



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**

Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP

Departamento de Odontologia Preventiva e restauradora

Programa de Pós-Graduação em Ciência Odontológica – Endodontia

Defesa de Dissertação

**Antibioticoterapia sistêmica influencia na intensidade do
infiltrado inflamatório e na reabsorção óssea da periodontite
apical induzida**

Flávio Duarte Faria

Araçatuba

2021

Flávio Duarte Faria

**Antibioticoterapia sistêmica influencia na intensidade do
infiltrado inflamatório e na reabsorção óssea da periodontite
apical induzida**

Defesa de dissertação apresentado à Faculdade
de Odontologia de Araçatuba da Universidade
Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” –
UNESP, como parte dos requisitos para a
obtenção do título de Mestre em Endodontia.
Orientador: Prof. Adj. Dr. Luciano Tavares
Angelo Cintra

Araçatuba

2021

Catálogo na Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

Faria, Flávio Duarte.

F224a Antibioticoterapia sistêmica influencia na intensidade do
infiltrado inflamatório e na reabsorção óssea da periodontite
apical induzida / Flávio Duarte Faria. - Araçatuba, 2021
30 f. : il. ; tab.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Odontologia de Araçatuba

Orientador: Prof. Luciano Tavres Angelo Cintra

Coorientador: Prof. Edilson Ervolino

1. Periodontite periapical 2. Inflamação 3. Reabsorção
óssea 4. Antibacterianos I. Título

Black D24

CDD 617.67

Dedico esse trabalho aos meus pais, Max e Márcia, por serem exemplos para mim, em todos os âmbitos da vida, por estarem comigo em todos os momentos me apoiando, me dando oportunidades para que eu possa sempre trilhar o caminho correto. Tenham certeza, que todas as minhas conquistas, serão de vocês também.

Ao meu irmão Victor, meu melhor amigo e conselheiro, sem sombra de dúvidas uma das pessoas que mais aprendi nessa vida, mesmo longe, você sempre esteve presente, trocando experiências e me dando conselhos.

Ao meu Tio Marco, que sempre me apoiou, me deu suporte desde a graduação e me ensinou muitas coisas, não apenas em relação a profissão, mas também sobre a vida, você inspira e alega todos a sua volta.

A minha vó Sheyla, que infelizmente não está mais entre nós, nunca me esquecerei de tudo que me ensinou, e quanto a senhora ficava feliz com as conquistas de seus netos, gostaria que estivesse aqui para ver mais essa.

Agradecimentos

A minha Família de Jaboticabal, Tia Mônica, Tio Ivo, Tia Daniela, meus primos Guilherme, Bruno, Rafael e Laís, por todo apoio durante esse período, e pelos bons momentos compartilhados.

A minha família de Araras, Tio Sérgio, Tio Maurício, Tia Rita, Tia Ana, a todos primos de lá, e em especial à minha vó Sônia, por todo carinho e ajuda durante toda minha pós-graduação, mesmo longe, nunca deixaram faltar.

Aos meus avôs Max e Henrique, por todos os ensinamentos sobre a vida, que infelizmente não estão mais aqui para compartilhar desde momento, mas os levo comigo para o resto da vida.

À minha namorada Raíssa Schwam, pelo apoio, carinho e companheirismo que me fortaleceram para enfrentar as dificuldades.

Ao meu orientador Prof. Dr. Luciano Tavares Angelo Cintra, por ter me aceito como orientado, por todo suporte, paciência e ensinamentos durante todo mestrado, o senhor é um grande líder, mantendo sempre seu grupo unido e fortalecido, com toda certeza uma referência para todos.

Aos meus parceiros de pesquisa, Pedro Chaves, Cristiane Cantiga, Carol Barros, Nathalia Machado, Isabela Prado, Mari Justo, por toda ajuda e companheirismo durante este período, com toda certeza não teria conseguido se não fosse a ajuda de cada um de vocês.

Agradeço também aos meus demais amigos da pós-graduação que de alguma forma tenha me ajudado.

Aos demais professores da disciplina de Endodontia Professor João, Elói, Rogério e Gustavo, pela boa convivência e que sempre estiveram dispostos a me ajudar nos momentos que eu precisei.

À Universidade estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” na pessoa do diretor da Faculdade de Odontologia de Araçatuba Prof. Tit. Glauco Issamu Miyahara, e do vice-diretor Prof. Tit. Alberto Carlos Botazzo Delbem.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de pesquisa, indispensável para realização deste trabalho e para me manter.

Aos meus amigos da época de graduação Arthur Lacerda, Bianca Bernardes, Guilherme Pimenta, Lucas Marcondes, Tiago Esgalha, Vinícius Orasmo, Ana Beatriz Laguna por todos os momentos compartilhados até hoje.

Aos meus amigos de infância Guilherme Lopes, Geraldo Papa Junior, e Leonardo Mascoli, que mesmo longe, sempre mantivemos contato, e uma ótima relação.

“Mesmo quando tudo
parece desabar,
cabe a mim decidir
entre rir ou chorar,
ir ou ficar,
desistir ou lutar;
porque descobri,
no caminho incerto
da vida, que o mais
importante é o decidir.”

Cora Coralina

FARIA, F.D. **Antibioticoterapia sistêmica influencia na intensidade do infiltrado inflamatório e na reabsorção óssea da periodontite apical induzida**. 2021. Exame Geral de Qualificação (Mestrado) –Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2021.

RESUMO

Introdução: O objetivo deste trabalho foi investigar a influência da antibioticoterapia sistêmica no desenvolvimento e na progressão da periodontite apical em ratos Wistar.

Material e Métodos: Foram utilizados 56 ratos distribuídos aleatoriamente em 7 grupos experimentais (n=8): Grupo C - controle; Grupo GEN – ratos tratados com Gentamicina (10mg/Kg, uma vez ao dia); Grupo AC – ratos tratados com Amoxicilina (100mg/Kg, uma vez ao dia); Grupo MZ – ratos tratados com Metronidazol (40mg/Kg, uma vez ao dia); Grupo AMP – ratos tratados com Ampicilina (100mg/Kg, uma vez ao dia); Grupo AC+XL – ratos tratados com Amoxicilina + Clavulanato de Potássio (100mg/kg, uma vez ao dia) e Grupo CLI – ratos tratados com Clindamicina (60mg/kg, uma vez ao dia). A periodontite apical foi induzida por meio da exposição pulpar do primeiro molar inferior do lado esquerdo. A antibióticoterapia foi iniciada no mesmo dia da exposição pulpar e teve duração de 15 dias. Após este período os animais foram sacrificados, as mandíbulas coletadas e processadas para análise histológica e histométrica em coloração de Hematoxilina e Eosina, análise das fibras colágenas pela coloração de Picrosirius red e análise bacteriológica por Brown-Brenn. Testes estatísticos foram aplicados ($p<0,05$). **Resultados:** O grupo AC+XL apresentou menor intensidade do infiltrado inflamatório e menor reabsorção óssea periapical em relação ao grupo controle ($p<0,05$). Quanto à maturação do colágeno o grupo AC+XL apresentou menor quantidade de fibras maduras e maior quantidade de fibras imaturas, comparado a todos os grupos ($p<0,05$). Os grupos AC e AC+XL apresentaram menor extensão da contaminação bacteriana em relação ao controle ($p<0,05$). **Conclusão:** A amoxicilina associada ao ácido clavulânico influencia o desenvolvimento e a progressão da periodontite apical induzida, reduzindo a intensidade do infiltrado inflamatório, maturação do colágeno e reabsorção óssea periapical, assim como a contaminação bacteriana no sistema de canais radiculares.

