



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA  
CAMPUS I - CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE CIÊNCIAS E DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA  
DOUTORADO EM ODONTOLOGIA**

**GABRIELLA DE VASCONCELOS NEVES**

**EFEITO DA TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA FRENTE A  
DIFERENTES PROTOCOLOS DE AGITAÇÃO DO FOTOSSENSIBILIZADOR NA  
INIBIÇÃO DE *E. FAECALIS* NO SISTEMA DE CANAIS RADICULARES**

**CAMPINA GRANDE-PB  
2023**

**GABRIELLA DE VASCONCELOS NEVES**

**EFEITO DA TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA FRENTE A  
DIFERENTES PROTOCOLOS DE AGITAÇÃO DO FOTOSSENSIBILIZADOR  
NA INIBIÇÃO DE *E. FAECALIS* NO SISTEMA DE CANAIS RADICULARES**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba como requisito para obtenção do título de Doutora em Odontologia.

**Área de concentração:** Clínica Odontológica.

**Orientadora:** Profa. Dra. Daliana Queiroga de Castro Gomes

**Campina Grande - PB  
2023**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

N518e Neves, Gabriella de Vasconcelos.

Efeito da terapia fotodinâmica antimicrobiana frente a diferentes protocolos de agitação do fotossensibilizador na inibição de *E. faecalis* no sistema de canais radiculares [manuscrito] / Gabriella de Vasconcelos Neves Neves. - 2023.

80 p. : il. colorido.

Digitado.

Tese (Doutorado em Odontologia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2023.

"Orientação : Profa. Dra. Daliana Queiroga de Castro Gomes, UEPB - Universidade Estadual da Paraíba."

1. Fotoquimioterapia. 2. Biofilmes. 3. Endodontia. I. Título

21. ed. CDD 617.6

**GABRIELLA DE VASCONCELOS NEVES**

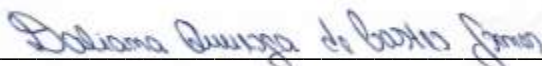
**EFEITO DA TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA FRENTE A  
DIFERENTES PROTOCOLOS DE AGITAÇÃO DO FOTOSSENSIBILIZADOR NA  
INIBIÇÃO DE *E. FAECALIS* NO SISTEMA DE CANAIS RADICULARES**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba como requisito para obtenção do título de Doutora em Odontologia.

**Área de concentração:** Clínica Odontológica.

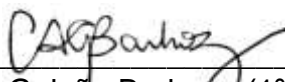
Aprovada em: 18/04/2023

**BANCA EXAMINADORA**



---

Profa. Dra. Daliana Queiroga de Castro Gomes (Orientadora)  
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



---

Prof. Dr. Carlos Augusto Galvão Barboza (1º Examinador externo)  
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



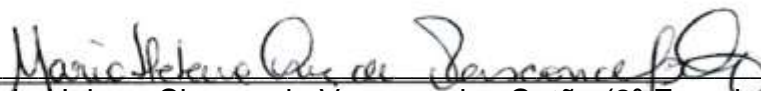
---

Prof. Dr. Ricardo Dias de Castro (2º Examinador externo)  
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



---

Profa. Dra. Kátia Simone Alves dos Santos (1º Examinadora interna)  
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



---

Profa. Dra. Maria Helena Chaves de Vasconcelos Catão (2º Examinadora interna)  
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

À Deus, por sua graça, proteção e amor. Por ter me permitido chegar até aqui.

## AGRADECIMENTOS

À Deus, por me dar força e saúde para a realização dos meus sonhos. Acredito que sem Ele, NADA disso seria possível. Agradeço pela família e amigos que Ele me deu, pelos erros e acertos que Ele permitiu que acontecesse na minha vida, tudo isso para me transformar em quem sou hoje.

Aos meus pais, Patrícia e Josidark, pelo cuidado, zelo e proteção todos os dias. Obrigada pelos valores transmitidos, pela educação que recebi, essenciais na minha formação. Eu sou muito grata por todo o esforço e abdicção de vocês para a realização dos meus sonhos. Muito obrigada, vocês, painho e mainha!!

A minha segunda mãe (*in memoriam*) Veronilza ("Aia"). Você cuidou de mim até os meus 12 anos e, juntamente com meus pais, me educou, me deu amor e todo carinho que precisei. Sou eternamente grata por tudo que fez por mim e por minha família. Você tem parte em tudo que sou hoje. Sinto sua falta aqui na terra e meu sonho era poder te abraçar de novo. Te amo, Aia!!!

Aos meus irmãos, Fernanda e Luiz, por terem dividido comigo os meus melhores momentos. Vocês são essenciais na minha vida e nas minhas conquistas. Neste momento passa um filme na minha cabeça de tudo que já vivemos juntos. Amo muito vocês, Binha e Binho!!!

A toda minha família pelos momentos de alegria e por todo o apoio.

Ao meu amor, Rafael, pela leveza e companheirismo. Você me ensinou que o propósito deve estar acima de tudo, que aproveitar momentos é mais importante que bens materiais, que pessoas importam, que devo acreditar mais em mim...me mostrou que posso ser aquilo que eu quiser. Obrigada por todo carinho e compreensão em todos os momentos em que mais precisei. Te amo muito!

A minha querida orientadora, Professora Daliana Queiroga, pela oportunidade de concretizar meu sonho do mestrado e doutorado e pelo aprendizado diário desde a época da graduação. Lembro bem das idas ao hospital Laureano e do quanto eu ficava encantada pela forma que você tratava seus pacientes e todos os funcionários daquele local. Levarei como exemplo seu amor pela profissão e, principalmente, pelas pessoas. Obrigada pelo incentivo e pelas correções sempre que precisei. Quero que saiba que tenho enorme gratidão, carinho e respeito por você.

A professora Kátia dos Santos, por estar comigo desde a graduação e ter despertado o meu amor pela endodontia. Obrigada por ter pego a minha mão na

graduação e no mestrado, e agora ter feito parte da minha banca de doutorado. Sou grata por todo o apoio e amizade sempre que precisei!

A Minha dupla de faculdade e melhor amigo, Pedro Tardelly, por todos os momentos vividos juntos e parceria de sempre. Ter sua amizade há tanto tempo é um presente de Deus! Te amo Pedroca!!

Aos meus amigos que o doutorado me proporcionou, por todo companheirismo ao longo destes quatro anos.

Aos alunos de iniciação científica, Luzia e Filipe, pela ajuda durante a realização da pesquisa.

A Priscila por ter me apoiado desde o início na realização desta pesquisa. Muito obrigada pelos ensinamentos e paciência em me ensinar tudo que precisei no laboratório. Você foi essencial em todas as etapas!

A Professora Edja Maria, coordenadora do Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos, por ter me cedido o mesmo para a realização desta pesquisa.

Aos Professores Ricardo Castro, Maria Helena Catão e Carlos Augusto Barboza pelo tempo dispensado na avaliação deste trabalho com seriedade e critério. Obrigada por aceitarem o convite em participar da minha banca.

A todos os funcionários da Universidade Estadual da Paraíba, especialmente ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia (PPGO), pela oportunidade de formação e pelo exercício de uma ciência transparente e responsável, bem como ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo auxílio financeiro aos alunos do PIBIC que me ajudaram na realização desta pesquisa.

## RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar, *in vitro*, a atividade antibacteriana da terapia fotodinâmica associada a diferentes protocolos de agitação do fotossensibilizador no combate ao *Enterococcus faecalis* do sistema de canais radiculares. Tratou-se de um ensaio experimental, no qual um total de 90 pré-molares humanos unirradiculares foram preparados e contaminados com *E. faecalis* ( $3 \times 10^8$  cel/mL). Os dentes foram divididos aleatoriamente em cinco grupos experimentais com 15 dentes cada, um grupo controle negativo com cinco dentes e um grupo controle positivo com dez dentes: Grupo C+ (Controle positivo - irrigação convencional com agulha); Grupo C – (controle negativo – ausência de tratamento); Grupo TFDa (terapia fotodinâmica); Grupo IUP (agitação ultrassônica do NaOCl a 2,5%), Grupo XP-endo (Agitação do NaOCl 2,5% com XP-endo); Grupo TFDa + IUP (Terapia fotodinâmica antimicrobiana + agitação ultrassônica do fotossensibilizador); Grupo TFDa + XP-endo (Terapia fotodinâmica antimicrobiana + agitação do fotossensibilizador com XP-endo finisher). A fonte de luz utilizada foi um laser diodo de baixa potência, com comprimento de onda de 660nm, potência de 100 mW, energia de 9 J, por 90 segundos de irradiação. O fotossensibilizador utilizado foi o azul de metileno a 0,005 %, o qual permaneceu no canal por um período de pré-irradiação de três minutos. O conteúdo do canal foi coletado com pontas de papel absorvente estéreis em dois momentos: antes dos protocolos de descontaminação, e 24 horas após os protocolos. O número de unidades formadoras de colônias de *E. faecalis* (UFC) foi determinado para cada canal radicular. Os testes ANOVA e TUKEY foram utilizados, e o nível de significância foi estabelecido em 5% ( $p < 0,05$ ). A porcentagem de inibição de crescimento variou de 0,0 (C-) a 62,5 (XP-endo). Os maiores percentuais de inibição foram observados nos grupos G4 (XP-endo) (62,5%) e G7 (TFDa + XP-endo) (62,4%). Após a realização deste estudo, concluiu-se que a agitação do fotossensibilizador, seja com o uso de ultrassom, seja com a XP endo, melhorou significativamente a atividade antimicrobiana quando comparado ao grupo da TFDa sem agitação. Não houve diferença significativa entre os métodos de agitação.

**Palavras-Chave:** fotoquimioterapia; biofilmes; *enterococcusfaecalis*; endodontia.



## ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate, *in vitro*, the antibacterial activity of photodynamic therapy associated with different photosensitizer agitation protocols in the fight against *Enterococcus faecalis* in the root canal system. It was an experimental test, in which a total of 90 single-rooted human premolars were prepared and contaminated with *E. faecalis* ( $3 \times 10^8$  cel/mL). The teeth were randomly divided into five experimental groups with 15 teeth each, a negative control group with five teeth and a positive control group with ten teeth: Group C+ (Positive control - conventional needle irrigation); Group C – (negative control – no treatment); PDT group (photodynamic therapy); IUP group (2.5% NaOCl ultrasonic agitation), XP-endo group (2.5% NaOCl agitation with XP-endo); PDT + IUP group (Antimicrobial photodynamic therapy + ultrasonic agitation of the photosensitizer); PDT + XP-endo group (Antimicrobial photodynamic therapy + FS agitation with XP-endo finisher). The light source used was a low power diode laser, with a wavelength of 660nm, power of 100 mW, energy of 9 J, for 90 seconds of irradiation. The photosensitizer used was 0.005% methylene blue, which remained in the channel for a pre-irradiation period of three minutes. The canal content was collected with sterile absorbent paper points at two moments: before the decontamination protocols, and 24 hours after the protocols. The number of *E. faecalis* colony forming units (CFU) was determined for each root canal. ANOVA and TUKEY tests were used, and the significance level was set at 5% ( $p < 0.05$ ). The percentage of growth inhibition ranged from 0.0 (C-) to 62.5 (XP-endo), with different CFU/mL values among all tested protocols ( $p < 0.05$ ). Percent growth inhibition ranged from 0.0 (C-) to 62.5 (XP-endo). The highest percentages of inhibition were observed in groups G4 (XP-endo) (62.5%) and G7 (PDT + XP-endo) (62.4%). After carrying out this study, it was concluded that the agitation of the photosensitizer, either with the use of ultrasound or with XP endo, significantly improved the antimicrobial activity when compared to the PDT group without agitation. There was no significant difference between the agitation methods.

**Keywords:** photochemotherapy; biofilms; enterococcus faecalis; endodontics.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Etapas metodológicas do estudo.....	49
Figura 2 –	Seleção e padronização dos espécimes .....	50
Figura 3 –	Seccão transversal dos espécimes na junção cimento-esmalte.....	50
Figura 4 –	Banho ultrassônico prévio ao procedimento de contaminação.....	52
Figura 5 –	Inserção do fotossensibilizador no interior do canal radicular.....	55
Figura 6 –	Inserção da fibra óptica e ativação do fotossensibilizador pelo laser diodo.....	56
Figura 7 –	Inserto E1 posicionado no interior do canal radicular.....	57
Figura 8 –	XP - endo posicionada no interior do canal radicular.....	58
Figura 9 –	Placas contendo UFCs.....	60

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Síntese dos artigos sobre objetivo principal do estudo, FS, TPI, tempo de irradiação, comprimento de onda, potência, resultado, agitação do FS e entrega.....	33
Quadro 2 - Parâmetros do laser diodo de baixa potência.....	54
Quadro 3 - Grupos experimentais e controles do estudo.....	54

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Análise comparativa da quantidade de bactérias (UFC/mL) observadas nos diferentes tempos de avaliação de acordo com cada grupo experimental.....	61
---	----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BHI	Brain Heart Infusion
<i>E. faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
EROS	Espécies reativas de oxigênio
SIABI	Sistema Integrado de Automação de Bibliotecas
FS	Fotossensibilizador
SCR	Sistema de Canais Radiculares
IUP	Irrigação Ultrassônica Passiva
MO	Micro-organismos
mL	Mililitro
NaOCl	Hipoclorito de Sódio
aPDT	Antimicrobial Photodynamic Therapy
PPGO	Programa de Pós-Graduação em Odontologia
PQM	Preparo Químico-Mecânico
XP-endo	XP Endo Finisher
UFC	Unidade Formadoras de Colônia
TFDa	Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	16
2.1	Infecções endodônticas.....	16
2.2	Enterococcus faecalis .....	19
2.3	Terapia fotodinâmica.....	23
2.4	Agitação ultrassônica na endodontia.....	38
2.5	Técnicas de agitação com xp - endo finisher.....	44
3	OBJETIVOS.....	48
3.1	Objetivo geral.....	48
3.2	Objetivos específicos.....	48
4	METODOLOGIA.....	49
4.1	Tipo e local do estudo.....	49
4.2	Considerações éticas.....	49
4.3	Seleção e padronização dos espécimes utilizados.....	49
4.4	Micro-organismos e meio de cultura.....	51
4.5	Contaminação dos espécimes com <i>E. Faecalis</i> .....	52
4.6	Fotossensibilizador e fonte de luz.....	53
4.7	Distribuição dos grupos.....	54
4.8	COLETAS E ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS.....	59
4.8.1	<i>Coletas microbiológicas</i> .....	59
4.8.2	<i>Preparo das coletas (diluição, contagem das unidades formadoras de colônias - UFC)</i> .....	59
4.9	Análise estatística.....	60
5	RESULTADOS.....	61
6	DISCUSSÃO.....	62
7	CONCLUSÕES.....	67
	REFERÊNCIAS.....	68
	ANEXO A - TERMO DE AUTORIZAÇÃO INSTITUCIONAL.....	77
	ANEXO B - PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP.....	78

## 1 INTRODUÇÃO

A terapia endodôntica de dentes necrosados envolve a remoção químico-mecânica de bactérias e seus subprodutos em conjunto com a polpa e dentina infectada dentro do sistema de canais radiculares (SCR) (ALVES et al., 2018). A desinfecção eficiente do SCR é um pré-requisito para um tratamento endodôntico bem-sucedido. No entanto, a eliminação completa dos micro-organismos (MO) desses canais pode não ser alcançada pelas técnicas comumente utilizadas, como instrumentação mecânica, irrigação com agulha e aplicação de medicação intracanal (GHABRAEI et al., 2018).

A infecção do SCR é conhecida por conter bactérias e seus subprodutos, fluidos teciduais, dentina, matriz dentinária e remanescentes de tecido pulpar. Estes constituintes do canal radicular podem reduzir ou inibir completamente a atividade antibacteriana da solução irrigadora e da medicação intracanal (SIQUEIRA JR; RÔÇAS, 2008; SILVA et al., 2010). O SCR apresenta complexidades anatômicas, como ramificações apicais, istmos e túbulos dentinários, que podem impedir a descontaminação durante a terapia endodôntica de polpas necrosadas. As bactérias que sobreviveram, mesmo após o preparo químico-mecânico (PQM), frequentemente estão organizadas em estruturas semelhantes a biofilmes, e podem estar associadas à periodontite apical persistente (ALVES et al., 2018).

Em geral, nenhum protocolo terapêutico, técnica ou instrumento específico é capaz de moldar e eliminar completamente os MO dentro do canal radicular. Para superar as limitações do tratamento endodôntico convencional, novas estratégias coadjuvantes podem ser mais eficazes na redução ou eliminação dos MO, aumentando a taxa de sucesso do tratamento endodôntico (SIQUEIRA JR; RÔÇAS, 2008). Dentre elas, o uso da terapia fotodinâmica antimicrobiana - TFDa (FIMPLE et al., 2008; AFKHAMI et al., 2017; HOEDKE et al., 2017), da irrigação ultrassônica passiva – IUP (BAO et al., 2017; LEONI et al., 2017; NIARVAZI, 2019) e da XP-Endo Finisher – XP-endo (BAO et al., 2017; LEONI et al., 2017; AZIM et al., 2016) têm sido associados a melhorias na limpeza e desinfecção do SCR.

