, a endotoxina liberada conduz fenômenos que iniciam a resposta inflamatória, assim como: quimiotaxia de polimorfonucleares (PMNs), liberação de enzimas lisossomais dos PMNs, ativação do sistema complemento, aumento da

temperatura corporal, atração de osteoclastos (Farber, Seltzer, 1988), alteração da estrutura e função de vários órgãos e células, assim como das funções metabólicas e hemodinâmicas (Martich et al., 1993). 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). Em canais radiculares infectados, as endotoxinas podem contribuir na liberação de substâncias vasoativas e neurotransmissores das terminações nervosas dos tecidos periapicais, conduzindo a ocorrência de dor (Seltzer, Farber, 1994).

Em 1975, Schein e Shilder, com o intuito de detectar e quantificar os níveis de endotoxinas no conteúdo do canal radicular utilizaram 40 pacientes divididos em quatro diferentes grupos: G1 – polpa vital, sem sintomatologia; G2 – polpa vital, com sintomatologia; G3 – dentes necrosados sem sintomatologia e G4 – dentes necrosados com sintomatologia. Para isso, foi realizada coleta do canal radicular sob condições de assepsia, de forma que após procedimento, o conteúdo foi analisado pelo método Lisado de Limulus. Neste estudo, foi encontrada diferença estatística entre dentes que possuíam polpa vital e polpa necrosada ($p < 0,001$). Além disso, também foi encontrada diferença nos níveis de endotoxinas quanto à sintomatologia, sendo que níveis eram maiores naqueles casos em que o paciente apresentava dor ($p < 0,001$) (Schein, Shilder, 2006).

Na década de 80, Pitts et al. (1982) avaliaram qual seria o papel das endotoxinas sobre os tecidos apicais e periapicais em 16 dentes de cães. Do total, 12 dentes foram instrumentados no nível do delta apical e 4 foram submetidos ao alargamento foraminal. Metade dos canais radiculares dos dentes foram preenchidos com 0,1 mL da solução de endotoxina de *Salmonella minnesota*, e o restante com solução fisiológica salina. As soluções eram renovadas no interior dos canais semanalmente, e os resultados demonstraram que as alterações radiográficas e periapicais foram mais severas naquelas raízes que continham endotoxinas. Posteriormente, a avaliação histológica também demonstrou maior destruição óssea periapical e maior resposta inflamatória nos espécimes que continham endotoxinas. Pode-se concluir, portanto, que as

endotoxinas podem desempenhar um papel de grande importancia na progressão da inflamação periapical e destruição óssea.

Posteriormente, Mattison et al. (1987) também analisaram os efeitos das endotoxinas nos tecidos periapicais de dentes de cães, sendo que após a realização do exame radiográfico periapical, 28 dentes (56 raízes) foram submetidos à abertura coronária, pulpectomia, odontometria, PBM e alargamento foraminal. Deste total, 42 raízes foram preenchidas com 0,1 mL de endotoxina de *Eikenella corrodens*, 8 raízes com endotoxina de *Escherichia coli* e 6 raízes com água destilada. Durante quatro semanas, esse procedimento foi repetido, semanalmente. Nos resultados, 90,4% das raízes preenchidas com a endotoxina de *E. corrodens* e 75% das raízes tratadas com endotoxina de *E. coli* exibiram lesões periapicais. As 6 raízes preenchidas com água, apresentaram leve espessamento do ligamento periodontal. A análise histopatológica evidenciou a presença de reação inflamatória, significativa reabsorção óssea peripapical e radicular externa, proliferação vascular, edema e infiltrado inflamatório intenso nos dentes preenchidos com endotoxina, o que sugere que a iniciação e perpetuação da inflamação e da reabsorção óssea periapical em dentes infectados pode ser mediada pelas endotoxinas de micro-organismos Gram-negativos.

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) e sintomatologia como dor à palpação (Jacinto et al., 2005) e dor à percussão (Martinho, Gomes, 2008).

No início da década de 90, Horiba et al. (1991) avaliaram a correlação entre as endotoxinas e sinais e sintomas clínicos como: dor espontânea, dor a percussão, presença de exsudato ou presença de áreas radiolúcidas visíveis em radiografia. Nesse estudo, pontas de papel absorvente estéreis foram introduzidas durante um minuto na região apical de 30 dentes unirradiculares com periodontite apical, com o intuito de absorver o exsudato e micro-organismos, e posteriormente foram armazenados em soro fisiológico apirogênico. A endotoxina foi detectada nos 16 dentes sintomáticos e em 4 dos 14 dentes assintomáticos, em 19 dos 22 dentes com área radiolúcida e em 19 do total de 20 dentes com presença de exsudato. Este estudo, portanto, indicou uma correlação positiva entre a presença de endotoxinas e os sintomas clínicos ou áreas radiolúcidas.

Essa correlação sugere, portanto, que o aumento no nível de endotoxinas em canais radiculares infectados pode estar associado ao aumento da inflamação na região periapical.

Khabbaz et al. (2001) investigaram a presença de endotoxinas no tecido pulpar de 28 dentes unirradiculares cariados, dos quais 15 eram sintomáticos e 13 assintomáticos. Também foram colhidas amostras de 5 dentes unirradiculares hígidos (grupo controle). Sendo que as endotoxinas se estavam presentes em todos os tecidos pulpares dos dentes sintomáticos e em apenas 2 do total de 13 assintomáticos. Nenhuma endotoxina foi encontrada no grupo controle, o que sugere que a concentração de endotoxinas tem papel importante na patogênese e sintomatologia pulpar, uma vez que, quanto maior a concentração de endotoxinas presentes no interior dos canais radiculares, maior será a severidade da dor.

Jacinto et al. (2005), por sua vez quantificaram as endotoxinas de 50 canais radiculares de dentes necrosados, e investigaram a relação entre a concentração de LPS com sinais e sintomas de origem endodôntica. Através do método de cultura microbiana foi registrado o número de unidades formadoras de colônias (UFCs) de cada amostra. Sendo que todas as amostras apresentavam crescimento de micro-organismos e presença de endotoxinas. Neste estudo, naqueles casos associados à dor espontânea, a média de UFCs foi de $1,43 \times 10^6$, enquanto nos casos assintomáticos foi de $9,1 \times 10^4$. A concentração média de endotoxina nos casos com dor espontânea foi de 18540 EU/mL, enquanto que nos assintomáticos a média foi de 12030 EU/mL. Os resultados mostram uma correlação positiva entre a concentração de endotoxinas e os casos sintomáticos, concluindo que as endotoxinas estão presentes em altas concentrações nos canais radiculares de dentes sintomáticos.

Estudos *in vitro* e *in vivo* relacionados à quantificação de endotoxinas em dentes com necrose pulpar e lesão periapical, assim como estudos com coletas realizadas após o preparo biomecânico, demonstraram a eficácia dos procedimentos endodônticos na redução dos micro-organismos e das endotoxinas (de Oliveira et al., 2007; Valera et al., 2014).

Em 2007, de Oliveira et al., avaliaram o efeito de soluções irrigantes endodônticas sobre endotoxinas em dentes humanos extraídos. A endotoxina de *Escherichia coli* foi inoculada em 98 canais radiculares, sendo que os mesmos

foram divididos em sete grupos (n=14) de acordo com a solução irrigante utilizada: hipoclorito de sódio (NaOCl) 2,5% (G1); NaOCl 5,25% (G2); clorexidina (CLX) 2% (G3); solução de hidróxido de cálcio 0,14% (G4); polimixina B (G5); controle positivo (solução salina, G6) e controle negativo (G7). Posteriormente, foram coletadas amostras dos canais radiculares, logo após a instrumentação e após 7 dias da primeira coleta. A quantificação de endotoxinas foi realizada através do teste do *Lisado de Amebócito de Limulus*, sendo realizada também a quantificação da produção de anticorpos em cultura de linfócitos B. Em ambas as coletas, os grupos G4, G5 e G7 apresentaram resultados significativamente melhores que os grupos G1, G2, G3 e G6 ($p < 0,05$). Os autores concluíram que as substâncias do grupo G4 e G5 inativaram endotoxinas dos canais radiculares e alteraram as propriedades do LPS de estimular a produção de anticorpos pelos linfócitos B. O NaOCl e a CLX não inativaram as endotoxinas.

Vianna et al. (2007) investigaram num total de 24 dentes necrosados a concentração de endotoxinas e bactérias cultiváveis antes e após o preparo biomecânico realizado com clorexidina gel (CLX) 2% e após 7 dias de medicação intracanal, com o objetivo de verificar os efeitos antimicrobianos e anti-endotóxicos dos procedimentos endodônticos. As medicações utilizadas foram: pasta de hidróxido de cálcio $[Ca(OH)_2]$, CLX gel 2% e associação $Ca(OH)_2$ + CLX gel 2%. Neste estudo, endotoxinas e bactérias foram detectadas em todas as amostras na coleta inicial, sendo que a média de redução de endotoxina e de micro-organismos após o PBM foi de 44,4% e 99,96%, respectivamente. Contudo, não houve nenhuma melhora após utilização da medicação intracanal por uma semana.

Gomes et al. (2009) estudaram o efeito do preparo biomecânico comparando NaOCl 2,5% e CLX gel 2% na redução e/ou eliminação de LPS. Foram analisados o total de 54 canais radiculares de dentes com necrose pulpar, divididos em 2 grupos de acordo com a solução utilizada. Como resultado, as endotoxinas foram detectadas em todas as amostras. A porcentagem da redução de endotoxina após o PBM foi de 57,98% (NaOCl 2,5%) e 47,13% (CLX gel 2%), sendo que nenhum dos grupos apresentaram efetividade na eliminação de endotoxina em infecções endodônticas primárias.

Valera et al. (2014) avaliaram o efeito do extrato glicólico de gengibre como medicação intracanal associado ou não ao Ca(OH)_2 sobre micro-organismos e endotoxinas em 48 dentes humanos extraídos. Neste estudo foram feitas coletas dos canais radiculares após 28 dias da contaminação (coleta inicial), após PBM utilizando NaOCl 2,5% como solução irrigadora (1ª coleta) e após 7 dias do PBM (2ª coleta). Os espécimes foram divididos em 4 grupos de acordo com a medicação intracanal utilizada: Ca(OH)_2 , extrato glicólico de gengibre 20% (GEN), associação de Ca(OH)_2 + GEN (3ª coleta), solução salina (grupo controle). Ainda foram feitas coletas dos canais radiculares após 14 dias da ação das medicações intracanaís (MIC) (3ª coleta) e após 7 dias da remoção das MIC (4ª coleta). Todas as medicações contribuíram para eliminação de micro-organismos e redução significativa de endotoxinas, sendo que os melhores resultados foram encontrados na medicação de Ca(OH)_2 , seguido do extrato glicólico de gengibre (GEN).

Valera et al. (2015) com o intuito de confirmar a efetividade do extrato de gengibre (*Zingiber Officinale*) utilizaram 72 dentes extraídos contaminados com micro-organismos e suas endotoxinas. Posteriormente, os dentes foram instrumentados e irrigados com o extrato de gengibre e divididos em grupos de acordo com a medicação intracanal utilizada: Ca (OH)_2 + clorexidina gel a 2%; extrato de gengibre; Ca(OH)_2 + gengibre; e Ca (OH)_2 + solução salina fisiológica. As coletas foram realizadas após a contaminação dos canais radiculares para confirmação; após a instrumentação; após 7 dias da instrumentação e após 14 dias da instrumentação. Como resultado, foi observado que após a instrumentação havia uma considerável redução na quantidade de endotoxinas por canal, porém, pode-se concluir que o extrato glicólico de gengibre não eliminou completamente as endotoxinas.

2.3 Sessão única x múltipla sessão no tratamento endodôntico

O conceito de tratamento em sessão única não é novo, porém atualmente esta filosofia de tratamento tem sido bastante difundida. Entre 1887 e 1901, os

autores Dodge (1897), Kells (1887), Hofheinz (1892) e Trallero (1901) descreveram o tratamento em sessão única com a utilização de pastas de óxido de zinco, eugenol e xerofórmio, substância a base de petrolato, no interior dos canais radiculares.

Ainda em 1904, Inglis realizava tratamentos em única sessão com o intuito de reduzir tempo clínico. Entretanto, somente obturava os canais se fosse esperado sucesso, quando seguidas as direções e passos clínicos corretamente. Sendo os casos agudos excluídos, realizando-os em mais sessões. A realização do tratamento em uma única sessão na existência de processos agudos e fístulas (Athanassiadis, 2007; Silveira et al., 2007; Figini, 2008) é contra indicado. No presente estudo esta condição foi respeitada, sendo que não foram obturados casos em que o paciente relatou dor, sendo o caso eliminado.

A realização do tratamento endodôntico em única sessão em dentes necrosados com lesão periapical ainda é questionada (Athanassiadis, 2007, Figini, 2008), especialmente quando se trata de casos com processos agudos ou fístulas (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.

Soltanoff et al. (1978) comparam os efeitos do tratamento endodôntico em sessão única ou múltipla com base nos casos realizados na sua prática clínica durante 20 anos. Foram incluídos casos onde eram possível acompanhamento nos períodos de 6 e 24 meses, num total de 135 casos em sessão única e 195 em múltiplas sessões. Foi avaliada presença de dor pós-operatória, e realizada avaliação radiográfica do nível da obturação e do reparo periapical após o tratamento. Dos 89 casos do grupo sessão única, onde foi possível obter registros completos dos parâmetros de dor pós-operatória, 41 pacientes não reportaram dor, enquanto 48 tiveram algum tipo de dor. Dos 193 pacientes com registros, 122 pacientes não relataram dor, enquanto 71 apresentaram algum tipo de dor. Dos 32 casos realizados em sessão única que apresentaram subobturação, 27 mostraram reparo periapical, enquanto 5 casos não mostraram reparo. Dos 28 casos com sobreobturação tratados em sessão única, 22 mostraram reparo periapical, enquanto 6 casos não mostraram reparo. Por outro lado, dos 70 casos tratados em múltiplas sessões com sub-obturação, 65 mostraram reparo

periapical, enquanto 5 casos não mostraram reparo. Dos 55 casos realizados em múltiplas sessões com sobreobturação, 45 apresentaram reparo periapical e 10 casos não mostraram reparo. Baseado nos resultados obtidos, o autor concluiu que não existe diferença significativa entre o tratamento em sessão única ou múltipla, nem quanto ao limite de obturação. O autor também concluiu que existe uma maior probabilidade do paciente apresentar dor pós-operatória quando o tratamento é realizado em sessão única.

Nos anos 90, Trope et al. (1999) avaliaram radiograficamente o reparo em dentes com periodontite apical tratados em uma ou em duas sessões. Para isso, foram selecionados 81 pacientes, totalizando 102 dentes com presença de lesão periapical visível radiograficamente. Os dentes foram divididos aleatoriamente segundo o protocolo de tratamento: *Grupo experimental* - tratamento completado em sessão única; *Grupo controle* - a instrumentação foi realizada na primeira sessão e o canal foi deixado vazio por uma semana, sendo que o tratamento foi concluído na segunda sessão; *Grupo convencional* - a instrumentação foi realizada na primeira sessão e colocada medicação intracanal a base de hidróxido de cálcio $[Ca(OH)_2]$ durante uma semana, sendo o tratamento concluído na segunda sessão. Para avaliar e comparar as radiografias iniciais e de acompanhamento (até 52 semanas depois de finalizado o tratamento) foi utilizado o método de escores do Índice Periapical (Orstavik et al., 1986). Os escores 1 e 2 são considerados como LF grupo onde foi utilizado $Ca(OH)_2$ como medicação mostrou um melhor resultado nos escores de estado periapical (3, 4, ou 5 para 1 ou 2), seguido pelo grupo de sessão única (74% e 64% respectivamente). Os dentes onde os canais radiculares foram deixados vazios entre sessões tiveram resultados de reparo periapical claramente inferiores. Embora os autores considerem que a ação desinfetante adicional da medicação intracanal pode aumentar em 10% as chances de reparo periapical, e que esta diferença é clinicamente importante, concluem que são necessários estudos com grupos maiores no intuito de obter uma estatística mais robusta e confiável.

Com o objetivo de avaliar a influência de tratamento em sessão única x sessão múltipla com medicação intracanal de $Ca(OH)_2$, Weiger et al. (2000) selecionaram 73 pacientes que apresentavam dentes com necrose pulpar e evidência radiográfica de lesão periapical. Do total de 73 pacientes, foi possível

fazer o acompanhamento de 67, dos quais 31 receberam tratamento endodôntico com utilização de medicação a base de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ por pelo menos uma semana (7-47 dias). Os outros 36 dentes foram tratados em sessão única. Os critérios para considerar sucesso foram: ausência de sinais e sintomas e presença de ligamento periodontal com largura normal visível radiograficamente. Os períodos de acompanhamento foram de 6 meses e 1 – 5 anos. A presença de reparo periapical completo esteve diretamente relacionada com o tempo de acompanhamento. Em ambos os tratamentos a taxa de sucesso foi de 90%. Sendo que não foi encontrada diferença estatística entre os dois grupos de tratamento. Os autores afirmam que o tratamento em sessão única cria, desde o ponto de vista microbiológico, um ambiente favorável para o reparo dos tecidos periapicais; não existindo diferenças significativas quando comparado com o tratamento endodôntico em múltiplas sessões com a utilização da medicação intracanal.

Peters et al. (2002) avaliaram a regressão de lesão periapical de dentes necrosados (com culturas positivas e negativas) tratados em sessão única e múltipla sessão. Para isso, utilizaram 39 dentes de pacientes. Na primeira sessão, 18 (grupo de múltipla sessão) foram instrumentados e receberam medicação intracanal a base de hidróxido de cálcio $[\text{Ca}(\text{OH})_2]$, e os 21 (sessão única) restantes foram obturados logo após a instrumentação e coleta do conteúdo do canal radicular. Quatro semanas depois, os 18 dentes que receberam medicação intracanal foram abertos e foi realizada uma nova coleta, seguida da obturação do canal radicular. Após análise radiográfica, pode-se observar que em ambos os grupos, o tamanho das lesões periapicais foram reduzidas após o período de 4 anos e meio, sendo que a regressão completa das lesões se deu em 81% dos casos de sessão única e 71% dos casos de múltipla sessão. Quanto ao número de unidades formadoras de colônias (UFC/mL) em seis dos oito canais positivos era < 10 (2) UFC/mL (1). Dentro das limitações deste estudo, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos sessão única e múltipla sessão.

Sathorn et al. (2009) com o intuito de avaliar a percepção de endodontistas australianos sobre tratamentos em sessão única e múltipla sessão, entrevistaram durante 20 minutos, 52 profissionais sobre os procedimentos

realizados na clínica e sua opinião sobre o tratamento endodôntico realizado em sessão única e em múltipla sessão. Para isso foi criada uma história fictícia na qual os profissionais deveriam deliberar sobre qual tipo de tratamento seria realizado. Do total de 52 endodontistas, 51 escolheriam o tratamento em sessão única, porém admitiram não realizá-lo frequentemente. Isso se deve ao fato de acreditarem que o mesmo deve ser realizado em casos de polpa viva. Para eles a questão biológica era de mais valia do que a opinião do paciente sobre o tempo de tratamento.

El Mubarak et al. (2010) avaliaram dor pós operatória em 234 pacientes de 18 a 62 anos tratados na Faculdade de Odontologia de Khartoum no Sudão. Para isso, os dentes dos pacientes foram tratados em sessão única e múltipla sessão, sendo que a substância irrigadora utilizada era NaOCl 2,5% e a medicação era a base de Ca(OH)_2 . Para a obturação, foi realizada a técnica de condensação lateral, e a dor pós-operatória foi mensurada a partir de uma escala de 1 a 4, no tempo de 12 e 24 horas após o tratamento. A presença de dor pós-operatória ocorreu em 15,9%, dos pacientes que já apresentavam dor antes do procedimento, sendo que 7,1% dos pacientes relataram dor após o tratamento, sem relatar algum sintoma prévio. Neste estudo não houve diferença entre o tratamento em sessão única e múltipla sessão, uma vez que nos casos de sessão única 9,4% dos pacientes apresentou dor pós-operatória, e 11,4% dos pacientes de múltipla sessão relataram dor. Porém pode-se concluir que independente do grupo a taxa da presença de dor foi baixa.

Em 2012, Paredes-Vieyra et al. avaliaram o sucesso do tratamento endodôntico realizado em sessão única e múltipla sessão de dentes necrosados portadores de lesões na região periapical. Para isso foram avaliados 300 dentes de pacientes com necrose pulpar e lesão periapical confirmadas através de radiografia periapical. Na instrumentação foram utilizadas limas manuais e a irrigação foi realizada com auxílio do sistema *EndoVac*®, sendo que a obturação eleita foi da técnica de condensação lateral e o cimento utilizado *Sealapex Sealer* (SybromEndo). Os resultados foram avaliados após 2 anos do tratamento, sendo que dos 300 dentes: 18 foram excluídos. Do total, 282 foram estudados, sendo que 146 eram de sessão única e 136 de sessão múltipla. No grupo tratado em sessão única 141 (96,57%) foram considerados satisfatórios, sendo que dos 136

de sessão múltipla, 121 (88,97%) foram considerados satisfatórios. 11 (8,08%) casos foram classificados como duvidosos na sessão múltipla, comparados com 4 (2,73%) em casos de sessão única. Dois de 10 dentes em sessão múltipla apresentaram dor após o período de 2 anos, sendo considerado o insucesso do tratamento. Não houve diferença estatística entre os grupos. Para os autores, há vários fatores a serem considerados antes de se optar pela forma de tratamento, como: anatomia do canal, habilidade do profissional em conter a infecção, sinais e sintomas e complicações que podem ocorrer durante o procedimento.

Inúmeros estudos demonstram que é impossível alcançar uma desinfecção completa do sistema de canais radiculares, mesmo depois de uma minuciosa limpeza por meio do preparo biomecânico, baseado na instrumentação através de instrumentos endodônticos e a ação química das substâncias químicas auxiliares utilizadas na irrigação (Bystrom, Sundqvist, 1981; Bystrom et al., 1985; Orstavik et al., 1991; Sjogren et al., 1997; Peters et al., 2002). Portanto, existe preocupação quanto à evolução dos micro-organismos restantes no SCR. Os micro-organismos podem multiplicar-se rapidamente dentro do SCR, sobretudo em casos onde o canal for deixado vazio (Bystrom, Sundqvist, 1981).

Acredita-se que a utilização de MIC a base de Ca(OH)_2 entre sessões pode ser evitada a recontaminação do SCR e inclusive atingir níveis maiores de desinfecção quando comparado à desinfecção após PQM (Bystrom et al., 1985; Chong, Pitt Ford, 1992). Não fica claro em que casos que se faz necessária a utilização de MIC.

