

Avaliação da regeneração óssea através da utilização do L-PRF em cirurgia perirradicular associada a obturação retrógrada

Evaluation of bone regeneration using L-PRF in periradicular surgery associated with retrograde obturation

DOI:10.34117/bjdv8n9-143

Recebimento dos originais: 16/08/2022

Aceitação para publicação: 13/09/2022

Luis Felipe Coutrin de Toledo

Mestre em Endodontia

Instituição: Universidade de Vassouras

Endereço: Av. Expedicionário Osvaldo de Almeida Ramos, 280, Centro,

Vassouras - RJ, CEP: 27700-000

E-mail: odontoledo@hotmail.com

Joaquim Carlos Fest da Silveira

Mestre em Endodontia

Instituição: Universidade de Vassouras

Endereço: Av. Expedicionário Osvaldo de Almeida Ramos, 280, Centro,

Vassouras - RJ, CEP: 27700-000

E-mail: odontoledo@hotmail.com

Luiz Felipe Gilson Rangel

Mestre em Endodontia

Instituição: Universidade de Vassouras

Endereço: Av. Expedicionário Osvaldo de Almeida Ramos, 280, Centro,

Vassouras - RJ, CEP: 27700-000

E-mail: odontoledo@hotmail.com

Marcella Gomes de Souza Fernandes

Especialista em Implantodontia

Instituição: Universidade de Vassouras

Endereço: Av. Expedicionário Osvaldo de Almeida Ramos, 280, Centro,

Vassouras - RJ, CEP: 27700-000

E-mail: odontoledo@hotmail.com

Rodrigo Simoes de Oliveira

Mestre em Dentística

Instituição: Universidade de Vassouras

Endereço: Av. Expedicionário Osvaldo de Almeida Ramos, 280, Centro,

Vassouras - RJ, CEP: 27700-000

E-mail: odontoledo@hotmail.com

Carla Minozzo Mello

Mestre em Reabilitação Oral

Instituição: Universidade de Vassouras

Endereço: Av. Expedicionário Osvaldo de Almeida Ramos, 280, Centro,

Vassouras - RJ, CEP: 27700-000

E-mail: odontoledo@hotmail.com

RESUMO

Biofilmes estão entre as causas de falhas endodônticas. Mesmo o tratamento endodôntico mais bem executado pode falhar, quando a infecção é persistente ao tratamento ou quando micro-organismos estão localizados em áreas inacessíveis, como a superfície externa do ápice radicular. O manejo de uma infecção extra-radicular é um procedimento desafiador que requer intervenção cirúrgica. Regeneração óssea com concentrado plaquetário de segunda geração, fibrina rica em plaquetas (A-PRF), foram utilizados e exames tomográficos foram realizados para comparar se houver formação óssea relevante em um período de 6 meses. Este relato descreve uma paciente com lesão periapical que necessitou de cirurgia apical. Uma mulher de 40 anos foi encaminhada ao Departamento de Endodontia, da Universidade Severino Sombra, com queixa de dor e inchaço localizado. A paciente recebeu tratamento endodôntico convencional dos canais radiculares dos elementos #21 e #22 e após a verificação da persistência da lesão, retratamento 2 anos depois. O objetivo deste estudo foi avaliar se a Fibrina Rica em Plaquetas pôde promover estimulação e aceleração da cicatrização óssea e dos tecidos moles devido à liberação contínua de fatores de crescimento e proteínas, fornecendo as necessidades bioquímicas essenciais para uma cicatrização fisiológica da ferida e processos reparativos dos tecidos envolvidos.

Palavras-chave: cirurgia perirradicular, regeneração óssea, A-PRF, cisto periapical, obturação retrógrada.

ABSTRACT

Biofilms are one of the causes of endodontic failures. Even the best executed endodontic treatment can fail, when the infection is persistent to treatment or when microorganism were located in inaccessible areas, such as the external surface of the root apex. Management of an extra-radicular infection is a challenging procedure that requires surgical intervention. Bone regeneration with a second generation platelet concentrate, platelet-rich fibrin (A-PRF) was used and tomography exams are realized to compare if there is relevant bone formation within a period of 6 months . This report describes a patient with periapical lesion that required apical surgery. A 40-year-old woman was referred to the Department of Endodontics, of Severiono Sombra University with complaint of located swelling and pain. The patient had also received conventional root canal treatment of tooth #21 and #22 and retreatment 2 years later .The purpose of this study was to evaluate if Platelet Rich Fibrin can promote stimulation and acceleration of soft tissue and bone healing because of local and continuous delivery of growth factors and proteins, providing the needs of the physiological wound healing and reparative process of the involved tissues.