O interesse pela utilização da TFDa na endodontia está relacionado principalmente ao efeito antimicrobiano comprovadamente constatado desta terapia, visto que ela não promove resistência microbiana, é uma técnica de fácil aplicação, é indolor e soma a todas essas características os efeitos benéficos advindos da

terapia com laser (SOUKOS, 2006, MACHADO et al., 2009, ALFENAS et al., 2011, SILVA et al., 2010).

Tanto para a desinfecção, quanto para o amplo desbridamento do SCR, a irrigação é parte essencial para se obter êxito. A irrigação convencional com seringas é a técnica básica para irrigação do canal radicular, e a profundidade da colocação da ponta da agulha no interior do canal é o fator que permite a entrega da solução, mas limita muito sua distribuição. Abordagens alternativas incluindo um sistema de irrigação que melhore a distribuição do irrigante por meio da agitação ultrassônica são opções para melhorar a desinfecção do SCR (CASTELO-BAZ et al., 2016).

A IUP é um sistema de irrigação, o qual depende da transmissão de energia acústica de um inserto oscilante para um irrigante no espaço do canal radicular por meio de ondas ultrassônicas (CASTELO-BAZ et al., 2016). A solução, previamente inserida no interior do canal, é agitada por insertos ultrassônicos que devem trabalhar soltos no conduto radicular, tocando minimamente as paredes dentinárias e, a cada agitação, a solução precisa ser reabastecida (DAMETTO et al., 2005).

Outra estratégia estudada na atualidade para complementar a limpeza e desinfecção do canal é o uso do instrumento XP-endo. Fabricado com uma liga de níquel-titânio especial (MaxWire), este instrumento sofre uma mudança de fase quando aquecido acima de 35°, promovendo uma alteração da forma do instrumento, de retilíneo para uma forma semelhante a de uma colher. Desta maneira, em temperatura corpórea, o instrumento executa movimentos excêntricos quando acionado por rotação no interior dos canais radiculares, moldando-se à forma do canal com potencial de promover a remoção de debris e de biofilmes em áreas não preparadas (CARVALHO, 2019).

A IUP e XP-endo são empregadas, na endodontia, para agitação da solução irrigadora. Em alguns experimentos, *in vitro*, verificaram-se resultados superiores à irrigação convencional com agulha (BAO et al., 2017, LEONI et al., 2017).

Até o momento, há poucos estudos publicados (GHINZELLI et al., 2014, NIAVARZI et al., 2019), os quais avaliaram se a agitação ultrassônica do FS azul de metileno inserido previamente à aplicação do laser favorece a sua melhor penetrabilidade e ação antimicrobiana durante a TFDa. Entretanto, não há estudos publicados com o uso da XP-endo nesta finalidade e, até mesmo, comparando as duas técnicas de agitação – IUP x XP-endo. A busca por novas técnicas reflete a



preocupação dos profissionais em desenvolver novas metodologias que possam facilitar e melhorar o efeito antimicrobiano da TFDa.

Com este estudo, esperou-se comprovar que os diferentes protocolos de agitação do fotossensibilizador pudessem influenciar na ação antibacteriana da terapia fotodinâmica no sentido de permitir uma maior penetrabilidade do mesmo em regiões não alcançadas pela instrumentação convencional e, conseqüentemente, aumentar o índice de sucesso do tratamento endodôntico.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito *in vitro* da TFDa frente a diferentes protocolos de agitação do agente fotossensibilizador (FS).

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 Infecções endodônticas

As primeiras pesquisas que demonstraram a presença de bactérias no interior do SCR ocorreram em 1894, quando MILLER relatou a associação entre bactérias e as patologias pulpar e perirradicular. O estabelecimento de uma relação causal entre MO e as patologias de origem endodôntica só foi efetivamente comprovado, no entanto, em 1965, em um estudo realizado por Kakehashi, Stanley e Fitzgerald.

Os estudos microbiológicos das infecções endodônticas indicavam o predomínio de bactérias aeróbias e anaeróbias facultativas relegando menor importância às anaeróbias estritas (BROWN; RUDOLF, 1957). Contudo, o desenvolvimento das técnicas de cultivo de anaeróbios estimulou o interesse pela avaliação da porcentagem de bactérias anaeróbias presentes em dentes com necrose pulpar e periapicopatias. A partir de então, começaram a surgir os primeiros trabalhos indicando uma maior participação dos anaeróbios nas infecções primárias.

Sundqvist (1976) permitiu uma compreensão mais verdadeira da composição e implicação da microbiota nas infecções endodônticas. Neste estudo, foram avaliadas as condições bacteriológicas de 32 canais de dentes unirradiculares com polpas necrosadas em decorrência de injúria traumática e coroas intactas. Em 19 dentes, foi detectada, radiograficamente, a presença de lesão periapical. Após coleta e processamento microbiológico das amostras, os resultados evidenciaram a presença de bactérias apenas em casos de dentes com lesões perirradiculares, ou seja, em 18 dos 19 casos. Este achado confirmou o importante papel desempenhado por bactérias na etiopatogenia destas lesões, além de combater o conceito de que o tecido pulpar necrosado, mesmo na ausência de bactérias, fosse um irritante tecidual. Dos 18 canais infectados, foram isoladas um total de 88 cepas bacterianas. Destas, apenas cinco foram anaeróbias facultativas. Assim, bactérias anaeróbias estritas representam 94,3% das cepas isoladas. Este achado modificou o conceito de que os principais patógenos endodônticos eram bactérias facultativas.

Baumgartner e Falkler (1991) escreveram que o novo gênero estabelecido como *Porphyromonas* incluía as espécies previamente identificadas como bacteroides produtoras de pigmento negro assacarolíticos, *Porphyromonasendodontalis* e *Porphyromonasgingivalis*. Conscientes de que a

infecção do SCR é predominantemente anaeróbia, descreveram algumas condições para sua ocorrência: a presença de tecido necrótico, um suprimento sanguíneo comprometido e uma infecção prévia por MO aeróbios e facultativos, que diminuem o potencial de oxirredução no tecido. Os autores ainda identificaram as bactérias presentes nos cinco mm apicais de dez dentes com lesões cariosas extensas, exposição pulpar e alteração inflamatória periapical associada. Os espécimes recém extraídos foram alocados em uma câmara de anaerobiose após a remoção da lesão. A cultura e a identificação subsequente possibilitaram a recuperação de 50 cepas bacterianas, sendo 34 (68%) anaeróbia estrita. Os MO mais comuns foram: *Actinomyces*, *Lactobacillus*, *Bacterioides* produtores de pigmento negro, *Peptostreptococcus*, *Veillonellaparvulla*, *Bacterioides buccae*, *Enterococcusfaecalis*, *Fusobacteriumnucleatum* e *Streptococcus mutans*.

Considerando a importância dos MO na etiopatogenia do processo patológico que afeta o SCR, Lana et al. (2001) pesquisaram as espécies microbianas envolvidas na infecção endodôntica e avaliaram a efetividade da terapêutica instituída. A amostra foi composta por trinta e um dentes unirradiculares com polpa mortificada, dos quais 22 apresentavam câmara pulpar intacta, e nove, comunicação com a cavidade oral. Trezentos e oito MO foram isolados de 27 canais (87,1%) e 278 (90,3%) foram identificados em gênero e espécie. O número de espécies por canal variou de um a 11, perfazendo uma média de cinco espécies por canal. Vinte e dois canais (81,5%) exibiram uma infecção polimicrobiana, 24 canais (88,9%) abrigavam anaeróbios estritos, 14 canais (51,8%) hospedavam anaeróbios facultativos, cinco canais (18,5%) acolheram microaerófilos e dois canais (7,4%) alojavam fungos. As cepas mais comumente isoladas e classificadas foram: *Prevotella* (20 cepas/ 12 canais), *Fusobacterium* (1/11), *Lactobacillus* (14/10), *Streptococcus* (16/10), *Clostridium* (11/9) e *Peptostreptococcus* (12/7). As espécies mais frequentemente isoladas, após a abertura coronária, foram *Fusobacteriumnucleatum* (35,48%) e *Prevotella intermedia/nigrescens* (25,8%).

Carvalho (2009) objetivou delinear a característica microbiológica de canais radiculares de dentes permanentes jovens portadores de infecção primária. Foram selecionados 12 pacientes com necessidade de tratamento endodôntico em um ou mais dentes unirradiculares, portadores de rizogênese incompleta, diagnóstico clínico de necrose pulpar, em decorrência de injúria traumática e condição de infecção endodôntica primária. Após o acesso, dezenove espécimes microbiológicos

foram obtidos do interior dos canais radiculares com auxílio de cones de papel, os quais foram transferidos, imediatamente, para frascos contendo 2,0mL de meio de transporte pré-reduzido VMGA III (*Viability Medium Goteborg Anaerobically*). As amostras foram diluídas e semeadas em placas do tipo Petri contendo meios de culturas seletivos para detecção de espécies de enterococos, de espécies de leveduras e para crescimento de bactérias totais. Os MO anaeróbios foram recuperados de todos os canais e o número médio de células por canal foi de  $5,7 \times 10^6$ . Quatro amostras (21,05%) evidenciaram o crescimento de bacteroides produtores de pigmento negro e o número médio de células por canal foi de  $6,5 \times 10^5$ . Um espécime (5,25%) exibiu o crescimento de espécies de enterococos e o número médio de células neste canal foi de  $1,5 \times 10^4$ .

A elevada concentração de oxigênio presentes nos tecidos nos estágios iniciais favorece a prevalência de bactérias aeróbias e facultativas. A partir da necrose tecidual, a tensão de oxigênio é reduzida pela ausência de microcirculação. Observa-se, então, uma redução no potencial de óxido-redução proporcionando uma elevação na quantidade de MO anaeróbios estritos (LOPES; SIQUEIRA, 2004). Outro aspecto importante na seleção de MO é o pH tecidual. Os tecidos necrosados apresentam pH ligeiramente ácido, aproximadamente seis, o que favorece a colonização bacteriana. Por outro lado, em tecidos saudáveis, o pH é de aproximadamente 7,2 a 7,4, ou seja, ligeiramente básico, o que dificulta a ação de enzimas bacterianas (TRONSTAD et al., 1990).

Enquanto muitas espécies microbianas isoladas de canais radiculares conseguem manter sua viabilidade até pH próximo a 9, raras o fazem em meios que apresentam valores maiores de pH. Alguns microrganismos são exceções, como o *E. faecalis*, que pode sobreviver em pH 11,5, a *Candida albicans* e o *Actinomyces radicidentis* (LOPES; SIQUEIRA, 2004).

A microbiota presente em canais radiculares obturados com insucesso endodôntico difere tanto quantitativa quanto qualitativamente daquela normalmente encontrada em dentes necrosados e não tratados. Observa-se nas infecções secundárias e persistentes um número limitado de MO com predominância de anaeróbios facultativos gram-positivos. Já uma infecção polimicrobiana com predominância de anaeróbios estritos gram-negativos, está comumente associada a canais não-tratados endodonticamente (SUNDQVIST et al., 1998).

As bactérias remanescentes normalmente são encontradas em ramificações apicais, istmos e túbulos dentinários inacessíveis aos procedimentos de instrumentação e irrigação (VERA et al., 2012). Estes MO podem apresentar estratégias de sobrevivência nos canais radiculares. Por exemplo, eles podem resistir à escassez de nutrientes, assumindo um estágio de baixa atividade metabólica e podem se tornar metabolicamente ativos novamente se as fontes de nutrientes forem restabelecidas. Esses MO persistentes podem levar do insucesso do tratamento endodôntico se houver um desequilíbrio entre a concentração de MO e a defesa do hospedeiro, ou seja, se esses MO tiverem acesso aos tecidos periapicais e alcançarem níveis suficientes para induzir o processo inflamatório (SIQUEIRA JR; RÔÇAS, 2008).

Uma vez estabelecida, a infecção endodôntica não é passível de remissão espontânea pela ação de mecanismos de defesa do hospedeiro e tampouco pode ser tratada por antibioticoterapia sistêmica. As defesas do hospedeiro são apenas eficazes em impedir a disseminação da infecção, mas não são capazes de eliminá-la. Normalmente, a infecção se propaga além do canal principal para túbulos dentinários e para variações da anatomia interna, principalmente no terço apical do canal (LOPES; SIQUEIRA, 2004).

Aliada aos aspectos anatômicos, a organização das bactérias em biofilme intrarradicular pode dificultar a sanificação dos canais radiculares de dentes com periodontite apical. Estes biofilmes polimicrobianos, aderidos às paredes dentinárias não tocadas pelos instrumentos, oferecem resistência à ação antimicrobiana das substâncias químicas. Esse fato ocorre devido ao sinergismo entre os membros da comunidade microbiana, que passam a reagir às alterações ambientais como uma unidade, e não como células isoladas. Portanto, a complexidade anatômica do SCR associada à organização bacteriana em biofilmes contribui para a persistência de bactérias nos canais radiculares (CARVALHO, 2019).

Os fungos podem ser isolados de canais radiculares infectados em culturas puras e associados a bactérias. A ocorrência em culturas puras em casos de periodontite apical indica o potencial patogênico destes MO em canais radiculares infectados. A habilidade de espécies de *Candida* para sobreviver em um ambiente com escassez de nutrientes e de resistir à ação de medicamentos comumente utilizados na endodontia pode fornecer importante vantagem ecológica para sobrevivência deste grupo de MO nos canais radiculares (WALTIMO et al., 2004).

## 2.2 *Enterococcus faecalis*

Os MO Enterococos são Gram-positivos, anaeróbios facultativos, com capacidade de crescer em condições extremas, como 6,5% de NaCl e pH elevado. Embora mais de doze espécies diferentes possam estar associadas a doenças, a maioria das infecções enterocócicas em humanos é causada por *E. faecalis*. Na cavidade oral, *E. faecalis* é isolado em baixas taxas e em pequeno número na saliva de indivíduos saudáveis (HOLLENBECK; RICE, 2012). Entretanto, *E. faecalis* destaca-se por ser a espécie mais comumente encontrada em canais tratados, e a sua capacidade de sobreviver em condições ambientais desfavoráveis fizeram com que alguns estudos a apontassem como o principal patógeno envolvido no fracasso do tratamento endodôntico (PINHEIRO et al., 2003; SIDDIQUI; AWAN; JAVED, 2013). Em decorrência disso, uma série de pesquisas foi publicada tendo como foco esta espécie (BRITO et al., 2009; STOJICIC et al., 2013; KOMINE; TSUJIMOTO, 2013; AFKHAMI et al., 2017).

Os canais com tratamento prévio têm cerca de nove vezes maior probabilidade de abrigar *E. faecalis* do que os casos de infecções primárias (RÔÇAS et al., 2004). Entretanto, apesar da alta prevalência, o papel de *E. faecalis* na etiologia dos insucessos endodônticos ainda é desconhecido (ANDERSON et al., 2012).

Há uma controvérsia entre os estudos quanto à prevalência de *E. faecalis* em infecções primárias e persistentes. Pinheiro et al. (2003), por meio de coletas microbiológicas de canais radiculares que necessitavam de retratamento, verificaram que a espécie bacteriana mais frequentemente isolada foi o *E. faecalis*, apresentando-se em 52,94% dos canais radiculares com crescimento microbiano. Rôças et al. (2004) investigaram a prevalência de *E. faecalis* em canais não tratados e em canais com tratamento endodôntico prévio associados a lesões periapicais crônicas. *E. faecalis* foi isolada em 67% (20/30) dos dentes com insucesso do tratamento endodôntico e, em 18% (9/50) dos casos de infecções primárias, sendo detectada principalmente em dentes assintomáticos.

Conforme Kayaoglu (2004), além de se organizarem em biofilme, estes MO possuem diversos fatores de patogenicidade, como, por exemplo, a produção de superóxidos, enzimas líticas, substâncias agregadoras, adesinas de superfície, entre outros. Estes MO são frequentemente encontrados em reações periapicais crônicas

que, apesar de serem gram-positivos facultativos, fazem parte da microbiota na fase inicial da infecção endodôntica, que, em sua fase mais avançada, será composta principalmente por bactérias gram-negativas (LOVE, 2001).

Os MO anaeróbios facultativos, como os *E. faecalis* podem permanecer em fase latente, com uma baixa taxa metabólica por um período de tempo, entretanto, mudanças ambientais, como uma infiltração coronária, podem levar à ativação dos mesmos e, a sua conseqüente proliferação (SILVA et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2014).

Figdor et al. (2003) demonstraram, *in vitro*, a capacidade do *E. faecalis* de suportar períodos prolongados de ausência de nutrientes em um estado metabólico mínimo. Os autores demonstraram a sobrevivência de um pequeno remanescente da população de *E. faecalis* na água por quatro meses e, em meios com nutrientes limitados, por mais de quatro meses. Essas bactérias foram capazes de retornar ao crescimento após a adição de nutrientes. Todos esses fatores podem contribuir para a alta prevalência desse MO em dentes com tratamento endodôntico prévio associados a lesões periapicais.