Vera et al. (2012) analisaram *in vivo*, o perfil microbiológico do sistema de canais radiculares de raízes mesiais de molares inferiores por meio de uma análise histobacteriológica. Foram selecionados pacientes com necessidade de intervenção endodôntica por necrose pulpar e evidência radiográfica de lesão periapical que seriam extraídos. Foram definidos dois grupos (sessão única e duas sessões). O grupo de duas sessões recebeu medicação intracanal (MIC) de hidróxido de cálcio por 7 dias. Os autores concluíram que o tratamento em duas sessões utilizando MIC consegue maiores níveis de desinfecção quando comparado ao tratamento em sessão única.

Xavier et al. (2013) não encontraram diferenças quanto a desinfecção do sistema de canais radiculares quando realizado o tratamento endodôntico em

sessão única ou duas sessões. Os autores compararam a efetividade do tratamento endodôntico na redução de micro-organismos e endotoxinas. Ambos tratamentos foram efetivos na redução de micro-organismos e endotoxinas, porém não foi possível eliminar totalmente o conteúdo infeccioso.

Wong et al. (2014) usaram o *PubMed* para comparar resultados de tratamentos em sessão única e múltipla sessão em artigos científicos. Para isso utilizaram as palavras-chave: “*endodontic treatment*”; “*endodontic therapy*”; “*root canal treatment*”; “*root canal therapy*”; “*single-visit*”; “*one-visit*” e “*1-visit*”. Foram selecionados 47 artigos, dentre eles revisões, *cases reports* e estudos estatísticos. Após a análise do montante, foi verificado que as complicações pós-tratamento eram similares nos casos de sessão única e múltipla sessão. Além disso, nenhum dos protocolos teve resultado superior sobre o outro.

Com o objetivo de estudar a incidência de *flare-ups* e avaliar a correlação entre condições antes e durante o tratamento, Pamboo et al. (2014) utilizaram 1023 dentes de 916 pacientes que realizaram tratamento endodôntico em até 12 meses. Para cada paciente foi questionada a presença ou não de dor pré-operatória, avaliada qual medicação intracanal foi utilizada nos casos de múltipla sessão, qual técnica de instrumentação preconizada e em quantas sessões o tratamento fora realizado. Os resultados demonstraram que houve *flare-up* em 2,35% casos, mas que não havia diferença estatística quanto à escolha da forma de tratamento (sessão única x múltipla sessão) e que a taxa de sucesso dependia muito mais de fatores como: presença de lesões periapicais, relato de dor anterior ao procedimento e o tipo de técnica de instrumentação.

Neelakantan e Sharma (2015), com o objetivo de avaliar a dor pós-operatória após a instrumentação com sistema recíprocante *Reciproc*® (VDW, Germany) e sistema rotatório *One Shape*® (Micromega, France), em casos tratados em sessão única, utilizaram 624 pacientes, sendo alocados randomicamente em cada um dos protocolos. Após o procedimento lhes foi entregue um questionário sobre a incidência (*sim/não*); grau (*leve, moderado, severo*) e a duração (*dias*) da dor. A análise foi realizada em 605 pacientes, sendo que os melhores resultados foram encontrados no grupo no qual foi utilizado sistema recíprocante em tratamentos realizados em única sessão.

De-Deus e Canabarro (2016) com o intuito de identificar e interpretar resultados de estudos clínicos sobre sessão única x múltipla sessão realizaram uma revisão de literatura por meio do *PubMed*, *EMBASE* e *Cochrane* através de palavras-chave específicas. Os estudos foram classificados de acordo com seu nível de evidência em: A – alta qualidade; B – Média/baixa qualidade e C – sem evidências, e quanto a consistência: *Consistente* – quando os estudos tinham conclusões similares e *Inconsistente* – quando havia uma variação considerável entre os resultados. Foram identificados 246 estudos, sendo selecionados 39 estudos onde 11 foram classificados em nível “B” e os outros 28 classificados em nível “C”. Nenhum estudo foi classificado como “A” porque não obtiveram o padrão considerado de alta qualidade. Apesar disso, os estudos classificados como “B” não apresentavam diferença estatística entre os tratamentos de sessão única e de múltipla sessão. Foi concluído, portanto, que muitos estudos ainda são inconsistentes, sendo necessários mais estudos sobre o tema.

2.4 Radiografias periapicais x Tomografias computadorizadas de feixe cônico na destruição óssea periapical

Sabe-se que a diminuição da densidade óssea causada pela periodontite apical aparece na radiografia como área radiolúcida em torno do ápice radicular (Bender, 1997; Bender, Seltzer, 2003), sendo que sua detecção e as mudanças ao longo do tempo em seu tamanho desempenham um papel significativo na decisão de um plano de tratamento.

Tradicionalmente, durante a prática clínica, o tamanho da radiolucência peripapical antes e após o tratamento endodôntico é comparado através do uso de radiografias periapicais. No entanto, estudos *in vitro* e *in vivo* confirmam que há uma limitação quanto ao uso das radiografias periapicais (RP) (Bender, 1997; Paula-Silva et al., 2009), uma vez que por se tratarem de imagens em apenas duas dimensões (2D), a sensibilidade desse método é falho, devido à sobreposição dos tecidos adjacentes, a espessura do osso cortical sobrejacente, ou principalmente a falta de capacidade deste método para 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 TCFC 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).

Paula-Silva et al. (2009) compararam os resultados de tratamentos endodônticos por RP e TCFC. Para esse estudo foram utilizadas 96 raízes de cães, sendo estes divididos em quatro grupos (n=24). No grupo 1 (G1), os tratamentos endodônticos foram realizados em dentes com vitalidade pulpar, nos grupos 2, 3 e 4, os canais foram infectados até a formação de periodontite apical confirmada por exame radiográfico. As raízes foram tratadas por sessão única (G2); em duas sessões (G3), e no último grupo (G4) não foram tratadas. A área radiolúcida nas radiografias periapicais e o volume das lesões com o uso da TCFC foram medidas antes e após 6 meses do tratamento endodôntico. Nos grupos 1, 2 e 3, um resultado favorável (lesões ausente ou reduzida) foi mostrado em 57 raízes (79%) através do uso de radiografia periapical, e apenas em 25 raízes (35%) utilizando exames tomográficos. O que demonstra superioridade da TCFC para detecção de lesão periapical quando comparado com RP.

Em 2011, Ordinola-Zapata et al. avaliaram a influência da radiografia periapical, medidas de segmentação (cortes sagital e coronal) e volumetria das lesões periapicais nas TCFC para determinação de destruição óssea periapical. Para isso, *Enterococcus faecalis* foram inoculados em 30 canais radiculares de dois cães a fim de induzir periodontite apical. Após 60 dias, os canais radiculares

de 15 raízes distais foram submetidos ao tratamento endodôntico, sendo que os canais radiculares das raízes mesiais foram utilizados como controle (sem tratamento endodôntico). A destruição óssea foi avaliada após 6 meses utilizando RP e TCFC (cortes sagital e coronal). Após o período experimental, a área das lesões nas RP e secções das TCFC foram medidas em mm³ usando o *software ImageTool®* e medida das volumetrias foram realizadas utilizando o *software OsiriX®*. Os resultados mostraram a presença de periodontite apical crônica em todos os dentes inoculados com *E. faecalis*. As RP, as secções coronais da TCFC e os dados volumétricos evidenciaram menor destruição óssea em dentes tratados, em comparação ao grupo controle. Os resultados evidenciaram que embora no corte sagital das TCFC apresentassem valores semelhantes de destruição óssea em dentes tratados e não tratados, os dados tomográficos volumétricos mostraram que as lesões periapicais de canais radiculares com tratamento endodôntico tinham metade do volume de lesões periapicais.

Van der Borden et al. (2013) avaliaram as mudanças no tamanho das lesões após tratamentos endodônticos, e as lesões foram medidas tanto a partir de RP como de TCFC. Os pesquisadores relataram concordância de 54,9% entre os resultados dos dois métodos de avaliação. Concluíram, portanto, que as mudanças no tamanho da lesão determinadas por TCFC e RP são diferentes, o que pode sugerir que o resultado radiográfico determinado com RP pode ser falso positivo.

No mesmo ano, Metska et al. (2013) avaliaram através de TCFC a regressão do volume das lesões periapicais em dentes tratados endodônticamente após 1 ano de tratamento. No estudo foi incluído um total de 45 dentes tratados e com presença de periodontite apical persistente com necessidade de tratamento endodôntico. Foram realizados dois exames tomográficos para cada um dos pacientes, sendo o primeiro antes do tratamento endodôntico e o segundo um ano após. Para a avaliação foram precisos dois avaliadores independentes que mediram o volume da radiolucência das imagens de TCFC com o *software AMIRA®*. O coeficiente de correlação intraclasse foi utilizado para avaliar a concordância entre observadores e o teste de *Wilcoxon* foi utilizado para avaliar o tamanho do volume pré-tratamento e pós-tratamento. Os coeficientes de correlação intraclasse foram 0,994 e 0,998 para os exames antes

de retratamento e após 1 ano, respectivamente. A mudança volumétrica em radiolucência periapical 1 ano após o retratamento foi estatisticamente significativa. O volume de radiolucência periapicais foi reduzido em 20 dentes (57%), manteve-se inalterada em 8 (23%), e aumentou em 7 (20%). Sendo assim, os autores puderam concluir que após 1 ano do retratamento endodôntico, o volume de radiolucência periapical foi significativamente reduzido em 57% dos dentes.

Um estudo realizado por Abella et al. (2014) avaliou a presença ou ausência de radiolucência periapical em pacientes com dentes unirradiculares necrosados através de RP digitais e TCFC, sendo que os resultados obtidos mostraram que nas TCFC revelaram maior radiolucência ao se comparar com as RP digitais.

Assim, os exames tomográficos produzem imagens a partir da secção da estrutura de interesse e possuem vantagens em relação às radiografias convencionais, como: ausência de sobreposição (Patel et al., 2007), sensibilidade acurada na identificação de tecidos (Cheng et al., 2011) e facilidade na manipulação de imagem após aquisição, o que permite o aumento de brilho, nitidez, e o realce de bordos e contraste.

O volume de imagens captadas pelo aparelho e transportadas para o *software* permite uma visualização da anatomia de cada elemento dentário e área circundante, capacitando a quantificação do tamanho real (Cheng et al., 2011; Durack, Patel, 2012).

3 PROPOSIÇÃO

Os objetivos deste estudo foram:

- a) Comparar taxa de sucesso encontrado após um ano de tratamento realizado em sessão única e múltiplas sessões;
- b) Monitorar a carga microbiana (UFC/mL) e os níveis de endotoxinas (EU/mL) no início, durante o tratamento e antes da obturação em dentes com infecção endodôntica primária submetidos a tratamento endodôntico em sessão única e múltipla sessão, com colocação de medicação intracanal com hidróxido de cálcio e soro fisiológico;
- c) Relacionar os níveis de endotoxinas (EU/mL) e carga microbiana (UFC/mL) com sinais/sintomas clínicos e volume da lesão periapical (mm^3) e dos canais radiculares (mm^3) através do uso de TCFC;
- d) Comparar o volume da lesão periapical (mm^3) antes e após um ano de tratamento;
- e) Avaliar a correlação entre EU/mL e UFC/mL durante o tratamento endodôntico com a redução do volume das lesões periapicais após um ano.

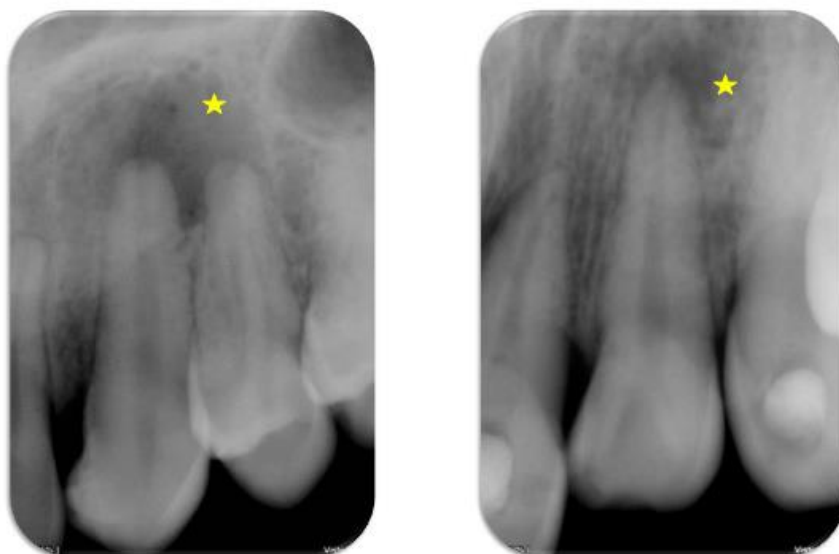
4 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Instituto de Ciência de Tecnologia de São José dos Campos (ICT-SJC) – UNESP sob-registro 1.824.178 (ANEXO A).

4.1 Seleção de pacientes

Entre Setembro de 2014 e Novembro de 2015 foram triados 411 pacientes de 14 a 65 anos, do sexo masculino e feminino, para avaliar a necessidade de tratamento endodôntico na Clínica de Endodontia do Departamento de Odontologia Restauradora do Instituto de Ciência de Tecnologia de São José dos Campos (ICT-SJC). As histórias médica e dental foram realizadas, assim como exames clínicos e testes para a confirmação de necrose pulpar, seguido de exame radiográfico para avaliar a presença de lesão periapical em dentes unirradiculados (Figura 1). Os voluntários que possuíam condições locais e sistêmicas favoráveis e o diagnóstico necessário para a realização do tratamento foram incluídos neste estudo.

Figura 1 - Radiografias periapicais de dentes com necrose pulpar e presença de lesão periapical com indicação de tratamento endodôntico



Legenda: * Lesões periapicais.
Fonte: Elaborado pelo autor.

4.2 Seleção dos casos

Foram selecionados 20 dentes unirradiculares de pacientes que assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, aceitando fazer parte do estudo e também em cumprir as condições estabelecidas para a pesquisa (APÊNDICE A e B).

Os 20 dentes selecionados seguiram critérios de inclusão e exclusão pré-estabelecidos. Foram excluídos dentes com doença periodontal, fratura radicular, exposição da câmara pulpar ao meio bucal, pacientes que utilizaram antifúngicos e antibióticos no período de três meses antes do tratamento endodôntico, impossibilidade de isolamento absoluto e de inserção do cone de papel no canal radicular em seu comprimento de trabalho. Sendo incluídos no trabalho dentes unirradiculares com presença de necrose pulpar e lesão periapical e ausência de tratamento endodôntico prévio em pacientes com condições de saúde favoráveis.

Foram anotados os dados pessoais, a história médica e a história dentária. No exame subjetivo foram obtidas informações sobre a condição atual do dente a ser tratado e quanto à presença ou ausência de dor espontânea. No exame objetivo dados como a presença de edema, fístulas, presença de restaurações, cáries e fraturas também foram anotados. Foram executados testes para verificar dor à percussão, à palpação e mobilidade, além da realização de sondagem periodontal. Todas as características clínicas referentes ao dente investigado foram anotadas na ficha clínica de cada paciente (APÊNDICE C).

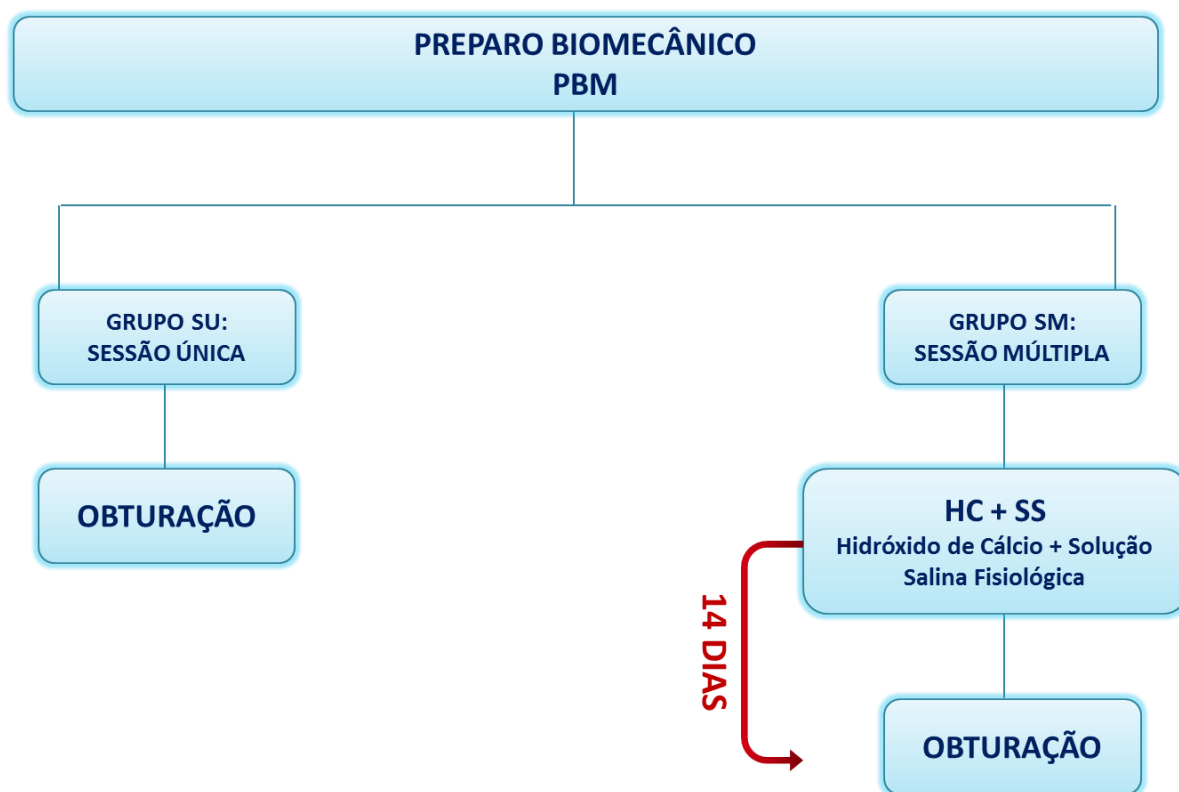
Em seguida, os pacientes foram submetidos à TCFC *Classic I-Cat* (*Imaging Science International, Hatchfield, EUA*) na clínica de Radiologia do Departamento de Diagnóstico e Cirurgia do Instituto de Ciência de Tecnologia de São José dos Campos (ICT-SJC), na região dos dentes selecionados, antes da intervenção odontológica, confirmando a presença de destruição óssea periapical.

4.3 Divisão dos grupos experimentais

Os grupos foram divididos entre sessão única e múltiplas sessões seguindo o propósito do estudo (Figura 2). Para a divisão dos grupos, foi realizada randomização de acordo com o *Consort 2010 - Consolidated Standards of Reporting Trials* (Schulz, 2010), a partir do sorteio de papéis com o tipo de tratamento a ser executado antes do procedimento. Lembrando que seriam excluídos do grupo sessão única, dentes que após o término do preparo biomecânico apresentassem sintomatologia dolorosa, presença de fístula e/ou exsudato.

Para melhor compreensão da descrição da metodologia utilizada nesse estudo, os termos Sessão Única e Sessão Múltipla receberam as siglas **SU** e **SM**, respectivamente. Para as coletas os termos foram utilizados da seguinte forma: Coleta Inicial - **1ª Coleta (S1)**, Coleta após PBM - **2ª Coleta (S2)**, Coleta após EDTA - **3ª Coleta (S3)** e Coleta após MIC - **4ª Coleta (S4)**, nos casos de Sessão Múltipla.

Figura 2 – Representação da divisão dos grupos experimentais



Fonte: Elaborado pelo autor.

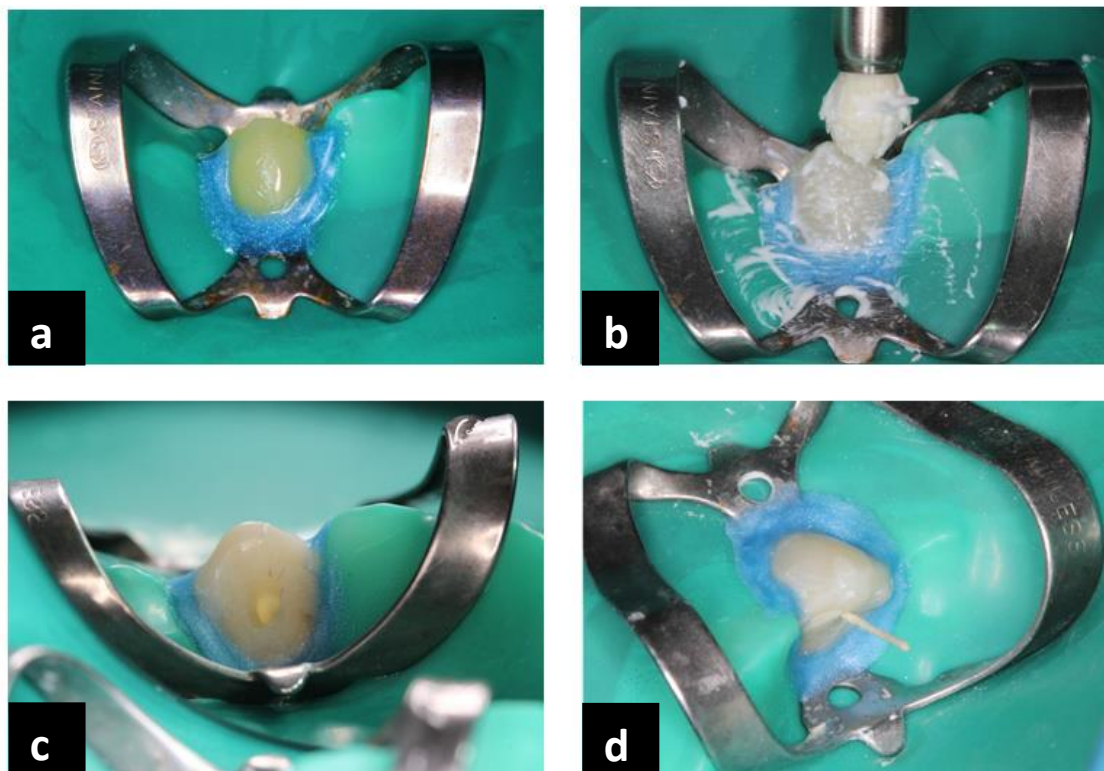
4.4 Intervenção Odontológica

Todos os materiais e instrumentais utilizados nesta pesquisa foram previamente submetidos à esterilização por radiação gama com cobalto 60 (dose 20 KGy por 6 horas) pela CBE Embrarad (Empresa Brasileira de Radiação, Cotia, SP, Brasil) e todos os passos subsequentes realizados de forma asséptica. Os pacientes foram submetidos à anestesia e isolamento absoluto. Posteriormente, os dentes foram lavados com solução salina fisiológica (Laboratório Sanobiol, Pouso Alegre, MG, Brasil) e realizado o vedamento da interface coroa/lençol com barreira física de resina fotopolimerizável (Top Dam – FGM Produtos Odontológicos, Joinville, SC, Brasil) (Figura 3). Em seguida foi realizada profilaxia

com pasta profilática (Vigodent S/A Indústria e Comércio, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e escova de Robinson (Microdont – Micro Usinagem de Precisão Ltda, São Paulo, SP, Brasil) (Figura 3) e desinfecção do campo operatório com *swabs* (Jiangsu Medical Materials Co. Ltda, Jiangsu, China) estéreis umedecidos em água oxigenada 30 volumes (Byofórmula, São José dos Campos, SP, Brasil) seguido de hipoclorito de sódio (NaOCl) 5.25% (Byofórmula, São José dos Campos, SP, Brasil).