Keywords: periradicular surgery, bone regeneration, A-PRF, periapical cyst, retrograde obturation.

1 INTRODUÇÃO

O sucesso do tratamento endodôntico deve ser caracterizado como ausência de doença perirradicular após um período de preservação adequada. Dessa forma, a detecção de sinais como radiolucidez periapical, fístula, tumefação, assim como sintomas (dor) relacionados à doença perirradicular associados a dentes tratados endodonticamente significa que o tratamento fracassou na manutenção ou restauração da saúde perirradicular (Siqueira, 2001). O fracasso em canais corretamente tratados está associado a fatores de origem microbiana, caracterizando uma infecção intrarradicular e/ou extrarradicular, que não foi eliminada ou controlada pelos procedimentos intracanaís (Lacerda et. al. 2016). Resultados mal sucedidos comumente são associados a infecções intra-radulares persistentes encontradas não somente à luz do canal principal mas também em regiões complexas da anatomia radicular, como por exemplo túbulos dentinários e irregularidades do canal radicular (Siqueira & Roças, 2005).

Ao examinar dentes com lesões persistentes, apesar do tratamento endodôntico, Tronstad . *et. al.* (1987) relataram a ocorrência de biofilmes bacterianos adjacentes ao forame apical e colônias bacterianas localizadas dentro de granulomas perirradiculares. Essas descobertas sugerem que a organização bacteriana em biofilmes permite a evasão das defesas do hospedeiro e, assim, facilita a persistência de lesões perirradiculares. No entanto, foi encontrado uma baixa incidência de biofilmes perirradiculares em dentes não tratados com lesões perirradiculares (Siqueira & Lopes, 2001). O biofilme perirradicular pode ocorrer, mas em uma pequena proporção de casos e, conseqüentemente, foi responsável por apenas uma baixa porcentagem de falha no tratamento endodôntico (Ricucci, Loghin e Siqueira, 2013).

Como forma de biofilme, algumas espécies de micro-organismos podem ser encontrados aderidos a superfície externa apical da raiz. Espécies de *Actinomyces*, particularmente *A. gerencseriae* e *A. israelii*, que podem estar envolvidas no fracasso da terapia endodôntica por causar uma infecção extra-radicular denominada actinomicose perirradicular têm sido detectadas em cerca de 10% dos casos (Siqueira & Rôças, 2003; Siqueira & Rôças, 2009; Signoretti et. al. 2011).

Uma vez que a presença de uma infecção extra-radicular pode estar relacionada ao insucesso no tratamento endodôntico, uma abordagem cirúrgica deve ser considerada de forma que procedimentos intra-canais não serão suficientes para eliminar o biofilme presente nas áreas externas da raiz (Souza et. al. 2017).

A cirurgia perirradicular é indicada em casos de resultados mal sucedidos após terapia de canal radicular seguida de retratamento endodôntico via canal. O objetivo desse procedimento é a remoção de tecidos doentes com ampliação da limpeza da região apical e adequado selamento e conseqüentemente isolamento do conteúdo intra-radicular em relação aos tecidos perirradiculares para contribuir na regeneração dos tecidos periodontais envolvidos, em especial o tecido ósseo. (von Arx, Gerber e Hardt, 2001). Estudos recentes de regeneração óssea tem destacado a utilização de fibrina leucoplaquetária (L-PRF) visando acelerar a regeneração óssea para maximizar a previsibilidade, bem como o volume de osso regenerado (Soffer, Ouhayoun e Anagnostou, 2003; Dohan *et. al.* 2006).

Este trabalho clínico relata um caso de periodontite apical crônica com formação cística nos elementos 21 e 22 cujo sofreram tratamento endodôntico intra-radicular inicial e retratamento endodôntico após proervação de dois anos. Seguidos mais dois anos, com a persistência da lesão, o procedimento cirúrgico de apicetomia associado a instrumentação e obstrução retrógrada foram indicados, complementado pela aplicação de membranas de fibrina leucoplaquetária autóloga (L-PRF) com intuito de acelerar a cicatrização e formação óssea.

2 RELATO DE CASO

Paciente do sexo feminino, leucoderma, 40 anos, foi encaminhada para o Departamento de Endodontia da Universidade Severino Sombra reclamando de edema e dor espontânea localizada na região de fundo de vestíbulo dos elementos 21 e 22. Após anamnese, exame clínico extra e intra oral, foi realizada radiografia periapical onde pôde ser observada lesão cística associada aos apices dos elementos em questão. A paciente relatou dor a palpação na região de fundo de vestíbulo porém o mesmo não se repetiu no teste a percussão.