A bactéria *E. faecalis* apresenta resistência aos efeitos antimicrobianos do hidróxido de cálcio, provavelmente devido ao efetivo sistema de bombeamento de prótons que mantém níveis de pH citoplasmático ótimos dificultando o tratamento endodôntico. Apesar do canal radicular obturado ser pobre em nutrientes, *E. faecalis* obtém sua nutrição do ácido hialurônico presente na dentina por meio da degradação por hialuronidase, e, nos casos de selamentos inadequados do conduto, a entrada de fluidos potencializa a ação dessa bactéria (KAYAOGLU; ØRSTAVIK, 2004).

A penetração intratubular de *E. faecalis* e *Candida albicans* foi avaliada por WALTIMO et al., em 2000, por meio de um modelo experimental utilizando dentes humanos. Os autores verificaram a penetração dentinária de *C. albicans* em seis dos 12 espécimes analisados, num intervalo de três a 14 dias, enquanto *E. faecalis* penetrou francamente em todas as amostras num período de um a cinco dias.

Hancock et al. (2001) estudaram a composição da microbiota presente em 54 dentes com insucesso do tratamento endodôntico. O crescimento bacteriano foi detectado em 34 casos. A microbiota era composta principalmente por uma ou duas espécies de MO predominantemente Gram-positivos (80,4%). Os gêneros mais isolados foram *Enterococcus*, *Peptostreptococcus*, *Actinomyces* e *Streptococcus*.

*Candidaalbicans* foi detectada em um caso. *E. faecalis* foi a espécie bacteriana mais frequente, isolada em 30% dos canais radiculares.

Pirani et al. (2008) investigaram a presença de *E. faecalis* em canais radiculares acometidos por infecção endodôntica primária ou secundária. Um ensaio de PCR (*polimerase chainreaction* – reação em cadeia de polimerase) avaliou espécimes microbiológicas de 102 pacientes. *E. faecalis* foi detectado em seis de 79 (7,6%) amostras oriundas de canais portadores de infecção primária e, em nove de 23 (29,1%) amostras oriundas de canais portadores de infecção secundária. Uma análise estatística descritiva apontou uma relação positiva entre a presença de *E. faecalis* e a ocorrência de infecção endodôntica secundária. A expressão de *E. faecalis* foi associada a um maior número de casos de periodontite apical primária assintomática.

Brito et al. (2009) objetivaram comparar a redução intracanal de *E. faecalis* promovida pelo preparo químico-mecânico associado a três técnicas de irrigação diferentes. Uma amostra de sessenta dentes foi contaminada com *E. faecalis* e depois distribuídos aleatoriamente em três grupos experimentais de 20 dentes cada: Grupo 1, irrigação convencional com agulhas NaviTip inseridas a 3,0 mm do comprimento de trabalho; Grupo 2, igual ao Grupo 1, mas suplementado com ativação do irrigante pelo sistema EndoActivator e o Grupo 3, irrigação com o sistema EndoVac. A redução das populações bacterianas foi altamente significativa para todos os grupos, sem diferença estatisticamente significativa entre eles.

Zhang et al. (2015) realizaram uma revisão sistemática com o objetivo de comparar a prevalência de *E. faecalis* em infecções primárias e persistentes. Foi realizada uma busca na literatura com critérios específicos de inclusão para coletar os estudos comparativos de prevalência de *E. faecalis* em canais radiculares com infecções primárias e persistentes. Foi aplicada uma estatística descritiva por causa da alta heterogeneidade entre os estudos. Análise dos subgrupos de acordo com os diferentes métodos de detecção (cultura e PCR) e análise sensitiva foi aplicada. A revisão sistemática incluiu dez estudos, com o total de 972 dentes. A detecção de *E. faecalis* em ambos os métodos foram altas ao avaliarem infecções persistentes quando comparada a periodontite periapical crônica em dentes com infecção primária e não tratados. A diferença estatística foi significativa (risco relativo = 7,247). Os autores concluíram que a correlação de *E. faecalis* é mais alta em infecções persistentes em relação a periodontite periapical crônica de dentes sem



tratamento endodôntico.

### 2.3 Terapia fotodinâmica

A terapia fotodinâmica (TFD), também conhecida como PDT, acrônimo de *photodynamic therapy*, é uma técnica utilizada com o objetivo de eliminar células neoplásicas ou micro-organismos. Envolve a utilização de um fotossensibilizador, que é ativado pela luz de um específico comprimento de onda na presença de oxigênio (NÚÑEZ et al., 2021).

A TFD antineoplásica consiste na administração de uma substância fotossensibilizadora de forma sistêmica ou tópica. Após um período correspondente à distribuição sistêmica do fotossensibilizador, este acumula-se seletivamente nas células tumorais, seguida por aplicação da irradiação a laser, em um comprimento de onda apropriado, que ativa o fármaco fotossensibilizador. A absorção de fótons pelo fármaco promove sua transformação em uma molécula extremamente instável. Essa forma instável do fármaco deve reagir com o oxigênio presente no meio celular formando íons peróxidos, superóxidos e radicais hidroxila (LUKSIENE, 2003).

São causados danos em macromoléculas celulares, o que conduz à morte das células tumorais, por apoptose, necrose ou autofagia, acompanhada pela indução de uma reação inflamatória local que leva à restauração da normal homeostasia do tecido e, por vezes, desenvolvimento de imunidade sistêmica (AGOSTINIS; BERG; CENGEL, 2011). Além da destruição tumoral, a TFD pode causar danos na microvasculatura local e apresentar propriedades imunoestimulatórias que potencializam os seus efeitos anti-tumorais (GARG; AGOSTINIS, 2014).

A TFD, quando aplicada em MO, denomina-se Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana (TFDa). No caso de tratamentos de tecidos infectados, a TFDa é indicada para o controle do crescimento microbiano e para a indução da morte celular microbiana, porém sem causar danos irreversíveis ao tecido do hospedeiro. Assim, o objetivo é obter a morte seletiva dos MO, sem agredir as células humanas. Representa uma alternativa antimicrobiana, agindo em bactérias, vírus, fungos e protozoários, bem como, em micro-organismos resistentes às drogas (NÚÑEZ et al., 2021).

Na endodontia, devido às limitações de medidas antibacterianas, incluindo a resistência dos MO ao tratamento endodôntico convencional, tem-se sugerido a TFDa como uma possível alternativa para complementar as terapias mecânicas tradicionais. Esta terapia consiste numa opção complementar, que tem se mostrado bastante promissora na redução de MO intracanalais (FIMPLE et al., 2008; MIRANDA; GUSMAN; COLOMBO, 2015; HOEDKE et al., 2017).

O interesse pela utilização da TFDa na endodontia está relacionado principalmente ao efeito antimicrobiano comprovadamente constatado desta terapia, visto que ela não promove resistência microbiana, é uma técnica de fácil aplicação, é indolor e soma a todas essas características os efeitos benéficos advindos da terapia com laser (SOUKOS, 2006; MACHADO et al., 2009; SILVA et al., 2010; ALFENAS et al., 2011).

O princípio básico da TFDa consiste na combinação de luz (Laser ou LED), oxigênio e um FS capaz de absorver e transferir energia ou elétrons após absorção da luz para o oxigênio molecular (WAINWRIGHT, 2003). Os FSs ligam-se à célula-alvo e são ativados por uma luz com o comprimento de onda que seja absorvido pelo o mesmo. Durante este processo, são formadas espécies reativas de oxigênio (EROs), tais como oxigênio singlete, resultando em um efeito tóxico para a célula (KUREK et al., 2011; MANG et al., 2012). Por meio da irradiação com luz no intervalo visível do espectro, o FS passa por uma transição de um "estado fundamental" de baixa energia a uma energia superior, o qual é excitado para o seu estado tripleto, e a energia é transferida para o oxigênio molecular.

O oxigênio singlete altamente reativo é capaz de reagir e destruir o sistema biológico das células (DOUGHERTY et al., 1998; ARAÚJO et al., 2014). O oxigênio singlete induz processos antioxidantes, deterioram tecidos biológicos, destroem componentes essenciais celulares e modificam as atividades metabólicas de forma irreversível (HAMBLIN; HASAN, 2004). Os locais críticos de ação do oxigênio singlete incluem as mitocôndrias, o DNA e as membranas lipídicas (SCHNEIDER et al., 2012).

A geração de ERO pode seguir duas vias alternativas após a ativação da luz por um determinado FS. O FS pode absorver um fóton no estado fundamental, formando um oxigênio singlete. Este poderá passar para um estado tripleto de vida mais longa que pode interagir com o oxigênio por dois mecanismos: no tipo 1, gerando ânions superóxidos, radicais hidroxilas e peróxido de hidrogênio, por

transferência de elétrons do FS excitado; no tipo 2, o estado tripleto do FS pode sofrer diretamente troca de energia com oxigênio em estado fundamental, levando à formação de oxigênio singleto excitado (WAINWRIGTH et al., 2003).

O estado de excitação dos FS varia de acordo com o veículo utilizado, concentração, energia absorvida, tipo de célula-alvo, pH, presença de oxigênio e entre outros (GARCEZ et al., 2008). As EROS geradas reagem rapidamente com o ambiente, dependendo da localização do FS excitado - por exemplo, paredes celulares de MO, membranas lipídicas, peptídeos e ácidos nucleicos. O FS então, retorna ao seu estado inicial após esse ciclo, pronto para absorver um novo fóton e gerar EROS adicionais (WAINWRIGTH et al., 2003). Essas espécies altamente reativas promovem a morte de células-alvo (micro-organismos) seja por oxidação de proteínas, ácidos nucleicos, lipídeos insaturados, lisossomos, mitocôndrias, dentre outros (CASTANO et al., 2004).

Devido à sua natureza química, a maioria dos FSs são sais de fenotiazínio, porfirinas, ou ftalocianinas, ou seja, apresentam biocompatibilidade alta com o tecido-alvo. (WAINWRIGTH et al., 2016). Na endodontia, os FSs derivados das fenotiazinas têm sido amplamente empregados nas pesquisas envolvendo TFDa, sendo o azul de metileno (AM) e o azul de toluidina os principais utilizados como alvo para MO da microbiota endodôntica (GARCEZ et al., 200; GARCEZ et al., 2008; SOUZA et al., 2010; BAGO et al., 2013).

A ativação dos FS é simples, com uso de lasers de baixa potência, diodos emissores de luz, ou lâmpadas convencionais (halógenas). Com uso de fibra óptica, é possível acessar regiões de difícil localização (WAINWRIGTH et al., 2016). O AM é inserido no interior do canal para promover a união e/ou absorção do mesmo às células-alvo (Bactérias), definido como Tempo de Pré-Irradiação (TPI). O AM apresenta características como baixa toxicidade e tendência elevada a acumular-se nas células-alvo, evitando atingir células saudáveis (FIMPLE et al., 2008).

O mecanismo de ação da TFDa difere do mecanismo apresentado pelas drogas antimicrobianas, pois, geralmente, atua em múltiplos sítios das células microbianas, dificultando o desenvolvimento de resistência antimicrobiana. O fator responsável por esse efeito é a presença de oxigênio, pois os MO não permanecem expostos a espécies de oxigênio altamente reativas por longo tempo, como ocorre com as drogas antimicrobianas, e não há defesa celular específica contra essa

molécula de oxigênio, além disso, as EROS possuem vida útil curta e difusão limitada (GARCEZ et al., 2010).

Esse mecanismo de ação não altera a sensibilidade aos medicamentos antibacterianos convencionais (WAINWRIGTH et al., 2003). Outra vantagem seria o curto período em que o FS precisa estar em contato com o tecido-alvo antes da irradiação, o que favorece sua ação seletiva no MO e minimiza a penetração nos tecidos do hospedeiro, fato este observado somente após várias horas (MAISCH et al., 2007). Após a irradiação, o FS pode ser quimicamente modificado ou degradado em fragmentos incapazes de absorver luz, causando a perda da capacidade fototóxica, o que também evita a ocorrência de algum dano tecidual, já que as células humanas requerem maiores danos para induzir a morte celular do que MO (GARCEZ et al., 2010). Além disso, a TFDa pode atuar em diferentes MO (SOUSA et al., 2010).

Atualmente, o efeito antimicrobiano da TFDa na terapia endodôntica tem sido testado em estudos *in vivo* (BONSOR et al., 2008; GARCEZ et al., 2010) bem como *in vitro* (FIMPLE et al., 2008; MIRANDA; GUSMAN; COLOMBO, 2015; HOEDKEET al., 2017), evidenciando resultados promissores.

Bonsor et al. (2006) avaliaram a eficácia antimicrobiana da TFDa com relação ao hipoclorito de sódio (NaClO) a 2,5% em canais preparados *in vivo*. No grupo em que foi realizada a TFDa, o azul de toluidina foi inserido no canal com o auxílio de uma microagulha endodôntica e agitado por 60 segundos com uma lima manual de níquel-titânio de tamanho 25,02 para garantir que o fluido fosse distribuído até o terço apical e qualquer bolha de ar introduzida no canal fosse eliminada. A fibra óptica foi colocada a 4,0 mm do comprimento de trabalho, e a luz vermelha foi irradiada com uma potência de 100 mW, por um período de 120 segundos, com uma dose de energia de 12 Joules. Como resultado do estudo, 93% dos canais do grupo da TFDa estavam livres de bactérias cultiváveis após o procedimento de instrumentação. Já o grupo do NaClO alcançou apenas 76% de sucesso. A técnica alternativa descrita indica que seria possível desinfetar o SCR sem o uso de NaClO. A TFDa demonstrou ser tão eficaz quanto os métodos químicos-mecânicos convencionais, sendo mais biocompatível e podendo diminuir potencialmente o tempo gasto na desinfecção do SCR.

Fimple et al. (2008) investigaram os efeitos da TFDa com o FS azul de metileno em canais radiculares com biofilmes múltiplos de *Actinomyces israelii*,

*Fusobacteriumnucleatum* subespécie *nucleatum*, *Porphyromonasgingivalis* e *Prevotellaintermedia* em canais radiculares de dentes humanos extraídos *in vitro*. Os canais foram preenchidos com AM (25 µg/mL) durante 10,0 min seguido de exposição a luz vermelha a 665 nm (laser de diodo) com uma dose de energia de 30 J /cm<sup>2</sup>. A TFDa conseguiu uma redução de até 80% das unidades formadoras de colônias (UFC). Concluiu-se que a TFDa pode ser um método coadjuvante eficaz ao tratamento endodôntico padrão quando os seus parâmetros são otimizados.

Garcez et al. (2008) estudaram o efeito da TFDa após o PQM convencional. Embora este estudo não tenha tido um grupo controle isolado, as amostras foram obtidas após o acesso e instrumentação dos canais, servindo de controle para as amostras obtidas após a aplicação da TFDa. O FS utilizado foi um conjugado de polietilenoimina e clorina (0,5 mL) e permaneceu no interior do canal radicular por um TPI de 2,0 min. Após esse período, o canal foi irradiado com um laser de diodo acoplado a uma fibra óptica por 240 segundos, com comprimento de onda de 660 nm e potência de 40mW. As coletas microbiológicas foram feitas com três pontas de papel absorventes estéreis. Os resultados mostraram que a TFDa diminuiu significativamente a contagem bacteriana de 91% para 98,1% (P <0,01) em comparação com o PQM convencional. No mesmo estudo, o hidróxido de cálcio foi aplicado por uma semana como medicação intracanal, e outro desbridamento químico-mecânico seguido por TFDa foi realizado na segunda sessão. A segunda redução alcançada por TFDa foi significativamente maior que a primeira (P <0,01), e o total da redução alcançada pelas duas visitas foi superior a 99,9%.

Garcez et al. (2010) pesquisaram, *in vivo*, a ação antimicrobiana da TFDa combinada com o retratamento endodôntico e a medicação intracanal em dentes anteriores com lesões periapicais em pacientes submetidos a antibioticoterapia. A eliminação total da carga microbiana intracanal foi observada quando a TFDa foi realizada, sendo utilizado como FS um conjugado entre polietilenoimina e clorina, o qual foi deixado no canal por dois minutos como TPI. Posteriormente, o canal foi irradiado através de uma fibra óptica acoplada ao laser diodo por quatro minutos, no comprimento de onda de 660 nm, 40 mW de potência e 9.6 J.

Komine e Tsujimoto (2013) avaliaram a relação entre a quantidade de oxigênio singleto gerada por diferentes concentrações de AM, bem como, o efeito bactericida da TFDa em suspensões de *E. faecalis*. Eles concluíram que o AM a uma concentração de 0,01%, quando ativado por laser de diodo com um

comprimento de onda de 660 nm e 200 mW de potência, foi capaz de gerar a maior quantidade de oxigênio singlete e, conseqüentemente, resultar numa grande redução no número de UFC de MO formado.

Chrepa et al. (2014) objetivaram, por meio de uma revisão sistemática, investigar o efeito da TFDa na redução bacteriana durante o tratamento endodôntico. A pesquisa bibliográfica forneceu 57 títulos e resumos. Destes, três artigos atenderam aos critérios de inclusão e foram selecionados para a revisão sistemática. Devido à heterogeneidade nas indicações clínicas e protocolos da TFDa, uma meta-análise não pode ser realizada. Todos os estudos incluídos mostraram um efeito positivo da TFDa na redução da carga microbiana no canal radicular, variando de 91,3% a 100%, concluindo que a TFDa pode ter eficácia como um método adicional de desinfecção intracanal, principalmente na presença de bactérias resistentes a medicamentos.