Palavras-chave: Periodontite periapical, inflamação, reabsorção óssea, antimicrobianos.

FARIA, F.D. **Systemic antibiotic therapy influences the intensity of the inflammatory infiltrate and bone resorption of induced apical periodontitis.** 2021. Exame Geral de Qualificação (Mestrado) –Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2021.

Abstract

Introduction: The aim of this work was to investigate the influence of systemic antibiotic therapy on the development and progression of apical periodontitis in Wistar rats. **Material and Methods:** 56 rats were randomly distributed in 7 experimental groups (n = 8): Group C - control; GEN group - rats treated with gentamicin (10mg / Kg, once daily); AC Group - rats treated with Amoxicillin (100mg / Kg, once a day); MZ group - rats treated with Metronidazole (40mg / Kg, once a day); AMP group - treated with Ampicillin (100mg / Kg, once a day); AM + C Group - rats treated with Amoxicillin + Potassium Clavulanate (100mg / kg, once a day) and CLI Group - rats treated with Clindamycin (60mg / kg, once a day). Apical periodontitis was induced through pulp exposure of the lower left first molar. Antibiotic therapy was given on the same day of pulp exposure and lasted for 15 days. After this period, the animals were sacrificed, with jaws collected and processed for histological and histometric analysis using Hematoxylin and Eosin staining, collagen fiber analysis using Picrosirius red staining and bacteriological analysis using Brown-Brenn. Statistical tests were conceptualized ($p < 0.05$). **Results:** The AC+XL group showed lower intensity of inflammatory infiltrate and lower periapical bone resorption compared to the control group ($p < 0.05$). As for collagen maturation, the AC+XL group had a smaller amount of mature fibers and a greater amount of immature fibers, compared to all groups ($p < 0.05$). The AC and AC+XL groups showed a smaller extent of bacterial contamination compared to the control ($p < 0.05$). **Conclusion:** Amoxicillin associated with clavulanic acid influences the development and progression of induced apical periodontitis in Wistar rats, causing the intensity of the inflammatory infiltrate, collagen maturation and periapical bone resorption, as well as bacterial contamination in the root canal system.

Keywords: Periapical periodontitis, inflammation, bone resorption, Antimicrobials.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Cortes Histológicos corados em H.E. e Picrosirius Red	19
Figura 2 – Corte Histológico corado em Brown – Brenn ilustrando os terços analisados para a determinação dos Escores	21
Figura 3 - Corte Histológico corado em Brown – Brenn com escores de 0 a 4	21

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Escores e mediana da intensidade do infiltrado inflamatório e análise histométrica das lesões.....	18
Tabela 2 – Porcentagens de fibras colágena e desvio padrão (DP) de acordo com cada grupo.....	20
Tabela 3 – Escores e mediana da presença de bactérias em cada região do canal radicular	22

SUMÁRIO

1) Introdução.....	12
2) Material e Métodos.....	14
3) Resultados.....	18
4) Discussão.....	23
5) Conclusão.....	26
6) Referencias.....	26

Antibioticoterapia sistêmica influencia na intensidade do infiltrado inflamatório e na reabsorção óssea da periodontite apical induzida

1) INTRODUÇÃO

A periodontite apical é uma doença infecciosa que ocorre por meio de uma resposta inflamatória e consequente reabsorção óssea em decorrência de uma infecção bacteriana do tecido pulpar (Azuma et al., 2013, Braz-Silva et al., 2019), caracterizada por um tecido infiltrado com diferentes tipos de células inflamatórias (Colic et al., 2010). A resposta do hospedeiro ocorre a partir do recrutamento dessas células inflamatórias e de uma rede de mecanismos imunológicos, caracterizada pela produção de citocinas inflamatórias, que estão associadas ao desenvolvimento e manutenção da periodontite apical (Xiong et al., 2009; Colic et al., 2010, Xiong et al., 2009), destruindo a matriz extracelular e ocasionando a reabsorção óssea (Graves et al., 2011, Nair, 2004).

Para a interrupção deste processo destrutivo e restabelecimento da normalidade dos tecidos periapicais, institui-se o tratamento endodôntico convencional. Este tratamento de ação local é feito por meio da desinfecção químico-mecânica dos canais radiculares, visando a remoção do tecido pulpar necrosado, remanescentes de dentina e microrganismos (Prada et al., 2019). Para potencializar a desinfecção deste sistema de canais indica-se o uso da medicação intracanal entre sessões até o momento da obturação (Zancan et al., 2016). O sucesso do tratamento depende da redução substancial da carga microbiana para que seja possível o reparo do tecido periapical (Siqueira Junior et al., 2018). Em certas condições clínicas, o uso de antimicrobianos sistêmicos são indicados.

Em pacientes com sinais sistêmicos como febre, mal-estar e/ou linfadenopatias é recomendado o uso da antibioticoterapia, acompanhada do tratamento endodôntico e, quando possível, drenagem do abscesso (American Association of Endodontists, 2017). Em outras condições clínicas, tais como imunocomprometimento ou predisposição à endocardite bacteriana, dentre outras alterações sistêmicas, a antibioticoterapia sistêmica pode ser indicada de forma profilática (American Association of Endodontists, 2017).

Por muito tempo, as infecções foram a causa de muitas mortes e o surgimento dos antimicrobianos teve um impacto muito grande na sociedade, diminuindo a morbidade e a

mortalidade, pois proporcionaram aos profissionais de saúde várias opções terapêuticas para doenças severas (Zaffiri et al., 2012). Existem várias classes de antibióticos, com diferentes mecanismos de ação, dentre os quais se destacam os Aminoglicosídeos (Gentamicina), que são bactericidas e que causam a síntese de polipeptídeos anormais pela ligação em sítios receptores específicos na subunidade ribossomal 30s, inibindo a síntese de proteínas ou produzindo proteínas defeituosas (Pestka, 1971); os β -lactâmicos, representados pela Penicilina (Amoxicilina e Ampicilina), que atuam interrompendo a síntese da parede celular bacteriana (Bush & Bradford, 2016); os Nitroimidazólicos (Metronidazol) que interferem na síntese de ácidos nucleicos (Soares et al., 2012) e as lincosamidas (clindamicina) que são bacteriostáticos, que inibem a síntese de proteínas e que em concentrações mais altas podem ser bactericidas (Spížek & Řezanka, 2017).

Um único estudo analisou o efeito de baixas dosagens do antibiótico doxíciclina, que é pertencente da classe das tetraciclina, sobre a reabsorção óssea em decorrência a periodontite apical em ratos (Metzger et al. 2008). Neste estudo foi observado menor reabsorção óssea em relação ao grupo controle que não recebeu antibióticos. Outros estudos identificaram modificação na microbiota salivar em função da administração da Amoxicilina e Azitromicina (Abeles et al., 2016) Por outro lado, não foram encontrados artigos que analisaram a possível influência de dosagens terapêuticas de antibióticos sistêmicos no desenvolvimento da periodontite apical.