Para evitar a contaminação química do canal radicular com essa solução e a interferência com a cultura microbiológica, realizou-se a neutralização do NaOCl com o tiosulfato de sódio 5% (Byofórmula, São José dos Campos, SP, Brasil). Foi realizada a abertura coronária com auxílio de brocas acionadas em alta rotação, sob-refrigeração com solução salina fisiológica apirogênica (Figura 3). Terminada a abertura coronária, foi feita a **Coleta Inicial (1ª coleta/S1)** do conteúdo do canal radicular (Figura 3).

Figura 3 - Sequência da intervenção odontológica



Legenda: a) Isolamento do campo operatório e selamento com barreira gengival fotopolimerizável; b) profilaxia do campo operatório com escova de *Robson* e pasta profilática; c) abertura coronária; d) primeira coleta com cone absorvente de papel.

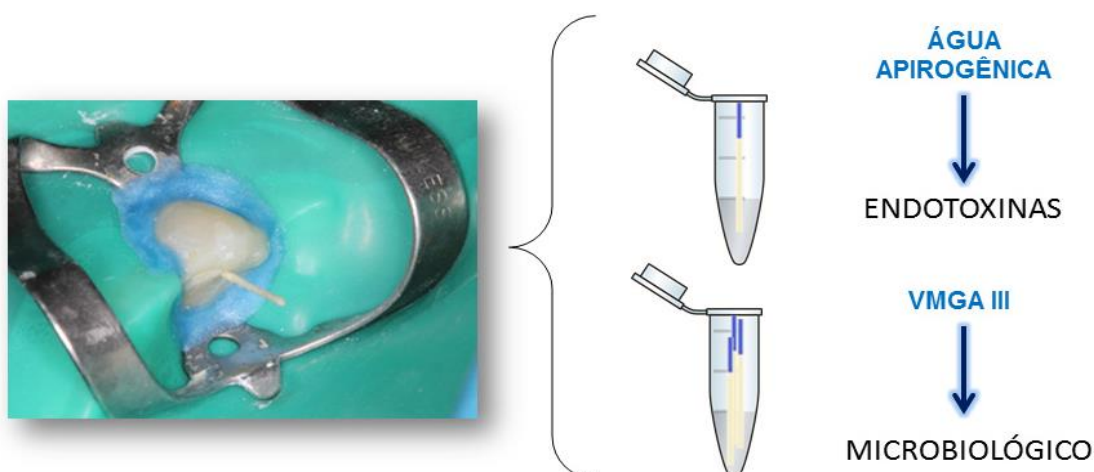
Fonte: Elaborado pelo autor.

4.5 Coletas do canal radicular

Para a **coleta** de amostras do canal radicular, 4 cones de papel absorventes (Dentsply Maillefer Ind. E Com. Ltda, Petrópolis, RJ, Brasil) apirogênicos foram introduzidos um de cada vez no interior do canal radicular respeitando-se o comprimento pré-odontométrico (CPO = comprimento aparente radiográfico subtraído em 2 mm) permanecendo nesta posição por 60 segundos. O primeiro cone de papel introduzido no canal radicular foi armazenado em microtubo (1,5 mL) (Axygen INC, Union City, CA, USA) estéril e apirogênico contendo 1 mL de água apirogênica (Equiplex Indústria Farmacêutica, Aparecida de Goiânia, GO, Brasil) para posterior análise de endotoxinas. Os próximos 3

cones de papel foram armazenados em microtubo (1,5 mL) estéril contendo VMGA III para posterior análise microbiológica (Figura 4).

Figura 4 - Coletas do conteúdo do canal radicular



Legenda: 1 cone de papel armazenado em 1 mL de água apirogênica e 3 cones de papel armazenados em 1 mL de VMGA III.

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.6 Preparo Biomecânico

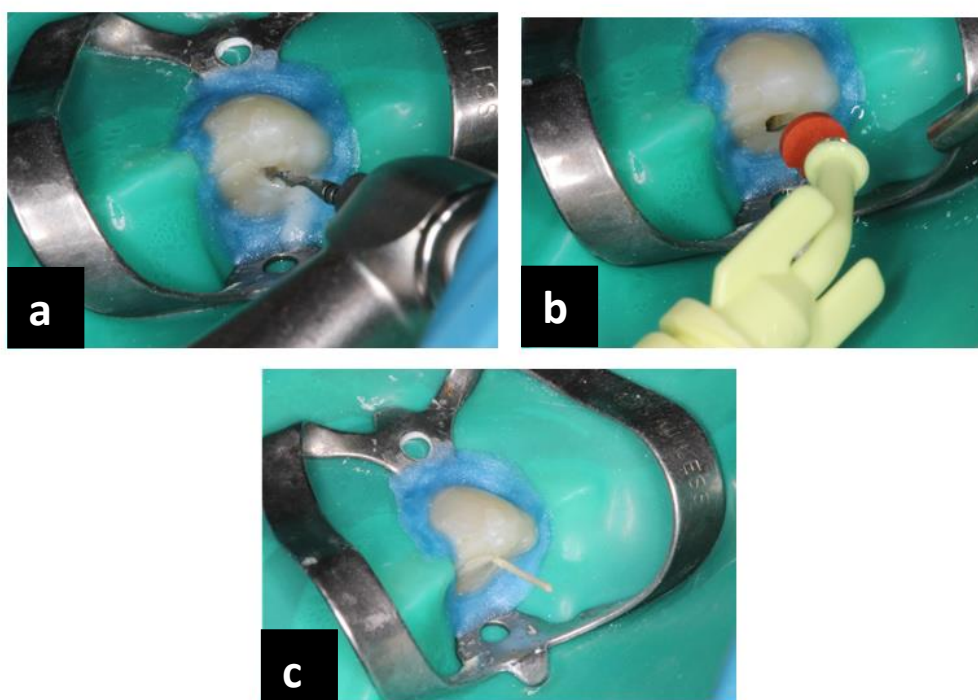
Após a **1ª Coleta**, foi realizado preparo biomecânico com neutralização do conteúdo séptico do canal radicular, com hipoclorito de sódio a 2.5% (Byofórmula, São José dos Campos, SP, Brasil) como solução irrigadora e sistema recíprocante para a instrumentação dos canais radiculares.

Após a neutralização, o comprimento de trabalho (CT) foi determinado com o uso do localizador apical *RomiApex* (RomiBras LTDA, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e confirmado radiograficamente, sendo estabelecido como 1 mm aquém do forame apical. O preparo dos canais radiculares foi realizado com a utilização da lima R40 (40.06) do Sistema Recíprocante Reciproc® (RomiBras LTDA, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) conforme orientação do fabricante. A instrumentação foi realizada em terços no sentido coroa-ápice (terço cervical, terzo médio e terzo

apical), associado com irrigação de NaOCl 2,5%, sendo 8 mL para cada terço instrumentado, totalizando o volume de 24 mL de solução irrigadora.

Ao final do preparo, para neutralização da solução de NaOCl, os dentes foram irrigados com 5 mL de tiosulfato de sódio 5%. Em seguida, os dentes receberam irrigação final com 10 mL de solução salina fisiológica estéril e apirogênica e, em seguida, a **Coleta após PBM (2ª Coleta)** foi realizada da mesma forma descrita anteriormente. A Figura 5 ilustra como foi realizada coleta após PBM do tratamento endodôntico o qual o paciente foi submetido. Após a **2ª coleta**, os canais foram preenchidos com solução de EDTA 17% (Inodon, Porto Alegre, RS, Brasil) durante 5 minutos e lavados com 10 mL de solução salina fisiológica apirogênica. Após, foi realizada coleta (**3ª coleta**) como descrito anteriormente.

Figura 5 - Sequência da intervenção odontológica



Legenda: a) Instrumentação com sistema recíprocante – Reciproc (RomiBras LTDA, Rio de Janeiro, RJ, Brasil); b) Irrigação com Hipoclorito de Sódio (NaOCl 2,5%) (Byofórmula, São José dos Campos, SP, Brasil); c) coleta com cone absorvente de papel.

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.7 Medicação Intracanal por 14 dias para o grupo de múltipla sessão

Foi preparada uma pasta de Ca(OH)_2 + SS na proporção 1:1 em volume que foi levada ao canal radicular com o auxílio de lentulo apirogênico até o completo preenchimento do canal. Em seguida, os dentes foram selados com uma camada de Coltosol (Vigodent, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) seguido de restauração provisória com cimento de ionômero de vidro (S.S. White Artigos Dentários Ltda, Rio de Janeiro, RJ, Brasil).

A Figura 6 ilustra esquema da primeira sessão do tratamento em SM no qual o paciente foi submetido.

Figura 6 – Esquema da 1ª sessão de atendimento clínico para os casos de sessão múltipla



Fonte: Elaborado pelo autor.

Transcorrido o período de 14 dias, o paciente foi novamente submetido à anestesia, isolamento e antissepsia do campo operatório (semelhante à primeira

sessão de atendimento), remoção do selamento coronário, remoção da MIC com lima Kerr #30 (Dentsply/Maillefer Instruments SA, Ballaigues, Switzerland) e irrigação com 10 mL de solução salina fisiológica apirogênica. Em seguida, foi realizada a **Coleta após MIC (4ª coleta)** de forma semelhante às coletas anteriormente descritas (Figura 7).

4.8 Obturação dos canais radiculares do grupo de múltipla sessão

Terminada a **Coleta após MIC (4ª coleta)**, os dentes foram inicialmente preenchidos com solução de EDTA 17% durante 5 minutos e lavados com 10 mL de solução salina fisiológica apirogênica. Os casos em que houve ausência de dor, de odor e os canais apresentaram-se secos foram obturados com cones de guta-percha (Dentsply Maillefer Ind. Com. Ltda. Petrópolis, RJ, Brasil) e cimento obturador AH Plus (Dentsply DeTrey GmbH, Konstanz). Em seguida, os dentes foram radiografados para comprovação de adequado preenchimento em lateralidade da obturação do canal radicular. A Figura 7 ilustra esquema da segunda sessão do tratamento em SM no qual o paciente foi submetido.

Figura 7 - Esquema da 2ª sessão de atendimento clínico nos casos de sessão múltipla



Fonte: Elaborado pelo autor.

4.9 Obturação dos canais radiculares do grupo de sessão única

No grupo de sessão única, os dentes foram obturados na mesma sessão em que foram abertos, portanto, não houve aplicação de medicação intracanal e foram realizadas apenas três coletas, uma inicial, logo após a abertura coronária (**1ª coleta**), uma após o preparo biomecânico (**2ª coleta**) e uma após a aplicação de EDTA 17% no interior do canal radicular (**3ª coleta**).

A obturação seguiu da mesma forma que os grupos de sessão múltipla em casos em que houve ausência de dor, de odor e onde os canais apresentaram-se secos. Logo após o uso de EDTA 17% por 5 minutos e lavados com 10 mL de solução salina fisiológica apirogênica. A Figura 8 ilustra esquema da sessão única do tratamento endodôntico no qual o paciente foi submetido.

Figura 8 - Esquema da sessão única de atendimento clínico realizado no grupo de sessão única



Fonte: Elaborado pelo autor.

4.10 Restauração definitiva dos dentes tratados endodonticamente

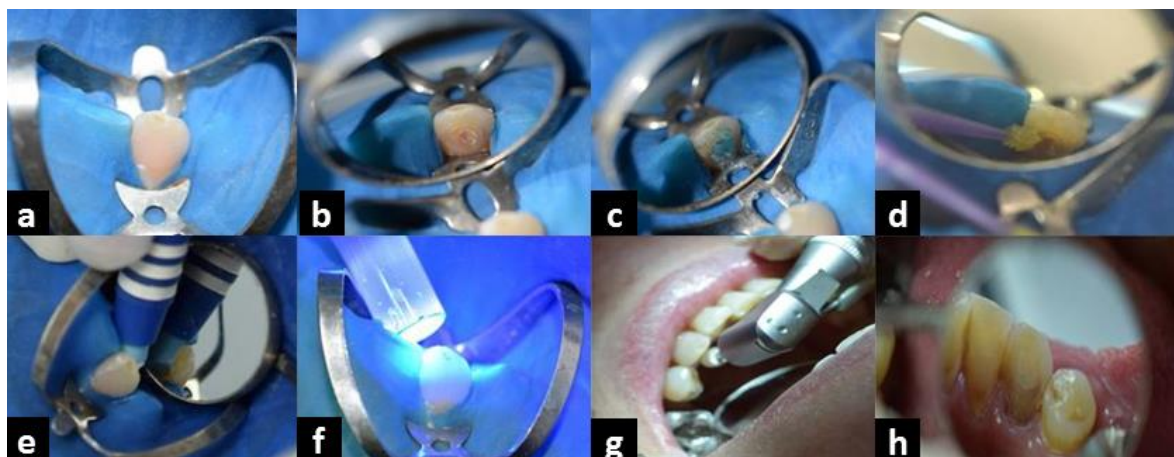
Após a obturação, foram realizadas as restaurações definitivas dos dentes. Foi realizado isolamento absoluto com lençol de borracha e grampos metálicos, feita a antisepsia do campo operatório e remoção do selamento provisório, o qual havia sido feito com cimento de ionômero de vidro e rebaixado até atingir o coltosol. Em seguida, os dentes foram restaurados usando a técnica direta em resina composta. Foi realizada a limpeza da cavidade com Tergensol (Inodon, Laboratórios Inodon, Porto Alegre, RS, Brasil), a cavidade foi seca, e foi realizado o condicionamento ácido com ácido fosfórico 37% (Dentsply Indústria e Comércio Ltda., Petrópolis, RJ, Brasil) durante 30-45 segundos em esmalte e 15-20 segundos em dentina. Em seguida, foi feita a lavagem da cavidade com água durante 15 segundos e jato de ar suave para remover o excesso de umidade. Com auxílio de um microbrush (Vigodent S/A Indústria e Comércio, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), foi introduzido na cavidade o primer autocondicionante (3M ESPE Adper TM Single Bond 2, Sumaré, SP, Brasil) na região a ser restaurada seguido por jato de ar para evaporação do solvente, e posterior fotopolimerização por 20 segundos.

Em seguida foi feita a restauração com resina composta (Z100 3M ESPE, Sumaré, SP, Brasil) de acordo com o tecido dentário a ser reposto, seguindo a escala VITA para seleção prévia da cor. Foi utilizada a técnica incremental, em que a cada 2 mm de material na cavidade, fotopolimeriza-se por 40 segundos, utilizando primeiramente resina opaca para dentina e resina translúcida para esmalte. A escultura foi realizada a cada deposição de fragmento, como demonstrado na Figura 9.

Ao fim da restauração, foi realizado o acabamento com pontas diamantadas de granulação fina. Em seguida, foi realizado o ajuste oclusal com carbono, para correta oclusão e por fim, o polimento com taças de borracha abrasivas de polimento de resina e pasta diamantada com cone de feltro. Pacientes que possuíam necessidade de encaminhamento para a realização de

outros procedimentos odontológicos, foram encaminhados segundo a necessidade.

Figura 9 - Restauração definitiva dos dentes tratados endodonticamente



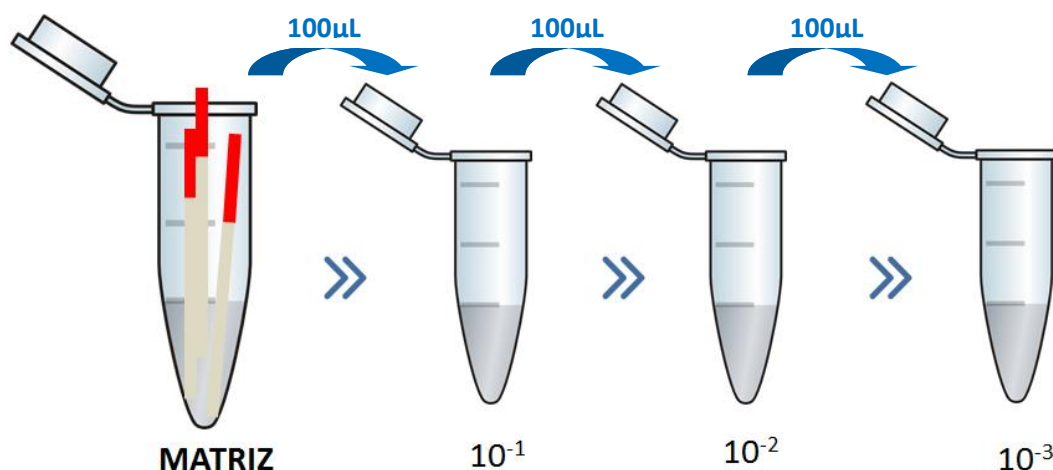
Legenda: a) dente isolado; b) mostra lingual da reabertura; c) condicionamento ácido; d) aplicação do adesivo; e) inserção de resina por fragmentos na cavidade; f) fotopolimerização; g) polimento com taças de borracha; h) resultado final.

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.11 Análise da presença de micro-organismos

Para todas as coletas, a atividade antimicrobiana foi avaliada pela contagem de unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/mL) de micro-organismos remanescentes no canal radicular. O microtubo (1,5mL) contendo os 3 cones de papel (amostra matriz) armazenados em 1 mL de meio de transporte pré-reduzido VMGA III foi agitado por 60 segundos em *vórtex* até a dessorção do conteúdo para facilitar a dispersão dos micro-organismos. Em seguida, foram realizadas diluições seriadas transferindo 100 µL da amostra matriz para microtubos com a diluição 10^{-1} e assim consecutivamente até a diluição 10^{-3} em tubos microtubos (1,5 mL) contendo 900 µL de Caldo Infuso Cérebro Coração (BHI) (*Brain Heart Infusion Broth* - HiMedia Laboratories Pvt. Ltda, Mubai, Índia) (Figura 10).

Figura 10 – Diluições seriadas a partir da amostra matriz para a realização da semeadura do conteúdo dos canais radiculares, pelo método de cultura microbiológica

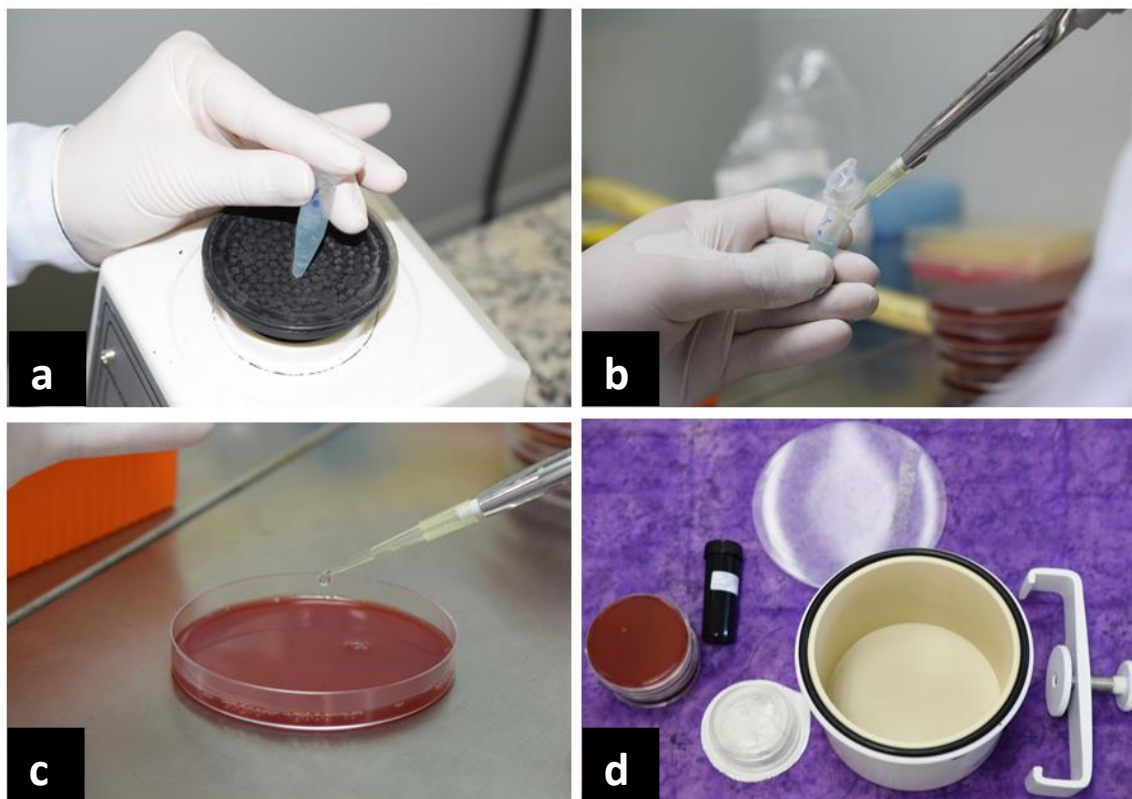


Fonte: Elaborado pelo autor.

Para a detecção de micro-organismos aeróbios, foram semeados 50 µL da amostra matriz (sem diluição) e 50 µL da diluição 10^{-3} em placas de Petri (Interlab distribuidora de produtos científicos, São Paulo, SP, Brasil) contendo *BHI* (*Brain Heart Infusion* – HiMedia – Mumbai, India) acrescido de 5% de sangue de carneiro desfibrinado. Essas placas foram levadas em estufa bacteriológica por 2 dias, para permitir a detecção de micro-organismos aeróbios.