Xhevdet et al. (2014) estudaram o efeito da desinfecção do SCR com a TFDa e o NaClO em diferentes intervalos de tempo. A amostra foi composta de 156 dentes unirradiculares, esterilizados e contaminados com *E. faecalis* (ATCC 29212) e *Candida albicans* (ATCC 60193), divididos em grupos: TFDa (FS azul de toluidina + Laser Helbo® 100 mw, 660 nm) irradiada nos tempos de 1,0, 3,0 e 5,0 min; irrigação com NaOCl 2,5%; IUP 10 s com NaOCl 2,5% e controle. Ambos os grupos apresentaram redução de MO ( $p < 0,001$ ). Concluíram que a IUP por 10 s apresentou ser mais efetiva na redução bacteriana em relação a TFDa e NaOCl convencional a 2,5%.

Bumb et al. (2014) avaliaram a eficácia antimicrobiana da TFDa na desinfecção de túbulos dentinários profundos utilizando microbiologia e microscopia eletrônica de varredura (MEV) *in vitro*. A amostra composta por 20 dentes instrumentados, extraídos com indicação ortodôntica e divididos em grupo controle e TFDa. Os espécimes foram totalmente imersos em azul de metileno por dez minutos. Posteriormente, os espécimes foram removidos e lavados com solução salina. Depois de lavados e secos, os canais foram irradiados com laser de diodo (comprimentos de onda de 910 nm com potência de 1W, em modo pulsado). A fibra óptica foi mantida a 2 mm do comprimento de trabalho, com movimentos circulares ápico-cervicais por 20 segundos, sendo repetido três vezes com intervalo de 10 segundos entre cada, totalizando um minuto de irradiação. Verificou-se menor número de bactérias em camadas profundas dos dentes tratados com TFDa e

concluíram que a TFDa pode ser eficaz associada ao tratamento convencional na eliminação de bactérias do SCR.

Miranda; Gusman e Colombo (2015) verificaram a eficácia antimicrobiana *in vitro* do sistema EndoVac associado à TFDa após PQM e medicação intracanal em canais contaminados com *Candida albicans*. Um total de 68 pré-molares foi aleatoriamente dividido em quatro grupos: Controle (irrigação convencional); Endovac; TFDa e Endovac + TFDa. O FS utilizado foi o AM com um TPI de cinco minutos, o qual foi posteriormente ativado por um laser diodo através de uma fibra óptica posicionada a 1 mm do comprimento de trabalho, movida de forma circular do ápice para a região cervical. A luz foi aplicada durante cinco minutos com uma potência de 1 W, comprimento de onda de 660 nm e potência de 40 mW. Após as terapêuticas, uma medicação intracanal (hidróxido de cálcio) foi aplicada em todos os dentes por sete dias. O grupo Endovac foi o que apresentou as contagens médias mais baixas de *C.albicans*, e a TFDa mostrou-se pouco eficaz contra esses MO.

Soares et al. (2016) investigaram a eficácia da TFDa com renovação intracanal periódica do FS azul de metileno sobre o biofilme com *E. faecalis*. Os canais foram contaminados com *E. faecalis* durante 21 dias. A instrumentação foi associada à irrigação com solução salina a 0,85% ou com NaClO a 5,2% e EDTA a 17%. Após o TPI de 150 segundos, foram realizados quatro ciclos de TFDa utilizando um laser diodo com comprimento de onda de 660 nm, 40 mW de potência e 6J durante 150 segundos. A maior redução da carga microbológica foi observada nas amostras microbológicas coletadas depois da instrumentação, sugerindo um efeito antibacteriano imediato e tardio do protocolo da TFDa testado.

Afkhami, Akbari e Chiniforush (2017) objetivaram comparar a eficácia da TFDa convencional com laser diodo a 810 nm com o uso do FS indocianina verde e da TFDa modificada com o uso das partículas de prata na desinfecção de canais radiculares inoculados com *E. faecalis*. As amostras foram obtidas a partir de lascas de dentina antes e após as intervenções. A redução na contagem de colônias foi avaliada, por meio da contagem das UFC. Observou-se que todos os grupos foram eficazes na redução das colônias de *E.faecalis*, com potencial de serem utilizados como coadjuvante da desinfecção do canal radicular.

Pourhajbagher et al. (2017) avaliaram o efeito da TFDa na diversidade e contagem da microbiota relacionada a infecções endodônticas

secundárias/persistentes. Amostras do canal radicular foram coletadas de 14 canais de pacientes com infecções endodônticas secundárias/persistentes após a remoção do material obturador, usando pontas de papel estéreis. A TFDa foi realizada com o FS azul de toluidina (25 µg/mL, o qual permaneceu nos canais por um TPI de 5,0 min. Em seguida, os canais foram irradiados com fibra óptica acoplada ao laser de diodo, com comprimento de onda de 635 nm, potência de 220 mW, durante 30 segundos. As coletas microbiológicas foram transferidas para o meio de transporte; as amostras foram plaqueadas, e os MO foram isolados e identificados por ensaios de índice de perfil analítico e sequenciação de genes de RNA ribossômico 16S. A diversidade e contagem da microbiota dos canais tratados endodonticamente diminuíram após a TFDa, no entanto, *E. faecalis*, *V. parvula* e *C. albicans* foram os MO que sobreviveram, concluindo-se que esta é uma abordagem que exibiu potencial atividade antimicrobiana frente a grande parte da microbiota envolvida na infecção endodôntica secundária/persistente.

Hoedke et al. (2017) analisaram, *in vitro*, o efeito da TFDa em associação a vários protocolos de irrigação em um biofilme múltiplo (*E. faecalis*, *Streptococcus oralis*, *Prevotella intermedia*). Um total de 160 dentes humanos foi aleatoriamente dividido em quatro grupos de acordo com o tipo e concentração da solução irrigadora: cloreto de sódio 0,9%, NaClO a 1% e NaClO a 1% com irrigação final com clorexidina a 2%. Todos os grupos receberam a TFDa com o FS cloridrato de fenotiazina, o qual permaneceu no interior dos canais por um TPI de 60 segundos e posteriormente foi ativado por um laser diodo com comprimento de onda de 600 nm e potência de 100 mW, pelo mesmo período. As coletas microbiológicas foram realizadas imediatamente após a TFDa e cinco dias após a mesma. A redução bacteriana foi significativamente afetada pelos protocolos de irrigação, evidenciando que a TFDa reduziu significativamente as UFC apenas na coleta que foi realizada cinco dias após a TFDa.

Neves et al. (2019) avaliaram a atividade antibacteriana da TFDa associada a diferentes protocolos de irrigação em canais radiculares inoculados com *E. faecalis*. Um total de 80 pré-molares humanos unirradulares foram preparados e contaminados com *E. Faecalis* por quatro dias. Os dentes foram divididos aleatoriamente em seis grupos: Grupo C+ (irrigação convencional com agulha); Grupo C – (controle negativo); Grupo TFDa (com o FS azul de metileno a 0,005% e irradiação com laser de diodo com comprimento de onda 660 nm, energia de 9J,



potência de 100 mW, por 90 segundos); Grupo NaOCl + TFDa (hipoclorito de sódio a 2,5% + terapia fotodinâmica); Grupo PUI + TFDa (irrigação ultrassônica passiva + terapia fotodinâmica); Grupo XP Endo + TFDa (XP Endo Finisher + TFDa). O conteúdo do canal foi coletado com pontas de papel absorvente estéreis em dois momentos: antes dos protocolos de descontaminação e 24 horas após os protocolos. O número de unidades formadoras de colônias foi determinado para cada canal radicular. Os testes ANOVA e TUKEY foram utilizados, e o nível de significância foi estabelecido em 5% ( $p < 0,05$ ). O protocolo que proporcionou maior percentual de inibição bacteriana foi o XP Endo + TFDa (100,0%), seguido do NaOCl + TFDa (65,85%). A TFDa associada a diferentes protocolos de irrigação final foi mais eficaz na inibição do *E. faecalis* em relação ao seu uso isolado, sendo a XP Endo o melhor protocolo de irrigação no combate a este MO.

Oda et al. (2019) avaliaram o efeito antimicrobiano da curcumina foto ativada por um fotopolimerizador LED na presença de gel de carbopol. Vinte blocos de dentina foram obtidos a partir do terço cervical de incisivos bovinos usando uma broca trefina. Biofilmes foram induzidos por 21 dias nos blocos usando *E. faecalis* (ATCC 4083) a  $10^9$  células/mL. Os blocos foram tratados de acordo com os grupos ( $n=5$ ): controle positivo; TFDa padrão (azul de metileno – com TPI de quatro minutos + laser de diodo por quatro minutos, no comprimento de onda de 660 nm, 40 mW de potência e 9.6 J); curcumina; Luz LED (com potência entre 450–470 nm e potência de  $1200 \pm 200$  mW); e curcumina + fotopolimerizador LED. Depois do tratamento, as amostras foram avaliadas por Microscopia Confocal de Varredura a Laser. Em outro experimento, trinta e duas raízes de incisivos bovinos foram preparadas e seus túbulos dentinários foram contaminados, e os canais radiculares tratados de acordo com os grupos ( $n=8$ ): controle positivo; TFAa padrão; curcumina + luz de cura LED; curcumina + gel carbopol + fotopolimerizador LED. Os espécimes foram seccionados longitudinalmente e as raízes divididas foram avaliadas por Microscopia Confocal de Varredura a Laser. Concluiu-se que a efetividade de desinfecção semelhante foi obtida usando curcumina + fotopolimerizador LED e azul de metileno + LASER 660 nm (TFDa padrão). O uso do gel de carbopol não favoreceu uma maior transmissão de luz LED ao longo do canal radicular e também resultou em menor morte bacteriana quando utilizado na TFDa endodôntica.

Guimarães et al. (2021) avaliaram, por meio de um ensaio clínico randomizado, o efeito da TDFa nos sintomas pós-operatórios em dentes com

periodontite apical assintomática tratados com alargamento foraminal. Foram selecionados setenta pacientes que necessitavam de tratamento endodôntico unirradicular com diagnóstico de periodontite apical assintomática. Os participantes foram randomizados em um dos dois grupos a seguir: 35 pacientes no grupo controle – tratamento de canal com alargamento foraminal, sem qualquer tratamento adicional e 35 pacientes no grupo da TFDa - tratamento endodôntico com alargamento foraminal associado à TFDa. O FS utilizado foi o azul de metileno a 0,01%, mantido no canal radicular por um TPI de 5 minutos. Após este período, a irradiação foi realizada dentro do canal radicular através de uma fibra óptica, utilizando uma fonte de laser vermelha, com um comprimento de onda de  $660\pm 10$  nm, potência de 100 mW e energia de 9J durante 90 segundos. As variáveis de desfecho foram dor pós-operatória, sensibilidade, edema e uso de analgésicos. A TFDa não teve efeito significativo na dor pós-operatória, sensibilidade, edema e uso de analgésicos após o tratamento do canal radicular com alargamento foraminal em dentes unirradiculares com periodontite apical assintomática em uma única visita. O quadro 1 sintetiza os estudos citados anteriormente.

**Quadro 1** – Síntese dos artigos sobre objetivo principal do estudo, FS, TPI, tempo de irradiação, comprimento de onda, potência, resultado, agitação do FS e entrega

Autor	Ano	Objetivos	FS	TPI	TI	CO	P	Resultados	Agitação do FS?	Entrega
Bonsor et al	2006	Avaliaram a eficácia antimicrobiana da TFDa com relação ao hipoclorito de sódio (NaClO) a 2,5% em canais preparados <i>in vivo</i>	Azul de toluidina	1min	2min	---	100mW	Maior descontaminação para o grupo da TFD	Lima manual	Fibra óptica a 4 mm do comprimento de trabalho
Fimple et al	2008	Investigaram os efeitos da TFDa em canais radiculares com biofilmes múltiplos	Azul de metileno	10min	5min	665nm	100mW	A TFDa conseguiu uma redução de até 80% das unidades formadoras de colônias (UFC).	Não	Fibra óptica
Garcez et al	2008	Estudaram o efeito antimicrobiano da TFDa após o PQM convencional.	polietilen oimina e clorina	2min	4min	660nm	40mW	A TFDa diminuiu significativamente a contagem bacteriana de 91% para 98,1% (P <0,01) em comparação com o PQM convencional	Não	Fibra óptica
Garcez et al	2010	Ação antimicrobiana da TFDa combinada com o retratamento endodôntico e a medicação intracanal em dentes anteriores com lesões periapicais em pacientes submetidos a antibioticoterapia.	polietilen oimina e clorina	2min	4min	660nm	40mW	A eliminação total da carga microbiana intracanal foi observada quando a TFDa foi realizada	Não	Fibra

Komine e Tsujimoto	2013	Avaliaram a relação entre a quantidade de oxigênio singleto gerada por diferentes concentrações de AM, bem como, o efeito bactericida da TFDa em suspensões de <i>E. faecalis</i> .	Azul de metileno 0,01%	--	5min/ 10min /15 min	660nm	200mW	O azul de metileno a 0,001 - 0,01% foi capaz de gerar a maior quantidade de oxigênio singleto e, conseqüentemente, resultar numa grande redução no número de UFC de MO formado	não	fibra
Xhevdet et al	2014	Estudaram o efeito da desinfecção do SCR com a TFDa e o NaClO em diferentes intervalos de tempo	Azul de toluidina	1min	1min/ 3min/ 5 min	660nm	100mW	A IUP por 10 s apresentou ser mais efetiva na redução bacteriana em relação a TFDa e NaOCl convencional a 2,5%.	não	fibra
Bumb et al	2014	Avaliaram a eficácia antimicrobiana da TFDa na desinfecção de túbulos dentinários profundos utilizando microbiologia e microscopia eletrônica de varredura (MEV) <i>in vitro</i> .	Azul de metileno	10min	1 min	910nm	1W	Verificou-se menor número de bactérias em camadas profundas dos dentes tratados com TFDa	não	fibra
Miranda; Gusman e Colombo	2015	Verificaram a eficácia antimicrobiana <i>in vitro</i> do sistema EndoVac associado à TFDa após PQM e medicação intracanal em canais	Azul de metileno	5min	5min	660nm	40mW	O grupo Endovac foi o que apresentou as contagens médias mais baixas de <i>C.albicans</i> , e a TFDa mostrou-se	Não	fibra

		contaminados com <i>Candida albicans</i> .						pouco eficaz contra esses MO.		
Soares et al	2016	Investigaram a eficácia da TFDa com renovação intracanal periódica do FS azul de metileno sobre o biofilme com <i>E. faecalis</i>	Azul de metileno	2min e 30s	2min e 30s	660nm	40mW	A maior redução da carga microbiológica foi observada nas amostras microbiológicas coletadas depois da instrumentação, sugerindo um efeito antibacteriano imediato e tardio do protocolo da TFDa testado.	não	fibra
Afkhami; Akbari; Chiniforush	2017	Objetivaram comparar a eficácia da TFDa convencional com laser diodo a 810 nm com o uso do FS indocianina verde e da TFDa modificada com o uso das partículas de prata na desinfecção de canais radiculares inoculados com <i>E. faecalis</i>	Indocianina verde	5min	30s	810nm	200mW	Observou-se que todos os grupos foram eficazes na redução das colônias de <i>E. faecalis</i> , com potencial de serem utilizados como coadjuvante da desinfecção do canal radicular.	não	Fibra
Pourhajbager et al	2017	Avaliaram o efeito da TFDa na diversidade e contagem da microbiota relacionada a infecções endodônticas	Azul de toluidina	5min	30s	635nm	220mW	A diversidade e contagem da microbiota dos canais tratados endodonticamente diminuíram após a TFDa	não	fibra

		secundárias/persistentes								
Hoedke et al.	2017	Analisaram, <i>in vitro</i> , o efeito da TFDa em associação a vários protocolos de irrigação em um biofilme múltiplo	Cloridrato de fenotiazina	1min	1min	600nm	100mW	A redução bacteriana foi significativamente afetada pelos protocolos de irrigação, evidenciando que a TFDa reduziu significativamente as UFC apenas na coleta que foi realizada cinco dias após a TFDa	não	fibra
Neves et al	2019	Avaliaram a atividade antibacteriana da TFDa associada a diferentes protocolos de irrigação em canais radiculares inoculados com <i>E.faecalis</i>	Azul de metileno	5min	90s	660nm	100mW	A TFDa associada a diferentes protocolos de irrigação final foi mais eficaz na inibição do <i>E. faecalis</i> em relação ao seu uso isolado	não	fibra
Oda et al	2019	Avaliaram o efeito antimicrobiano da curcumina fotoativada por um fotopolimerizador LED na presença de gel de carbopol	Azul de metileno	4min	4min	660nm	40mW	Concluiu-se que a efetividade de desinfecção semelhante foi obtida usando curcumina + fotopolimerizador LED e azul de metileno + LASER 660 nm (TFDa padrão). O uso do gel de carbopol	Não	fibra

								não favoreceu uma maior transmissão de luz LED ao longo do canal radicular e também resultou em menor morte bacteriana quando utilizado na TFDa endodôntica.		
Guimarães et al	2021	Avaliaram, por meio de um ensaio clínico randomizado, o efeito da TDFa nos sintomas pós-operatórios em dentes com periodontite apical assintomática tratados com alargamento foraminal	Azul de metileno	5min	90s	660nm	100mW	A TFDa não teve efeito significativo na dor pós-operatória, sensibilidade, edema e uso de analgésicos após o tratamento do canal radicular com alargamento foraminal em dentes uniradiculares com periodontite apical assintomática em uma única visita.	Não	Fibra

Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

## 2.4 Agitação ultrassônica na endodontia

A Irrigação Ultrassônica Passiva (IUP), derivada do inglês *Passive Ultrasonic Irrigation* (PUI), é uma técnica que busca a potencialização do efeito de agentes químicos irrigantes no tratamento endodôntico pela utilização do ultrassom. A designação passiva diz respeito à ação "não cortante" do instrumento ativado pelo ultrassom e usado no procedimento (PAIVA et al., 2013).