Considerando que os antibióticos, Gentamicina, Amoxicilina, Amoxicilina associada ao Clavulanato de potássio, Ampicilina, Metronidazol e Clindamicina estão frequentemente associados à prática odontológica, este estudo avaliou a influência da antibioticoterapia sistêmica no desenvolvimento e progressão da periodontite apical induzida. A hipótese nula do estudo é que os antibióticos administrados sistemicamente não influenciam no perfil inflamatório e reabsortivo da periodontite apical, assim como não interferem na contaminação bacteriana do sistema de canais radiculares.

2) MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi aprovado pelo Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA nº 00389-2019) da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, e durante todo o experimento os animais foram tratados de acordo com os padrões éticos, visando o bem-estar animal.

2.1) Design Experimental

Foram utilizados 56 ratos machos (*Rattus albinus*, Wistar), pesando aproximadamente 250 gramas, com 3 meses de idade, provenientes do biotério da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP. Os ratos foram divididos em 7 grupos de 8 animais cada e foram mantidos em mini-isoladores coletivos (Alesco - Albr Industria e Comercio Ltda., Monte Mor, SP, Brasil), quatro ratos por mini-isolador, com temperatura entre 22 e 24°C e ciclo de luz controlada (12 horas claro e 12 horas escuro), alimentados durante todo período experimental com dieta sólida e água “*ad libitum*”, com exceção nas 12 horas que antecederam o procedimento cirúrgico e 6 horas após o procedimento.

2.2) Indução da Periodontite Apical

Os animais foram anestesiados com Xilazina 2% (Xilazin, Syntec do Brasil Ltda., Cotia, SP, Brasil) na dosagem de 10mg por Kg, associado ao Cloridrato de Cetamina 10% (Ketamina, Agener - União Química Farmacêutica Nacional S/A, Embu-Guaçu, SP, Brasil) na dosagem de 80mg por Kg, via intramuscular. Em seguida, a periodontite apical foi induzida por meio da exposição pulpar do primeiro molar inferior esquerdo de cada animal, com o auxílio de uma broca de aço carbono (Broca Ln CA 28mm, Long Neck, Maillefer, Dentsply, Tulsa, Ok, USA) dotada de uma esfera na extremidade com 0,5mm de diâmetro (Cintra et al., 2014). As polpas permaneceram expostas pelo período de 15 dias até o momento da eutanásia.

2.3) Antibióticoterapia sistêmica

A antibioticoterapia sistêmica se iniciou no mesmo dia da indução da periodontite apical e teve duração de 15 dias, quando ocorreu a eutanásia. O grupo controle recebeu injeção de 1ml de solução de cloreto de sódio 0,9% (Sorimax, Farmax - Distribuidora Amaral

Ltda., Divinópolis, MG, Brasil) via intraperitoneal para simular o mesmo estresse dos outros animais.

O Grupo GEN recebeu Gentamicina (Gentamicina, Vansil - Industria Comercio E Representações Ltda., Descalvado, SP, Brasil), por via intraperitoneal na dose de 10mg/kg, uma vez ao dia; O Grupo AC recebeu Amoxicilina (Agemoxi, Agener - União Química Farmacêutica Nacional S/A, São Paulo, SP, Brasil), por via intraperitoneal, na dose de 100mg/kg, uma vez ao dia; O Grupo MZ recebeu Metronidazol (Flagyl, Sanofi - Aventis Farmacêutica Ltda., São Paulo, SP, Brasil), por via intraperitoneal, na dose 40mg/kg, uma vez ao dia; O Grupo AMP recebeu Ampicilina (Ampicilina, Vetnil - Industria e Comercio de Produtos Veterin Ltda., Louveira, SP, Brasil), por via intraperitoneal, na dose de 100mg/kg, uma vez ao dia; O Grupo AC+XL recebeu Amoxicilina associada ao clavulanato de potássio (Clavacillin, Norbrook - Laboratories Inc., Newry, Ulster, Irlanda do Norte), por via intraperitoneal, na dose de 100mg/kg, uma vez ao dia; O Grupo CLI recebeu Clindamicina (Hyclin, Hypofarma - Instituto de Hypodermia e Farmácia Ltda., Ribeirão das Neves, MG, Brasil), por via intraperitoneal, na dose de 60mg/kg, uma vez ao dia.

Os ratos foram pesados a cada dois dias durante o período experimental, para a adaptação da dose de antibiótico a ser ministrada.

2.4) Eutanásia e processamento laboratorial

Após 15 dias de antibióticoterapia, os animais foram eutanasiados e as mandíbulas contendo os dentes objeto do estudo foram removidas. As peças foram fixadas em solução formalina a 10% por 20 horas e, em seguida, foram lavadas em água corrente por 12 horas. Após a lavagem iniciou-se o processo de desmineralização em solução de EDTA (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri). Na sequência, as peças foram novamente lavadas em água corrente e desidratadas em álcool, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina (Histosec, Merck S/A, São Paulo, SP, Brasil). A partir dos blocos, cortes teciduais com espessura de 5µm foram obtidos em micrótomo (RM 2045, Leica do Brasil Importação e Comércio Ltda., São Paulo, SP, Brasil). Foram montadas 3 lâminas starfrost (Knittel Glasbearbeitungs, Braunschweig, Germany) com 3 cortes teciduais para cada uma das colorações: Hematoxilina e Eosina, Picrosirius Red e Brown-Brenn.

2.5) Análise Histológica e Histométrica

A análise histológica foi realizada para traçar o perfil inflamatório das lesões periapicais (Cintra et al., 2014). As lâminas com os cortes de cada espécime foram observadas por microscopia óptica e utilizadas na análise descritiva. A análise descritiva consistiu na descrição dos fenômenos histopatológicos, procurando caracterizá-los globalmente em função das variáveis experimentais. A análise qualitativa foi realizada por meio da atribuição de escores para o critério intensidade e extensão do infiltrado inflamatório.

A intensidade do processo inflamatório foi analisada em conformidade com o número médio aproximado de células inflamatórias presentes em diferentes campos de um mesmo espécime, examinados em aumento de 400x junto ao periápice dentário.

Escore 1: células inflamatórias ausentes ou em número desprezível;

Escore 2: infiltrado inflamatório discreto (menos de 10 células por campo);

Escore 3: infiltrado inflamatório moderado (entre 10 e 25 células por campo);

Escore 4: Infiltrado inflamatório intenso (mais que 25 células por campo).

A análise histométrica foi realizada para analisar de forma comparativa a extensão das lesões periapicais em função dos diferentes antibióticos. Foi utilizado o software Leica LAS 4.12 (Leica Microsystems, Nussloch – Germany) e os valores foram expressos em micrometro quadrado (μm^2) obtidos em medidas por área (Cintra et al., 2014).