Para a detecção de micro-organismos anaeróbios e facultativos (Figura 11) foram semeados 50 µL da amostra matriz (sem diluição) e 50 µL da diluição 10^{-3} em placas de Petri (Interlab distribuidora de produtos científicos, São Paulo, SP, Brasil) contendo *Fastidious Anaerobe Agar* (FAA – Neogen Corporation, Michigan, USA), acrescido de 5% de sangue de carneiro desfibrinado suplementados por hemina (5 mg/L) e vitamina K1 (1 mg/L) (APÊNDICE C). As placas foram incubadas em jarra de anaerobiose à 37°C por 14 dias (Figura 11).

Figura 11 - Análise da presença de micro-organismos e contagem de contagem de unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/mL)



Legenda: a) Agitação de eppendorf contendo VMGA e cones de papel absorvente com coletas do conteúdo do canal radicular; b e c) plaqueamento das amostras das coletas do conteúdo do canal radicular; d) Jarra de anaerobiose onde foram incubadas as placas por 14 dias a 37°C em estufa.
Fonte: Elaborado pelo autor.

O número de unidades formadoras de colônias (UFCs) foi determinado a partir da contagem do número de colônias nas placas analisadas. Para a obtenção do número de UFCs presentes na amostra por mL (amostra inicial) foi necessário multiplicar por 20 ou 20.000 o número de UFCs observadas na contagem das placas, dependendo da diluição utilizada. A escolha da placa para contagem de UFCs estava relacionada à possibilidade de contar de forma individual o número de UFCs presentes. Quando não possibilitado a contagem na amostra inicial, foi utilizada a diluição 10^{-3} . Ou seja, quando a diluição 10^{-3} foi escolhida, o valor correspondente a essa diluição é 1000 vezes menor que o inicial (1 mL). A alíquota plaqueada foi de 50 μ L, ou seja, 20 vezes menor que 1 mL. Portanto o fator de multiplicação do número de UFCs obtido seria 20.000.

4.12 Quantificação de Endotoxinas

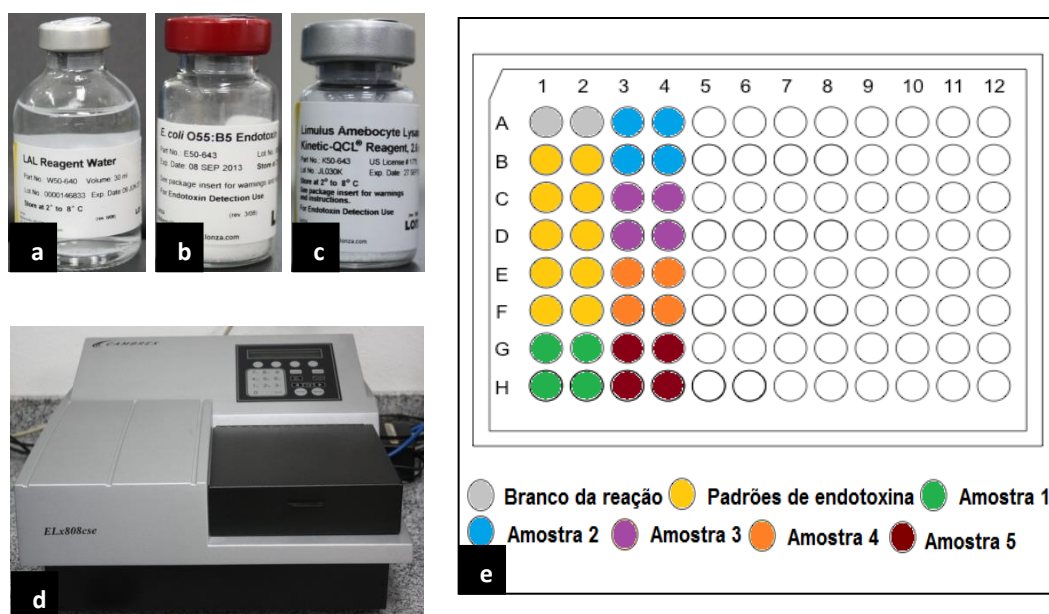
Para verificar a neutralização de endotoxinas, as amostras coletadas dos canais radiculares foram submetidas à análise quantitativa pelo teste cinético cromogênico do lisado de amebócitos de *Limulus* (cinético QCL - LAL) (Lonza, Walkersville, MD, EUA).

Inicialmente foi realizada uma curva-padrão (APÊNDICE D). O controle padrão de endotoxina de *Escherichia coli* foi reconstituído com um volume especificado, no certificado de qualidade, da água apirogênica. Esta suspensão contém 50 EU/mL. Foram realizadas diluições a partir deste padrão de endotoxina em diferentes concentrações (50; 5; 0,5; 0,05; 0,005 EU/mL). Para cada amostra, foi realizado um controle positivo (amostra do conteúdo do canal radicular adicionada de uma quantidade conhecida de endotoxina).

Em uma placa apirogênica de 96 poços, foram adicionados 100 µL de água apirogênica (branco da reação), os padrões de endotoxina, as amostras coletadas do canal radicular e os controles positivos (Figura 12). A placa foi incubada no leitor cinético QCL a 37 ± 1 °C por 10 minutos, o qual estava acoplado a um microcomputador com *software WinkQCL™* específico para gerenciamento, execução e emissão de relatórios. Após, foram adicionados em cada poço da placa 100 µL do reagente cinético cromogênico do LAL, com uma micropipeta multicanal e ponteiros apirogênicos (Figura 12).

Após o início do ensaio cinético, o *software* da leitora de microplacas monitorava, de forma contínua, a absorbância a 405 nm em cada poço da microplaca. O *software WinkQCL™* automaticamente calculou uma correlação linear log/log do tempo de reação de cada padrão com a concentração de endotoxina correspondente. Os parâmetros da curva-padrão foram impressos no relatório.

Figura 12 – Montagem da placa, reagentes e leitor utilizado na quantificação de endotoxinas



Legenda: a) água apirogênica; b) endotoxina padrão de *E. coli*; c) reagente cinético cromogênico do LAL; d) leitor cinético QCL; e) esquema de montagem da placa de 96 poços.
Fonte: elaborada pelo autor.

4.13 Análise da volumetria da destruição óssea periapical

As TCFC realizadas antes do tratamento endodôntico foram submetidas a medidas através do cálculo da volumetria a da destruição óssea periapical. Os exames tomográficos foram realizados no do Departamento de Diagnóstico e Cirurgia do Instituto de Ciência de Tecnologia de São José dos Campos (ICT-SJC).

Para a aquisição das imagens por TCFC, o plano de oclusão do paciente foi orientado paralelamente ao plano horizontal (correspondente ao plano axial) de acordo com o protocolo recomendado pelo fabricante. Todos os exames foram realizados usando o tomógrafo *Classic I-Cat* (Imaging Science International, Hatchfield, EUA) com 6 cm de campo de visão ou FOV (*field of view*), voxel isotrópico de 0,25 mm, 120 kVp, 36,15 mAs e 12 bits de profundidade de escala de cinza. Todos os exames foram trabalhados em formato *DICOM* (*Digital Image*

and Communication in Medicine) e lidos em *software* específico. Os dados *DICOM* de cada varredura foram salvos em arquivos separados, e, em seguida, importados e avaliados com o *software Nemotec*[®] (Nemotec[®], Madrid, Espanha).

O processo de segmentação e as medições volumétricas no *software Nemotec*[®] foram baseadas no seguinte protocolo com orientação no longo eixo do dente para a referência dos cortes:

- a) De posse da tela de reconstrução multiplanar (MPR) foi realizado o posicionamento das coordenadas “X”, “Y” e “Z” nos planos axial, sagital e coronal, de acordo com o dente a ser avaliado: **corte axial** – alinhado perpendicular ao longo eixo do dente; **corte sagital** – alinhado paralelamente ao longo eixo do dente, acompanhando a inclinação do rebordo alveolar; e **corte coronal** – alinhado com o longo eixo do dente; sendo que todos os cortes deveriam passar pela região de maior dimensão da lesão periapical;
- b) Realizou-se a segmentação 2D e medidas das lesões periapicais (corte sagital: medidas vestibulo-palatina e supero-inferior; corte coronal: medidas supero-inferior e antero-posterior);
- c) Inspeccionaram-se os limites da segmentação realizada nos diferentes cortes e corrigiu-se quando necessário (Figura 13).

Figura 13 – Segmentação 2D da TCFC utilizando o longo eixo do dente.



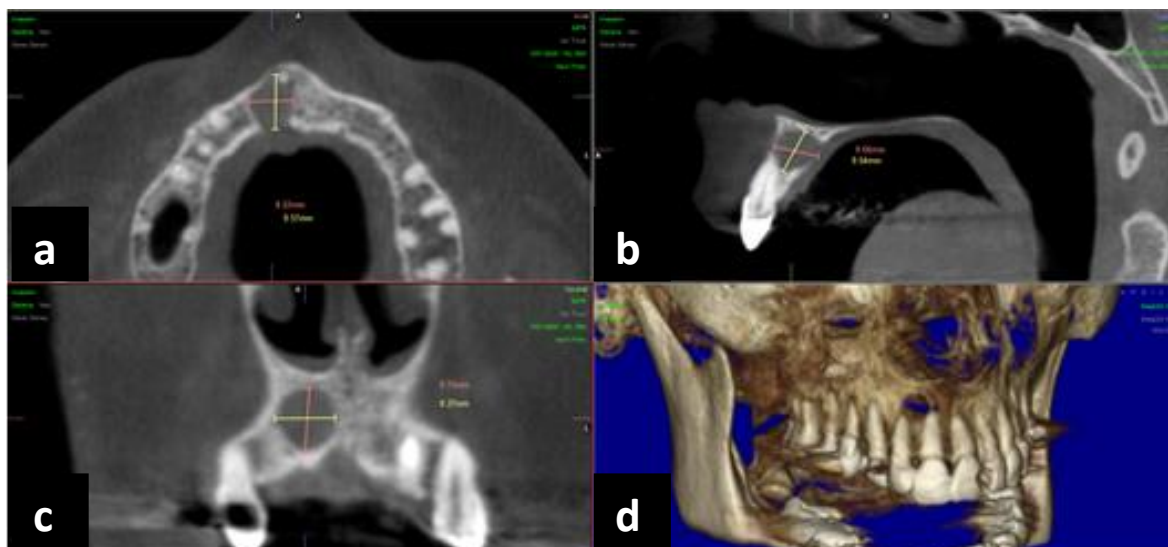
Fonte: Elaborado pelo autor.

Para análise da volumetria da destruição óssea periapical, foi realizada:

- a) Realização da segmentação 2D e medidas das lesões periapicais (corte axial: medidas antero-posterior e vestibulo-palatina; corte sagital: medidas vestibulo-palatina e supero-inferior; corte coronal: medidas supero-inferior e antero-posterior) em todos os 3 planos para determinar a área radiolúcida que delimita a lesão;
- b) Após a criação das medidas nos planos de corte, sagital, coronal e axial, foi determinado um polígono abrangendo todo o limite da lesão, com margem de segurança, para a formatação da reconstrução 3D da radiolucência periapical, com tolerância de 350 HU (Hounsfield Unit). A escolha do número de tolerância de leitura para a geração da volumetria foi baseada em um estudo piloto com diferentes opções de HU;
- c) Os limites da lesão foram inspecionados para verificar se a mesma se encontrava contemplada no polígono gerado, sendo corrigido quando necessário;
- d) A opção “detectar volume” do *software* foi utilizada para automaticamente calcular volumetria da lesão;
- e) Com a obtenção do volume, gerado em cm^3 , foram obtidas duas medidas de área, em cm^2 , sendo a mínima sessão e a sessão axial da lesão.

Todos os exames foram avaliados. A volumetria de cada radiolucência periapical foi medida pelo seguindo o mesmo procedimento de segmentação no *software Nemotec*[®] (Figura 14 e 15) e salvos em um arquivo do Programa *Microsoft Office Excel*.

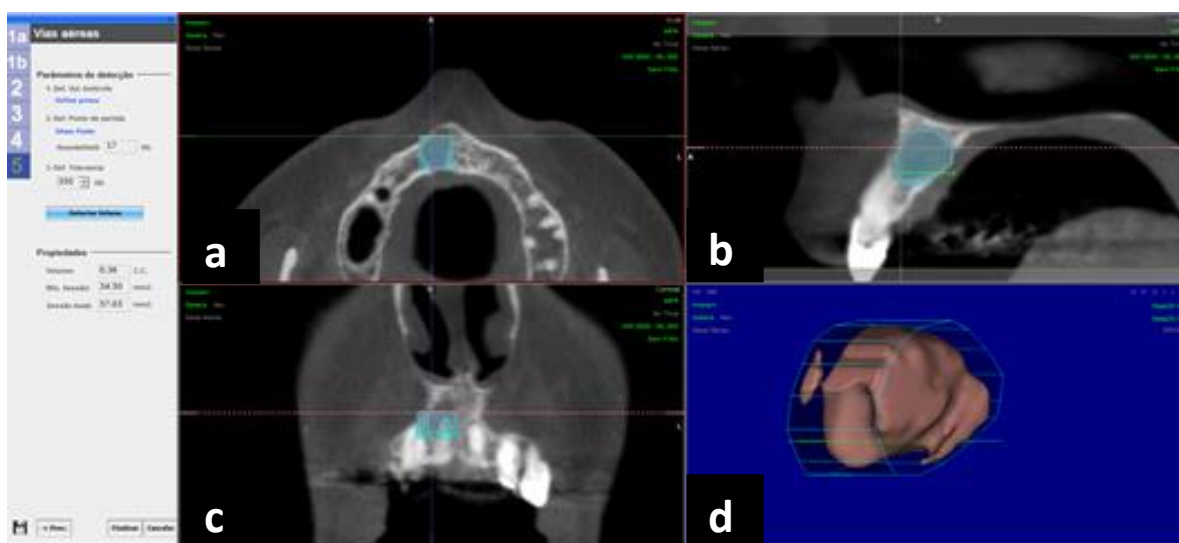
Figura 14 – Imagem da TCFC da verificação pré-operatória transferidas para o *software* Nemotec® e segmentação 2D da lesão periapical nos diferentes planos de corte



Legenda: a) plano axial: em vermelho - medida antero-posterior, em amarelo – medida vestibulo-palatina; b) plano sagital: em vermelho – medida vestibulo-palatina, em amarelo – medida supero-inferior; c) plano coronal: em vermelho – medida supero-inferior, em amarelo – medida antero-posterior; d) imagem 3D da arcada dentária superior.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 15 – Imagem da TCFC da verificação pré-operatória transferidos para o *software* Nemotec® após criação das medidas nos diferentes planos de corte, formando um polígono que abrangesse todo o limite da lesão



Legenda: a) plano axial; b) plano sagital; c) plano coronal; d) reconstrução 3D da radiolucência periapical.

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.14 Volumetria dos canais radiculares

As TCFC realizadas antes do tratamento endodôntico foram submetidas a medidas a fim de determinar o volume dos canais radiculares de dentes com infecção endodôntica primária.

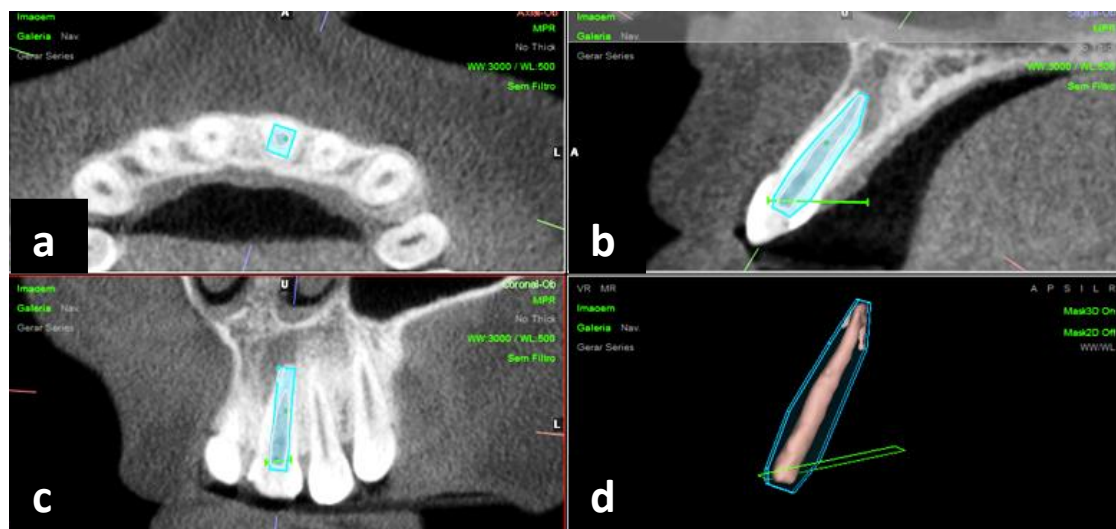
O volume de cada canal radicular foi medido seguindo o mesmo procedimento de segmentação no *software Nemotec*[®] e salvo em um arquivo do Programa *Microsoft Office Excel*.

O processo de segmentação e as medições volumétricas foram feitas seguindo as seguintes etapas (Figura 16):

- a) De posse da tela de reconstrução multiplanar (MPR) foi realizado o posicionamento das coordenadas “X”, “Y” e “Z” nos planos axial, coronal e sagital, de acordo com o dente a ser avaliado: **corte axial** – perpendicular ao longo eixo do dente, **corte sagital** – paralelo ao longo eixo do dente, alinhado ao rebordo alveolar, **corte coronal** – alinhado ao longo eixo do dente;
- b) Realização da segmentação 2D e medidas dos canais radiculares em todos os 3 planos (axial, sagital e coronal) para determinar a área radiolúcida que delimita o canal radicular;
- c) Após a criação das medidas nos planos de corte sagital, coronal e axial, foi determinada uma forma que abranjesse todo o limite do canal radicular, com margem de segurança, para formatação da reconstrução 3D da radiolucência do canal.
- d) Foram inspecionados os limites do canal para verificar se os mesmos estão contemplados na forma gerada;
- e) Utilizou-se a opção “detectar volume” do *software* para automaticamente calcular os volumes dos canais radiculares.

Foram testadas possíveis relações entre os níveis de endotoxinas (EU/mL) e carga de micro-organismos cultiváveis (UFC/mL) com o volume da lesão e canal radicular (mm³) obtidas em TCFC.

Figura 16 – Imagem da TCFC da verificação pré-operatória transferidos para o *software* Nemotec® após criação das medidas do canal radicular nos diferentes planos de corte, formando um polígono que abrangesse todo o limite do canal



Legenda: a) plano axial: linha roxa acompanha o longo eixo do dente; b) plano sagital: linha verde acompanha o longo eixo do dente; c) plano coronal: linha roxa acompanha o longo eixo do dente; d) reconstrução 3D da radiolucência do canal radicular.

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.15 Acompanhamento após um ano de tratamento

Neste estudo, após um ano de tratamento, os pacientes foram novamente contactados para a realização de controle clínico, radiográfico e tomográfico para verificação do sucesso do protocolo de tratamento realizado.

Para cada paciente foi realizado exame tomográfico, radiografia periapical e exames objetivo e subjetivo (APÊNDICE F). Foi avaliada presença de dor, características do dente (restauração, cor da coroa) e se houve regressão na lesão pela radiografica, o que posteriormente foi comprovado pelo exame tomográfico.

Os pacientes assinaram a ficha de acompanhamento, e aqueles que possuíam necessidade de encaminhamento para a realização de outros procedimentos odontológicos, foram encaminhados segundo a necessidade.

4.16 Análise Estatística

Os dados obtidos referentes às características analisadas como: volume da lesão periapical e dos canais radiculares utilizando TCFC (mm³), níveis de endotoxinas e micro-organismos, e sinais/sintomas clínicos como dor prévia, sensibilidade à palpação e a percussão, presença de fístula e exsudato e características da coroa, foram digitados em planilha Excel e analisados pelo *software STATISTICA 8.0* (StatSoft Inc, Tulsa, OK).

Os dados para comparar a **carga microbiana (UFC/mL)** de micro-organismos aeróbios e anaeróbios encontrados nas diferentes coletas, nos grupos SU e SM: coleta inicial x coleta final, e para avaliar os **níveis de endotoxinas (EU/mL)** encontrados nas diferentes coletas nos dois grupos de estudo, foram submetidos ao teste de normalidade de *Kolmogorov-Smirnov & Lilliefors* e não apresentaram distribuição normal ($P < 0,05$), portanto foram transformados em Log_{10} e submetidos ao teste ANOVA a dois fatores de medidas repetidas e *Teste de Tukey* de comparações múltiplas, sendo que o fator variável independente foi o tipo de tratamento (SU ou SM) e a variável de repetição foi o tempo de coleta (inicial e final).

Utilizou-se o teste T-student de amostras dependentes para comparar a carga microbiana (UFC/mL) entre as todas as coletas realizadas dentro de cada grupo e para avaliar os níveis de endotoxinas (EU/mL) entre as coletas dentro de cada grupo.

Para a análise da **volumetria inicial e final** (após um ano) das lesões (mm³) nos grupos SU e SM, os dados foram submetidos ao teste normalidade *Kolmogorov-Smirnov & Lilliefors*, não apresentando distribuição normal ($P < 0,05$), sendo transformados em Log_{10} , os mesmos apresentaram distribuição normal, e foram submetidos ao teste *Anova* a dois fatores de medidas repetidas e *Teste de Tukey* de comparações múltiplas. Devido a grande variação entre a volumetria inicial e final, transformaram-se os valores iniciais e finais em porcentagem (%) de redução do volume, segundo a fórmula: **(vol. Inicial – vol. Final/ vol. Inicial) x 100**.

Para avaliar a relação entre os **níveis iniciais de endotoxinas (EU/mL)** e **carga inicial de micro-organismos (UFC/mL)** com a redução de **volumetria**

das lesões periapicais (mm³), utilizou-se o teste de correlação de Pearson, comparando os níveis iniciais de endotoxinas com a proporção/razão da volumetria final em relação à volumetria inicial, como descrito na fórmula a seguir:

Vol. Final/ Vol. Inicial.

Para a detecção da relação entre ***sinais/sintomas*** e ***características da coroa*** com níveis de endotoxinas, carga microbiana e volumetria de lesão e canais por TCFC, os valores também foram transformados em Log₁₀ e a análise estatística se deu pelo método de *Mann-Whitney U*.