A agitação de irrigantes por ultrassom caracteriza-se por ser uma abordagem complementar à irrigação com seringa. Em sua aplicação, o irrigante é inserido na cavidade primeiro e, em seguida, é ativado (PAIVA et al., 2013). Para sua ativação, um instrumento de pequena dimensão é inserido no centro do canal radicular previamente preparado e acionado para produzir um fluxo acústico. Este cria um movimento circular pequeno e intenso. Como o canal radicular já está ampliado, o objeto pode vibrar livremente de forma a permitir o fluxo acústico, transferindo sua energia para a substância irrigadora no interior do canal (WISEMAN et al., 2011).

A eficácia de limpeza da IUP implica a remoção efetiva de remanescentes dentinários, MO (planctônicos ou em biofilme) e tecidos orgânicos do canal radicular. O seu uso tem mostrado resultados superiores comparado à irrigação convencional por agulha (BAO et al., 2016; LEONI et al., 2017). Seu mecanismo de ação dá-se pela tensão de cisalhamento sobre as células bacterianas, produzida por energia acústica. Também, pela cavitação, definida como a criação de bolhas de vapor ou a expansão, contração e/ou distorção de bolhas de gás pré-existentes no irrigante. Esses fenômenos produzem pressão que limpa o canal radicular e destrói as bactérias. Ademais, pela emissão de calor que potencializa a ação bactericida do NaClO (MOZO; LLENA; FORNER, 2012, LEONI et al., 2017).

Cameron (1987), em um estudo realizado em microscopia eletrônica de varredura (MEV), avaliou o sinergismo entre a irrigação final com solução de NaClO e o emprego do ultrassom. Dentes humanos extraídos tiveram seus canais radiculares instrumentados da mesma forma, com o objetivo de se conseguir uma camada residual uniforme para todos os grupos experimentais. Estes receberam irrigação final com NaOCl em diferentes concentrações ou água destilada, ativados ou não pelo ultrassom. Os resultados demonstraram que houve efetiva relação sinérgica da solução de NaOCl com ultrassom na limpeza dos canais radiculares, mostrando que a limpeza foi potencializada pelo seu uso.



Brait (1992) citou uma variedade de aplicações para o uso do ultrassom na odontologia e relatou os efeitos biológicos produzidos pela onda ultrassônica no interior do SCR, destacando o fenômeno da cavitação que ocorre, quando a pressão osmótica exercida sobre um líquido é maior que a pressão hidráulica que este líquido exerce sobre a parede do recipiente que o contém, com a formação de bolhas em seu interior e posterior implosão, formando cavidades transitórias que, ao se romperem, produzem ondas de impacto na superfície do recipiente em que o líquido está contido. Na IUP do canal radicular, o fenômeno da cavitação produz o deslocamento do líquido irrigante com alto impacto na parede, promovendo a remoção da *smear layer* e atingindo áreas, onde os instrumentos manuais não alcançam.

Burleson et al. (2007) avaliaram o emprego da instrumentação manual e rotatória associadas ou não ao ultrassom. Vinte raízes mesiais de molares inferiores humanos foram divididas em dois grupos. Em um grupo, foi feito preparo manual/rotatório e, no outro, manual/rotatório e irrigação com ultrassom por um minuto. Após o preparo, os espécimes foram preparados histologicamente a 1,0, 2,0 e 3,0 mm do ápice, para verificar a limpeza dos canais e do istmo. Os resultados mostraram que houve diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos, em todos os níveis avaliados, mostrando que a associação do ultrassom melhorou significativamente a limpeza.

Gregorio et al. (2009) verificaram a penetrabilidade do NaClO a 5,25%, isolado ou associado ao EDTA 17% em canais laterais simulados, utilizando agitação sônica e ultrassônica. Um total de quatrocentos e oitenta canais laterais simulados foram criados a partir de 80 dentes unirradiculares. A ativação sônica foi realizada com o auxílio do Endoactivator inserido a 2 mm do comprimento de trabalho e ativado por um minuto. A agitação ultrassônica foi realizada por meio de um inserto ultrassônico de aço inoxidável inserido a 2 mm do comprimento de trabalho e ativado passivamente por três ciclos de 20 segundos cada. As amostras foram avaliadas por observação direta das imagens gravadas usando um microscópio operatório e por avaliação radiográfica após irrigação com solução de contraste. A agitação sônica e ultrassônica resultou em uma melhor irrigação dos canais laterais a 4,5 e 2,0 mm do comprimento de trabalho em comparação com a irrigação tradicional com agulha. A irrigação por agulha demonstrou significativamente uma menor penetração do irrigante nos canais laterais e sua ação

estava limitada ao nível de penetração da agulha.

Harrison et al. (2010) estudaram o efeito da IUP na redução do *E. faecalis* em canais infectados experimentalmente. Um total de 130 dentes humanos extraídos foram contaminados com *E. faecalis* por quatro semanas e posteriormente divididos em dois grupos. Após o PQM, o Grupo 1 recebeu os procedimentos da IUP e irrigação com NaClO 1% durante um minuto e o Grupo 2 recebeu a medicação intracanal à base de hidróxido de cálcio por uma semana. Baseado na penetração bacteriana no interior dos túbulos dentinários, os autores puderam concluir que o PQM convencional falhou na eliminação total das bactérias e, que a IUP com NaClO a 1% após o preparo é um passo suplementar efetivo no controle microbiano.

Guimarães (2013) avaliou a adaptação da obturação às paredes do canal, a penetrabilidade dos cimentos nos túbulos dentinários, a qualidade da obturação e a capacidade seladora utilizando-se quatro cimentos obturadores a base de resina epóxi (AH Plus, AcroSeal, AdSeal e Sealer 26), quando submetidos a agitação ultrassônica no momento da inserção do cimento. Foram utilizados 84 caninos humanos recém extraídos, unirradiculares e que foram divididos em dois grupos A e B (n=40), sendo os canais do grupo A previamente preenchidos pelos cimentos obturadores e submetidos à agitação ultrassônica enquanto que os do grupo B foram considerados como controle e não foram submetidos à agitação. Os dentes então foram submetidos ao teste de infiltração de fluidos após sete e 30 dias de realizada a obturação. Após esse período, foram realizadas três secções transversais a 2,0, 4,0 e 6,0 mm do ápice e as imagens das secções foram obtidas em estereomicroscópio e microscopia a laser confocal. Os resultados indicaram que a agitação ultrassônica não proporcionou melhorias no selamento apical e favoreceu maior penetração de cimento na dentina e menor presença de fendas na região média e cervical.

Ghinzelli et al. (2014) avaliaram, *in vitro*, a influência da ativação ultrassônica na TFDa sobre canais radiculares infectados com *E. faecalis*. Um total de 50 dentes unirradiculares humanos foram alargados até uma lima de tamanho 60, autoclavados, inoculados com *E. faecalis* e incubado por 30 dias. As amostras foram divididas em cinco grupos (n = 10) de acordo com o protocolo de descontaminação: G1(grupo controle) - nenhum procedimento foi realizado; G2 - FS (0,01% de AM); G3 - ativação ultrassônica do FS (AM a 0,01%); G4 - TFDa sem ativação ultrassônica; e G5 - TFDa com ativação ultrassônica. Foram realizados testes microbiológicos

(contagem de UFC) e MEV. O teste microbiológico demonstrou que o G5 (TFDa com ultrassom ativação) mostrou a menor contaminação média (3,17 log UFC / mL), que foi estatisticamente diferente de todos os outros grupos ( $p < 0,05$ ). O uso da ativação ultrassônica na TFDa melhorou seu potencial de descontaminação, resultando na maior eliminação de *E. faecalis* na luz de canal principal.

Leoni et al. (2017) testaram a eficácia de quatro protocolos de irrigação sobre a redução de detritos dentro do SCR mesiais nos primeiros molares inferiores utilizando análise de microtomografia computadorizada. Um total de quarenta dentes foram instrumentado pelo sistema rotatório *WaveOne* e divididos em quatro grupos de acordo com o protocolo final de irrigação: pressão apical positiva, IUP, *Self Adjusting File* (SAF) e XP-endo. A redução de detritos foi observada em todos os grupos após os protocolos de irrigação. Em geral, os melhores resultados foram observados nos grupos da IUP e XP-endo, sem diferença estatística significativa entre os grupos.

Niavarzi et al. (2019) objetivaram avaliar o efeito da ativação ultrassônica do FS na eficácia da TFDa sobre espécies de *E. faecalis* e profundidade de penetração do FS nos túbulos dentinários. Um biofilme microbiano maduro de *E. faecalis* foi formado nos canais radiculares de 58 incisivos inferiores unirradiculares. As raízes foram seccionadas longitudinalmente por um disco de diamante e divididas em duas partes por um cinzel. O biofilme de *E. faecalis* foi quantificado, e a profundidade de penetração do FS foi determinada pelo ensaio de viabilidade microbiana e estereomicroscopia. As amostras foram divididas em três grupos: (1) NaClO a 5,25%, ativado por ultrassom (NaOCl), por 20 s; (2) TFDa com o FS azul de metileno ativado por um laser de diodo de 660 nm com potência de 150 mW por 1,0 minuto e (3) com o FS MB ativado ultrassonicamente por 20 s seguido por TFDa como no grupo 2. A profundidade de penetração do FS no grupo 3 foi significativamente maior que a do grupo 2 ( $P < 0,05$ ). A contagem de *E. faecalis* nos três grupos experimentais foi significativamente menor do que a do controle grupo ( $P < 0,05$ ). Os grupos 1 e 3 foram significativamente superiores ao grupo 2 em termos de redução na contagem microbiana, mas a diferença entre os grupos 1 e 3 não foi significativa ( $P > 0,05$ ). Concluíram que a ativação ultrassônica do FS na TFDa aumenta a profundidade de penetração do FS nos túbulos dentinários e aumenta sua atividade antibacteriana.

landolo (2019) investigaram o efeito da ativação ultrassônica do NaOCl aquecido em sua penetração tubular dentinária e limpeza do canal *in vitro*. No experimento 1, os pré-molares inferiores foram alocados aleatoriamente em três grupos (n = 8): grupo A: ativação ultrassônica; grupo B: ativação ultrassônica de NaOCl aquecido intracanal e grupo C: irrigação com seringa e agulha. A penetração do NaOCl marcado com fluorescência foi investigada usando microscopia de luz. No experimento 2, os pré-molares inferiores foram alocados aleatoriamente no grupo B ou C (n = 10), para análise histológica do tecido pulpar remanescente e detritos intracanaís. Os dados foram analisados estatisticamente usando testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney ( $P = 0,05$ ). A maior penetração de NaOCl foi observado no grupo B, seguido pelo grupo A ( $P < 0,05$ ). O grupo B apresentou quantidade significativamente menor de detritos do que o grupo C ( $P < 0,05$ ). Concluiu-se que a penetração dentinária tubular de NaOCl e limpeza do canal radicular foram significativamente melhorados pela ativação ultrassônica de NaOCl aquecido intracanal.

Coelho (2000) objetivou avaliar o efeito antibacteriano e a extrusão periapical frente a diferentes protocolos de IUP e irrigação ultrassônica contínua (IUC) em variados tempos, volumes e momentos, apenas no terço cervical, apenas no terço apical ou nos dois terços. Cinquenta incisivos inferiores humanos foram divididos em 7 grupos e contaminados com *E. faecalis*. Os grupos passaram por diferentes protocolos da IUP e IUC onde a agitação ultrassônica foi realizada em terços distintos do conduto radicular em cada um dos artigos gerados. Realizou-se escaneamento em micro-CT para avaliar detritos extruídos e coleta microbiológica dos debris para determinação da carga (UFC/mL) e a viabilidade bacteriana dos túbulos dentinários por meio da microscopia confocal e varredura a laser. Pôde-se concluir que houve uma tendência na redução bacteriana intratubular quando a IUP ou IUC foi realizada em dois momentos, cervical e apical. Em relação à extrusão bacteriana periapical, todos os grupos propostos apresentaram extrusões equivalentes, permitindo assim afirmar que a irrigação causa extrusão bacteriana em maior ou menor grau, independente da técnica empregada, sem diferenças significativas, quando do uso de um veículo inerte.

Crozeta et al. (2020) avaliaram a eficácia da IUP e do sistema *GentleWave* como técnicas complementares para remover materiais obturadores remanescentes de canais radiculares ovais. Vinte raízes distais de molares inferiores humanos com

canais simples e ovais foram instrumentados com o sistema R40 (40.06) e preenchidas com guta-percha e cimento AH Plus. A remoção inicial do material obturador foi realizada com instrumento R50 (50,05), seguido do uso de IUP (n = 10) ou sistema *GentleWave* (n = 10). Imagens de microtomografia computadorizada foram obtidas após a obturação, remoção inicial do material e após o uso de PUI e *GentleWave*. O volume de material obturador remanescente foi calculado para todo o canal, bem como para os terços coronal, médio e apical. As análises estatísticas foram realizadas por meio de análise de variância, testes de *Kruskal-Wallis* e *Mann-Whitney*, sendo  $P \leq 0,05$  considerado significativo. O uso de PUI e *GentleWave* como técnicas complementares reduziu significativamente o volume de material obturador remanescente após a instrumentação inicial ( $P < 0,05$ ). No entanto, nenhuma dessas técnicas foi capaz de tornar os canais livres de materiais obturadores. AIUP apresentou melhor desempenho ao remover 18% do material obturador remanescente, enquanto o sistema *Gentle Wave* foi capaz de remover aproximadamente 10% ( $P = 0,02$ ).

Velardi et al. (2022) avaliaram a eficácia do Sistema *Gentle Wave* (GWS; Sonendo, Laguna Hills, CA) e IUP na remoção do ácido lipoteicóico (ALP) de *E. faecalis* em canais radiculares infectados com uma técnica minimamente invasiva (TMI) e uma técnica convencional de instrumentação (TCI). Sessenta primeiros pré-molares superiores humanos extraídos foram incluídos. Todos os dentes foram pré-tratados na dentina e inoculados com LTA preparado a partir de *E. faecalis*. Primeiramente, 12 dentes foram triturados criogenicamente para investigar a viabilidade da recuperação intrarradicular de *E. faecalis* LTA. Em seguida, 48 dentes foram divididos aleatoriamente nos seguintes grupos: GWS + TMI, GWS + TCI, IUP + TMI e GWS + TCI (todos n= 12). Os dentes foram instrumentados com o sistema rotatório *Vortex Blue* (Dentsply Sirona, Ballaigues, Suíça) tamanho 15/.04 para MIT e 35/.04 para TCI. As amostras foram coletadas antes e após o protocolo no canal radicular com pontas de papel estéreis e após trituradas criogenicamente para análise de ALP intrarradicular. O ALP foi recuperado de 100% das amostras (48/48) antes do procedimento do canal radicular. GWS + TMI e GWS + TCI foram os protocolos mais eficazes contra ALP de *E. faecalis*, sem diferença entre eles ( $P > 0,05$ ). IUP+ TCI foi mais eficaz do que IUP + TMI ( $P < 0,05$ ), mas menos eficaz do que GWS + TMI e GWS + TCI ( $P < 0,05$ ). Os grupos GWS mostraram mais canais radiculares com ALP de *E. faecalis* não-detectado após o tratamento do que todos

os grupos testados. GWS + TMI e GWS + TCI foram os protocolos mais eficazes contra ALP de *E. faecalis* em canais radiculares infectados.