2.6) Análise da maturação de fibras colágenas

Os cortes corados com Picrosirius Red foram analisados sob microscopia com luz polarizada com objetivo de identificar a maturação das fibras colágenas maduras e imaturas (Terayama et al., 2020; Cintra et al., 2017). Foi feita a seleção de cor para cada tipo de fibra colágena da região selecionada da lesão de periodontite apical, após a seleção das cores o software Leica LAS 4.12 (Leica Microsystems, Nussloch – Germany) foi utilizado para o cálculo da área demarcada com cada tipo de fibra colágena, sendo fibras maduras e espessas as vermelho-amareladas, e as fibras imaturas e finas verde-amareladas (Junqueira et al., 1982; Cintra et al., 2017).

2.7) Análise bacteriológica

A análise bacteriológica foi realizada por meio da coloração de Brown-Brenn para a detecção de bactérias gram-positivas e gram-negativas nos diferentes terços do dente, com bases em estudos anteriores (Samuel et al., 2019), com algumas modificações de acordo com os achados do estudo, e os seguintes escores foram atribuídos:

Escore 0: Ausência de bactérias;

Escore 1: Presença de bactérias no terço cervical da raiz

Escore 2: Presença de bactérias no terço médio da raiz

Escore 3: Presença de bactérias no terço apical da raiz, com exceção do forame apical;

Escore 4: Presença de bactérias no terço apical da raiz, incluindo o forame.

2.8) Análise Estatística

A análise estatística foi realizada por meio do programa SigmaPlot 12.0™ (Chicago, IL, USA). A verificação da distribuição normal das variáveis contínuas quantitativas foi feita pelos testes de Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk. Em seguida os dados que passaram no teste de normalidade foram submetidos aos testes de ANOVA, seguido do teste de Tukey para comparações múltiplas. Já os dados que não passaram no teste de normalidade foram submetidos aos testes de Kruskal-Wallis seguindo do teste de comparações múltiplas de Dunn (Dunn, 1958). Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando a probabilidade foi menor que 5% ($p < 0,05$).

3) Resultados

Os escores atribuídos ao infiltrado inflamatório dos diferentes grupos podem ser observados na Tabela 1. O grupo controle apresentou infiltrado inflamatório predominantemente intenso e o grupo tratado com metronidazol inflamação de moderada a intensa. Os grupos tratados com gentamicina, ampicilina e clindamicina apresentaram predominância de infiltrado inflamatório moderado. Por outro lado, os grupos tratados com amoxicilina e amoxicilina associada ao ácido clavulânico apresentaram infiltrado inflamatório predominantemente discreto (Figura 1A-G, a1-g1 e a2-g2).

Após análise estatística apenas o grupo que recebeu amoxicilina associada ao ácido clavulânico apresentou diferença estatística significativa em relação ao grupo controle ($p=0.028$).

Por meio da análise histométrica foi possível observar perda óssea média do grupo controle de $74,51 \pm 20,24 \mu\text{m}^2$. Já para os grupos tratados com antibióticos observou-se redução gradual da área óssea perdida nos grupos clindamicina ($66,87 \pm 15,03$), gentamicina ($62,64 \pm 15,96$), ampicilina ($50,47 \pm 22,09$), metronidazol ($46,62 \pm 20,73$), amoxicilina ($46,37 \pm 26,33$) e amoxicilina associada ao ácido clavulânico ($36,60 \pm 11,50$). Após análise estatística foi observado diferença entre o grupo controle para o grupo tratado com amoxicilina associada ao ácido clavulânico ($p=0.006$) (Tabela1).

Tabela 1. Escores e mediana da intensidade do infiltrado inflamatório e análise histométrica das lesões

Parâmetros histológicos	Escore	Grupod							Valor de p
		C	GEN	AC	MZ	AMP	AC+XL	CLI	
Intensidade do infiltrado inflamatório	1	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	Kruskal-Wallis $p=0.028$
	2	0/8	0/8	4/8	2/8	1/8	6/8	0/8	
	3	3/8	5/8	2/8	3/8	5/8	1/8	5/8	
	4	5/8	3/8	2/8	3/8	2/8	1/8	3/8	
Mediana*		4 ^a	3 ^a	2,5 ^a	3 ^a	3 ^a	2 ^b	3 ^a	
Tamanho das lesões periapicais		74.51	62.64	46.37	46.62	50.47	36.60	66.87	ANOVA
($\times 10^4 \mu\text{m}^2 \pm \text{DP}$)*		$\pm 20.24^a$	$\pm 15.96^a$	$\pm 26.33^a$	$\pm 20.73^a$	$\pm 22.09^a$	$\pm 11.50^b$	$\pm 15.03^a$	$p=0.006$

Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significativas nas linhas ($p < .05$).