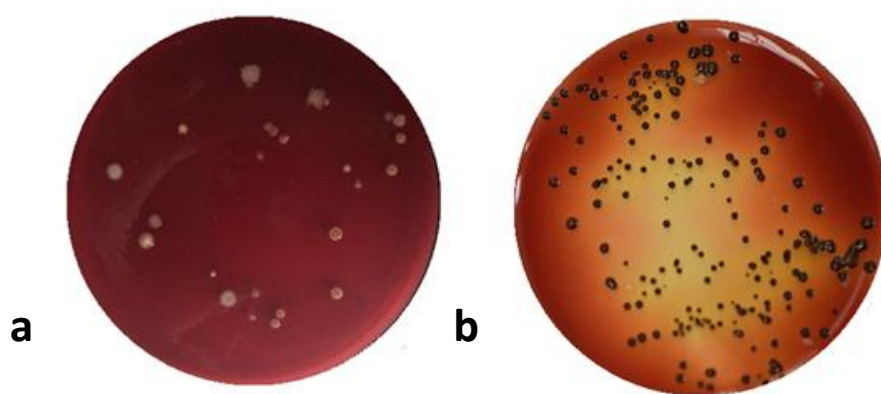
5 RESULTADO

5.1. Monitoramento do tratamento endodôntico e sua efetividade em dentes com infecção endodôntica primária

5.1.1 Crescimento de micro-organismos aeróbios e anaeróbios

Crescimento de micro-organismos aeróbios e anaeróbios foi verificado em 75% das amostras iniciais **(1º Coleta)** (Figura 17), após semeadura do conteúdo coletado dos canais radiculares pelo método de cultura microbiológica.

Figura 17 – Placas de petri ilustrando o crescimento de micro-organismos, após semeadura do conteúdo coletado dos canais radiculares, pelo método de cultura microbiológica



Legenda: a) micro-organismos aeróbios; b) micro-organismos anaeróbios.
Fonte: Elaborado pelo autor.

As tabelas 1 e 2 mostram o número de canais que apresentaram micro-organismos aeróbios e anaeróbios, respectivamente, em todas as coletas dos grupos de **Sessão Única (SU)** e **Sessão Múltipla (SM)**, bem como a média, mediana e o “*range*” (valores mínimos e máximos contabilizados) de UFC/mL destes micro-organismos para os 10 dentes de cada grupo.

Tabela 1 – Porcentagem de canais que apresentam micro-organismos aeróbios. Mediana, média e range de UFC/mL nos casos de sessão única e múltipla sessão

Coletas		Grupos	
		Sessão Única	Sessão Múltipla
COLETA INICIAL (S1)	Nº total de casos	10 (100%)	10 (100%)
	Casos positivos	7 (70%)	8 (80%)
	Casos negativos	3 (30%)	2 (20%)
	Mediana UFC/mL	700	1990
	Média UFC/mL	4060	3238
	Range*	0 - 17 x 10 ³	0 - 7,6 x 10 ³
COLETA APÓS PBM (S2)	Nº total de casos	10 (100%)	10 (100%)
	Casos positivos	5 (50%)	5 (50%)
	Casos negativos	5 (50%)	5 (50%)
	Mediana UFC/mL	10	10
	Média UFC/mL	142	110
	Range*	0 - 1,06 x 10 ³	0 - 4,4 x 10 ²
COLETA APÓS EDTA (S3)	Nº total de casos	10 (100%)	10 (100%)
	Casos positivos	5 (50%)	4 (40%)
	Casos negativos	5 (50%)	6 (60%)
	Mediana UFC/mL	30	0
	Média UFC/mL	240	266
	Range*	0 - 1,76 x 10 ³	0 - 2,52 x 10 ³
COLETA APÓS MIC (S4)	Nº total de casos		10 (100%)
	Casos positivos		5 (50%)
	Casos negativos		5 (50%)
	Mediana UFC/mL		10
	Média UFC/mL		3750
	Range*		0 - 3,4 x 10 ⁴

Legenda:* Valores mínimos e máximos.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 2 – Porcentagem de canais que apresentam micro-organismos anaeróbios. Mediana, média e range de UFC/mL nos casos de sessão única e múltipla sessão

Coletas		Grupos	
		Sessão Única	Sessão Múltipla
COLETA INICIAL (S1)	Nº total de casos	10 (100%)	10 (100%)
	Casos positivos	10 (100%)	9 (90%)
	Casos negativos	0	1 (10%)
	Mediana UFC/mL	42400	22540
	Média UFC/mL	344606	230516
	Range*	180 - $1,7 \times 10^6$	0 - $1,424 \times 10^6$
COLETA APÓS PBM (S2)	Nº total de casos	10 (100%)	10 (100%)
	Casos positivos	10 (100%)	8 (80%)
	Casos negativos	0	2 (20%)
	Mediana UFC/mL	120	420
	Média UFC/mL	534	5724
	Range*	20 - $1,9 \times 10^3$	0 - $3,008 \times 10^4$
COLETA APÓS EDTA (S3)	Nº total de casos	10 (100%)	10 (100%)
	Casos positivos	9 (90%)	7 (70%)
	Casos negativos	1 (10%)	3 (30%)
	Mediana UFC/mL	30	140
	Média UFC/mL	240	886
	Range*	0 - $4,8 \times 10^3$	0 - $1,08 \times 10^4$
COLETA APÓS MIC (S4)	Nº total de casos		10 (100%)
	Casos positivos		9 (90%)
	Casos negativos		1 (10%)
	Mediana UFC/mL		990
	Média UFC/mL		8086
	Range*		0 - $6,23 \times 10^4$

Legenda: * Valores mínimos e máximos.

Fonte: Elaborado pelo autor.

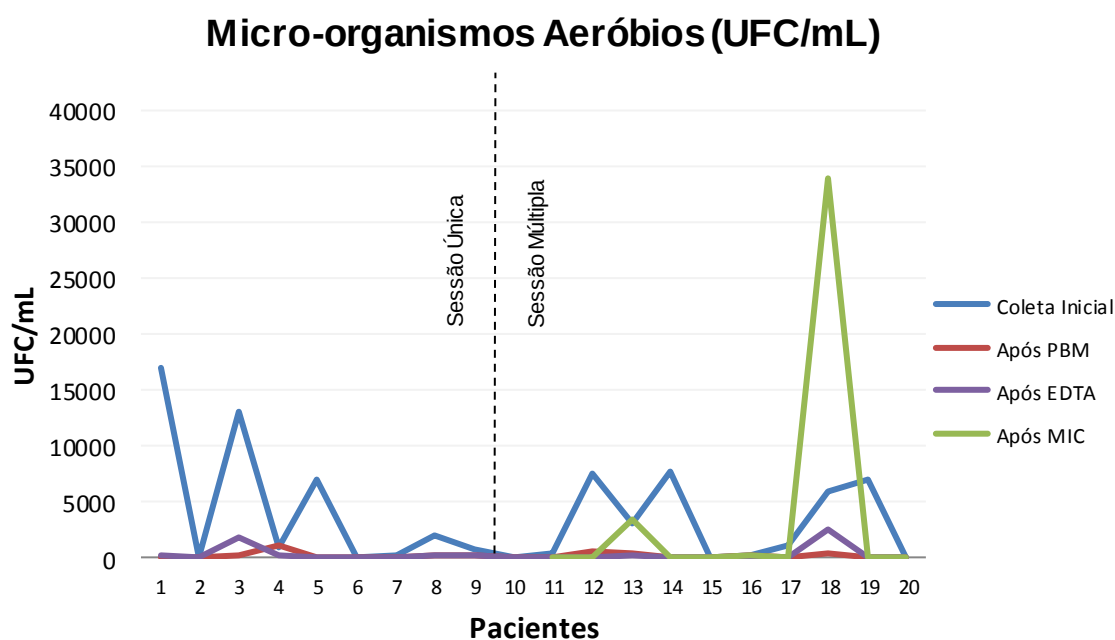
Na primeira coleta, micro-organismos aeróbios estavam presentes em 7/10 (70%) nos casos de sessão única e em 8/10 (80%) nos casos de múltiplas sessões, enquanto que os anaeróbios estavam presentes em todos (100%) os casos de sessão única e em 9/10 (90%) nos casos de múltiplas sessões.

Após o preparo biomecânico com NaOCl 2,5% (**2ª Coleta**) o número de UFC/mL diminuiu., sendo que a redução de micro-organismos anaeróbios foi de 99,8% no grupo de SU e de 97,5% no grupo SM e de 96,5% para micro-organismos aeróbios em ambos os grupos.

Nas tabelas 1 e 2, nota-se que no grupo de sessão múltipla, 14 dias após a colocação da medicação intracanal de Ca(OH)_2 + SS (**4ª Coleta**), houve ausência de crescimento microbiano em 5/10 casos (50%) de micro-organismos aeróbios e 1/10 (10%) de micro-organismos anaeróbios. Quanto à redução, esta foi de 96,5% para micro-organismos anaeróbios, enquanto houve um aumento de 16% para os micro-organismos aeróbios. Não havendo diferença entre a redução de micro-organismos anaeróbios após preparo biomecânico e após uso de medicação intracanal.

A figura 18 ilustra de forma gráfica a variabilidade da presença de micro-organismos aeróbios durante o tratamento.

Figura 18 – Valores de UFC/mL para micro-organismos aeróbios nos diferentes tempos de coleta



Legenda: Valores de UFC/mL para micro-organismos aeróbios nos diferentes tempos de coleta para cada um dos 20 dentes com necrose pulpar e presença de lesão periapical.

Fonte: Elaborado pelo autor.

No grupo de sessão única o comportamento de redução dos níveis de UFC/mL para micro-organismos aeróbios observado foi: **coleta 1 (S1) > coleta 2**

(S2) = coleta 3 (S3). Desta forma, os níveis de UFC/mL reduziram entre **S1** e **S2** ($p=0,018$) e entre **S1** e **S3** ($p=0,016$), sendo que não houve diferença entre **S2** e **S3** ($p=0,491$).

Já para o grupo de sessão múltipla, o comportamento de redução dos níveis de UFC/mL para micro-organismos aeróbios observado foi: **coleta 1 (S1) > coleta 2 (S2) = coleta 3 (S3) = coleta 4 (S4)**. Os níveis de UFC/mL reduziram entre **S1** e **S2** ($p=0,004$), entre **S1** e **S3** ($p=0,002$) e entre **S1** e **S4** ($p=0,026$), sendo que não houve diferença entre **S2** e **S3** ($p=0,490$), entre **S2** e **S4** ($p=0,562$) e entre **S3** e **S4** ($p=0,171$) nos valores de UFC/mL para micro-organismos aeróbios.

Na Tabela 3 podem ser observados os valores em Log_{10} e o desvio padrão de UCF/mL de micro-organismos aeróbios para as quatro coletas realizadas durante o tratamento nos grupos de SU e SM.

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

Grupos	S1	S2	S3	S4
	UFC/mL $\pm$ Desv. Pad.	UFC/mL $\pm$ Desv. Pad.	UFC/mL $\pm$ Desv. Pad.	UFC/mL $\pm$ Desv. Pad.
Sessão Única	2,35 $\pm$ 1,73 ^A	1,04 $\pm$ 1,18 ^B	1,19 $\pm$ 1,30 ^B	
Sessão Múltipla	2,66 $\pm$ 1,52 ^A	1,06 $\pm$ 1,18 ^B	0,80 $\pm$ 1,18 ^B	1,27 $\pm$ 1,65 ^B

Legenda: Valores transformados em Log_{10} de UFC/mL e desvio padrão das coletas para sessão única e múltipla sessão.*Letras maiúsculas são referentes comparações feitas na mesma linha.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Comparando a coleta **inicial** para (SU e SM) e **final** (S3 para SU e S4 para SM) quanto aos níveis de UFC/mL para micro-organismos aeróbios verificou-se que somente o tempo operatório (Inicial x Final) influenciou os resultados ($p=0,0010$), sendo que tipo de tratamento (SU x SM) ($p=0,754$) e a interação de fatores ($p=0,726$) não influenciaram nos resultados. Os valores **finais** de UCF/mL para micro-organismos aeróbios foram menores que os valores **iniciais** para ambos os tratamentos testados.

Comparando a redução de micro-organismos (UFC/mL) ao final do tratamento em comparação com a coleta inicial, podem ser observados os valores em Log_{10} e o desvio padrão de UFC/mL de micro-organismos aeróbios para as coletas iniciais e finais dos grupos estudados na Tabela 4.

Tabela 4 – Log_{10} de UFC/mL para micro-organismos aeróbios nos diferentes tempos de coletas, para cada grupo experimental

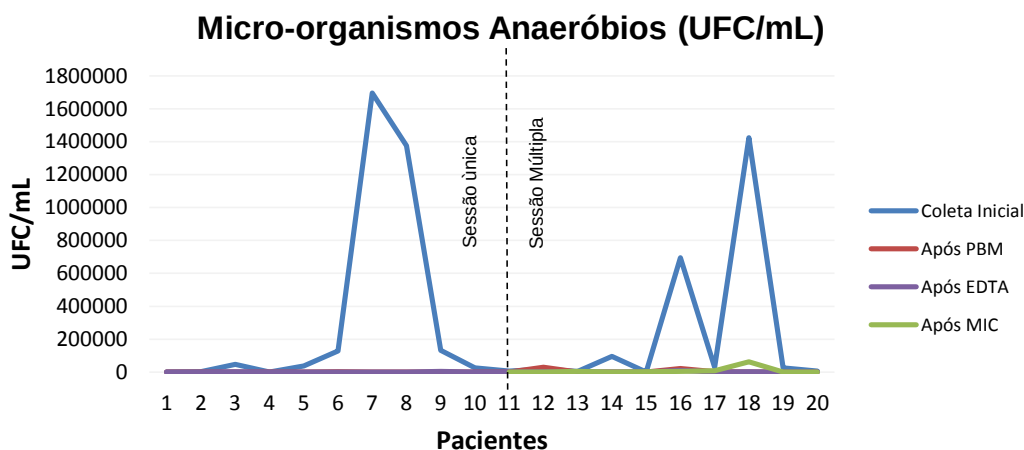
Grupos		Coleta Inicial (S1)	Coleta Final (S3 para SU e S4 para SM)
		Log_{10} de UFC/mL $\pm$ Desv. Pad.	Log_{10} de UFC/mL $\pm$ Desv. Pad.
Sessão Única	10	$2,347 \pm 1,272^{Aa}$	$1,188 \pm 1,302^{Ab}$
Sessão Múltipla	10	$2,659 \pm 1,516^{Aa}$	$1,267 \pm 1,645^{Ab}$

Legenda: *Letras maiúsculas são referentes comparações feitas na mesma linha e letras minúsculas na mesma coluna.

Fonte: Elaborado pelo autor.

A figura 19 ilustra de forma gráfica a variabilidade da presença de micro-organismos anaeróbios durante o tratamento.

Figura 19 – Valores de UFC/mL para micro-organismos anaeróbios nos diferentes tempos de coleta



Legenda: Valores de UFC/mL para micro-organismos anaeróbios nos diferentes tempos de coleta para cada um dos 20 dentes com necrose pulpar e presença de lesão periapical.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Verificou-se que para o grupo de sessão única o comportamento de redução dos níveis de micro-organismos anaeróbios observado foi: **1ª Coleta (S1) > 2ª Coleta (S2) = 3ª Coleta (S3)**. Os níveis de UFC/mL reduziram entre **S1** e **S2** ($p=0,001$) e entre **S1** e **S3** ($p=0,003$), sendo que não houve diferença entre **S2** e **S3** ($p=0,669$).

Já para o grupo de sessão múltipla o comportamento de redução dos níveis de UFC/mL observado foi: **1ª Coleta (S1) > 2ª Coleta (S2) = 3ª Coleta (S3) = 4ª Coleta (S4)**. Os níveis de UFC/mL reduziram entre a **S1** e **S2** ($p=0,002$), entre **S1** e **S3** ($p=0,0005$) e entre **S1** e **S4** ($p=0,046$), sendo que não houve diferença entre **S2** e **S3** ($p=0,157$), entre **S2** e **S4** ($p=0,681$) e entre **S3** e **S4** ($p=0,337$) (Tabela 5).

Tabela 5 – Log₁₀ de UFC/mL para micro-organismos anaeróbios para todas as coletas realizadas durante o tratamento nos grupos de sessão única e múltipla

Grupos	S1	S2	S3	S4
	UFC/mL ± Desv. Pad.	UFC/mL ± Desv. Pad.	UFC/mL ± Desv. Pad.	UFC/mL ± Desv. Pad.
Sessão Única	4,41 ± 1,40 ^A	2,23 ± 0,75 ^B	2,07 ± 1,14 ^B	
Sessão Múltipla	4,14 ± 1,68 ^A	2,33 ± 1,59 ^B	2,02 ± 1,57 ^B	2,60 ± 1,47 ^B

Legenda: Valores transformados em Log₁₀ de UFC/mL e desvio padrão das coletas para sessão única e múltipla sessão.*Letras maiúsculas são referentes comparações feitas na mesma linha.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Somente o tempo operatório (Inicial x Final) influenciou os resultados (p=0,0004), sendo que tipo de tratamento (SU x SM) (p=0,785) e a interação de fatores (p=0,382) não influenciaram. Assim como para micro-organismos aeróbios, os valores **finais** de UCF/mL para micro-organismos anaeróbios foram menores que os valores **iniciais** para ambos os tratamentos testados (SU x SM).

A tabela 6 mostra a comparação entre resultado inicial e final para micro-organismos anaeróbios.

Tabela 6 – Log₁₀ de UFC/mL para micro-organismos anaeróbios para as coletas iniciais e finais

Grupos	Coleta Inicial (S1)		Coleta Final (S3 para SU e S4 para SM)	
		Log ₁₀ de UFC/mL ± Desv. Pad.		Log ₁₀ de UFC/mL ± Desv. Pad.
Sessão Única	10	4,41 ± 1,40 ^{Aa}		2,07 ± 1,14 ^{Ab}
Sessão Múltipla	10	4,14 ± 1,68 ^{Aa}		2,60 ± 1,47 ^{Ab}

Legenda: *Letras maiúsculas são referentes comparações feitas na mesma linha e letras minúsculas na mesma coluna.

Fonte: Elaborado pelo autor.

5.1.2 Quantificação de Endotoxinas (EU/mL)

Todos os canais radiculares apresentaram EU/mL nas coletas iniciais (**1ª Coleta**). A tabela 7 mostra média, mediana e range (valores mínimos e máximos) dos níveis de endotoxinas nas 4 coletas nos casos de sessão múltipla e nas 3 coletas nos casos de sessão única dos 20 canais radiculares de dentes com lesão periapical.

Tabela 7 – Níveis de endotoxinas (EU/mL) de 20 canais radiculares com necrose pulpar e presença de lesão periapical

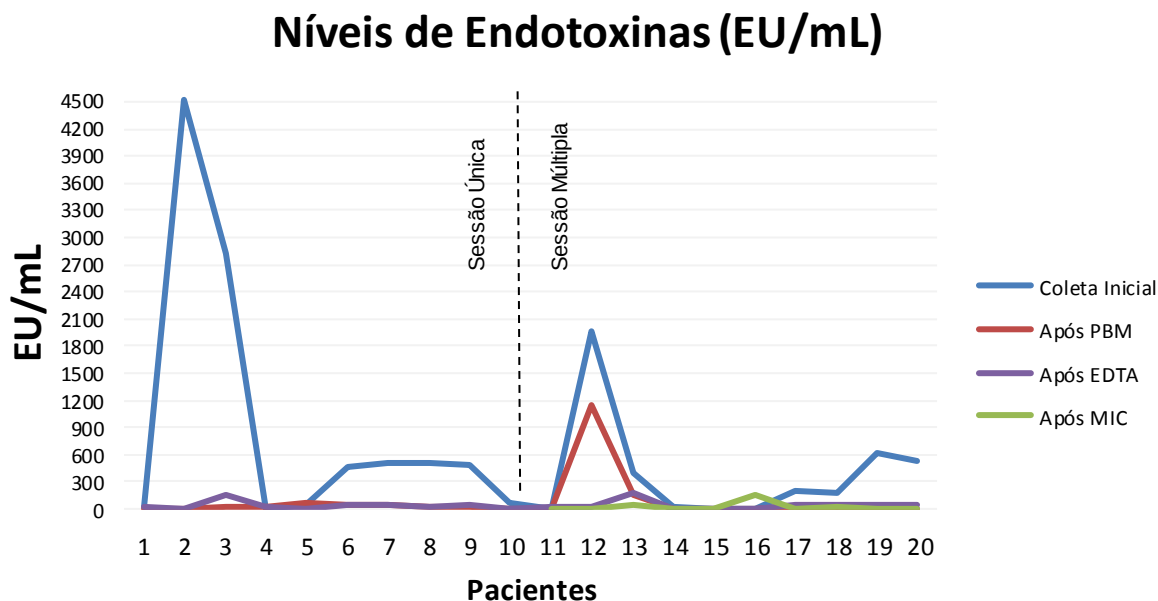
Coleta		Grupos	
		SESSÃO ÚNICA	SESSÃO MÚLTIPLA
COLETA INICIAL (S1)	Mediana EU/mL	477,5	183,5
	Média EU/mL	941,586	390,105
	Range*	5,56 – 4,51 X 10 ³	1,76 – 1,96 X 10 ³
COLETA APÓS PBM (S2)	Mediana EU/mL	19,55	5,04
	Média EU/mL	24,473	135,7618
	Range*	1,36 – 58,6	0,39 – 1,143 X 10 ³
COLETA APÓS EDTA (S3)	Mediana EU/mL	25,1	31,55
	Média EU/mL	34,443	39,2608
	Range*	1,53 - 1,46 X 10 ²	0,718 - 1,72 X 10 ²
COLETA APÓS MIC (S4)	Mediana EU/mL		3,615
	Média EU/mL		22,2689
	Range*		0,49 - 1,46 X 10 ²

* Valores máximos e mínimos.

Fonte: Elaborado pelo autor.

A figura 20 ilustra os níveis de endotoxinas após a abertura coronária (**1ª Coleta**), após PBM (**2ª Coleta**), após o uso de EDTA 17% (**3ª Coleta**) e após o uso de MIC (**4ª Coleta – SM**) para cada um dos pacientes em ambos os grupos estudados.

Figura 20- Níveis de endotoxinas (EU/mL) nas coletas dos grupos SU e SM



Legenda: Níveis de endotoxinas (EU/mL) nas coletas, para cada grupo experimental em 20 dentes com necrose pulpar e presença de lesão periapical.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Analisando a Tabela 7 e a Figura 20, é possível verificar que houve redução dos níveis de endotoxinas após PBM (**2ª Coleta**) utilizando NaOCl 2,5% como solução irrigadora. Nos casos em que houve **4ª coleta** (SM) houve diminuição na média dos níveis de endotoxinas (EU/mL) ao se comparar com a **3ª coleta** no mesmo grupo.