Retsas et al. (2022) compararam a eficácia de remoção de um biofilme de duas espécies de um modelo de canal lateral por diferentes protocolos de ativação de irrigante ultrassônico *in vitro*. Modelos de canais radiculares artificiais com 270 canais laterais simulados foram feitos. Um biofilme de duas espécies (*Streptococcus oralis* e *Actinomyces naeslundii*) foi cultivado em canais laterais. Dois por cento de NaOCl ou água desmineralizada foram fornecidos por uma seringa e uma agulha aberta por 30 s e posteriormente ativados por uma lima ultrassônica por um tempo total de ativação de 30, 60 ou 90 s dividido em 1 ou 3 ciclos de ativação consecutivos. Nos grupos controle, o irrigante foi deixado em repouso por 30, 60 ou 90 s. O volume do biofilme no canal lateral foi avaliado antes e após o protocolo final de irrigação por tomografia de coerência óptica. Os resultados foram analisados por análise de variância fatorial de três vias ( $\alpha = 0,05$ ). A irrigação com NaOCl em vez de água desmineralizada resultou em remoção de biofilme mais eficaz do canal lateral ( $P < 0,001$ ). Três ciclos de ativação ultrassônica intermitente foram significativamente mais eficazes do que nenhuma ativação ( $P = 0,029$ ). O tempo total de contato do irrigante não afetou a remoção do biofilme ( $P = 0,403$ ). O tipo de irrigante e o protocolo de ativação ultrassônica afetaram a remoção do biofilme dos canais laterais artificiais. Nenhum dos protocolos comparados foi capaz de erradicar o biofilme.

## 2.5 Técnicas de agitação com XP - Endo Finisher

A XP-endo (FKG, La Chaux-de-Fonds, Suíça) é um novo instrumento apresentado como um passo final no protocolo de irrigação dos canais radiculares. Caracteriza-se por ser um instrumento não cônico de tamanho 25, que respeita a anatomia original do canal radicular e limpa efetivamente as áreas irregulares, devido à sua elevada flexibilidade e à sua capacidade de se expandir para adaptar-se ao canal radicular de forma tridimensional (FKG 2015).

Esta lima é fabricada usando a *Martensita-Austenita Electropolish-FleX* (NiTiMaxWire) caracterizada por ser um material demasiadamente flexível e que reage a diferentes níveis de temperatura. Na sua fase martensítica (M), que ocorre com o resfriamento do instrumento, a liga é reta. Conquanto, ao ser exposta à

temperatura corporal (35° C) ela se modifica, em decorrência à sua memória molecular da fase austenítica (A). Em rotação, a forma da fase A permite que a lima alcance e limpe áreas até então impossíveis de atingir com instrumentos convencionais. É fundamental observar que, de acordo com o fabricante, o instrumento pode ser usado em qualquer canal radicular que tenha sido ampliado até o diâmetro 25 ( $\varnothing = 25,0$  mm), outrossim, pode ser empregado na limpeza de um dente com até quatro canais radiculares (FKG 2015).

Bao et al. (2016), em um estudo *in vitro*, avaliaram a eficácia da XP-endo na remoção apical de biofilme em comparação com a irrigação por agulha convencional e a IUP. Cinquenta e quatro pré-molares unirradiculares foram selecionados e instrumentados. A seguir, foram randomizados em seis grupos (n = 8) de acordo com o protocolo final de irrigação. A microscopia eletrônica foi utilizada para avaliar o biofilme residual. A XP-endo obteve o melhor resultado, comparado aos outros grupos, removendo o biofilme de áreas de difícil acesso no SCR.

Pinheiro (2019) objetivou avaliar, por métodos moleculares baseados em rDNA e rRNA, a eficácia antimicrobiana de procedimentos complementares de primeira e de segunda sessão, realizados após o preparo químico-mecânico em dentes com periodontite apical. Amostras microbiológicas dos canais radiculares de 20 dentes unirradiculares com periodontite apical foram coletadas na primeira sessão clínica: após a cirurgia de acesso (S1); após o preparo químico-mecânico realizado com sistema Reciproce NaOCl 2,5% (S2); após a utilização do instrumento XP-endo (S3a) e após a ativação ultrassônica (S3b). Na segunda sessão clínica, as amostras foram coletadas após medicação intracanal entre sessões por 14 dias (S4) e, após o reparo dos canais na segunda sessão de tratamento (S5). As amostras foram submetidas à extração de DNA e RNA. Concluiu-se que o preparo químico-mecânico promoveu uma redução dos níveis e da atividade metabólica de bactérias nos canais radiculares. Porém, o uso do instrumento XP-endo e IUP não contribuiu para uma desinfecção adicional na primeira sessão de tratamento. Após o uso de hidróxido de cálcio como medicação intracanal entre as sessões, houve um aumento no metabolismo de bactérias persistentes nos canais radiculares. Por sua vez, o reparo dos canais radiculares proporcionou os menores níveis de rDNA e rRNA.

Azim et al. (2016) determinaram a eficácia de quatro sistemas de irrigação na eliminação de bactérias nos canais radiculares, particularmente nos túbulos dentinários. Um total de sessenta dentes foi contaminado com *E. faecalis* e divididos

em quatro grupos: (1) irrigação com agulha padrão, (2) agitação sônica com EndoActivator, (3) sistema XP-endo, (4) erbio: laser Erbio: YAG. A redução bacteriana foi analisada por microscopia confocal. Todos os quatro protocolos de irrigação eliminaram significativamente as bactérias intracanal, e o grupo da XP-endo teve uma maior redução bacteriana em comparação com as outras três técnicas.

Elnaghy; Mandorah; Elsaka (2016) avaliaram, *in vitro*, a eficácia da XP-endo na remoção de detritos e da camada de *smear layer* em canais radiculares curvos em comparação com diferentes protocolos de irrigação. As raízes mesiais dos molares inferiores foram preparadas mecanicamente usando o sistema rotatório BT-Race (FKG Dentaire) e foram divididas em cinco grupos (n = 15) de acordo com as seguintes técnicas de irrigação: controle positivo; ausência de agitação; agitação com limas manuais; XP-endo e *EndoActivator* (Dentsply Tulsa Dental Specialties, Tulsa, OK, EUA). Os canais radiculares foram divididos longitudinalmente e avaliados por microscopia eletrônica de varredura. A quantidade de detritos e *smearlayer* foi mensurada em cinco escores nos terços coronários, médios e apicais. Os grupos XP-endo e *EndoActivator* revelaram escores significativamente menores de detritos e da camada de *smear layer* do que os outros grupos nos diferentes terços (P <0,05). Não houve diferença significativa entre os grupos XP-endo e *EndoActivator* (P >0,05).

Silva et al. (2017) objetivaram avaliar, por meio de micro-CT, a efetividade da XP-endo Finisher e XP-endo Finisher R na remoção do cimento obturador e guta percha de canais ovais. Os canais radiculares de vinte dentes uniradiculares foram preparados com Reciproc R25e preenchidos com guta-percha e cimento AH Plus usando a técnica de onda contínua de condensação. Posteriormente, os canais radiculares foram então retratados com instrumentos Reciproc R25 e R40. Em seguida, os espécimes foram divididos em dois grupos de acordo com a abordagem de limpeza suplementar, usando XP-endo Finisher e XP-endo Finisher R. As áreas de superfície e volume de material obturador removidos foram avaliados usando imagens de micro-CT antes e após o uso dos instrumentos XP-endo. Os dados foram analisados estatisticamente com nível de significância de 5%. A remoção em volume do material obturador foi de 66,8% e 59,4% e, em superfície, foi de 67,3% e 61,4% para os sistemas XP-endo Finisher e XP-endo Finisher R, respectivamente. A quantidade de material obturador removido por ambas os sistemas suplementares



foram significativos ( $P = 0,000$ ). Nenhuma diferença significativa na porcentagem de material obturador removido foi detectada para os instrumentos XP-endo ( $P = 0,636$  para volume e  $P = 0,667$  para área de superfície). Como conclusão, ambas as limas XP-endo foram igualmente eficazes na remoção do material obturador remanescente de canais retos ovais. Nenhum dos instrumentos foram capazes de remover todo o material obturador residual.

Tufenkçi et al. (2019) objetivaram avaliar o efeito do uso do XP-endo em dentes com acesso coronário tradicional (TEC) e um desenho de cavidade de acesso coronário reduzido (CEC) na diminuição do número de *E. faecalis* no SCR. Foram utilizados oitenta primeiros molares inferiores divididos aleatoriamente em dois grupos: TEC e CEC ( $n=40$ /grupo). Após a realização da cavidade de acesso nos dois grupos, 80 canais radiculares mesiovestibulares foram contaminados com *E. faecalis* por quatro semanas. Após a primeira amostragem (S1), para realizar a instrumentação do canal radicular, os grupos TEC e CEC foram divididos em quatro subgrupos (dez dentes/grupo): Reciproc (VDW GmbH, Munique, Alemanha) e ProTaper Next (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça) com ou sem XP-endo. Amostragem bacteriana dos canais radiculares foram realizados com pontas de papel estéril antes (S1) e depois (S2) da instrumentação para determinar a carga bacteriana. A redução bacteriana foi contada por meio de UFC/mL. A quantidade de *E. faecalis* em todas as amostras com diferentes desenhos de cavidade foram significativamente reduzidas após a instrumentação. O menor valor de porcentagem de diminuição bacteriana foi observado no grupo CEC-Reciproc-XPF. As contagens de redução bacteriana de *E. faecalis* foram semelhantes nas cavidades TEC e CEC, e o uso de XPF não apresentou diferenças significativas entre grupos.

A atividade antimicrobiana isolada da TFDa, IUP e da XP-endo vem sendo discutida em recentes pesquisas, entretanto, a associação destes protocolos na redução do *E. faecalis* dos canais radiculares é pouco estudada. Diante do exposto, torna-se importante avaliar o efeito *in vitro* da TFDa frente a diferentes protocolos de agitação do FS.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

Avaliar, *in vitro*, o efeito da terapia fotodinâmica antimicrobiana frente a diferentes protocolos de agitação do fotossensibilizador.

#### **3.2 Objetivos específicos**

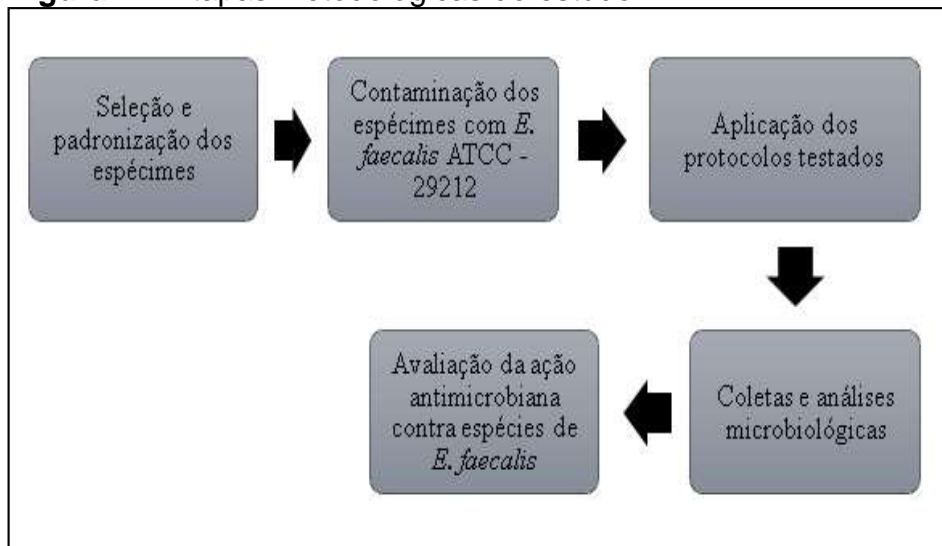
- a) Comparar a redução microbiana quando utilizada apenas a irrigação convencional por agulha ou algum método de agitação da solução irrigadora;
- b) Avaliar o potencial antibacteriano entre o uso isolado da TFDa e o seu uso associado a técnicas de agitação do fotossensibilizador com ultrassom e XP-endo;
- c) Comparar qual protocolo de agitação do fotossensibilizador favorece a uma maior eficácia na ação antibacteriana da TFDa.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Tipo e local do estudo

Esta pesquisa, do tipo experimental laboratorial *in vitro*, foi realizada no Laboratório de Análises e Diagnóstico da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB) em Campina Grande -PB, sob autorização institucional, conforme ANEXO A. As etapas metodológicas utilizadas neste processo estão descritas a seguir:

**Figura 1 – Etapas metodológicas do estudo**



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

### 4.2 Considerações éticas

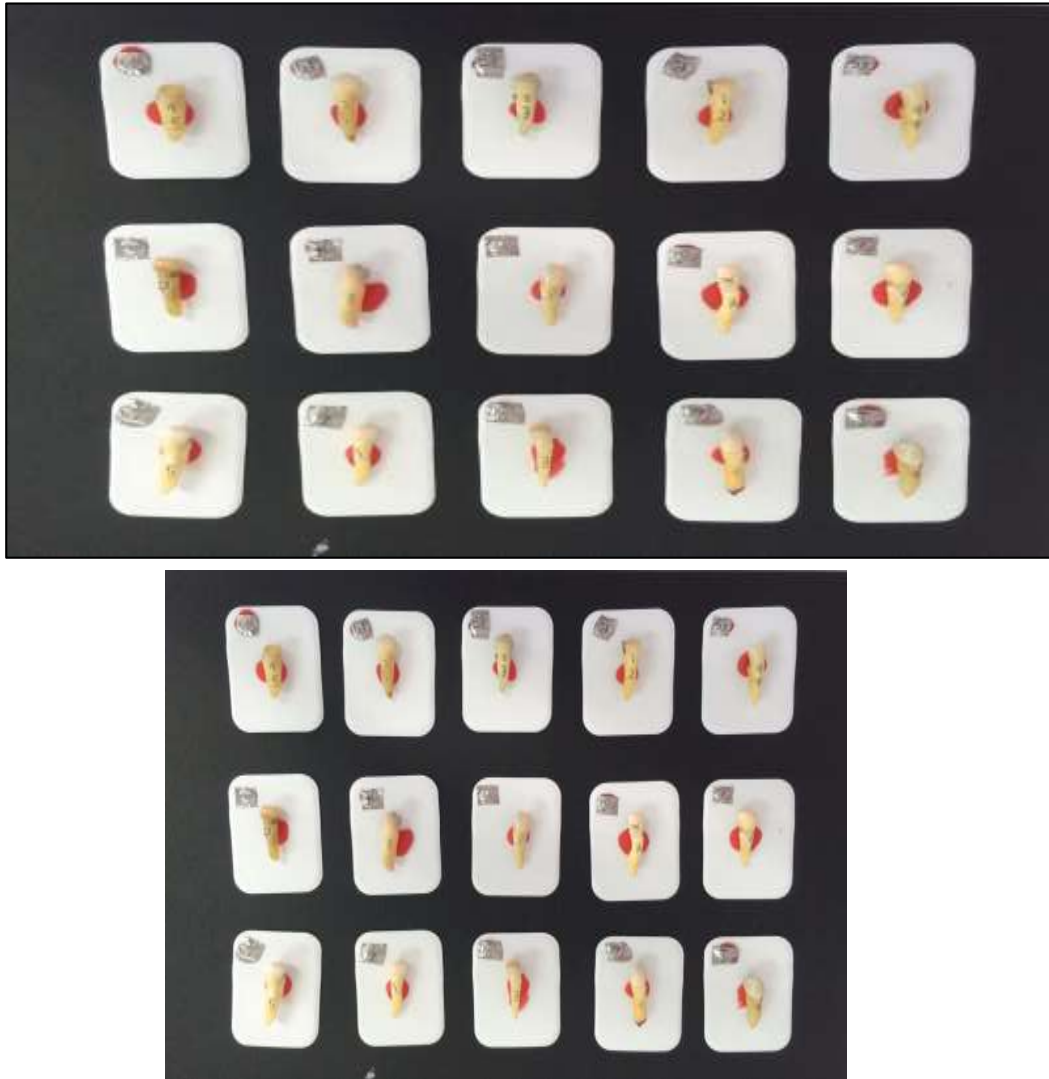
O presente estudo foi encaminhado e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual da Paraíba sob protocolo de número 45208420.8.0000.5187, conforme Anexo B.

### 4.3 Seleção e padronização dos espécimes utilizados

Foram utilizados 90 pré-molares unirradiculares inferiores doados do Biobanco de Dentes Humanos da Universidade Federal da Paraíba, em João Pessoa/PB.

Realizou-se exame radiográfico periapical e visualização criteriosa dos dentes com o auxílio de uma lupa. Como critérios de inclusão, selecionaram-se dentes com canais retos, ápices completamente formados e ausência de obturação endodôntica. Foram excluídos dentes com trincas, fraturas radiculares, reabsorções internas ou externas e com anomalias (Figura 2).

**Figura 2 – Seleção e padronização dos espécimes**



**Fonte:** Elaborada pelo autor, 2023.

Com auxílio de um disco metálico (KG Sorensen, Barueri, Brasil), acionado em motor elétrico, baixa rotação, os dentes foram seccionados transversalmente na junção cimento-esmalte com a finalidade de estabelecer um comprimento único para todas as raízes de 15 mm (Figura 3).

**Figura 3 –** Seccão transversal dos espécimes na junção cimento-esmalte



**Fonte:** Elaborada pelo autor, 2023.

O canal radicular foi previamente irrigado com 5,0 mL de solução salina estéril e explorado com uma lima K #20 (Dentsply-Maillefer®, Ballaigues, Suíça) até que esta fosse visualizada no forame apical, então, recuou-se 1,0 mm, obtendo-se assim o comprimento real de trabalho (CRT).