A história odontológica indicou que ambos os elementos já haviam recebido tratamento endodôntico inicialmente 4 anos atrás. Após seguidas consultas de proervação, notou-se que a lesão persistia mesmo após 2 anos da data do tratamento inicial. Nesse momento, foi então indicado retratamento endodôntico de ambos elementos. Após novo acompanhamento clínico e radiográfico periódico, determinou-se a indicação de cirurgia perirradicular, uma vez que a lesão apresentava - se em evolução.

No histórico médico do paciente não houve relato de alergias a medicamentos ou quaisquer problemas de saúde. O exame radiográfico mostrou uma radiolucência aparente em torno do ápice dos elementos 21 e 22 de cerca de 12 mm de diâmetro (Figura 1).

Figura 1. Radiografia inicial demonstrando lesão cística periapical envolvendo as raízes dos elementos 21 e 22.



A qualidade do preenchimento da obturação no interior dos canais de ambos elementos parecia adequada, embora a obturação estivesse radiograficamente junto ao forame no elemento 21 e aparentemente sobre obturado, cerca de 0,5 mm no elemento 22. O exame clínico mostrou uma resposta negativa à percussão e positiva aos testes de palpação. O exame periodontal revelou profundidades de sondagem de bolsa periodontal de 3 mm e sem mobilidade. Ambos os dentes estava restaurados com resina composta, embora o elemento 21 também apresentasse retentor intra radicular de fibra de vidro. Com base na história, testes clínicos e radiografias, o diagnóstico foi de periodontite apical crônica com formação de lesão cística.

A paciente foi informada de que o retratamento convencional tinha falhado em alcançar o controle de infecção e a cura apical. Foi proposto então, cirurgia endodôntica perirradicular para remoção do cisto associado à apicetomia em ambos elementos e complementação com retro-instrumentação e retro-obturação para a resolução da patologia. A paciente consentiu o plano de tratamento. Tomografia computadorizada da região foi solicitada, afim de analisar com maior precisão a região a ser manipulada (Figuras 2 e 3).

Figura 2. Corte tomográfico transversal demonstrando lesão cística envolvendo elemento 21 com obturação junto ao forame apical.



Figura 3. Corte tomográfico transversal demonstrando lesão cística envolvendo elemento 22 com obturação além do forame apical.



4 CIRURGIA ENDODÔNTICA PERIRRADICULAR

Imediatamente antes da cirurgia, a gengiva e a mucosa foram lavadas com 0,12% de gluconato de clorexidina para desinfecção. Após anestesia local com lidocaína a 2% com epinefrina 1: 100.000 através da técnica infiltrativa em fundo de vestíbulo somado a complementação na região palatal. Aguardando efeito mais completo da anestesia, se procedeu a coleta de sangue. Para tal, foi utilizado garrote para facilitar a localização das veias, tornando-as proeminentes. O garrote foi colocado no braço da paciente próximo ao local da punção, sendo coletados 20 ml de sangue da região da veia basílica mediana em uma quantidade necessária para encher 12 tubos de 10 ml com tampa vermelha próprios do protocolo e realizada a centrifugação dentro do protocolo de Chokroun de PRF

utilizando a centrífuga DUO com angulação pré-estabelecida e velocidade automatizada de 1.300 RPM durante 8 minutos.

Logo então, foi realizado um retalho mucoperiosteal. A patologia periapical foi observada envolvendo os ápices das raízes dos elementos 21 e 22 com fenestração do osso cortical (Figura 4).

Figura 4. Frenestração óssea cortical vestibular associada aos elementos 21 e 22 visualizada após levantamento de retalho.



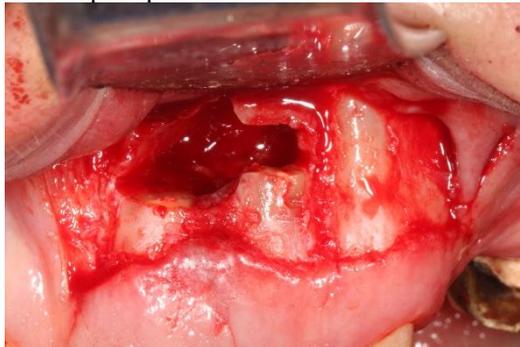
Os tecidos de granulação periapicais foram removidos com uma cureta estéril, após vigorosa raspagem com o instrumento. Osteotomia foi realizada seccionando as raízes de cada elemento dentário a cerca de três milímetros do ápice da raiz ortogonalmente ao seu eixo longitudinal usando uma broca de carboneto de tungstênio (Maillefer Zekrya; Dentsply-Maillefer Instruments, Ballaigues, Suíça) sob irrigação constante com solução de cloreto de sódio a 0,9% (Figura 5).