Para o grupo de sessão única, o comportamento de redução dos níveis de endotoxinas observado foi: **1ª Coleta (S1) > 2ª Coleta (S2) = 3ª Coleta (S3)**. Os níveis de endotoxinas (EU/mL) reduziram entre **S1 e S2** ($p=0,012$) e entre **S1 e S3** ($p = 0,010$), sendo que não houve diferença entre **S2 e S3** ($p=0,376$).

Já para o grupo de sessão múltipla, o comportamento de redução dos níveis de endotoxinas observado foi: **1ª Coleta (S1) > 2ª Coleta (S2) = 3ª Coleta (S3) = 4ª Coleta (S4)**. Os níveis de EU/mL reduziram entre **S1 e S2** ($p=0,023$), entre **S1 e S3** ($p=0,019$) e entre **S1 e S4** ($p=0,019$), sendo que não houve diferença entre **S2 e S3** ($p=0,495$), entre **S2 e S4** ($p=0,633$) e entre **S3 e S4** ($p=0,139$).

A tabela 8 é referente aos níveis de endotoxinas (EU/mL) em $\log_{10}$ nas diferentes coletas e a figura 21 mostra a diferença entre os níveis de endotoxinas (EU/mL) entre as coletas iniciais e finais.

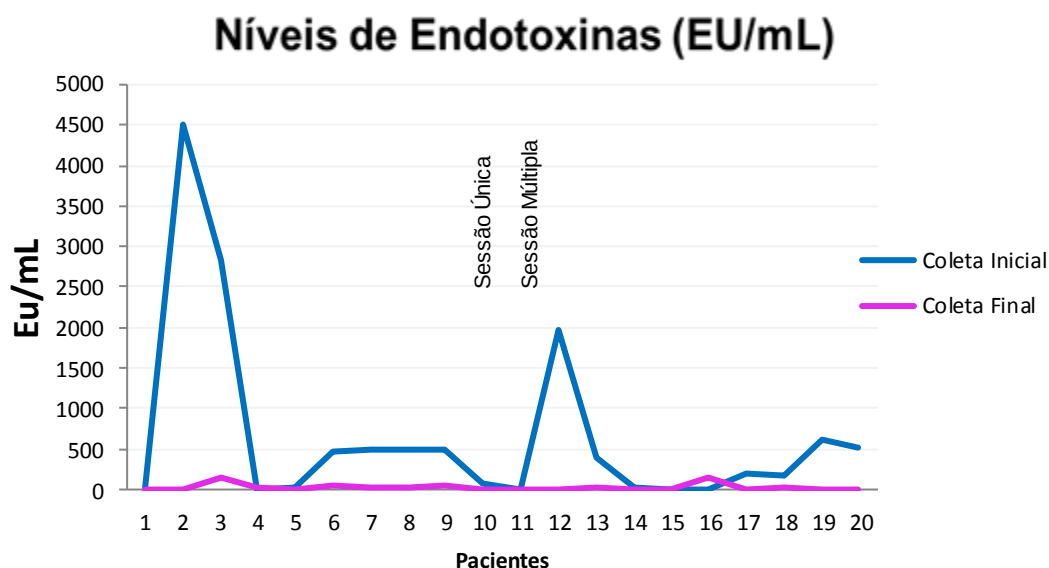
Tabela 8 - Níveis de endotoxinas (EU/mL) em $\log_{10}$ nos diferentes tempos de coletas, para cada grupo experimental

Grupos		S1	S2	S3	S4
		EU/mL $\pm$ Desv. Pad.	EU/mL $\pm$ Desv. Pad.	EU/mL $\pm$ Desv. Pad.	EU/mL $\pm$ Desv. Pad.
Sessão Única	10	2,33 $\pm$ 0,94 ^A	1,12 $\pm$ 0,60 ^B	1,28 $\pm$ 0,54 ^B	
Sessão Múltipla	10	1,88 $\pm$ 1,08 ^A	0,93 $\pm$ 1,05 ^B	1,19 $\pm$ 0,78 ^B	0,76 $\pm$ 0,74 ^B

Legenda: Valores transformados em $\log_{10}$ de EU/mL e desvio padrão das coletas para sessão única e múltipla sessão.*Letras maiúsculas são referentes comparações feitas na mesma linha.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 21- Níveis de endotoxinas (EU/mL) na coleta inicial e final SU e SM



Legenda: Coletas iniciais (**S1**) e coletas finais (**S3** para SU e **S4** para SM).
 Fonte: Elaborado pelo autor.

Somente o tempo operatório (**Inicial x Final**) influenciou os resultados ($p=0,00062$), sendo que tipo de tratamento ($p=0,092$) e a interação de fatores ($p=0,884$) não influenciaram nos resultados. Os valores finais de endotoxina foram inferiores aos valores iniciais para ambos os tratamentos testados (Tabela 9).

Tabela 9 - Níveis de endotoxinas (EU/mL) para as coletas iniciais e finais em ambos grupos experimentais

Grupos		Coleta Inicial (S1)	Coleta final (S3 para SU e S4 para SM)
		EU/mL $\pm$ Desv. Pad.	EU/mL $\pm$ Desv. Pad.
Sessão Única	10	2,329164 $\pm$ 0,937119 ^{Aa}	1,279206 $\pm$ 0,543758 ^{Ab}
Sessão Múltipla	10	1,884071 $\pm$ 1,075553 ^{Aa}	0,756334 $\pm$ 0,736342 ^{Ab}

Legenda: Comparação entre coletas iniciais (**S1**) e coletas finais (**S3** para sessão única e **S4** para sessão múltipla). *Letras maiúsculas são referentes comparações feitas na mesma linha e letras minúsculas na mesma coluna.

Fonte: Elaborado pelo autor.

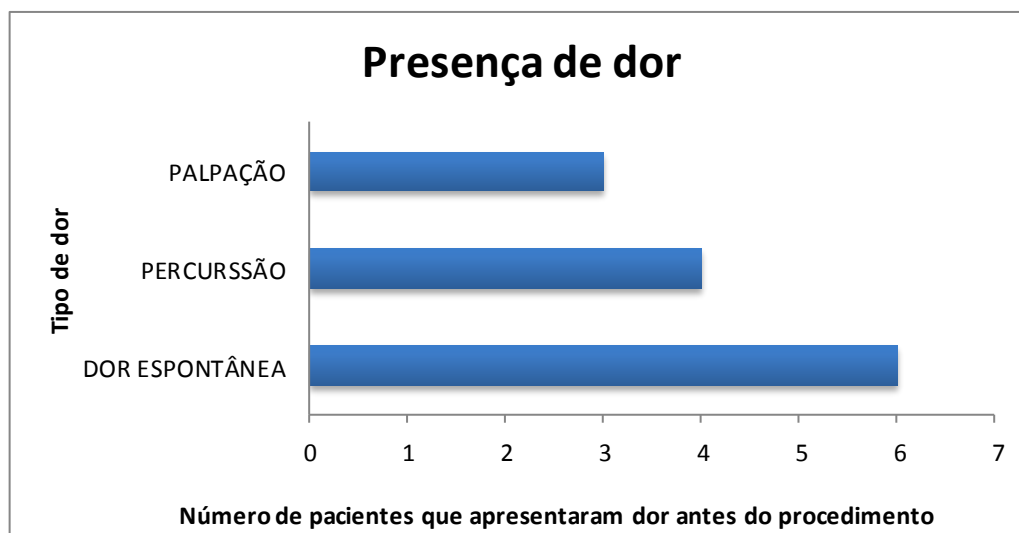
5.2 Sinais, sintomas clínicos e condições dos dentes tratados

Dos 20 dentes unirradiculados com necrose pulpar e lesão periapical visível radiograficamente, seis foram incisivos centrais superiores (6/20), seis incisivos laterais superiores (6/20), dois caninos superiores (2/20), dois caninos inferiores (2/20) e quatro pré-molares inferiores (4/20).

5.2.1 Presença e tipo de dor antes da realização do tratamento

Na anamnese e exame clínico verificou-se que 6/20 dentes relataram dor prévia. Durante o atendimento, 3/20 dor a palpação apical e 4/20 relataram dor à percussão vertical (Figura 22).

Figura 22 – Presença de dor relatada pelos pacientes no início do tratamento



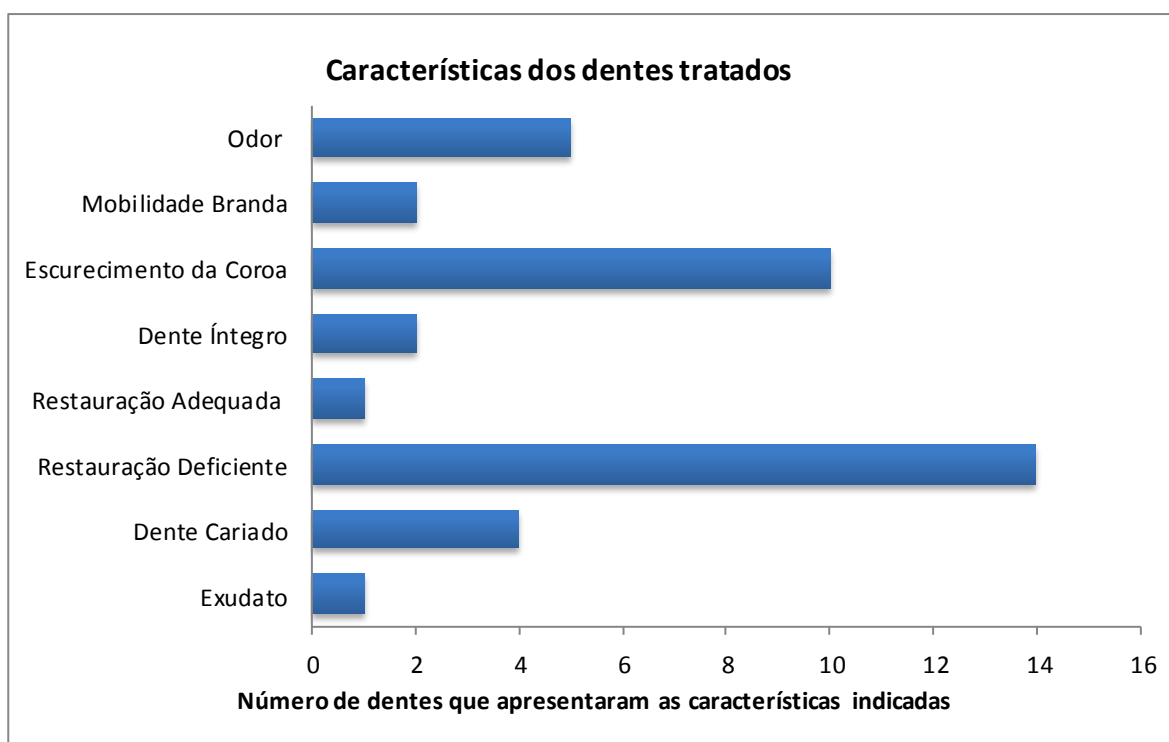
Fonte: Elaborado pelo autor.

5.2.2 Condições do dente a ser tratado

Pela análise clínica e radiográfica, verificou-se presença de restauração definitiva adequada em 1/20 dentes, restauração definitiva inadequada em 14/20, 4/20 presença de cárie e 2/20 dentes íntegros.

Observou-se ainda que 10/20 dentes apresentavam escurecimento na coroa, 2/20 apresentavam mobilidade leve. Além disso, 5/20 dentes apresentaram mau cheiro durante a abertura coronária e 1/20 apresentava exsudato após abertura coronária (Figura 23).

Figura 23 - Condições da coroa dos dentes submetidos aos tratamentos



Fonte: Elaborado pelo autor.

5.3 Relação entre sinais e sintomas com níveis de endotoxinas, carga microbiana e volumetria de lesão e canais por TCFC

Os níveis de endotoxinas variaram entre $0,39 - 4,51 \times 10^3$ EU/mL, microrganismos cultiváveis entre $0 - 1,7 \times 10^6$ UFC/mL, volume dos canais radiculares entre $0 - 60 \text{ mm}^3$ e volumes iniciais das lesões periapicais de $20 - 280 \text{ mm}^3$.

Após análise estatística pode-se observar que houve correlação da presença de dor espontânea com a volumetria inicial da lesão ($p=0,012$), não havendo correlação com outros parâmetros [endotoxinas inicial (EU/mL); UFC/mL aeróbios e volumetria dos canais radiculares (mm^3)]. Já para dor à palpação, a volumetria da lesão também foi o único fator correlacionado ($p=0,028$).

A análise estatística resultou em correlação *boderline* entre a presença de dor espontânea e UFC/mL para micro-organismos anaeróbios ($p=0,057$). Não houve correlação entre as características clínicas de percussão e presença de exsudato com as variáveis analisadas.

Tabela 10 - Relação entre sinais e sintomas com volumetria de lesão e canais (mm^3), UFC/mL e EU/mL

Dor espontânea	x	Vol. Inicial Lesão (mm^3)	SIM
	x	Vol. Canal (mm^3)	NÃO
	x	UFC/mL	NÃO
	x	EU/mL	NÃO
Dor à Percussão	x	Vol. Inicial Lesão (mm^3)	NÃO
	x	Vol. Canal (mm^3)	NÃO
	x	UFC/mL	NÃO
	x	EU/mL	NÃO
Dor à palpação	x	Vol. Inicial Lesão (mm^3)	SIM
	x	Vol. Canal (mm^3)	NÃO
	x	UFC/mL	NÃO
	x	EU/mL	NÃO
Exsudato	x	Vol. Inicial Lesão (mm^3)	NÃO
	x	Vol. Canal (mm^3)	NÃO
	x	UFC/mL	NÃO
	x	EU/mL	NÃO

Fonte: Elaborado pelo autor.

5.4 Relação dos níveis de endotoxinas (EU/mL), carga microbiana, características da coroa, volumetria inicial da lesão periapical (mm³) e dos canais radiculares (mm³) através do uso de TCFC

Seguindo a mesma análise estatística do item anterior, pode-se observar que para a presença de restauração deficiente houve correlação do UFC/mL inicial de micro-organismos aeróbios ($p=0,025$). Por outro lado, a presença de restauração deficiente com a volumetria do canal apresentou correlação inversa, sendo que sua presença está relacionada a volumes reduzidos do canal radicular (mm³) ($p=0,035$).

Ao se analisar a mobilidade branda do elemento dental, houve correlação da mesma com UFC/mL inicial de micro-organismos aeróbios ($p=0,042$).

Quanto ao escurecimento da coroa, observamos que houve correlação positiva com a volumetria do canal (mm³) ($p=0,036$). Quanto maior o escurecimento da coroa, maiores foram os volumes dos canais radiculares encontrados.

Não houve correlação entre a presença de dente íntegro ou odor com as características iniciais estudadas [endotoxinas inicial (EU/mL); UFC/mL aeróbios e anaeróbios inicial e volumetria dos canais radiculares (mm³)].

Tabela 11 - Relação condições dos dentes tratados com volumetria de lesão e canais (mm³), UFC/mL e EU/mL

Restauração Insatisfatória	x	Vol. Inicial Lesão (mm ³)	SIM
	x	Vol. Canal (mm ³)	SIM
	x	UFC/mL	NÃO
	x	EU/mL	NÃO
Mobilidade	x	Vol. Inicial Lesão (mm ³)	NÃO
	x	Vol. Canal (mm ³)	NÃO
	x	UFC/mL	SIM
	x	EU/mL	NÃO
Escurecimento da Coroa	x	Vol. Inicial Lesão (mm ³)	NÃO
	x	Vol. Canal (mm ³)	SIM
	x	UFC/mL	NÃO
	x	EU/mL	NÃO
Odor	x	Vol. Inicial Lesão (mm ³)	NÃO
	x	Vol. Canal (mm ³)	NÃO
	x	UFC/mL	NÃO
	x	EU/mL	NÃO

Fonte: Elaborado pelo autor.

5.5 Controle Clínico, Radiográfico e Tomográfico após um ano de tratamento

Neste estudo, após um ano de tratamento, os pacientes foram novamente contactados para a realização de controle clínico, radiográfico e tomográfico. Do total dos 20 pacientes atendidos neste estudo, entramos em contato com todos por meio de telefonema e/ou cartas e 19 compareceram para a realização do controle. Sendo que 10 foram do grupo de sessão múltipla e 9 do grupo de sessão única.

Para cada paciente foi realizado exame tomográfico, radiografia periapical digital e exame objetivo e subjetivo (APÊNDICE F). Foi avaliada presença de dor, características do dente tratado (condições da restauração, cor da coroa) e se houve regressão na lesão pela radiografia, o que posteriormente foi comprovado pelo exame tomográfico, realizado no mesmo dia.

Posteriormente, os pacientes assinaram o termo e foram encaminhados para atendimento odontológico de acordo com a necessidade.

5.5.1 Sinais e sintomas clínicos após um ano de tratamento

Dos 19 pacientes que compareceram ao acompanhamento, 3 apresentaram dor após o procedimento, sendo que 1 era do grupo de sessão múltipla e 2 do grupo de sessão única, sendo que não houve diferença estatística entre os grupos quanto a presença de dor após um ano de tratamento ($p=0,466$).

Tabela 12 – Pacientes que apresentaram dor após finalização do tratamento

Pacientes (n=20)	Sessão Única	Sessão Múltipla
Pacientes incluídos no tratamento	10	10
Pacientes Acompanhados	9	10
Pacientes que apresentaram dor	2	1

Legenda: Pacientes que foram acompanhados e relataram dor após finalização do tratamento.

Fonte: Elaborado pelo autor.

5.5.2 Condições e aspectos da Coroa após um ano de tratamento

Quanto às condições da coroa e de higiene, ao realizar o acompanhamento, 5/10 pacientes apresentavam condições de higiene e restaurações fraturadas ou com reicidiva de cárie no grupo de sessão múltipla e 5/9 no grupo de sessão única (Tabela 11). Sendo que os pacientes cuja condição de higiene foi considerada insatisfatória passaram por orientação sobre higiene bucal, e aqueles cujas restaurações fraturaram ou ocorreu reicidiva de cárie foram encaminhados para a clínica de Dentística ou de Prótese do Departamento de Odontologia Restauradora do Instituto de Ciência e Tecnologia da UNESP para a realização novas restaurações e habilitação protética.

Tabela 13 – Condições de coroa e higiene dos pacientes após acompanhamento de um ano de tratamento

Pacientes (n=20)	Sessão Única	Sessão Múltipla
Pacientes incluídos no tratamento	10	10
Pacientes acompanhados	9	10
Condição de higiene deficiente e restauração insastifatória	5	5

Legenda: Pacientes que foram acompanhados suas as respectivas condições da coroa e higiene após finalização do tratamento.

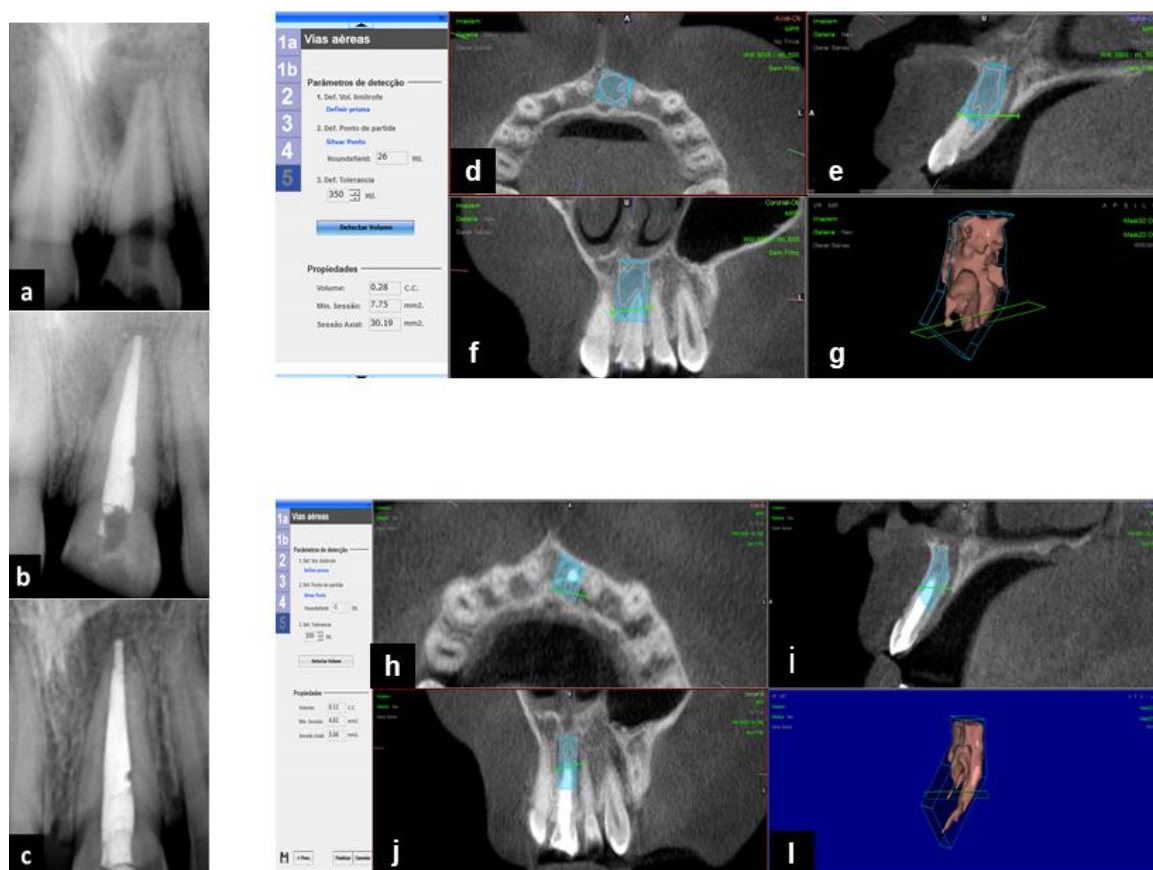
Fonte: Elaborado pelo autor.

5.5.3 Controle radiográfico e tomográfico após um ano de tratamento

Foi verificado na radiografia periapical que todos os casos apresentaram aparente regressão da lesão, independente do grupo, após o período de um ano.

Após análise tomográfica e mensuração da volumetria da lesão periapical (mm³), não foi observada essa correspondência (Figuras 24 e 25).