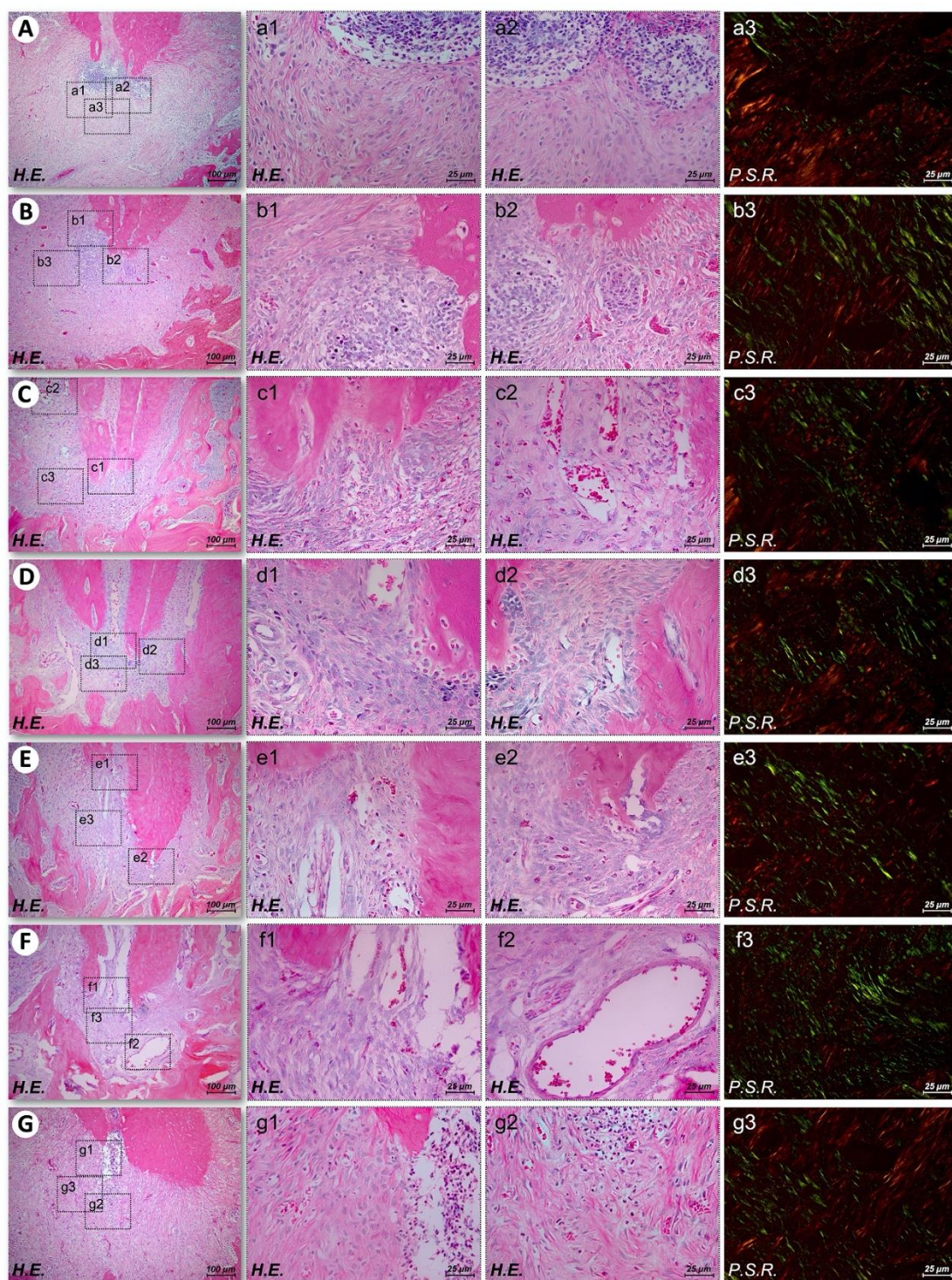


Figura 1. Cortes histológicos representativos corados em H.E. em aumentos de 100x (A-G) e 400x (a1-g1, a2-g2) e corados em Picrosirius Red em aumentos de 400x (a3-g3). Os grupos C, GEN, AC, MZ, AMP, AC+XL e CLI estão representados pelas letras A, B, C, D, E, F, G, respectivamente.

A análise do percentual de fibras colágenas maduras e imaturas podem ser visualizados na Tabela 2 e os cortes representativos de cada grupo podem ser observados na figura 1 (a3-g3).

Em relação as fibras imaturas, com exceção do grupo GEN e CLI, todos os grupos apresentaram maior porcentagem de fibras verdes em relação ao grupo C ($p < 0,05$). O grupo AC+XL apresentou maior quantidade dessas fibras em comparação a todos os grupos ($p < 0,05$). O grupo AC apresentou maior quantidade que o grupo GEN, MET, AMP e CLI ($p < 0,05$). O grupo AMP apresentou uma porcentagem maior que o grupo CLI ($p < 0,05$).

Em relação as fibras maduras, o grupo AC+XL apresentou menor percentual de fibras maduras em relação à todos os grupos ($p < 0,05$), exceto comparado ao grupo AC ($p > 0,05$), que apresentou quantidades dessas fibras estatisticamente menor que o grupo GEN, AMP, CLI e C ($p < 0,05$) e sem diferença estatística do grupo MZ ($p > 0,05$).

Tabela 2 - Porcentagens de fibras colágenas e desvio padrão (DP) de acordo com cada grupo

Grupos	Colágeno imaturo		Colágeno Maduro	
	% fibras Verde-amareladas $\pm$ DP*	Valor de p	% Fibras Vermelho-amareladas $\pm$ DP*	Valor de p
C	9.70 $\pm$ 1.11 ^a		76.00 $\pm$ 4.16 ^a	
GEN	10.46 $\pm$ 1.49 ^{ab}		73.26 $\pm$ 4.21 ^a	
AC	15.85 $\pm$ 1.61 ^c		65.72 $\pm$ 4.86 ^{bc}	
MZ	11.98 $\pm$ 1.40 ^{bd}	<0.001	71.60 $\pm$ 3.99 ^{ab}	<0.001
AMP	12.37 $\pm$ 1.35 ^b		72.11 $\pm$ 3.25 ^a	
AC+XL	18.91 $\pm$ 1.46 ^e		63.69 $\pm$ 2.89 ^c	
CLI	10.13 $\pm$ 2.23 ^{ad}		73.44 $\pm$ 4.61 ^a	

* Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significativas nas colunas para cada tipo de fibra ($p < .05$).

A análise da extensão da contaminação bacteriana no sistema de canais radiculares foi realizada considerando os terços radiculares da raiz mesial do primeiro molar inferior (Figura 2).

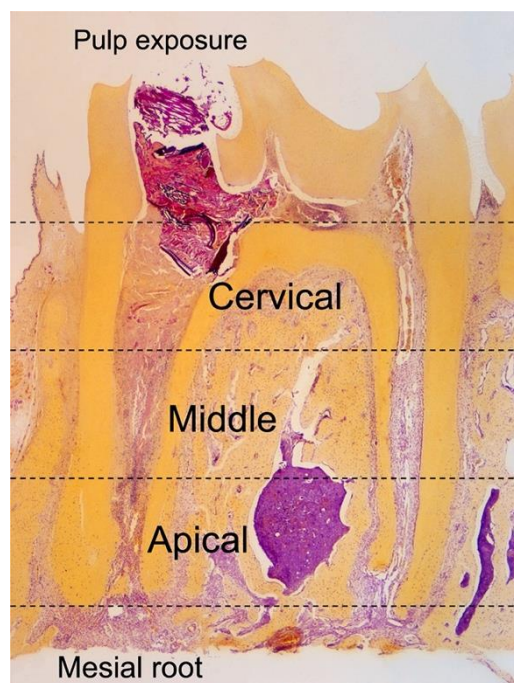


Figura 2. Corte histológico corado em Brown-Brenn, ilustrando a divisão dos terços analisados para a determinação de cada escore.

Fotomicrografias dos escores representativos estão ilustradas na Figura 3.

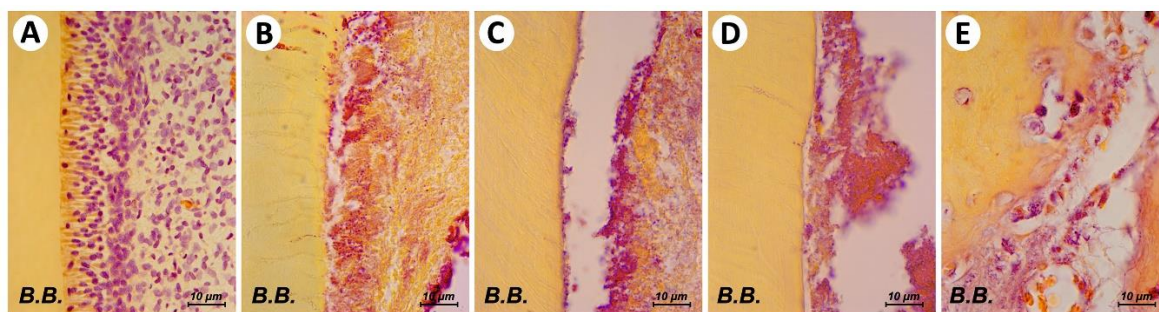


Figura 3. Corte histológicos corado em Brown-Brenn, representando cada escore: A – Escore 0 (Ausência de Bactérias), B – Escore 1 (Presença de bactérias no terço cervical da raiz), C – Escore 2 (Presença de bactérias no terço médio da raiz), D – Escore 3 (Presença de bactérias no terço apical da raiz), E – Escore 4 (Presença de bactérias em todos os terços da raiz).

bactérias no terço apical da raiz, com exceção do forame apical), E – Escore 4 (Presença de bactérias no terço apical da raiz, incluindo o forame apical).