Figura 5. Apicetomia realizada com broca Zekrya sob constante irrigação.



A ponta das raízes foram então removidas com pinças estéreis e curetagem vigorosa foi realizada afim de remover toda cápsula cística enquanto a loja cirúrgica era lavada com soro fisiológico estéril em abundância (Figura 6).

Figura 6. Cavidade óssea após apicetomia dos elementos 21 e 22 e curetagem do cisto.



O conduto radicular principal de ambas raízes foi preparada com inserto de ultrassom microcirúrgico para retro prepare com ponta ativa diamantada (Helse P1M, São Paulo, São Paulo, Brasil) instrumentando 3 mm na direção ápico-coronal e, posteriormente, preenchido com agregado trióxido mineral (MTA Angelus, Londrina, Paraná) (Figuras 7 e 8).

Figura 7. Retro-preparo sendo realizado com inserto ultrassônico de ponta diamantada no elemento 22 na profundidade de 3 mm.



Figura 8. Preenchimento completo com MTA da cavidade retro preparada com inserto ultrassônico no elemento 21.



Na sequência, a membrana PRF foi preparada separando a fração inferior contendo hemácias da porção superior com a fração leucoplaquetária que foi utilizada no sítio cirúrgico. As porções inferiores foram descartadas e as porções superiores foram

colocadas no box de drenagem para remover o excesso de soro, obtendo um material mais homogêneo. O material foi confeccionado mantendo a PRF por inteira. O defeito ósseo foi completamente preenchido pelas porções de PRF, assim como as raízes e osso circunjacente (Figura 9 e 10).

Figura 9. Cavidade cística e loja cirúrgica preenchidas com membranas fibrino leuco plaquetárias.



Figura 10. Osso cortical vestibular coberto com membranas fibrino leuco plaquetárias.



O fechamento total do retalho foi obtido com suturas de náilon 4-0 (Figura 11).

Figura 11. Sutura realizada promovendo fechamento primário dos tecidos moles envolvidos.



Radiografia pós-operatória (Figura 12) foi realizada e o paciente recebeu instruções pós-operatórias. Antibióticos e analgésicos adicionais foram fornecidos ao

paciente (amoxicilina 500 mg, 3 vezes ao dia por 7 dias, nimesulida 100 mg 2 vezes por dia e dipirona sódica, 500 mg 3 vezes por dia ou conforme necessário).

Figura 12. Radiografia pós operatória para avaliação da retro instrumentação e retro obturação .



O paciente retornou 1 semana depois para avaliação da sutura, porém sem removê-la e relatou leve dor pós-operatória. A sutura foi removida 15 dias após o procedimento cirúrgico, quando já se havia notado adequada cicatrização dos tecidos moles. A cicatrização da gengiva transcorreu sem complicações. O paciente foi examinado clinicamente e radiograficamente nas consultas de revisão de 30 dias, 60 dias, 90 dias e 6 meses relatando ausência total dos sintomas de dor a palpação e espontânea. O dente estava assintomático. A cicatrização óssea periapical ao redor da raízes foram analisadas a cada radiografia de acompanhamento a cada data de revisão. Até o período de 6 meses de acompanhamento não foi observado formação óssea na região de interesse. Por tal razão, após completados 6 meses, foi solicitado tomografia computadorizada para avaliação tridimensional de neoformação óssea (13 e 14).

Figura 13. Corte tomográfico transversal demonstrando cavidade óssea envolvendo elemento 21 com raiz seccionada axialmente devido apicetomia e adequado preenchimento por material biocerâmico (MTA) do segmento apical.



Figura 14. Corte tomográfico transversal demonstrando cavidade óssea envolvendo elemento 22 com raiz seccionada axialmente devido apicetomia e adequado preenchimento por material biocerâmico (MTA) do segmento apical.



Os cortes tomográficos panorâmicos (Figura 15 e 16) pré e pós cirúrgicos foram comparados e analisados para determinar a possibilidade de formação óssea. Entretanto, nenhuma formação óssea foi observada até o período de 6 meses após a cirurgia.

Figura 15. Corte tomográfico panorâmico pré cirúrgico evidenciado ampla área de perda óssea.