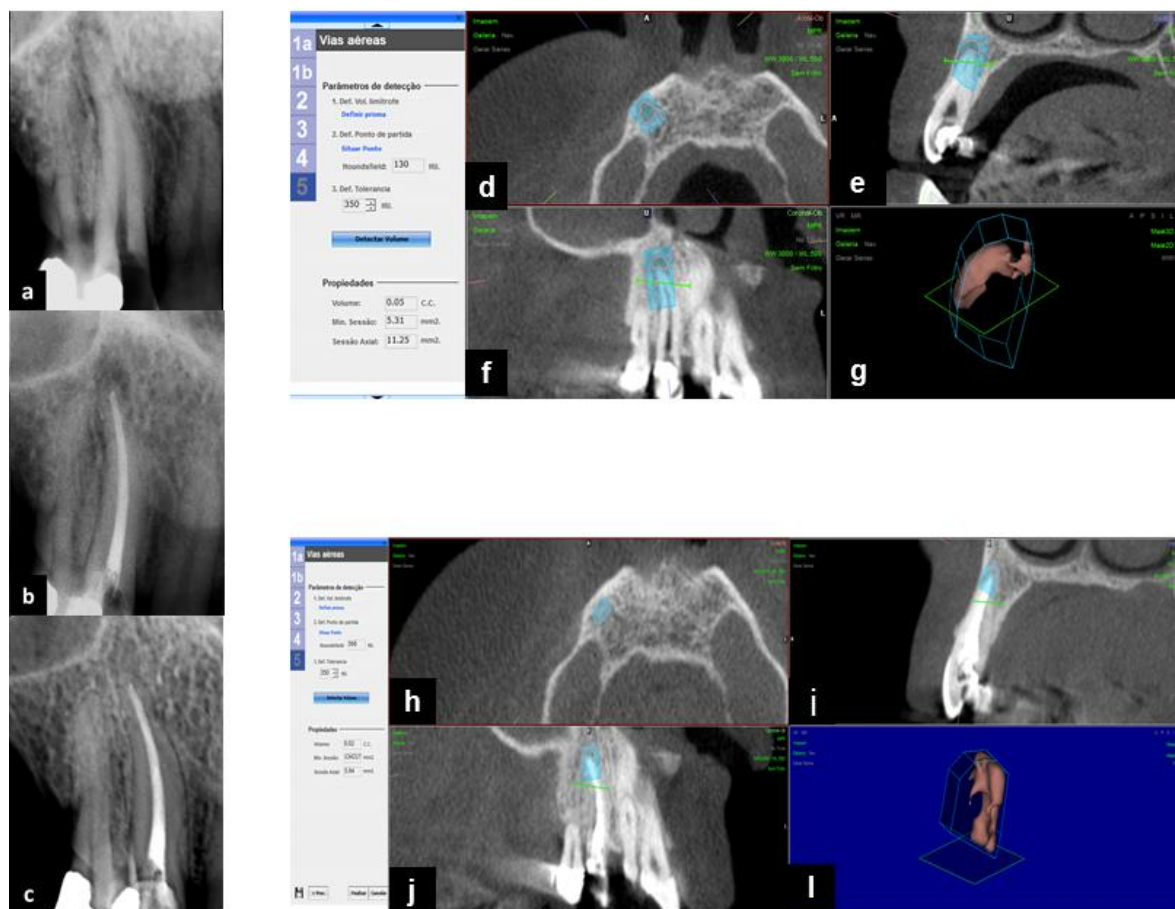
Figura 24 – Imagens Radiográficas e tomográficas de paciente



Legenda: Paciente, leucoderma, 16 anos, sexo masculino. Apresentava lesão periapical decorrente de necrose após trauma no elemento 21. Foi realizado tratamento em sessão única. a) Radiografia inicial do elemento 21; b) radiografia final do elemento 21; c) radiografia de controle um ano após o tratamento do elemento 21. Imagens do exame tomográfico antes do tratamento d) plano axial; e) plano sagital; f) plano coronal; g) reconstrução 3D da radiolucência periapical. Imagens do exame tomográfico após um ano de tratamento. h) plano axial; i) plano sagital; j) plano coronal; l) reconstrução 3D da radiolucência periapical.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 25 – Imagens Radiográficas e tomográficas de paciente



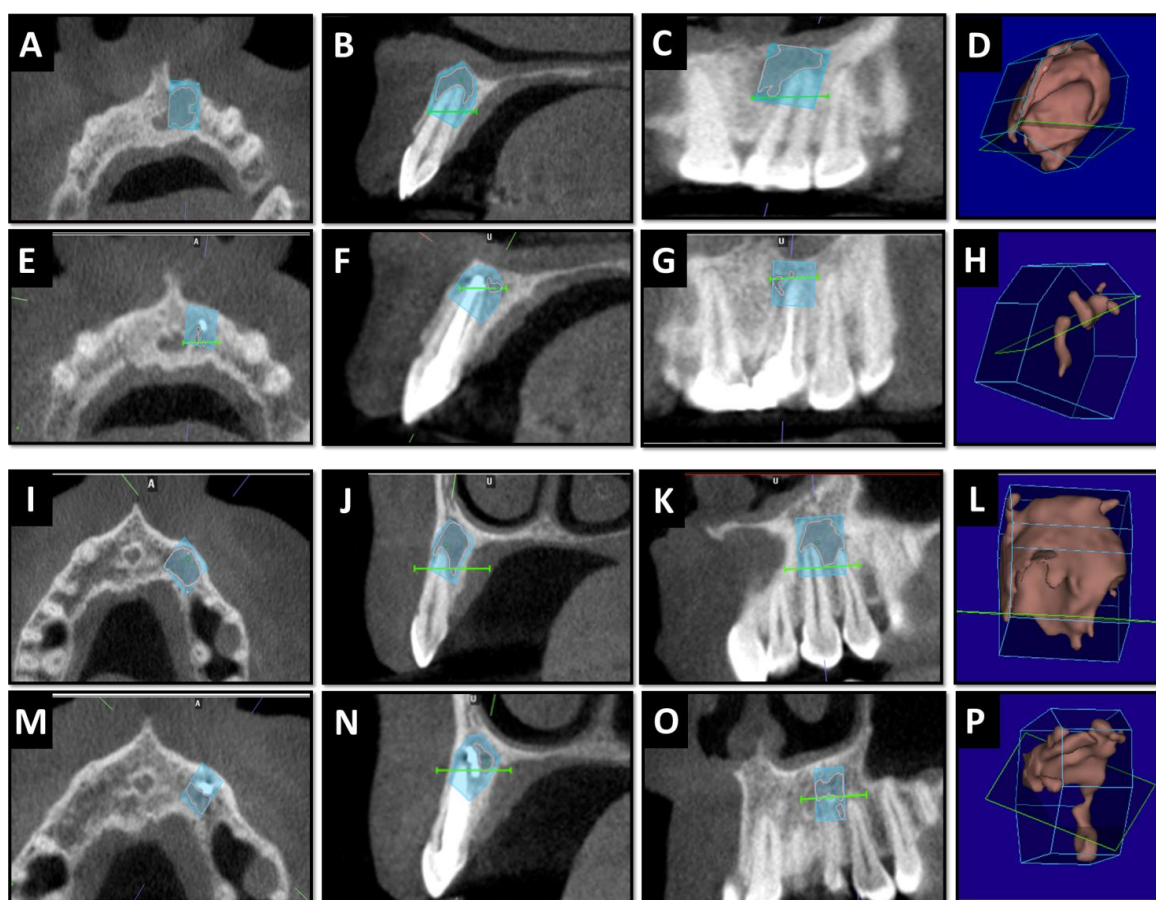
Legenda: Paciente, leucoderma, 50 anos, sexo feminino. Apresentava lesão periapical no elemento 13. Foi realizado tratamento em sessão única. Foi realizado tratamento em sessão única. a) Radiografia inicial do elemento 13; b) radiografia final do elemento 13; c) radiografia de controle um ano após o tratamento do elemento 13. Imagens do exame tomográfico antes do tratamento d) plano axial; e) plano sagital; f) plano coronal; g) reconstrução 3D da radiolucência periapical. Imagens do exame tomográfico após um ano de tratamento. h) plano axial; i) plano sagital; j) plano coronal; l) reconstrução 3D da radiolucência periapical.

Fonte: Elaborado pelo autor.

A volumetria inicial das lesões variou de 10 a 280 mm³, sendo de 10 a 280 mm³ para o grupo de sessão única e de 20 a 220 mm³ para o grupo de múltiplas sessões. A volumetria final das lesões variou de 0 a 160 mm³, sendo 0 a 110 mm³ para o grupo de sessão única e de 10 a 160 mm³ para os grupos de múltiplas sessões. Houve regressão significativa das lesões periapicais em ambos os grupos ($p < 0,001$), exceto em um paciente do grupo de sessão múltipla, no qual o volume inicial era de 20 mm³ e passou para 30 mm³. Este paciente em questão

foi encaminhada para a clínica de Endodontia da Pós-Graduação. A figura 26 representa os cortes iniciais e finais e a imagem 3D das lesões periapicais em um paciente de SM e SU e a figura 27 contém os valores iniciais e finais para 19 pacientes que compareceram após controle de um ano nos grupos estudados.

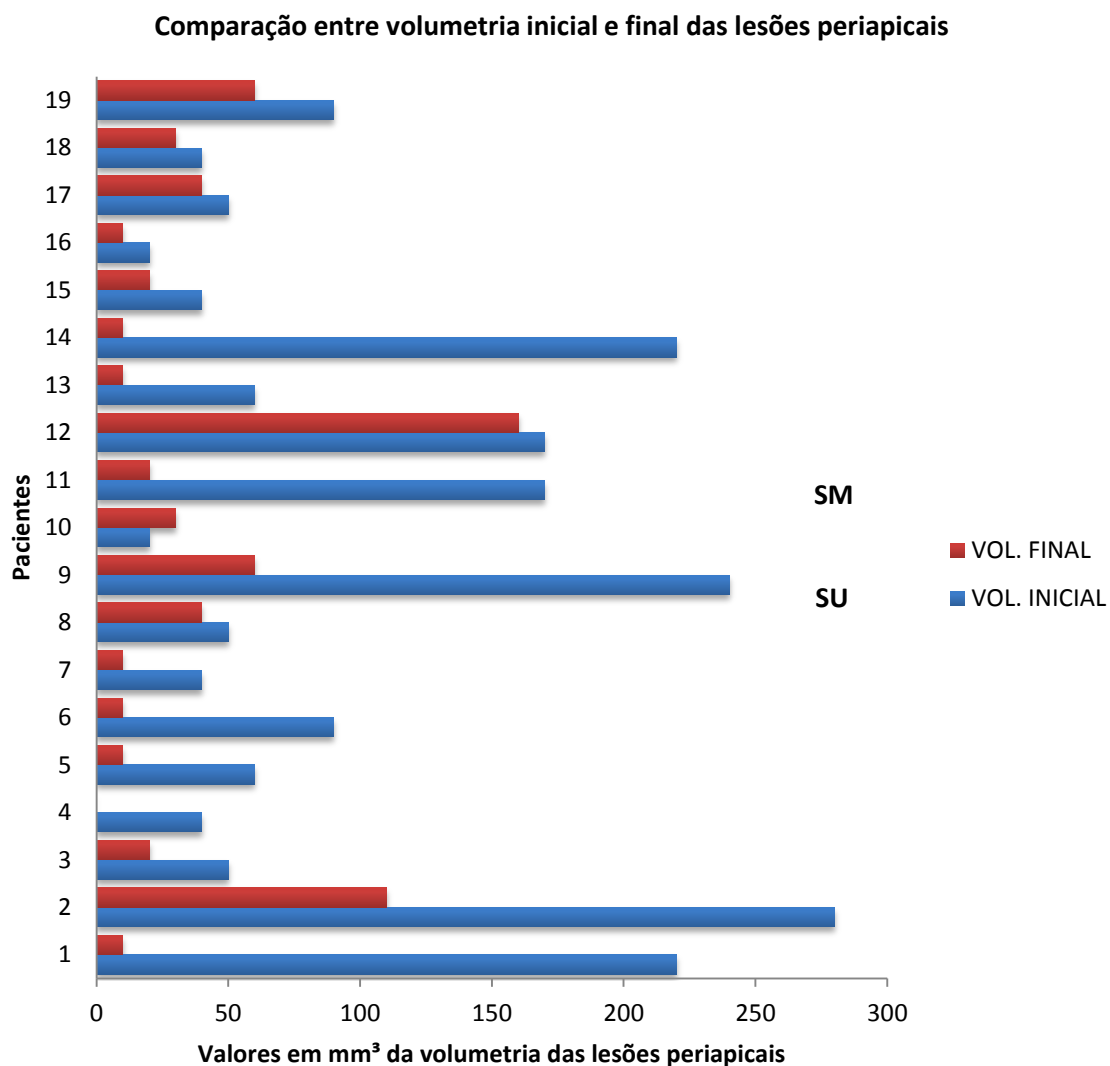
Figura 26 – Cortes tomográficos iniciais e após um ano do tratamento (SM e SU)



Legenda: Segmentação 2D da lesão periapical inicial em plano axial (A), plano coronal inicial (B), plano sagital inicial (C) e reconstrução 3D da lesão periapical (D) plano axial após um ano (E), plano coronal após um ano (F), plano sagital após um ano (G), reconstrução 3D da lesão periapical após um ano de acompanhamento (H) em paciente do grupo SM. Segmentação 2D da lesão periapical inicial em plano axial (I), plano coronal inicial (J), plano sagital inicial (K) e reconstrução 3D da lesão periapical (L) plano axial após um ano (M), plano coronal após um ano (N), plano sagital após um ano (O), reconstrução 3D da lesão periapical após um ano de acompanhamento (P) em paciente do grupo SU.

Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 27 - Comparação entre a volumetria inicial e final das lesões periapicais (mm³)



Fonte: Elaborado pelo autor.

5.6 Alteração da volumetria da lesão periapical (mm³) em função do tipo de tratamento endodôntico

O tipo de tratamento não teve influencia na redução da volumetria de lesão ($p=0,675$), uma vez que a alteração da volumetria ocorreu nos dois tratamentos ($p<0,001$), após um ano do tratamento. A interação de fatores não teve diferenças estatisticamente significantes ($p=0,258$).

Tabela 14 – Média dos volumes iniciais e finais (mm³) das lesões periapicais

Grupos		Volumetria Inicial mm ³ ± Desv. Pad.	Volumetria Final mm ³ ± Desv. Pad.
Sessão Única	10	118,9 ± 98,2 ^A	30 ± 35,4 ^A
Sessão Múltipla	10	88 ± 72,2 ^A	39 ± 45,3 ^A

Fonte: Elaborado pelo autor.

A porcentagem da média de redução da volumetria da lesão para a **SU** foi de 73,5% ± 24,3 e para **SM** a redução foi de 41,1% ± 44,0, não havendo diferença entre os dois tipos de tratamento (p=0,063).

5.7 Alteração da volumetria da lesão periapical (mm³) em função da carga microbiana (UFC/mL) e níveis de endotoxinas (EU/mL)

Não houve correlação entre os níveis de endotoxinas iniciais com a redução da volumetria das lesões periapicais (mm³) após um ano, (r=- 0,06), sendo esta considerada uma correlação desprezível. A correlação entre a redução da volumetria das lesões periapicais (mm³) com os níveis de endotoxinas antes da obturação (S3 e S4, para SU e SM, respectivamente) foi considerada desprezível (r=-0,0914).

Ao se comparar a carga microbiana (UFC/mL) inicial com a redução da volumetria das lesões periapicais (mm³) a correlação é desprezível para micro-organismos aeróbios (r=-0,24) e anaeróbios (r=-0,08). Sendo que a correlação entre UFC/mL antes da obturação com a redução da volumetria das lesões periapicais também foi desprezível para micro-organismos aeróbios (r=-0,172) e anaeróbios (r=-0,19).

6 DISCUSSÃO

O direcionamento do tratamento endodôntico tem apresentado mudanças que implicam em menor custo e menor tempo clínico sem alterar a qualidade dos mesmos. Assim, a realização do tratamento em sessão única foi largamente difundida entre acadêmicos e profissionais.

As infecções endodônticas são de caráter polimicrobiano, com predominância de bactérias anaeróbias, variando de 10 a 30 espécies por canal (Siqueira, Roças, 2005). Algumas bactérias anaeróbias desempenham função no estabelecimento da patogênese das infecções inflamatórias periapicais (Jacinto et al., 2003; Gomes et al., 2004), estando relacionadas a canais radiculares necrosados e a formação de lesão periapical visível radiograficamente (Sundqvist, 1992; Assed et al., 1996). Verificou-se no presente estudo que nas coletas iniciais bactérias cultiváveis estavam presentes nos canais radiculares e o número de UFC/mL por canal radicular foi de 0 a $1,7 \times 10^6$ UFC/mL, o que pode ser comparado a estudos prévios (Xavier et al., 2013). Ademais, as bactérias anaeróbias Gram-negativas possuem em sua parede celular lipopolissacarídeos (LPS), associados ao desenvolvimento de dor espontânea (Horiba et al., 1991; Khabbaz et al., 2001, Jacinto et al., 2005) dor à palpação (Jacinto et al., 2005), dor à percussão (Martinho, Gomes, 2008) e exsudato purulento (Cardoso et al., 2015).

Para que as bactérias sejam eliminadas do SCR, simultaneamente a instrumentação, substâncias químicas auxiliares e medicações intracanaís são utilizadas, a exemplo do hipoclorito de sódio (NaOCl) e do hidróxido de cálcio $[Ca(OH)_2]$, respectivamente.

O hipoclorito de sódio é amplamente utilizado pela sua capacidade de dissolver tecido necrótico, possuir baixa tensão superficial, ação detergente (Haapasalo et al., 2005) e atividade antimicrobiana (Valera et al., 2009). No entanto o NaOCl é incapaz de remover a camada de *smear layer* (Valera et al., 2010), sendo necessária a utilização do EDTA com o intuito de aumentar a limpeza das paredes do canal radicular (Haapasalo et al., 2010). Além disto, o preparo biomecânico com NaOCl não é capaz de eliminar totalmente as

endotoxinas (de Oliveira, 2007; Maekawa et al., 2013; Xavier et al., 2013). Desta forma, durante anos foi proposta a utilização de medicação intracanal para potencializar a desinfecção do sistema de canais radiculares e impedir que os micro-organismos se multipliquem no intervalo entre sessões de tratamento em situações em que há a necessidade de interrupção do mesmo (Bystrom, Sundqvist, 1981, 1983; Bystrom et al., 1985; Valera et al, 2009; Ferreira et al., 2015), sendo o hidróxido de cálcio amplamente utilizado devido suas propriedades antimicrobianas, associada a seu alto pH (Salgado et al., 2009) e sua ação sobre endotoxinas, neutralizando parcialmente seus efeitos biológicos (Safavi, Nichols, 1993, 1994).

No presente estudo foi proposto avaliar a carga microbiana (UCF/mL) e os níveis de endotoxinas (EU/mL) antes e após o preparo biomecânico com NaOCl, após o uso de EDTA 17% e após o uso de medicação intracanal, nos casos de sessão múltipla.

Foram incluídos somente dentes permanentes e uniradiculares, com necrose pulpar e com presença de lesão periapical a fim de comparar os protocolos SU x SM. Foram seguidos todos os métodos e inclusão e exclusão propostos, sendo que inicialmente, foram triados 411 pacientes, mas somente foram recrutados para este estudo 20 voluntários. Ademais, para que os resultados fossem o mais reprodutível possível, a divisão dos grupos experimentais foi realizada através de randomização por sorteio, como sugerido no *Consort 2010 - Consolidated Standards of Reporting Trials* (Schulz, 2010).

O sistema de instrumentação utilizado neste trabalho foi o Reciproc® (VDW, Munich, Germany), sendo que a instrumentação foi realizada em terços no sentido coroa-ápice, associado com irrigação de NaOCl 2,5%. A instrumentação por lima única através do movimento recíproco é uma escolha segura, uma vez que diminui o estresse gerado ao instrumento, além de apresentar como grande vantagem a redução do tempo necessário para a realização do preparo.

Os resultados deste estudo demonstraram que após o preparo biomecânico houve uma redução de micro-organismos aeróbios e anaeróbios em ambos os grupos estudados, sendo que não houve diferença entre a coleta após preparo biomecânico e após EDTA (S3). Também observou-se que não houve diferença na redução de microrganismos cultiváveis após a utilização da

medicação intracanal (S4 no grupo SM). Observou-se ainda aumento de bactérias cultiváveis após medicação intracanal em alguns casos no grupo múltiplas sessões, o que sugere a ocorrência de contaminação entre as sessões de tratamento.

Endotoxinas foram encontradas em todas as amostras coletadas dos canais infectados, sendo que seus níveis (EU/mL) variaram entre 0,39 – 4,51 x 10³ EU/mL.

Após o preparo biomecânico com NaOCl houve uma redução significativa nos níveis de endotoxinas (EU/mL). Isso se deve a ação dos instrumentos nas paredes de dentina auxiliada pela solução irrigadora. Estudos prévios mostraram redução nos níveis de endotoxinas após preparo com instrumentação manual e rotatória associado ao NaOCl (Xavier et al., 2013; Cardoso et al., 2015). Para o grupo de sessão única, o comportamento de redução dos níveis de endotoxinas observado foi: S1 > S2 = S3. Já, para o grupo de sessão múltipla, após o uso de medicação intracanal [Ca(OH)₂], houve uma diminuição de entre os níveis de endotoxinas, mas sem diferença estatística entre a 4^a coleta (após MIC) e a 2 e 3^a Coletas (S1 > S2 = S3 = S4). O mesmo ocorreu com a carga microbiana (UCF/mL), sugerindo que a maior eliminação dos micro-organismos e seus produtos foi após o preparo biomecânico.

As taxas de sucesso para o tratamento endodôntico variam de 81 a 97 % (Kerekes K, Tronstad L, 1979; Friedman, 2003); sendo que o sucesso é determinado com base em achados clínicos e radiográficos do dente tratado endodonticamente (Strindberg, 1956), considerando-se sucesso, portanto, a ausência de sinais e sintomas clínicos e a falta de evidência radiográfica de alterações periapicais (Soltanoff et al., 1978; Trope et al., 1999; Weiger et al., 2000; Wong et al. 2014).

O presente estudo avaliou a relação dos sinais e sintomas clínicos com os níveis de endotoxinas (EU/mL) e carga microbiana (UFC/mL) e não foi encontrada esta relação. Diferente de outros estudos (Cardoso et al., 2015) que observou que sinais e sintomas estão relacionados a presença de endotoxinas e dor espontânea e não foi encontrada esta relação, diferente de outros estudos como o de Cardoso et al. (2015) que verificaram a relação positiva entre os níveis de endotoxinas (EU/mL) e presença de dor prévia ao tratamento endodôntico. Foi

verificada relação *borderline* ($p=0,057$) de dor espontânea com micro-organismos anaeróbios, sendo que em se houvesse maior amostragem, esta relação estaria presente.