Na análise da presença de bactérias nos diferentes terços do elemento dentário, o grupo AC, apresentou predominância de bactérias no terço médio e o grupo AC+XL no terço cervical, sendo os únicos grupos que apresentaram diferença estatística significativa em relação ao controle, que apresentou predominância de bactérias no terço apical, incluindo o forame ($p < 0,05$). O grupo AC+XL apresentou diferenças estatística em relação aos demais grupos (GEN, MZ, AMP, CLI), que tiveram a prevalência de bactérias no terço apical com exceção do forame (Tabela 3).

Tabela 3. Escores e mediana da presença de bactérias em cada região do canal radicular

Análise bacteriológica	Escore	Grupos							Valor de p
		C	GEN	AC	MZ	AMP	AC+XL	CLI	
Presença de bactérias	0	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	1/8	0/8	Kruskal-Wallis $p < .001$
	1	0/8	0/8	1/8	0/8	0/8	6/8	0/8	
	2	1/8	0/8	6/8	2/8	1/8	1/8	1/8	
	3	2/8	5/8	1/8	3/8	5/8	0/8	4/8	
	4	5/8	3/8	0/8	3/8	2/8	0/8	3/8	
	Mediana*	4 ^a	3 ^{ab}	2 ^{bc}	3 ^{ab}	3 ^{ab}	1 ^c	3 ^{ab}	

* Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significativas nas linhas ($p < .05$).

4) DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou a possível influência da antibioticoterapia sistêmica no perfil do infiltrado inflamatório, maturação do colágeno e perda óssea periapical, e na extensão da contaminação bacteriana dentro do sistema de canais radiculares de dentes de ratos portadores de periodontite apical induzida. Foi possível observar o efeito significativo de um dos protocolos de tratamento, rejeitando parcialmente a hipótese nula.

Quanto a metodologia empregada, foi escolhido o período de 15 dias de indução da periodontite apical, pois já se sabe que neste período já há a presença de lesão periapical e ainda que, dos 7 aos 15 dias de exposição pulpar, é o período em que a lesão se expande mais rapidamente (Stashenko et al., 1994). Estudos com análises radiográficas mostraram lesões periapicais a partir dos 7 dias de exposição pulpar, porém, são mais evidentes a partir dos 14 dias (Wang et al., 2010). Histologicamente dos 7 aos 14 dias há um aumento da intensidade do infiltrado inflamatório e reabsorção óssea (Wang et al., 2010). Além disso, considerou-se também o período de administração dos antibióticos para a seleção do tempo de eutanásia.

As doses e as vias de administração dos antibióticos, foram estabelecidas de acordo com trabalhos presentes na literatura. A escolha da administração da via intraperitoneal foi feita, para o controle exato da dose administrada, e o período total de 15 dias, para que a antibioticoterapia sistêmica cobrisse o tempo da exposição pulpar para indução da periodontite apical.

Quanto a forma de análise, foi realizada a análise histológica em coloração de H.E. o infiltrado inflamatório e a reabsorção óssea, pois são os principais eventos que caracterizam o desenvolvimento da periodontite apical. A análise em P.S.R. foi utilizada para se avaliar o grau de maturação colágena que, dependendo da intensidade da agressão tecidual poderia se esperar maior fibrosamento em resposta à infecção. A análise em coloração de B.B. foi realizada para se comparar com a possível diferença no perfil inflamatório periapical e na reabsorção óssea. Poderíamos esperar que uma maior invasão de bactérias no interior do sistema de canais radiculares poderia determinar maior inflamação e/ou maior reabsorção.

Após a leitura dos resultados foi observado que os animais tratados com amoxicilina associada ao ácido clavulânico apresentaram menor infiltrado inflamatório, assim como menor perda óssea periapical, quando comparados ao grupo controle. Também foi observado menor quantidade de fibras colágenas maduras maior quantidade de fibras imaturas, caracterizando uma menor destruição do tecido periapical, além disso, na análise bacteriológica foi possível observar a presença de bactérias apenas no terço cervical, indicando que possivelmente o antibiótico retardou a invasão bacteriana para o interior do canal radicular em sentido apical, reafirmando assim, os achados do perfil inflamatório reduzido em relação ao grupo controle.

Pelo nosso conhecimento, este foi o primeiro estudo científico que avaliou a influência de dosagens terapêuticas de antibióticos administrados via sistêmica em lesões periapicais de origem endodôntica. A gentamicina é pertencente da classe dos Aminoglicosídeos, que são bactericidas que causam a síntese de polipeptídeos anormais pela ligação em sítios receptores específicos da subunidade ribossomal 30s, inibindo a síntese de proteínas ou produzindo proteínas defeituosas (Pestka, 1971) e é utilizada para tratar infecções de bactérias gram-negativas e algumas gram-positivas (Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé, 2012). A Ampicilina pertence a classe dos β -lactâmicos, atua interrompendo a síntese da parede celular bacteriana (Bush & Bradford, 2016). Esta foi a primeira penicilina semissintética desenvolvida que se mostrou útil no tratamento de infecções mediadas por bactérias gram-positivas e gram-negativas, abrindo o campo de penicilinas de amplo espectro. É comercializada na forma anidra, tri-hidratada e sódica, bem como nas formas de depósito, isto é, ligada à benzatina (Cione et al., 2010, Nairi et al., 2017). O metronidazol pertence a classe dos Nitroimidazólicos, que atuam interferindo a síntese dos ácidos nucleicos contra bactérias anaeróbias (Soares et al., 2012), sendo recomendado para uso em associação com a penicilina, com a finalidade de aumentar seu espectro de ação (Kuriyama et al., 2007; Alfenas et al., 2014). Este antibiótico possui atividade antiprotozoária, mas também atividade antibacteriana contra anaeróbias gram-negativas e gram-positivos (Freeman et al., 1997). A clindamicina é um antibiótico semissintético derivado da lincomicina e ativo contra bactérias anaeróbias e gram-positivas aeróbias, (Lammintausta et al., 2002). Este antibiótico tem sido amplamente utilizado em pacientes com histórico alérgico a outros antibióticos (Skukaite et al., 2010).

Os resultados obtidos voltam-se para a associação da amoxicilina com o ácido clavulânico. A amoxicilina é um antibiótico de amplo espectro que pode ser utilizada no tratamento de inúmeras infecções bacterianas, (Cheng et al., 2018), incluindo a maior parte dos microrganismos presentes nas infecções endodônticas (Lang et al., 2016). Este antibiótico age se ligando e inibindo várias proteínas bacterianas que estão envolvidas na síntese de parede celular, tanto em gram-positivas quanto em gram-negativas (American Association of Endodontists 2017). Quando a amoxicilina é associada ao ácido clavulânico, que é um inibidor das β -lactamases, seu espectro de ação é aumentado (Oberoi et al., 2015; Lang et al., 2016), o que pode de certa forma estar associado com os resultados obtidos. Outro aspecto a ser considerado é que esta associação possui baixa taxa de resistência das bactérias presentes nas infecções endodônticas (Lang et al., 2016) e cultivadas em amostra de canais radiculares (Gomes et al., 2011). Por outro lado, mesmo com os resultados evidentes é um tanto quanto difícil de se explicar como esta associação poderia influenciar no desenvolvimento da periodontite apical.