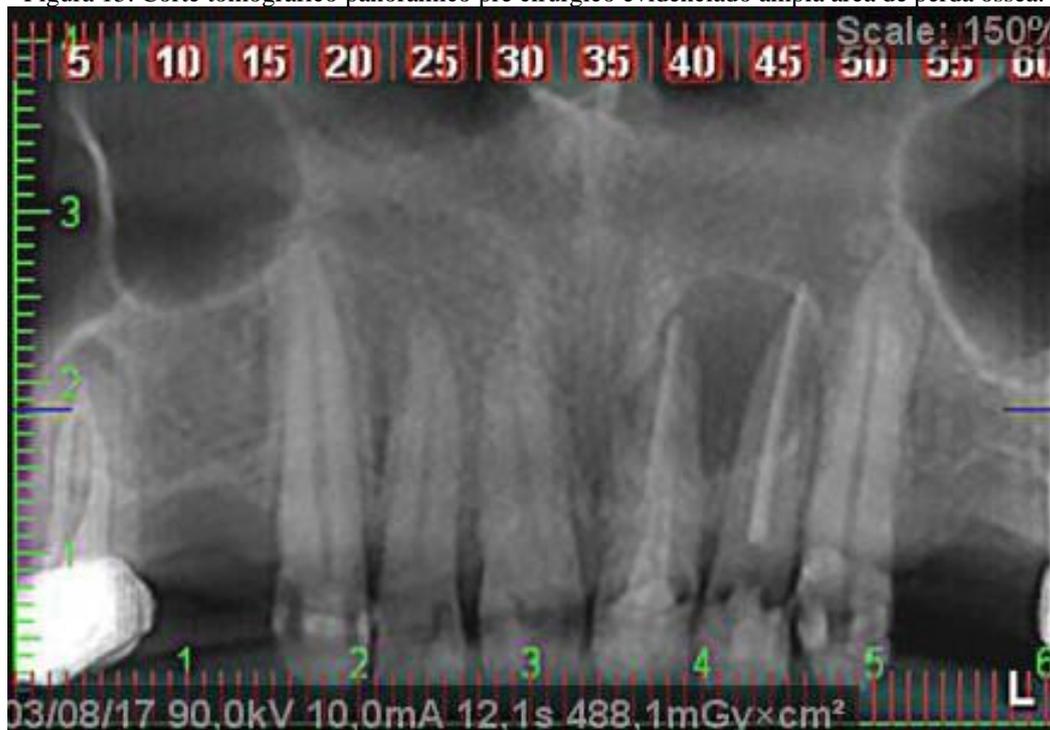
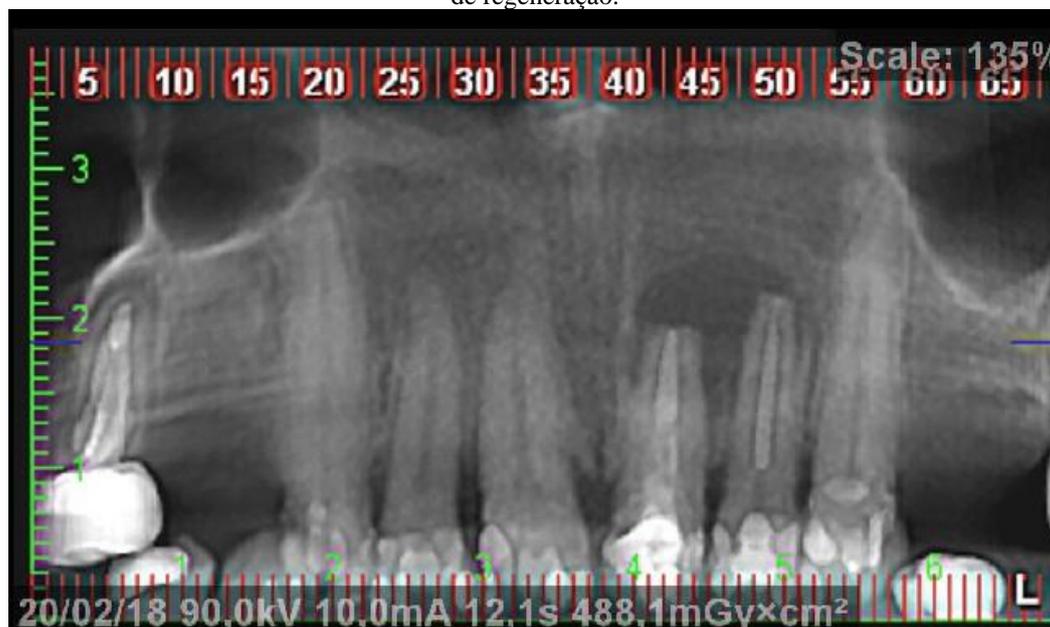


Figura 16. Corte tomográfico panorâmico pós cirúrgico evidenciado ampla área de perda óssea sem sinais de regeneração.