Na ausência de sinais e sintomas, as alterações patológicas dos tecidos periapicais são determinadas por critérios radiográficos. Porém, a interpretação radiográfica é um processo subjetivo, onde alterações ósseas podem não ser detectadas (Nicolopoulou-Karayianni et al. 2002). Desta forma, a análise tomográfica (TCFC) foi utilizada para avaliar o volume da destruição óssea periapical inicial a após um ano de tratamento. Ainda não existem estudos que formam respostas a longo prazo e com detalhes sobre o sucesso do tratamento endodôntico em uma ou mais sessões, seguindo um protocolo de atendimento, como realizado neste estudo.

Neste estudo pode-se observar que houve correlação da presença de dor espontânea ($p=0,012$) e dor a palpação ($p=0,028$) com a volumetria inicial da lesão (mm^3), uma vez que pacientes que relataram dor espontânea e dor à palpação durante o exame clínico eram aqueles que possuíam lesões de maior volume. Isto ocorre, pois a reação inflamatória, especialmente induzida por LPS de micro-organismos anaeróbios gram negativos induz a infiltração de leucócitos nos tecidos e reabsorção óssea (Yamasaki et al., 1992).

Foi verificada correlação positiva entre a presença de restauração deficiente com a carga inicial de micro-organismos aeróbios ($p=0,025$) e com a volumetria da lesão periapical (mm^3) ($p=0,035$).

Além disto a qualidade da restauração após um ano de tratamento influencia no resultado do mesmo. Para Imura et al (1998), a restauração definitiva, após o tratamento endodôntico, fornece selamento coronário, evitando a microinfiltração coronária, além de proteger a estrutura dental remanescente e restabelecer as funções mastigatórias e estéticas.

Observou-se que houve correlação positiva entre maior volume dos canais radiculares (mm^3) e a presença de escurecimento da coroa ($p=0,036$). Isto pode ser devido a maior quantidade de matéria orgânica decomposta em função da cavidade pulpar, o que leva a um maior escurecimento coronário.

Quanto a dor pós-tratamento endodôntico, verificou-se que apenas três pacientes relataram desconforto pós-operatório, sendo 1 do grupo SM e 2 dos grupos SU. Risso et al. (2008) avaliou 121 pacientes em seu estudo, obtendo como resposta maior índice de dor pós-obturação nos casos de sessão múltipla, porém sem relevância estatística entre os grupos. Outros estudos também verificaram não haver diferença entre o tratamento em SU e SM (DiRenzo et al., 2002; El Mubarak et al., 2010; Wong, 2014, 2015).

Ainda, não foi encontrada correla o entre a condi o inicial do canal radicular com a carga microbiana e níveis de LPS com a regressão da lesão periapical. Também não foi verificada correla o com os níveis de LPS e de micro-organismos antes da obtura o (S3 para SU e S3 para SM) com o sucesso após um ano do tratamento. Assim, a possibilidade de que os casos tratados em múltipla sessão permitiriam um melhor reparo da lesão periapical quando comparados aos casos de sessão única não foi suportada neste estudo, pois não houve diferença estatística entre os grupos de estudo, o que foi confirmado ao final deste projeto com o controle tomográfico de um ano. Inclusive, em nossos resultados, pode-se observar que houve maior redu o no volume das lesões periapicais nos casos de sessão única (73,5%) ao se comparar com o tratamento em múltiplas sessões (41,1%).

Este trabalho foi consistente com outros estudos clínicos realizados anteriormente (Weiger, 2000; Peters, 2002; Penesis et al., 2008; Paredes-Vieyra, 2012; Wong et al. 2014, 2015), onde não houve diferença estatística entre o tratamento e sessão única e múltiplas sessões, diferentemente de Trope, 1999, que em seu estudo clínico avaliou radiograficamente o reparo de lesões periapicais em dentes tratados em única ou múltiplas sessões e verificou que a taxa de sucesso foi 10% maior em casos de sessão múltipla, onde o Ca(OH)_2 foi utilizado como medica o intracanal.

Nossos resultados confirmam que a instrumenta o dos canais radiculares e a neutraliza o do conteúdo necrótico foram o “ponto chave” para que ocorresse a regressão das lesões periapicais.

Weiger et al. 2000 afirmam que o tratamento em sessão única cria, dentro do ponto de vista microbiológico, um ambiente favorável para o reparo dos tecidos periapicais; não havendo diferenças significativas quando comparado com o

tratamento endodôntico em múltiplas sessões com o uso de medicação intracanal.

O diferencial deste estudo é a realização do controle tomográfico após um ano do tratamento, uma vez que a maioria dos estudos não avaliam estes resultados considerando a volumetria da lesão periapical inicial e após 12 meses. Trabalhos comprovaram que o uso da TCFC permite a detecção da radiolucência periapical antes que a mesma seja visível em radiografias convencionais (Estrela et al., 2008; Paula-Silva et al., 2009). Uma lesão periapical pode estar presente mesmo sem ser visível radiograficamente, uma vez que a imagem radiográfica corresponde a um aspecto em 2 dimensões (2D) de uma estrutura tridimensional (3D) (Bender, Seltzer, 1961).

Este estudo foi conduzido a fim de elucidar o direcionamento quanto à escolha de tratamentos em sessão única ou múltiplas sessões. O estudo foi realizado seguindo padronização nos procedimentos clínicos, radiográficos e laboratoriais que foram conduzidos da forma mais asséptica possível, evitando contaminação. A falta de diferença estatística na taxa de sucesso entre os grupos demonstra que a escolha pelo tratamento em sessão única ou múltiplas sessões deve seguir bom senso durante o tratamento, levando em consideração os sinais clínicos como exsudato e sintomatologia a fim de permitir maior conforto ao paciente e conseqüentemente, maior êxito do tratamento endodôntico.

7 CONCLUSÃO

Diante do exposto, pode-se concluir que:

- a) A carga microbiana e os níveis de endotoxinas diminuíram 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, Kataki 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 factores. *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, Heggers 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.

APÊNDICE A- Termo de consentimento livre e esclarecido



Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Caro(a) Senhor(a)

Eu, Marcia Carneiro Valera, professora Titular da Disciplina de Endodontia do Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos - UNESP, portadora do CPF 039.137.548-22, estabelecido à Avenida Eng. Francisco José Longo, 777, na cidade de São José dos Campos-SP, telefone para contato (12) 3947 9048, sou responsável pela pesquisa cujo título é **“Quantificação de endotoxinas e sua relação com sinais e sintomas: sessão única x múltipla sessão – controle com TCFC após um ano de tratamento”**.

O objetivo deste estudo é avaliar a eficácia de diferentes métodos de preparo que serão utilizados durante o tratamento de canal com a finalidade de eliminar microrganismos e produtos destes microrganismos, responsáveis pelas falhas no tratamento de canal. Para esta avaliação, será coletado material do interior do canal dos dentes a serem tratados e, em seguida, em laboratório, o material coletado será submetido a análise, avaliando os microrganismos e seus produtos presentes nos canais radiculares; estes serão identificados e quantificados durante o tratamento. Além dessas coletas, o tratamento de canal será realizado de forma convencional, utilizando equipamentos de última geração para otimizar o tratamento, buscando um resultado adequado e satisfatório.

O projeto proposto poderá acarretar em riscos mínimos ao paciente por se tratar de um procedimento invasivo; podem ocorrer imprevistos durante o atendimento em função do próprio tratamento. No caso de algum imprevisto, o paciente será amparado e receberá todos os cuidados necessários para controlar quaisquer eventualidades. Os medicamentos a serem utilizados possuem comprovação científica de ausência de efeitos tóxicos para o organismo. Além disso, todo o tratamento de canal será realizado dentro das normas de biossegurança e serão realizados por profissionais altamente capacitados; os resultados obtidos trarão benefícios para outras pessoas uma vez que a pesquisa irá gerar avanços científicos com melhoras no tratamento de canal realizado na atualidade. Serão necessários de 2 a 4 atendimentos (3 horas cada atendimento) até a conclusão do tratamento. O responsável pelo tratamento é a Cirurgiã Dentista, Especialista e aluna de Pós Graduação Cassia Cestari Toia, (celular: 55 (12) 981195219 email: cassia.cestai@outlook.com), e em caso de dúvida ou necessidade de intervenção, deve-se entrar em contato com ela, ou com outros participantes da pesquisa. Os pacientes serão chamados para acompanhamento radiográfico após 1 ano do tratamento finalizado.

Se houver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, o participante poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do ICT-UNESP, Av. Francisco José Longo, 777 – São Dimas – CEP: 12.245-000 – São José dos Campos – SP ou pelo telefone: (12) 3947-9028, e-mail: ceph@fosjc.unesp.br. Informo que será garantida a liberdade da retirada do consentimento a qualquer momento e assim deixar de participar do estudo. Também não haverá custo nem pagamento pela colaboração.

Acredito ter sido esclarecido(a) a respeito das informações que lerei para mim, descrevendo o estudo a ser realizado e concordo em receber atendimento em consultório odontológico. Declaro conhecer os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes, e que minha participação não implicará em nenhuma despesa.

NOME _____

RG _____ CPF _____

ENDEREÇO COMPLETO _____

Assinatura Paciente

Assinatura Pesquisador

APÊNDICE B - Termo de assentimento para menores de idade**Termo De Assentimento Para Menores De Idade**

Devido a sinais e sintomas identificados pelo Cirurgião Dentista e confirmados com radiografia, há a necessidade de realizar um tratamento de canal no dente envolvido. Esse tratamento é realizado em isolamento absoluto (uso de um lençol de borracha que evita que materiais e líquidos utilizados no dente caiam na boca), e o dente será aberto e limpo, colocado um medicamento no interior do dente, e em outra sessão, o dente será obturado e restaurado, impedindo que mais microrganismos entrem no dente envolvido, restaurando a saúde do paciente.

Acredito ter sido esclarecido(a) a respeito das informações que lerei para mim, descrevendo o estudo a ser realizado e concordo em receber atendimento em consultório odontológico. Declaro conhecer os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes, e que minha participação não implicará em nenhuma despesa.

NOME DO PACIENTE _____

RESPONSÁVEL _____

RG _____ CPF _____

ENDEREÇO COMPLETO _____

Assinatura Responsável_____
Assinatura Pesquisador_____
Assinatura do paciente

APÊNDICE C – Ficha clínica

Nome: _____

Data: ____/____/____ DENTE _____

HISTÓRIA MÉDICA

Estado de saúde geral:				
Medicamento em uso:				
() Diabete	() Hepatite	() Coração	Pressão:	() Sinusite
() Rim	() Alergia	() Úlceras	() Alcoolismo	() Fígado
() Doença mental	() Doenças sangue	() Outras		
Problemas com anestesia:				
Outros:				

HISTÓRIA CLÍNICA

Queixa principal:				
TIPO DE DOR	() Provocada	() Espontânea	() Intermitente	() Contínua
	() Localizada	() Difusa		
Tomou analgésico ou outro medicamento?				
A dor cessa com analgésico?				
Dói a quanto tempo?				

EXAME CLÍNICO LOCAL

() Dente cariado	() Dente restaurado	() Edema	() Alteração de cor	() Mobilidade
() Fístula	() Extrusão	() Oclusão	() Problema periodontal	

TESTES

() Frio	() Calor	() Palpação	() Percussão
----------	-----------	--------------	---------------

EXAME RADIOGRÁFICO

Câmara pulpar:	Canal radicular:
Estruturas adjacentes:	Diagnóstico provável:
Tratamento indicado:	

TRATAMENTO RADICAL

Medida aparente do dente no RX inicial:

Canal	Ponto de Referência	Comprimento real do instrumento ao ser retirado do canal:	Diferença entre ponta do instrumento ao ápice radicular:	Comprimento Real do canal (I.A.F.):	Comprimento de trabalho C.T. (I.A.I.):

Diâmetro do I.A.F. (nº do instrumento):
Diâmetro do I.A.I. (nº do instrumento):
Diâmetro cirúrgico do canal:
Escalonamento até:
Irrigação:
Curativo de demora:
Obturação (técnica e material):
Selamento:

DATA	TRATAMENTO	Visto Professor
OBS. Pós-operatória:		
Terapêutica sistêmica:		

CONTROLES RADIOGRÁFICOS

Data	Observações
1º	
2º	
3º	

APÊNDICE D – Meio de cultura

Fastidious Anaerobe Ágar (FAA – Neogen Corporation, Michigan, USA)

Preparo

Adicionar 23,0 g do pó em 500 mL de água deionizada. A suspensão deve ser mantida em repouso por 10 min e depois agitada. É esterilizada em autoclave a 121° C por 15 min e após resfriamento adicionado assepticamente 5% de sangue desfibrinado de carneiro.

Enriquecimento do Meio

Pesar 0,1 g de vitamina K1 e adicionar a um tubo contendo 100 mL de etanol absoluto. Armazenar o vidro em refrigerador, devidamente vedado e protegido da luz. Adicionar 1µL da solução a cada mL de meio produzido. Dissolver 0,5 g de Hemina em 10 mL de hidróxido de sódio 1 N. Completar com água destilada até atingir 100 mL. Autoclavar a 121° C por 15 min. Adicionar 1µL da solução a cada mL de meio produzido. O meio preparado deve ser armazenado em placas de petri por até 7 dias, em temperatura média de 4° C, fora do alcance de luz.

APÊNDICE E – Realização da curva padrão

- A) Ver certificado para conferência do número do lote e quantidade de volume para endotoxina.
- B) Colocar a quantidade de água apirogênica (Lonza, Walkersville, MD, EUA) de acordo com as instruções do fabricante na endotoxina de *E. coli*, encontrado no kit fornecido pela empresa (Figura A).



Figura A – Esquema para suspender endotoxina de *E. coli* utilizando água apirogênica.

- C) Agitar a suspensão durante 15 minutos.
- D) Separar 4 tubos de vidro apirogênicos, tamanho 13 mm x 100 mm (Lonza, Walkersville, MD, EUA), identificá-los de acordo com as diluições (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4}) e pipetar 900 μ L de água apirogênica em cada tubo de vidro (Figura B).



Figura B – Tubos de vidro apirogênicos necessários para diluição da endotoxina.

- E) Decorridos os 15 minutos, transferir 100 μ L da suspensão de endotoxina para o tubo “5” (referente à diluição 10^{-1}). Agitar 1 minuto, transferir 100 μ L para o próximo tubo “0,5” (referente à diluição 10^{-2}) e assim sucessivamente (Figura C).



Figura C – Esquema de diluições da endotoxina para realização da curva padrão.

APÊNDICE F - Ficha de preservação

Nome: _____

Data: _____ DENTE _____

PRESENÇA DE DOR OU DESCONFORTO:*Houve dor após a última sessão de tratamento?* () SIM () NÃO

Duração: _____ Tomou Medicação? () SIM () NÃO

EXAME CLÍNICO LOCAL

() Dente cariado	() Edema	() Alteração de cor	() Mobilidade
() Dente restaurado	() Extrusão	() Fístula	() Problema periodontal

RESTAURAÇÃO

A RESTAURAÇÃO ESTÁ SATISFATÓRIA? () SIM () NÃO

HÁ NECESSIDADE DE TROCA DE RESTAURAÇÃO/ PRÓTESE? () SIM () NÃO

EXAME RADIOGRÁFICO

Houve regressão da lesão? () SIM () NÃO

Houve aumento da lesão? () SIM () NÃO

OBS: _____

REALIZADO ENCAMINHAMENTO PARA CLÍNICA _____

ASSINATURA PACIENTE_____
ASSINATURA PESQUISADOR

ANEXO A – Comitê de Ética/ Plataforma Brasil/CEP

UNESP - INSTITUTO DE
CIÊNCIA E TECNOLOGIA -
CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Quantificação de Endotoxinas e sua relação com sinais e sintomas: Sessão única X Múltipla sessão - controle com TCFC após um ano de tratamento

Pesquisador: Mardia Carneiro Valera

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 45553915.0.0000.0077

Instituição Proponente: Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos - UNESP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.824.178

Apresentação do Projeto:

RESUMO Os objetivos do estudo são: a) quantificar endotoxinas e carga microbiana nas infecções endodônticas primárias, antes e após o preparo

biomecânico (PBM) e uso de medicação intracanal (MIC) nos casos de sessão múltipla; b) relacionar níveis de endotoxinas e microrganismos com a

volumetria da lesão periapical, através do uso de tomografias computadorizadas de feixe cônico (TCFC), verificando relações com sinais e sintomas

clínicos; c) relacionar os níveis com a volumetria dos canais radiculares; d) comparar a volumetria das lesões periapicais antes e após 1 ano do

tratamento, nos casos de sessão única e sessão múltipla. Serão selecionados trinta dentes com necrose pulpar e lesão periapical que serão

submetidos a TCFC. Após abertura coronária, será realizada coleta inicial para verificar presença de infecção nos canais radiculares. Será realizado

PBM utilizando solução de NaOCl 2.5% e divididos em 3 grupos de acordo com o protocolo de tratamento (n=10): GI - Ca(OH)₂: hidróxido de cálcio

P.A. + solução salina fisiológica; GII - Ultracal: Pasta de Ca(OH)₂ (Ultracal®), GIII - SU: tratamento em sessão única. Serão realizadas coletas do

Endereço: Av. Eng.º Francisco José Longo 777

Bairro: Jardim São Círculo

CEP: 13.245-000

UF: SP

Município:

SAO JOSE DOS CAMPOS

Telefone: (12)3247-9078

Fax: (12)3247-6010

E-mail: cep@ibajc.unesp.br

**UNESP - INSTITUTO DE
CIÊNCIA E TECNOLOGIA -
CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS**



Continuação do Parecer: 1.634.178

canal radicular após o PBM e após 14 dias de ação da MIC (sessão múltipla). Para as coletas serão realizados testes de atividade antimicrobiana por cultura microbiológica e análise da quantificação de endotoxinas pelo teste de Limulus. Será realizada a volumetria da destruição óssea periapical através da TCFC utilizando o software Nemotec®. Por fim, será realizado controle do tratamento endodôntico, para comparar a volumetria da lesão periapical antes e após 1 ano nos diferentes protocolos. Os dados serão analisados estatisticamente.

Objetivo da Pesquisa:

Os objetivos deste estudo serão: a) Investigar e quantificar endotoxinas nas infecções endodônticas primárias através do método de LAL; realizando monitoramento dos níveis de endotoxinas (EU/mL) e carga microbiana (UFC/mL) antes do tratamento, após o preparo biomecânico utilizando hipoclorito de sódio 2.5% e após o uso das medicações intracanaís: hidróxido de cálcio P.A. e pasta de hidróxido de cálcio pré fabricada Ultracal®; b) Relacionar os níveis de endotoxinas (EU/mL) e carga microbiana (UFC/mL) com sinais / sintomas clínicos e volumetria da lesão periapical (mm³) através do uso de TCFC; c) Realizar o monitoramento após 1 ano do tratamento endodôntico, nos diferentes grupos experimentais, comparando a volumetria da lesão periapical (mm³) antes e após esse período; d) Comparar taxa de sucesso encontrada após 1 ano de tratamento realizando sessão única e múltipla sessão.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O projeto proposto poderá acarretar em riscos mínimos ao paciente por se tratar de um procedimento invasivo; podem ocorrer imprevistos durante o atendimento em função do próprio tratamento. No caso de algum imprevisto, o paciente será amparado e receberá todos os cuidados necessários para controlar quaisquer eventualidades. Os medicamentos a serem utilizados possuem comprovação científica de ausência de efeitos tóxicos para o organismo. Além disso, todo o tratamento de canal será realizado dentro das normas de biossegurança e serão realizados por profissionais altamente capacitados; os resultados obtidos trarão benefícios para outras pessoas uma vez que a

Endereço: Av. Engº Francisco José Longo 777
Bairro: Jardim São Círculo CEP: 12.245-000
UF: SP Município: SÃO JOSÉ DOS CAMPOS
Telefone: (12)3947-9078 Fax: (12)3947-9010 E-mail: cexph@foajc.unesp.br

**UNESP - INSTITUTO DE
CIÊNCIA E TECNOLOGIA -
CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS**



Continuação do Parecer: 1.024.178

pesquisa irá gerar avanços científicos com melhoras no tratamento de canal realizado na atualidade. Serão necessários de 2 a 4 atendimentos (3 horas cada atendimento) até a conclusão do tratamento. O responsável pelo tratamento é a Cirurgiã Dentista e aluna de Pós Graduação Daiana Cavalli, (celular: 981639926 email: dalana.cavalli@gmail.com), e em caso de dúvida ou necessidade de intervenção, deve-se entrar em contato com ela, ou com outros participantes da pesquisa. Os pacientes serão chamados para acompanhamento radiográfico após 1 ano do tratamento finalizado.

Benefícios:

Tratamento endodôntico realizado com acompanhamento tomográfico (TCFC) em todos os pacientes e acompanhamento com a mesma de 1 ano, garantindo que a endodontia tenha sucesso.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Considero o projeto de pesquisa muito atual, procurando melhorar as técnicas e os materiais que são utilizados atualmente nos tratamentos endodônticos.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

ND

Recomendações:

Utilizar o termo de não inclusão em vez de exclusão como está no trabalho.

A pesquisadora deverá apresentar relatório parcial/final, para não incorrer na penalidade de não ter futuras submissões analisadas por este CEP.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

ND

Considerações Finais a critério do CEP:

O Colegiado confirma o parecer da relatora.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P	27/10/2016		Aceito

Endereço: Av.Engº Francisco José Longo 777
Bairro: Jardim São Círculo CEP: 12.245-000
UF: SP Município: SÃO JOSÉ DOS CAMPOS
Telefone: (12)3947-6078 Fax: (12)3947-6010 E-mail: cep@foc.unesp.br

**UNESP - INSTITUTO DE
CIÊNCIA E TECNOLOGIA -
CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS**



Continuação do Parecer: 1.604.176

Básicas do Projeto	ETO_515126.pdf	14:33:39		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	consentimentolivre esclarecido.docx	27/10/2016 14:33:23	Marcia Carneiro Valera	Aceito
Folha de Rosto	copia.pdf	27/10/2016 14:30:30	Marcia Carneiro Valera	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	plataforma.doc	27/10/2016 14:25:53	Marcia Carneiro Valera	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO JOSE DOS CAMPOS, 17 de Novembro de 2016

Assinado por:
Denise Nicodemo
(Coordenador)

Endereço: Av. Engº Francisco José Longo 777
Bairro: Jardim São Diniz CEP: 12.245-000
UF: SP Município: SÃO JOSE DOS CAMPOS
Telefone: (12)3947-8078 Fax: (12)3947-8010 E-mail: cepi@foc.unesp.br

ANEXO B – CONSORT 2010 Flow Diagram



CONSORT 2010 Flow Diagram