Sabe-se que os antibióticos são importantes adjuvantes para o controle da disseminação da infecção (Zeitoun & Dhanarajani 1995), porém, em um estudo de Fouad et al. (1996) que teve como objetivo analisar o efeito da suplementação de penicilina na redução dos sintomas e o curso de recuperação do abscesso apical agudo localizado após tratamento de emergência, mostrou que não houve diferença estatística significativa entre os grupos que receberam o antibiótico e os que não receberam. Esse resultado pode ser explicado pela falta de circulação sanguínea no canal radicular que impede a chegada do antibiótico no local, o tornando ineficaz no combate aos microrganismos presentes (Segura-Egea et al., 2017). Por outro lado, diante dos resultados do presente estudo, seria possível especular que, como o antibiótico foi administrado desde o primeiro dia da exposição pulpar, sua influência poderia ter se iniciado ainda com o tecido pulpar vivo e durante todo seu percurso até a necrose. Assim, poderia se dizer que a administração do antibiótico via sistêmica dificultou o processo de desenvolvimento da infecção até a completa necrose pulpar.

Um único estudo, empregando baixas doses de doxiciclina, mostrou pela primeira vez a influência dos antibióticos sistêmicos em lesões periapicais (Metzger et al., 2008). Neste estudo a antibioticoterapia com doxiciclina se iniciou três dias antes de exposição pulpar para

a indução da periodontite apical, e deve duração de vinte dias. Os autores observaram que os grupos que receberam o antibiótico tiveram menor reabsorção óssea em relação ao grupo controle (Metzger et al., 2008). Assim, de forma semelhante, também seria possível afirmar que doses terapêuticas de amoxicilina associada ao ácido clavulânico possam ter influenciado na redução do perfil inflamatório e reabsortivo, indicando a possível chegada do antibiótico no interior do canal radicular antes que ocorresse a total necrose pulpar, possivelmente ajudando a combater a colonização de microrganismos no local. Assim, torna-se oportuno avaliar a influência dos antibióticos em lesões periapicais já formadas e verificar se o achado do presente estudo está relacionado ao momento do desenvolvimento das lesões periapicais diante do processo inflamatório, contaminação e consequente necrose do tecido pulpar.

Claramente há a necessidade de mais estudos para estabelecer a influência dos antibióticos nas infecções endodônticas, para observar os momentos e os casos em que se deve lançar mão dos antibióticos. Enquanto isso, os antibióticos só devem ser utilizados clinicamente em situações específicas, evitando assim o surgimento de cepas bacterianas resistentes (American Association of Endodontists, 2017).

5) CONCLUSÃO

Considerando as limitações do presente estudo, pode-se concluir que a antibioticoterapia sistêmica com amoxicilina associada ao ácido clavulânico influenciou o desenvolvimento e a progressão da periodontite apical induzida em ratos Wistar, reduzindo a intensidade do infiltrado inflamatório, da maturação colágena e da reabsorção óssea periapical, assim como a contaminação bacteriana no sistema de canais radiculares.

5) REFERÊNCIAS

1. Abeles SR, Jones MB, Santiago-Rodriguez TM, Ly M, Klitgord N, Yooseph S, Nelson KE, Pride DT. Microbial diversity in individuals and their household contacts following typical antibiotic courses. *Microbiome*. 2016 Jul 30;4(1):39. doi: 10.1186/s40168-016-0187-9. PMID: 27473422; PMCID: PMC4967329.
2. Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé. Update on good use of injectable aminoglycosides, gentamycin, tobramycin, netilmycin, amikacin.

- Pharmacological properties, indications, dosage, and mode of administration, treatment monitoring. *Med Mal Infect.* 2012 Jul;42(7):301-8. doi: 10.1016/j.medmal.2011.07.007. Epub 2012 Jul 7. PMID: 22770656.
3. Alfenas CF, Lins FF, Maneschy MT, Uzeda M. Antibiotics in the treatment of acute periradicular abscesses. *Rev bras Odontol.* 2014 Jul.-Dez;71(2):120-123
 4. American Association of Endodontists (AAE) (2017) Guidance on the Use of Systemic Antibiotics in Endodontics. *Journal of Endodontics*, v.43, n.9, p.1409-13.
 5. Azuma, M. M., Samuel, R. O., Gomes-Filho, J. E., Dezan-Junior, E., & Cintra, L. T. A. (2013). *The role of IL-6 on apical periodontitis: a systematic review. International Endodontic Journal*, 47(7), 615–621. doi:10.1111/iej.12196
 6. Braz-Silva, P.H., Bergamini, M.L., Mardegan, A.P., De Rosa, C.S., Hasseus, B. & Jonasson, P. (2019) Inflammatory profile of chronic apical periodontitis: a literature review, *Acta Odontologica Scandinavica*, 77:3, 173-180, DOI: 10.1080/00016357.2018.1521005
 7. Bush K, Bradford PA. β -Lactams and β -Lactamase Inhibitors: An Overview. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2016 Aug 1;6(8):a025247. doi: 10.1101/cshperspect.a025247. PMID: 27329032; PMCID: PMC4968164.
 8. Cheng X, Huang F, Zhang K, Yuan X, Song C. Effects of none-steroidal anti-inflammatory and antibiotic drugs on the oral immune system and oral microbial composition in rats. *Biochem Biophys Res Commun.* 2018 Dec 9;507(1-4):420-425.
 9. Cintra LT, da Silva Facundo AC, Prieto AK, Sumida DH, Narciso LG, Mogami Bomfim SR, Oliveira e Silva C, Dezan-Júnior E, Gomes-Filho JE. Blood profile and histology in oral infections associated with diabetes. *J Endod.* 2014 Aug;40(8):1139-44.
 10. Cintra LTA, Ferreira LL, Benetti F, Gastélum AA, Gomes-Filho JE, Ervolino E, Briso ALF. The effect of dental bleaching on pulpal tissue response in a diabetic animal model. *Int Endod J.* 2017 Aug;50(8):790-798. doi: 10.1111/iej.12692.
 11. Cione APP, Liberale MJ, da Silva PM. Desenvolvimento e validação de método analítico por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para determinação de associação de ampicilinas em pó liofilizado para injeção. *Quim. Nova.* 2010;33(1):203-207, 2010.