5 DISCUSSÃO

A falha da terapia endodôntica é normalmente caracterizada pela persistência ou surgimento de uma lesão periapical. Embora infecções extrarradiculares tenham sido consideradas como possíveis causas de periodontite apical pós-tratamento, diversos

estudos estabelecem que infecções persistentes ou secundárias são os principais agentes etiológicos de falhas nos tratamentos endodônticos (Rôças *et. al.* 2004).

Em alguns casos, mesmos os canais adequadamente tratados, algumas bactérias podem permanecer ativas, o que configura um potencial de risco para estes dentes. Além de que, bactérias presentes nas ramificações dos canais podem não ser atingidas pelas medidas de desinfecção, o que as podem tornar responsáveis pela infecção intra-canal persistente (Baumgartner, 2004).

O retratamento endodôntico convencional utilizando formas complementares de desinfecção parece ser importante antes de se buscar a resolução por via cirúrgica, uma vez que isso garante que todos os esforços para desinfecção foram tentados. Segundo Siqueira 2011, o sucesso no retratamento endodôntico ocorre em 77% dos casos. Entretanto, parece não fazer sentido a repetição de retratamento, caso a lesão persista e assim a modalidade cirúrgica deve ser empregada (Signoretti *et. al.* 2011; Wang *et. al.* 2013).

As ramificações laterais e apicais são vias importantes para a contaminação do ligamento periodontal através das bactérias. Diante disso, micro-organismos no interior dos canais podem gerar patologias periodontais assim como micro-organismos presentes na região extra-radicular, associadas ao ligamento periodontal pode causar efeitos deletérios ao tecido periapical (Gupta *et. al.* 2015; Ricucci *et. al.* 2016). As causas extra-radulares das falhas nas terapias endodônticas se baseiam na formação de biofilme extra-radicular muitas vezes denominados actinomicose (Siqueira & Rôças, 2003). A origem das infecções extra-radulares geralmente encontra-se na infecção intrarradicular que se desenvolve e se estende para os tecidos perirradulares (Ng *et. al.* 2007; Ricucci & Siqueira, 2008). Conceitualmente, a infecção extra-radicular pode depender ou ser independente da intra-radicular. Neste último caso, a infecção extra-radicular poderia persistir apesar da eliminação eficaz da infecção intra-radicular, resultando no fracasso da terapia endodôntica (Ricucci & Siqueira, 2008). No entanto, são poucos os microorganismos que tem a capacidade de ultrapassar os mecanismos de defesa do hospedeiro e, causar uma infecção extra-radicular. Atualmente, um dos fatores relatados como possível causador da infecção extra-radicular é o arranjo estrutural do biofilme que permite que um seletivo grupo de micro-organismos consiga se multiplicar, se protegendo contra os mecanismos de defesa do hospedeiro, mantendo a lesão perirradicular (Ricucci & Siqueira, 2008; Signoretti *et. al.* 2011). Quando os micro-organismos estão organizados em biofilmes, essa comunidade permite que se alterem seu fenótipo, refletindo em melhor

sobrevida em ambientes hostis com deficiência de nutrientes e aumento a resistência à agentes antimicrobianos e células de defesa do A cirurgia perirradicular não deve ser, e não é, em hipótese alguma, um substituto para um tratamento ou retratamento endodôntico inadequado. De fato, esse procedimento deve ser o último recurso clínico antes da extração de um elemento dental, portanto deve ser executado apenas quando tiver uma indicação precisa e inequívoca (Kim & Kratchman, 2006). De acordo com Souza et. al. 2017, se a presença de biofilme nas superfícies externas é identificada como uma possível causa do insucesso no tratamento endodôntico, uma abordagem cirúrgica deve ser considerada uma vez que o tratamento intra-radicular convencional não é suficiente para eliminar o biofilme presente nas áreas externas da raiz.

Após uma cirurgia peri-radicular, a regeneração óssea depende do fechamento primário, da fonte de células mesenquimais indiferenciadas, do princípio de manutenção e estabilidade do espaço (Wang & Boyapati, 2006).