Os espécimes foram instrumentados com o sistema rotatório Reciproc® (VDW, Munique, Alemanha) R40, cujo diâmetro da ponta corresponde a 0,40 mm. A cada troca de instrumento, foi realizada irrigação, aspiração e inundação com hipoclorito de sódio (NaOCl) a 2,5% (Asfer®, Santa Maria, SP) por meio das agulhas Endo-Eze® (Ultradent, South Jordan, UT, EUA) utilizando Kit de irrigação-aspiração Ultradent® (Ultradent, South Jordan, UT, EUA), de modo que, em todos os grupos, foi utilizada a mesma quantidade final de NaOCl (10 mL).

Finalizada a instrumentação, a *smearlayer* foi removida com 5,0mL de ácido etilenodiaminotetracético dissódico (EDTA) (Biodinâmica, Paraná, Brasil) a 17% por três minutos, sendo, em seguida, realizada a irrigação final com 5,0mL de NaOCl a 2,5% e 1,0mL de solução salina estéril.

Concluída esta etapa, os espécimes tiveram seus ápices vedados com lonômero de Vidro Restaurador Riva Light Cure® (SDI, Victoria, Austrália) e receberam dupla camada de esmalte de unha transparente (Colorama, SP, Brasil) para impermeabilizar a superfície externa, a fim de prevenir o extravasamento da cultura bacteriana após a sua contaminação. Em seguida, foram colocados em frascos contendo solução de *Brain Heart Infusion* (BHI, Oxoid; Basinkstoke, UK)

esterelizados e autoclavados a 120°C, 1 atm, por 20 min. Permaneceram incubados a 37°C por 24h para confirmação da esterilidade.

Ressalta-se que esta etapa foi comum a todos os grupos.

#### 4.4 Micro-organismos e meio de cultura

Foram utilizadas cepas de *E. faecalis* NEWP 0033. As colônias isoladas foram suspensas em tubos com tampas rosqueáveis contendo BHI e passaram por crescimentos sucessivos. Esta suspensão foi agitada mecanicamente e ajustada em espectrofotômetro com absorvância de 800 nm, até obter-se a concentração equivalente a 1,0 da escala McFarland ( $3,0 \times 10^8$  bactérias/mL).

#### 4.5 Contaminação dos espécimes com *E. faecalis*

O protocolo de contaminação dos espécimes foi baseado na metodologia proposta por Andrade et al (2015). Previamente à contaminação, os dentes foram inseridos em microtubos individuais (Eppendorf, NY, USA) contendo 800 µl de BHI estéril e submetidos a um banho ultrassônico durante 15 minutos para reidratar as amostras e possibilitar a penetração máxima do meio de cultura nos túbulos dentinários (Figura 4).

Figura 4 – Banho ultrassônico prévio ao procedimento de contaminação



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

O período total de contaminação foi de quatro dias, com ciclos de centrifugação em dias alternados. O primeiro dia de contaminação iniciou-se pela confecção do inóculo a uma concentração de  $3,0 \times 10^8$  bactérias/mL.

O inóculo de *E. faecalis* foi armazenado em estufa bacteriológica a 37°C por sete horas, para que o micro-organismo estivesse na fase de crescimento exponencial durante a contaminação das amostras. Todos os procedimentos foram realizados dentro da câmara de fluxo laminar do Laboratório de Análises e diagnóstico da UEPB.

Após as sete horas na estufa, o meio de cultura BHI, utilizado para o banho ultrassônico, foi removido e descartado. Foi despejado, sobre as amostras no interior dos microtubos, 1,0mL do inóculo de *E. faecalis*. Os microtubos, contendo as amostras, foram levados à centrífuga seguindo o protocolo de centrifugação proposto por Andrade et al. (2014). Esse protocolo prevê a centrifugação em quatro velocidades (1.400g, 2.000g, 3.600g, 5.600g) por duas vezes em cada uma delas, por cinco minutos, na temperatura de 25°C.

O inóculo foi renovado a cada centrifugação. Após os oito ciclos de centrifugação, 1,0 mL da solução de BHI estéril foi inserida nos microtubos contendo as amostras, que foram agitados em vórtex e armazenados em estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas

No segundo dia (após 24 horas), as amostras foram agitadas em vórtex por dez segundos, e a solução turva dos micro-organismos removida. Foi inserido 1,0mL de BHI estéril nos microtubos, seguido de centrifugação a 3.600g por cinco minutos a 25°C e estes foram novamente armazenados em estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas.

No terceiro dia, foi confeccionado um novo inóculo e, após sete horas na estufa, um novo protocolo de contaminação e centrifugação foi realizado de maneira idêntica ao 1º dia. Após 24 horas na estufa bacteriológica a 37°C, o meio de cultura foi renovado e as amostras foram novamente armazenadas, da mesma forma que no 2º dia.

#### **4.6 Fotossensibilizador e fonte de luz**

O FS utilizado foi o AM a 0,005% (Chimiolux – Aptivalux, MG, Brasil), o qual foi ativado pelo laser Diodo de baixa potência (Therapy XT – DMC Equipamentos

Ltda, São Carlos, SP, Brasil) acoplado a uma fibra óptica. Como detalhado no Quadro 2, foi utilizado a fonte de luz vermelha, com comprimento de onda ( $\lambda$ ) de 660nm, energia de 9 J e potência de 100 mW, por 90 segundos de irradiação. Neste equipamento, a forma de emissão da luz é contínua (CW).

**Quadro 2 – Parâmetros do laser diodo de baixa potência**

COMPOSIÇÃO	InGaAlP
COMPRIMENTO DE ONDA	660 nm
ENERGIA	9 J
POTÊNCIA	100 mW
TEMPO DE PRÉ- IRRADIAÇÃO	Três minutos
TEMPO DE IRRADIAÇÃO	90 segundos

Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

#### 4.7 Distribuição dos grupos

Após o término do protocolo de contaminação, os espécimes foram divididos por conveniência em sete grupos de acordo com o protocolo de descontaminação final (Quadro 3).

**Quadro 3 – Grupos experimentais e controles do estudo**

GRUPO	PROTOCOLO
C- (n=05)	Controle negativo: Irrigação com soro fisiológico
C+ (n=10)	Controle positivo: Irrigação convencional com NaOCl
TFDa (n=15)	Terapia fotodinâmica antimicrobiana
AU (n=15)	Agitação ultrassônica do NaOCl 2,5%
XP (n=15)	Agitação do NaOCl 2,5% com XP-endo
TFD + AU (n=15)	Terapia fotodinâmica antimicrobiana + agitação ultrassônica do FS
TFD + XP (n=15)	Terapia fotodinâmica antimicrobiana + agitação do FS com XP-endo

Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

a) **Grupo C+ (controle positivo):** Irrigação convencional com hipoclorito de sódio;

O canal radicular foi inundado com 1,5mL de NaOCl 2,5%, (Asfer, São Caetano do Sul, Brasil) durante 60 segundos utilizando uma agulha de irrigação de



calibre 30 (Ultradent, South Jordan, EUA) posicionada no comprimento de trabalho e movida com movimentos verticais.

Os canais radiculares foram irrigados ao final com 5,0 mL de solução salina estéril e depois secos com pontas de papel Reciproc calibre 40 (VDW, Munique, Alemanha).

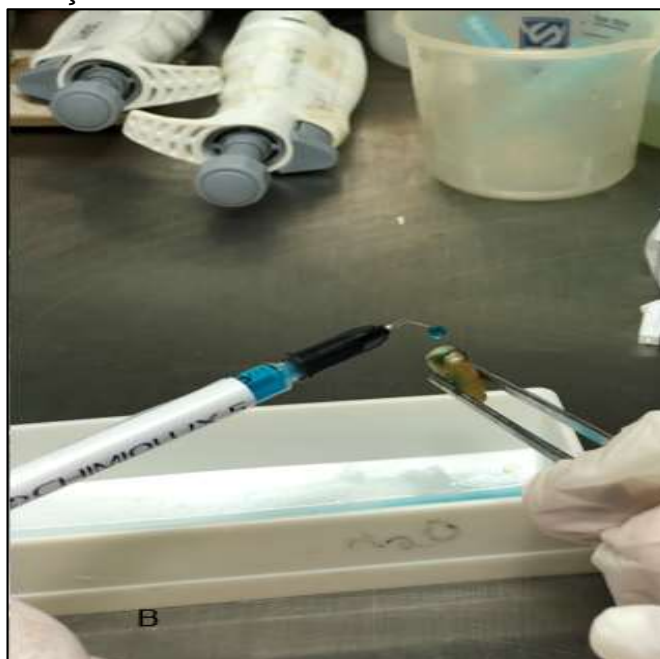
b) **Grupo C - (controle negativo):** após a contaminação dos espécimes com as Culturas de *E. faecalis*, estes não receberam qualquer tratamento;

c) **Grupo TFDa:** Terapia Fotodinâmica antimicrobiana.

O canal foi preenchido com 1,0mL do fotossensibilizador azul de metileno a 0,005%, o qual permaneceu por um TPI de três minutos (Figura 5). A fibra óptica foi, então, inserida no canal radicular e o fotossensibilizador foi ativado pelo laser Diodo (Figura 6).

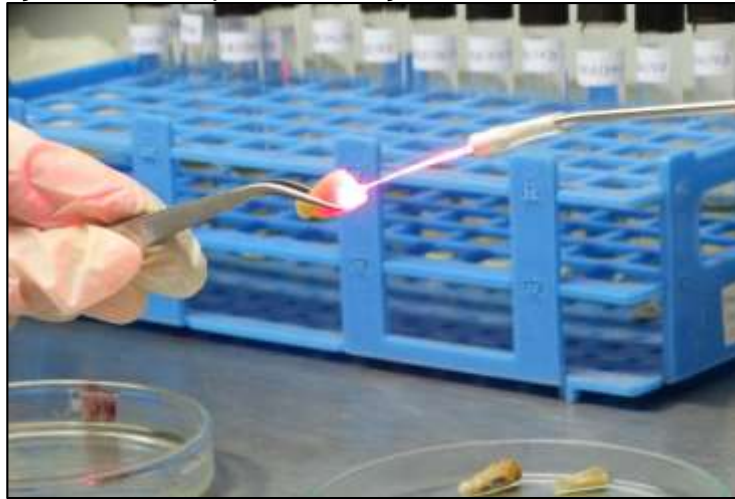
Como detalhado no Quadro 2, o aparelho de laser Diodo foi utilizado com fonte de luz vermelha, com comprimento de onda ( $\lambda$ ) de 660nm, potência de 100 mW e uma energia de 9 J, por 90 segundos de irradiação. Neste equipamento, a forma de emissão da luz é contínua (CW) e a área da ponteira (spot) é de 0,028 cm<sup>2</sup>. Posteriormente, o canal radicular foi novamente irrigado com 5,0mL de solução salina estéril para a remoção do fotossensibilizador e depois secos com pontas de papel Reciproc calibre 40.

**Figura 5** – Inserção do fotossensibilizador no interior do canal radicular



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

**Figura 6** – Inserção da fibra óptica e ativação do fotossensibilizador pelo laser diodo



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

a) **Grupo AU (Agitação ultrassônica do NaOCl a 2,5%)**: os canais radiculares inoculados com *E. faecalis* foram inundados com um total de 1,5mL de NaOCl a 2,5% e depois agitados ultrassonicamente, por meio do inserto Irrisonic E1 - 0,20 mm de diâmetro (Helse Dental Technology, São Paulo, Brasil) acoplado em ultrassom (JetSonic BP, Gnatus®) (Figura 7).

Como proposto por Bao et al, (2017), o inserto foi posicionado a 1,0 mm aquém do comprimento real de trabalho, com a administração da seringa de 1,5 mL de NaOCl realizada em três vezes, com 0,5 mL ativado por 3 ciclos de 20 segundos, totalizando um tempo total de ativação de 60 segundos.

A potência do inserto foi ajustada conforme recomendação do fabricante. Foi aberta a porta de água do ultrassom até que fosse encontrado o ponto de neblina e gotejamento de água, encontrando-se assim a potência ideal para o equipamento, que foi de 30%. Os canais radiculares foram irrigados ao final com 5,0mL de solução salina estéril e depois secos com pontas de papel Reciproc calibre 40.

**Figura 7 –** Inserto E1 posicionado no interior do canal radicular



**Fonte:** Elaborada pelo autor, 2023.

**b) Grupo XP (Agitação do NaOCl 2,5% com XP-endo Finisher):**

A XP-endo foi utilizada no interior do canal radicular de acordo com as recomendações do fabricante. Após a sua remoção do blister estéril, esta foi acoplada no contra-ânguloVDW Silver (VDW, Munique, Alemanha), resfriada por meio do *spray* refrigerante *Endo ice* (Hygenic, Akron, EUA) e retirada no tubo de plástico com movimentos de rotação aplicando pressão nas laterais do tubo.

Seguindo a metodologia proposta por Bao et al (2017), a XP-endo foi posicionada a 1,0 mm aquém do comprimento real de trabalho, com a administração da seringa de 1,5 mL de NaOCl a 2,5% realizada em três vezes, com 0,5 mL ativado por 3 ciclos de 20 segundos. AXP-endo foi programada a uma velocidade de 800 rpm, torque de 1 -Ncm, durante um total de 60 segundos (Figura 8).

Ao final do protocolo, os canais radiculares foram irrigados com 5,0mL de solução salina estéril e depois secos com pontas de papel Reciproc calibre 40.

**Figura 8 – XP - endo posicionada no interior do canal radicular.**



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

**c) GRUPO TFDa + AU (Terapia fotodinâmica antimicrobiana + agitação ultrassônica do FS)**

Os canais radiculares inoculados com *E. faecalis* foram preenchidos com 1,0mL do FS azul de metileno a 0,005%, deixado por três minutos (TPI) no interior dos canais, com agitação. Durante este período, foi realizada a agitação ultrassônica do FS, por meio do inserto Irrisonic E1 acoplado em ultrassom com a ponta posicionada a 1,0 mm aquém do comprimento real de trabalho.

A irradiação ocorreu de forma semelhante ao grupo TFDa. Após o protocolo, os canais radiculares foram irrigados com 5,0mL de solução salina estéril e depois secos com pontas de papel Reciproc calibre 40.

**d) GRUPO TFDa + XP (Terapia fotodinâmica antimicrobiana + agitação do FS com XP-endo finisher)**

De maneira análoga ao Grupo XP, a XP-endo foi manuseada de acordo com as recomendações do fabricante. Os canais radiculares inoculados com *E. faecalis* foram preenchidos com 1,0mL do FS azul de metileno a 0,005%, deixado por três minutos (TPI) no interior dos canais, seguido de agitação por meio da XP-Endo Finisher a uma velocidade de 800 rpm, torque de 1 -Ncm durante todo o período.

A irradiação ocorreu de forma semelhante ao grupo TFDa. Após o protocolo, os canais radiculares foram irrigados com 5,0mL de solução salina estéril e depois secos com pontas de papel Reciproc calibre 40.

## **4.8 COLETAS E ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS**

### ***4.8.1 Coletas microbiológicas***

Foram executadas duas coletas dos espécimes para avaliação microbiológica. A primeira coleta, denominada “CP”, foi realizada previamente aos protocolos, para confirmar a contaminação dos espécimes. A segunda coleta, denominada “CF” foi realizada imediatamente ao final dos protocolos, para verificar a redução microbiana.

Tanto para a CP quanto para a CF, utilizou-se um instrumento tipo K número 40 introduzido em cada canal com 10 movimentos de limagem para induzir formação de raspas de dentina que ficassem suspensas para serem absorvidas pelo cone de papel. Logo após, foi introduzido no interior de cada canal radicular um cone de papel absorvente esterilizado Reciproc 40 durante um minuto. Com auxílio de uma pinça clínica esterilizada, cada cone foi transferido para um tubo de ensaio contendo 1,0 mL de BHI estéril. Em seguida, o mesmo foi colocado em agitador vórtex durante trinta segundos e, a partir de cada suspensão, foram preparadas as diluições seriadas.

### ***4.8.2 Preparo das coletas (diluição, contagem das unidades formadoras de colônias - UFC)***

Seguindo a metodologia proposta por Silva (2007), após a agitação mecânica, houve diluição das amostras coletadas na proporção de 1/10, 1/100, em BHI estéril. A seguir, 50 µl da diluição  $10^{-2}$  foram plaqueados em triplicata em BHI ágar incubados em estufa. Após o período de 48 horas, as colônias de microrganismos que estavam presentes nestas placas, foram contadas, determinando-se as unidades formadoras de colônias (UFC). Para obtenção das unidades formadoras de colônias por mL, foi necessária a multiplicação do número de UFC obtidas na contagem das placas em 2000 vezes, representando assim, o número de colônias

descontando-se as diluições feitas durante o estudo (100 vezes) e o plaqueamento de 50  $\mu$ l (20 vezes menor que 1,0 mL). A média das 3 placas foi utilizada como valor final da contagem (Figura 9).