12. Colic M, Gazivoda D, Vasilijic S, Vucevic D, Lukic A. Production of IL-10 and IL-12 by antigen-presenting cells in periapical lesions. *J Oral Pathol Med*. 2010 Oct;39(9):690-6
13. Dunn OJ. Estimation of the means of dependent variables. *Ann Math Statist*. 1958; 29(4):1095-1111.
14. Fouad AF, Rivera EM, Walton RE (1996) Penicillin as a supplement in resolving the localized acute apical abscess. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics* 81, 590-5.
15. Freeman CD, Klutman NE, Lamp KC. Metronidazole. A therapeutic review and update. *Drugs*. 1997 Nov;54(5):679-708. doi: 10.2165/00003495-199754050-00003. PMID: 9360057.
16. Gomes BP, Jacinto RC, Montagner F, Sousa EL, Ferraz CC (2011) Analysis of the antimicrobial susceptibility of anaerobic bacteria isolated from endodontic infections in Brazil during a period of nine years. *Journal of Endodontics* 37, 1058-62.
17. Graves DT, Oates T, Garlet GP. Review of osteo immunology and the host response in endodontic and periodontal lesions. *J Oral Microbiol* 2011; 17:3.
18. Junqueira LC, Montes GS, Sanchez EM. The influence of tissue section thickness on the study of collagen by the Picrosirius-polarization method. *Histochemistry*. 1982;74(1):153-6. doi: 10.1007/BF00495061. PMID: 7085347.
19. Kuriyama T, Williams DW, Yanagisawa M, Iwahara K, Shimizu C, Nakagawa K, Yamamoto E, Karasawa T. Antimicrobial susceptibility of 800 anaerobic isolates from patients with dentoalveolar infection to 13 oral antibiotics. *Oral Microbiol Immunol*. 2007 Aug;22(4):285-8. doi: 10.1111/j.1399-302X.2007.00365.x. PMID: 17600542.
20. Lammintausta K, Tokola R, Kalimo K. Cutaneous adverse reactions to clindamycin: results of skin tests and oral exposure. *Br J Dermatol*. 2002; 146:643–658.
21. Lang PM, Jacinto RC, Dal Pizzol TS, Ferreira MBC, Montagner F. Resistance profiles to antimicrobial agents in bacteria isolated from acute endodontic infections: systematic review and meta-analysis. *International Journal of Antimicrobial Agents*. v48, n5, November 2016, p 467-474.

22. Llanos-Paez CC, Henning S, Staatz CE. Population pharmacokinetic modelling, Monte Carlo simulation and semi-mechanistic pharmacodynamic modelling as tools to personalize gentamicin therapy. *J Antimicrob Chemother* 2017; 72: 639–667.
23. Metzger Z, Belkin D, Kariv N, Dotan M, Kfir A. Low-dose doxycycline inhibits bone resorption associated with apical periodontitis. *Int Endod J*. 2008 Apr;41(4):303-9. doi: 10.1111/j.1365-2591.2007.01363.x. Epub 2008 Jan 19. PMID: 18217992.
24. Nair PN. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *CritRev Oral BiolMed* 2004; 15: 348-381.
25. Nairi V, Medda L, Monduzzi M, Salis A. Adsorption and release of ampicillin antibiotic from ordered mesoporous silica. *J Colloid Interface Sci*. 2017 Jul 1;497:217-225.
26. Oberoi SS, Dhingra C, Sharma G, Sardana D. Antibiotics in dental practice: how justified are we. *Int Dent J*. 2015 Feb;65(1):4-10. doi: 10.1111/idj.12146. Epub 2014 Dec 16. PMID: 25510967.
27. Pestka S. Inhibitors of ribosome functions. *Annu Rev Microbiol*. 1971;25:487-562. doi: 10.1146/annurev.mi.25.100171.002415. PMID: 4949424
28. Prada I, Micó-Muñoz P, Giner-Lluesma T, Micó-MartínezP, Muwaquet-Rodríguez S, Albero-Monteagudo A. Update of the therapeutic planning of irrigation and intracanal medication in root canal treatment. A literature review. *J ClinExpDent*. 2019;11(2):p.185-93.
29. Prada I, Micó-Muñoz P, Giner-Lluesma T, Micó-MartínezP, Muwaquet-Rodríguez S, Albero-Monteagudo A. Update of the therapeutic planning of irrigation and intracanal medication in root canal treatment. A literature review. *J ClinExpDent*. 2019;11(2):p.185-93.
30. Samuel RO, Ervolino E, de Azevedo Queiroz ÍO, Azuma MM, Ferreira GT, Cintra LTA. Th1/Th2/Th17/Treg Balance in Apical Periodontitis of Normoglycemic and Diabetic Rats. *J Endod*. 2019 Aug;45(8):1009-1015.
31. Segura-Egea JJ, Gould K, Şen BH, Jonasson P, Cotti E, Mazzoni A, Sunay H, Tjäderhane L, Dummer PMH. Antibiotics in Endodontics: a review. *Int Endod J*. 2017 Dec;50(12):1169-1184. doi: 10.1111/iej.12741. Epub 2017 Jan 16. PMID: 28005295.

32. Siqueira Junior, J. F., Rôças, I. das N., Marceliano-Alves, M. F., Pérez, A. R., & Ricucci, D. (2018). *Unprepared root canal surface areas: causes, clinical implications, and therapeutic strategies. Brazilian Oral Research*, 32(suppl 1). doi:10.1590/1807-3107bor-2018.vol32.0065
33. Skucaite N, Peciuliene V, Vitkauskiene A, Machiulskiene V. Susceptibility of Endodontic pathogens to Antibiotics in Patients whit Symptomatic Apical Periodontitis. *Journal of Endodontics*, 2010 oct;36(10): 1611-6.
34. Soares GMS, Figueiredo LC, Faveri M, Cortelli SC, Duarte PM, Feres M. Mechanisms of action of systemic antibiotics used in periodontal treatment and mechanisms of bacterial resistance to these drugs. *J ApplSci*, 2012;20(3):295-309.
35. Spížek J, Řezanka T. Lincosamides: Chemical structure, biosynthesis, mechanism of action, resistance, and applications. *Biochem Pharmacol*. 2017 Jun 1;133:20-28. doi: 10.1016/j.bcp.2016.12.001. Epub 2016 Dec 7. PMID: 27940264.
36. Stashenko, P., Wang, C. Y., Tani-Ishii, N., & Yu, S. M. (1994). Pathogenesis of induced rat periapical lesions. *Oral surgery, oral medicine, and oral pathology*, 78(4), 494–502. [https://doi.org/10.1016/0030-4220\(94\)90044-2](https://doi.org/10.1016/0030-4220(94)90044-2)
37. Terayama AM, Benetti F, de Araújo Lopes JM, Barbosa JG, Silva IJP, Sivieri-Araújo G, Briso ALF, Cintra LTA. Influence of low-level laser therapy on inflammation, collagen fiber maturation, and tertiary dentin deposition in the pulp of bleached teeth. *Clin Oral Investig*. 2020 Nov;24(11):3911-3921. doi: 10.1007/s00784-020-03258-9. Epub 2020 Mar 20. PMID: 32198660.
38. Wang, L., Zhang, R., Xiong, H., & Peng, B. (2011). The involvement of platelet-derived growth factor-A in the course of apical periodontitis. *International endodontic journal*, 44(1), 65–71. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2010.01798.x>
39. Xiong H, Wei L, Peng B. Immunohistochemical localization of IL-17 in induced rat periapical lesions. *J Endod*. 2009; 35:216-20.
40. Zaffirini L, Gardner J, Toledo-Pereyra LH. History of Antibiotics. From Salvarsan to Cephalosporins. *J Invest Surg*. 2012 Apr;25(2):67-77
41. Zancan RF, Vivan RR, Milanda Lopes MR, Weckwerth PH, de Andrade FB , Ponce JB , Duarte MA. Antimicrobial Activity and Physicochemical Properties of Calcium

Hydroxide Pastes Used as Intracanal Medication. J Endod, 2016 Dec;42(12):1822-1828.

42. Zeitoun IM, Dhanarajani PJ (1995) Cervical cellulitis and mediastinitis caused by odontogenic infections: report of two cases and review of literature. *Journal of Oral Maxillofacial Surgery* 53, 203-8.