De acordo com Marx *et. al.* 1998, a eficácia clínica vantajosa da PRF quando usada como enxerto durante o tratamento de um defeito intra-ósseo se baseia na incorporação de citocinas plaquetárias e leucocitárias na loja cirúrgica. Segundo os autores, estas citocinas são liberadas durante um período de 7 a 14 dias, o que tem um efeito adicional sobre a cicatrização de feridas.

A membrana de PRF auxilia na migração celular (principalmente células endoteliais), importante para a neo-angiogênese (Pinto et. al. 2017). A presença de leucócitos e citocinas desempenha um papel vital na auto-regulação de fenômenos inflamatórios e infecciosos (Simonpieri *et. al.* 2009).

Recentemente, diversos estudos tem apontado resultados positivos para o uso da PRF na regeneração óssea em cirurgias perirradiculares (Pires *et. al.* 2017; Patel *et. al.* 2017; Pinto *et. al.* 2017; Satheesh *et. al.* 2017).

Segundo Pawar et. al. 2017, a utilização de PRF contribui na aceleração das respostas de modulação da cicatrização óssea junto aos ápices radiculares durante o processo de cicatrização do hospedeiro.

Pires et. al. 2017, consideraram eficaz a utilização do PRF com o propósito de acelerar e otimizar a reparação óssea pós-apicectomia, bem como promover melhor cicatrização tecidual.

Entretanto, no presente estudo, a utilização da fibrina leuco plaquetária parece não ter acelerado o reparo ósseo nos primeiros 6 meses de acompanhamento. Em um amplo

defeito ósseo com perda substancial da parede cortical vestibular talvez seja necessário maior tempo para recuperação.

6 CONCLUSÃO

Após análise comparativa das imagens obtidas através de exame tomográfico pelos cortes axiais, sagitais e coronais da região operada, pôde-se determinar ausência de formação óssea durante o período de 6 meses após a data da cirurgia. A utilização de PRF parece não ter acelerado ou estimulado neoformação óssea até o período de acompanhamento cirúrgico de 6 meses.

Entretanto, a extensa destruição óssea com comprometimento da cortical vestibular pode ter contribuído para um atraso na regeneração. As membranas leuco plaquetárias autólogas obtidas a partir de material sanguíneo coletado do próprio paciente não são recomendadas como barreira tecidual. Novos estudos utilizando algum tipo de barreira tecidual complementado pelo preenchimento de PRF da loja cirúrgica devem ser estudados uma vez que a invaginação de tecidos moles para o local cirúrgico pode comprometer a regeneração de tecido ósseo.

REFERÊNCIAS

Baumgartner JC. Microbiologic aspects of endodontic infections. *J Calif Dent Assoc.* 2004 Jun;32(6):459-68.

Dohan DM, Choukroun J, Diss A et. al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006 Mar;101(3):e37-44.

Gupta SP, Bhati M, Jhajharia K et. al. Evaluation of Antimicrobial and Antifungal Efficacy of Inter Appointment Intracanal Medicaments against Enterococcus and Candida albicans: An In Vitro Study. *J Int Oral Health.* 2015 Jun;7(6):97-102.

Kim, S, Kratchman, S. Modern endodontic surgery concepts and practice: a review. *J Endod.* 2006; 32(7):601–623.

Pires SKC, Oliveira Jr NG, Vieira FLD, Silveira JCF, Leite KCF, Elias WC. Cirurgia paraendodôntica com uso de A-PRF – relato de caso. *Full Dent. Sci.* 2017; 9(33):30-37.

Lacerda MFL, Coutinho TM, Barrocas D et. al. Infecção secundária e persistente e sua relação com o fracasso do tratamento endodôntico. *Rev. Bras. odontol., Rio de Janeiro, v. 73, n. 3, p. 212-7, jul./set. 2016.*

Marx RE, Carlson ER, Eishstaed RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet rich plasma; Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1998; 96:638–46.

Ng, YL, Mann, V, Rahbaran, S, Lewsey, J, Gulabivala, K. Outcome of primary root canal treatment: systematic review of the literature – Part 1. Effects of study characteristics on probability of success. *Int Endod J.* 2007; 40(21):921–939.

Patel GK, Deepika PC, Sisodia N, Manjunath MK. Platelet Rich Fibrin in Management of Complex Endoperio Cases. *Kathmandu Univ Med J (KUMJ).* 2017 Jan.-Mar.;15(57):102-105.

Pawar AM, Suraj M. Pawar SM, Thakur B, Kokate S. Successful Surgical Outcome for an Endodontic Failure using Biodentine as Retrograde Restoration in Conjunction with Platelet Rich Fibrin (PRF) for Progressive Healing. *J Clin Diagn Res.* 2017 Apr; 11(4): ZJ03–ZJ04.

Pinto N, Harnish A, Cabrera C, Andrade C, Druttman T, Brizuela C. An Innovative Regenerative Endodontic Procedure Using Leukocyte and Platelet-rich Fibrin Associated with Apical Surgery: A Case Report. *J Endod.* 2017 Nov;43(11):1828-1834.

Pires SKC, Oliveira Jr NG, Vieira FLD, Silveira JCF, Leite KCF, Elias WC. Cirurgia paraendodôntica com uso de A-PRF – relato de caso. *Full Dent. Sci.* 2017; 9(33):30-37.

Ricucci D, Siqueira JF Jr. Apical actinomycosis as a continuum of intraradicular and extraradicular infection: case report and critical review on its involvement with treatment failure. *J Endod.* 2008 Sep;34(9):1124-9.

Ricucci, D, Loghin, S, Siqueira, JF, Jr. Exuberant biofilm infection in a lateral canal as the cause of short-term endodontic treatment failure: report of a case. *J Endod.* 2013; 39:712–718.

Ricucci D, Candeirol GT, Bugea et. al. Complex Apical Intraradicular Infection and Extraradicular Mineralized Biofilms as the Cause of Wet Canals and Treatment Failure: Report of 2 Cases. *J Endod.* 2016 Mar;42(3):509-15.

Rôças IN, Jung IY, Lee CY, Siqueira JF Jr. Polymerase chain reaction identification of microorganisms in previously root-filled teeth in a South Korean population. *J Endod* 2004; 30: 504–508.

Satheesh SL, Jain S, Bhuyan AC, Devi LS. Surgical Management of a Separated Endodontic Instrument using Second Generation Platelet Concentrate and Hydroxyapatite. *J Clin Diagn Res.* 2017 Jun;11(6):ZD01-ZD03.

Simonpieri A, Del Corso M, Sammartino G, Ehrenfest DM. The relevance of choukroun's platelet-rich fibrin and metronidazole during complex maxillary rehabilitations using bone allograft. Part II: implant surgery, prosthodontics, and survival. *Implant Dent.* 2009;18:220–29.

Siqueira JF Jr, Lopes HP. Bacteria on the apical root surfaces of untreated teeth with periradicular lesions: a scanning electron microscopy study. *Int Endod J.* 2001 Apr;34(3):216-20

Siqueira JF Jr. Aetiology of root canal treatment failure: why well-treated teeth can fail. *Int Endod J.* 2001 Jan;34(1):1-10.

Siqueira, JF, Jr., Rôças, IN. Polymerase chain reaction detection of *Propionibacterium propionicus* and *Actinomyces radicidentis* in primary and persistent endodontic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2003; 96:215–222.

Siqueira JF Jr, Rôças IN. Exploiting molecular methods to explore endodontic infections: Part 1 – current molecular technologies for microbiological diagnosis. *J Endod* 2005; 31: 411–423.

Siqueira, JF, Jr., Rôças, IN. The microbiota of acute apical abscesses. *J Dent Res.* 2009; 88:61–65..

Signoretti FGC, Endo MS, Gomes BPF, et. al. Persistent Extraradicular Infection in Root-filled Asymptomatic Human Tooth: Scanning Electron Microscopic Analysis and Microbial Investigation after Apical Microsurgery, *J Endod* 2011;37:1696–1700.

Soffer E, Ouhayoun JP e Anagnostou F. Fibrin sealants and platelet preparations in bone and periodontal healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2003 May;95(5):521-8.

Souza BC, Gomes FA, Ferreira CM, et. al. Persistent extra-radicular bacterial biofilm in endodontically treated human teeth: Scanning electron microscopy analysis after apical surgery. *Microsc Res Tech.* 2017.

Tronstad, L, Barnett, F, Riso, K, et al. Extraradicular endodontic infections. *Endod Dent Traumatol.* 1987; 3:86–90.

von Arx T, Gerber C, Hardt N. Periradicular surgery of molars: a prospective clinical study with a one-year follow-up. *Int Endod J.* 2001 Oct;34(7):520-5.

Wang HL, Boyapati L. “PASS” principles for predictable bone regeneration. *Implant Dent.* 2006;15(1):08–17.

Wang, J., Chen, W., Jiang, Y., & Liang, J. Imaging of extraradicular biofilm using combined scanning electron microscopy and stereomicroscopy. *Microscopy Research and Technique.* 2013, 76, 979–983.