**Figura 9** – Placas contendo UFC'S



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

#### 4.9 Análise Estatística

Os dados foram analisados a partir de estatística descritiva e inferencial. A variável quantidade de bactérias observadas foi considerada como variável dependente (resposta) e foi analisada descritivamente a partir medidas de tendência central e dispersão. A normalidade da variável dependente foi verificada a partir do teste de Shapiro-Wilk, bem como por meio da análise visual de histograma. Como a variável apresentou distribuição normal, foram empregados testes paramétricos. O teste t pareado foi empregado para comparar a quantidade de bactérias em cada grupo entre os dois tempos avaliados (*baseline* e após 24 horas) (análise intragrupo). Análise de Variância a um fator (ANOVA) usando o teste *post-hoc* de Tukey HSD (HANNIGAN; LYNCH, 2013; LARSON; FARBER, 2016) foi utilizada para comparar a variável dependente entre os diferentes grupos, em cada um dos tempos avaliados (*baseline* e após 24 horas) (análise intergrupo). Todas as análises foram realizadas utilizando o software *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS para Windows, versão 25.0, IBM Corp., Armonk, NY, EUA) com um nível de significância de 5%.

## 5 RESULTADOS

A Tabela 1 mostra os resultados da análise comparativa da quantidade de bactérias (UFC/mL) observadas nos diferentes tempos de avaliação de acordo com cada grupo experimental. A porcentagem de inibição variou de 0,0 (C-) a 62,5% (XP Endo + TFDa), com diferença estatisticamente significativa na quantidade de bactérias (UFC/ml) observadas entre os dois tempos avaliados (*baseline* e 24hs) para todos os grupos investigados ( $p < 0,05$ ). Os maiores percentuais de inibição foram observados nos grupos G4 (XP) (62,4%) e G7 (XP + TFDa) (51,9%), sem diferença estatisticamente significativa entre eles.

Em relação a avaliação entre os grupos, para o *baseline*, observou-se diferença estatisticamente significativa na quantidade de bactérias apenas entre G2 (controle negativo) e G5 (PUI) e entre G2 (controle negativo) e G7 (XP + TFDa). No tocante a avaliação após 24 horas, houve diferença estatisticamente significativa entre G1 (controle positivo) e G2 (controle positivo), entre G2 (controle negativo) e os demais grupos; e entre G3 (TFDa) e os demais grupos com exceção do G1 (controle positivo). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos G4 (XP), G5 (PUI), G6 (PUI + TFDa) e G7 (XP + TFDa) ( $p > 0,05$ ), o que pode ser visto na Tabela 1.

**Tabela 1** - Análise comparativa da quantidade de bactérias (UFC/mL) observadas nos diferentes tempos de avaliação de acordo com cada grupo experimental

Grupos	UFC/mL – <i>Baseline</i> Média ± DP	UFC/mL – 24 horas Média ± DP	% inibição	p-valor*
G1 (Controle +)	47,9±2,4 <sup>AB</sup>	29,4±1,7 <sup>AD</sup>	38,6	<0,001
G2 (Controle -)	51,5±3,0 <sup>A</sup>	195,0±49,9 <sup>B</sup>	0,0	<0,003
G3 (TFDa)	47,4±4,3 <sup>AB</sup>	38,9±4,0 <sup>AC</sup>	17,9	<0,001
G4 (XP)	48,6±3,2 <sup>AB</sup>	18,2±1,7 <sup>D</sup>	62,5	<0,001
G5 (PUI)	45,3±3,4 <sup>B</sup>	23,5±2,25 <sup>DE</sup>	48,1	<0,001
G6 (PUI + TFDa)	48,3±3,5 <sup>AB</sup>	23,2±2,5 <sup>DF</sup>	51,9	<0,001
G7 (XP + TFDa)	45,0±4,1 <sup>B</sup>	16,9±2,0 <sup>DF</sup>	62,4	<0,001

**Fonte:** Elaborada pelo autor, 2023.

**Nota.** Letras diferentes denotam resultados significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ). Letras maiúsculas comparam valores na vertical (avaliação intergrupo, G1 vs G2 vs G3 vs G4 vs G5 vs G6 vs G7). \*Teste t-pareado.

## 6 DISCUSSÃO

Em virtude da heterogeneidade do SCR, a sua completa limpeza continua sendo um grande desafio na Endodontia, pois o tratamento convencional pode manter bactérias persistentes, como *E. faecalis*, dentro dos canais acessórios e túbulos dentinários, causando insucesso do tratamento endodôntico (BRITO et al., 2009; ZHANG et al., 2015). *E. faecalis* destaca-se por ser a espécie mais comumente encontrada em canais tratados, e a sua capacidade de sobreviver em condições ambientais desfavoráveis fizeram com que alguns estudos a apontassem como o principal patógeno envolvido no fracasso do tratamento endodôntico (PINHEIRO et al., 2003, SIDDIQUI; AWAN; JAVED, 2013). Em decorrência disso, o presente estudo utilizou esta espécie para a contaminação dos canais.

A escolha do protocolo de contaminação dos dentes, nesta pesquisa, foi baseada na metodologia proposta por Andrade et al (2015), o qual proporcionou uma proliferação satisfatória de *E. faecalis* em menos tempo, em comparação com outros métodos. Apesar do referido estudo avaliar contaminação em túbulos dentinários de dentes bovinos, verificou-se, no presente estudo, que a contaminação foi satisfatória em luz de canal, utilizando dentes humanos.

No presente estudo, as amostras foram retiradas do canal radicular utilizando cones de papel absorventes, como já mencionado nas pesquisas de Souza et al., (2010) e Garcez et al., (2010). Os cones de papel Reciproc 40 usados neste estudo tinham o tamanho apropriado semelhante ao último instrumento utilizado no preparo apical do canal radicular. No entanto, os cones de papel absorventes só coletam uma porção de bactérias organizadas em uma estrutura semelhante a um biofilme em luz de canal principal. Para superar esta limitação, raspas de dentina foram obtidas das paredes do canal radicular com uma lima manual de número 40. Desta forma, as bactérias que residiam em túbulos dentinários puderam ser coletadas.

A determinação das UFCs no interior do canal radicular é considerada como um método para avaliar a eficácia da desinfecção por meio de várias técnicas, sendo aplicada em diversos estudos *in vitro* (SHEN et al., 2012, Xhevdet et al., 2014, Tennert et al., 2014, Niavarzi et al, 2019). Embora seja um método barato e fácil para analisar as contagens bacterianas, permanece questionável se as contagens



de UFC refletem de forma real o crescimento bacteriano no interior do canal radicular.

O efeito do tamanho do preparo do canal radicular pode influenciar a eficácia dos procedimentos de irrigação (HUANG; GULABIVALA, 2008). No presente estudo, os dentes unirradiculares foram preparados com um instrumento de ponta 40 e conicidade 0,6. Este diâmetro apical é clinicamente relevante e permite uma irrigação eficaz da seringa (FALK; SEDGLEY, 2005). Além disso, foram selecionados dentes unirradiculares com canais retos para alcançar uma carga bacteriana comparável em todos os grupos, reduzir a variação anatômica e permitir uma amostragem padronizada.

A irrigação assume um papel essencial para se obter o êxito na desinfecção do SCR. A irrigação convencional com seringas é a técnica básica para irrigação do canal radicular, mas é passível de insucesso. Castelo-Baz et al. (2016) apontam que a profundidade da colocação da ponta da agulha no interior do canal é o fator que permite a entrega da solução, mas limita muito sua distribuição. No presente estudo, isso foi comprovado pelo baixo percentual de inibição no controle positivo, sendo de 38,6%.

O uso da IUP como recurso auxiliar na terapia endodôntica tem sido sugerida como uma alternativa para aumentar a limpeza e desinfecção do sistema de canais radiculares (BAO et al., 2017, LEONI et al., 2017, NIARVAZI, 2019). Estevez et al (2017) em um estudo *in vitro*, verificaram que, ao utilizar a IUP, a penetração lateral do irrigante é intensificada, removendo maior quantidade de detritos. De modo igual, Urbanet al (2017) verificaram que a IUP é um dos melhores métodos, dentre os que testaram, sendo bastante eficaz na remoção de detritos e *smearlayer*. Em contrapartida, no presente estudo, não houve diferença estatisticamente significativa comparando a agitação ultrassônica do NaOCl (G5) e o grupo controle positivo (NaOCl sem agitação).

Apesar de ter tido resultados superiores ao grupo da TFDa (G3), com uma porcentagem de inibição de 48,1%, outros estudos apresentam porcentagens maiores de inibição, variando entre 85,05% (XHEVDE et al, 2014) a 94,1% (LEONI et al, 2016). De forma semelhante ao presente estudo, Freire et al (2015) relataram que o uso da IUP resultou em uma redução de 55,55% na porcentagem de volume de detritos. Essas disparidades podem ter sido causadas por diferenças no delineamento experimental, como concentração, volume dos irrigantes e tempo de

irrigação. Além disso, supõe-se que outro fator importante para a baixa inibição foi a ausência de fluxo irrigatório e de solução quelante para que fosse possível eliminar bactérias.

Em relação ao tempo da IUP, Xhevdet et al (2014) demonstraram que a IUP por 10s apresentou ser mais efetiva na redução bacteriana em relação a TFDa e NaOCl convencional a 2,5%. No atual estudo, a IUP foi realizada com três ciclos de 20 segundos cada, semelhante a diversos estudos (GREGORIO et al., 2009, LEONI et al., 2016, BAO et al., 2017).

A TFDa tem se mostrado bastante promissora na redução de MO intracanaís (FIMPLE et al., 2008, MIRANDA; GUSMAN e COLOMBO, 2015, HOEDKE et al., 2017). Nesse estudo, três métodos distintos de desinfecção para os canais radiculares foram utilizados: TFDa, PUI e XP endo. O grupo da TFDa sem associação com hipoclorito de sódio resultou em uma baixa porcentagem de inibição bacteriana (17,9% de inibição), quando comparado aos outros grupos, os quais utilizaram NaOCl a 2,5% como irrigante. Fica evidente que a TFDa utilizada de forma isolada é um protocolo insuficiente para reduzir a carga microbiana, e soluções irrigadoras com comprovada ação antimicrobiana, como o NaOCl, faz-se necessário. Este fato está de acordo com estudos anteriores (MUHAMMAD et al., 2014; SOUZA et al., 2010, NEVES et al., 2019) sugerindo que a TFDa pode ser um método adjuvante eficaz na desinfecção do canal radicular, mas não um tratamento isolado.

Em contrapartida, no estudo de Bonsor et al (2006), a TFDa isolada demonstrou ser tão eficaz quanto os métodos químicos-mecânicos convencionais, com 93% dos canais do grupo da TFDa livres de bactérias cultiváveis após o procedimento de instrumentação contra 76% do grupo do NaClO. A técnica alternativa descrita indica que seria possível desinfetar o SCR sem o uso de NaClO. De forma semelhante, Xhevdet et al (2014), verificaram que aumentando o tempo de irradiação da TFDa de um para cinco minutos, a ação antibacteriana foi a mesma do NaOCl a 2,5% na descontaminação intracanal. Souza et al (2010) verificaram que a TFDa com azul de metileno ou azul de toluidina não aumentou significativamente a desinfecção após o preparo químico-mecânico usando NaOCl como irrigante.

Na endodontia, os FSs derivados das fenotiazinas têm sido amplamente empregados nas pesquisas envolvendo TFDa, sendo o azul de metileno o FS de escolha deste estudo, seguindo a metodologia de diversos trabalhos envolvendo descontaminação endodôntica (FIMPLE et al., 2008; KOMINE, TSUJIMOTO, 2013;

SOUZA et al., 2010, BAGO et al., 2013). O comprimento de onda utilizado foi de 660 nm, pois a banda de absorção do azul de metileno está situada entre 620 nm e 700 nm, com pico de absorção em 630 nm (SOUKOS, 2006).

Na TFDa convencional, durante o TPI, o FS permanece no interior do canal de forma estática, sem agitação. Até o presente momento, não há estudos que compararam a agitação do FS com ultrassom e com o uso da XP endo. No estudo de Bonsor (2006), o FS foi agitado por 60 segundos com uma lima manual de níquel-titânio de tamanho 25.02 para garantir que o fluido fosse distribuído até o terço apical e qualquer bolha de ar introduzida no canal fosse eliminada. O efeito da agitação ultrassônica no FS foi sugerido pela primeira vez por Ghinzelli et al em 2014, resultando na maior eliminação de *E. faecalis* na luz de canal principal. Em concordância, Tennert et al (2015), também verificaram melhores resultados quando o FS foi agitado por meio de ultrassom. Niavarzi et al (2019) realizaram a agitação ultrassônica do FS durante 20 segundos e verificaram que houve uma melhor penetração nos túbulos dentinários e que a contagem bacteriana diminuiu de forma significativa quando comparado ao grupo da TFDa sem agitação do FS. Não houve diferença significativa entre os efeitos antibacterianos da TFDa + ultrassom e NaOCl ativado por ultrassom. Até o presente momento, não há estudos que compararam a agitação do FS com ultrassom e com o uso da XP endo.

Nos resultados do atual estudo, a agitação do FS, seja com o uso de ultrassom, seja com a XP endo, melhorou significativamente a atividade antimicrobiana quando comparado ao grupo da TFDa sem agitação. Não houve diferença significativa entre os métodos de agitação. Segundo Souza et al (2010), esse resultado pode ser atribuído à desintegração das estruturas semelhantes a biofilmes durante a ativação ultrassônica do FS ou ao aumento da penetração do FS nas células bacterianas alvo. Sem a agitação ultrassônica, o FS pode não conseguir penetrar no biofilme bacteriano de forma eficaz devido à presença de matriz extracelular.

Tennert et al (2015) afirmaram que além desses fatores, a baixa concentração de oxigênio disponível nos canais radiculares pode levar a uma menor formação de espécies reativas de oxigênio durante a TFDa e que a complexidade anatômica com seus numerosos túbulos dentinários podem limitar a profundidade de difusão do FS dentro da dentina. Em tais circunstâncias, a formação de derivados de oxigênio citotóxicos pode ser bloqueada ou minimizada e o a luz pode não atingir essas

áreas. Por esta razão, no presente estudo, o FS foi agitado visando superar as limitações da TFDa convencional citadas anteriormente.

As possíveis razões para as diferenças na eficácia da TFDa na terapia endodôntica pode ser o resultado de diferentes parâmetros utilizados em vários métodos, incluindo a técnica, *design* da ponta, o tempo de aplicação dentro do canal, presença de uma solução aquosa que afete a absorção do feixe de laser e potência do laser e, finalmente, a densidade de energia entregue (SEET et al., 2012; FRANSSON; LARSSON; WOLF, 2013).

Esta pesquisa obteve a maior porcentagem de inibição bacteriana quando a XP Endo foi utilizada (62,5%), resultados semelhantes a um estudo prévio (Azim et al., 2016), o qual mostrou que a XP Endo proporcionou uma redução bacteriana significativamente maior (98,2%) em comparação com outras técnicas de irrigação. De forma semelhante, em outro estudo (Bao et al., 2017) a XP Endo, como protocolo de irrigação final, promoveu uma maior redução do biofilme em áreas de difícil alcance no sistema de canais radiculares, comparada à irrigação convencional e à IUP. No estudo de Leoni et al (2016), as coletas em luz de canal também demonstraram que os grupos da XP Endo apresentaram os melhores resultados na redução bacteriana, com taxa de aproximadamente 89,7%, sendo a técnica mais eficaz na remoção de detritos em terço apical.

Mais estudos são necessários para avaliar a redução microbiana usando diferentes métodos de agitação do FS em diversas anatomias e em dentes multirradiculares, bem como variando o FS no canal radicular com diferentes sistemas de entrega, volume e fluxo, assim como profundidade de inserção de diferentes agulhas de irrigação, pontas ultrassônicas e cânulas de sucção. Ademais, ensaios clínicos serão determinantes para estabelecer a eficácia no ambiente da cavidade oral, devido a existência de um biofilme multiespecífico em contrapartida ao do estudo que é específico.

Embora seja difícil tirar conclusões, na literatura, a partir das diferenças nos projetos metodológicos, existe um consenso sobre o benefícios de usar a ativação do irrigante ao final do preparo do canal radicular (NUSSTEIN,2015, URBANet al.,2017, BAO et al., 2017). Considerando a importância da busca de novos métodos de limpeza e eliminação eficiente de micro-organismos dos canais radiculares, faz-se necessária a realização de novos estudos para determinar a eficiência dos

protocolos de irrigação em diferentes anatomias do canal e em dentes multirradiculares.

## 7 CONCLUSÕES

Este estudo forneceu uma visão sobre o potencial antibacteriano da agitação do FS na TFDa no combate à bactéria *E. faecalis* no sistema de canais radiculares. De acordo com a metodologia utilizada e baseada na análise dos dados obtidos, pode-se concluir que:

- O uso da TFDa de forma isolada mostrou resultados inferiores em relação ao controle positivo, o que demonstra a importância do uso de soluções irrigadoras antimicrobianas durante o tratamento endodôntico;
- Os resultados desta pesquisa ratificam que a agitação do FS na TFDa foi mais eficaz na inibição de *E. faecalis*, em relação ao seu uso isolado;
- A agitação do FS, seja com o uso de ultrassom, seja com a XP endo, melhorou significativamente a atividade antimicrobiana quando comparado ao grupo da TFDa sem agitação, sem diferença estatisticamente significativa entre os métodos de agitação

## REFERÊNCIAS

- ALVES, F. R. F. et al. Bacteria and hard tissue debris extrusion and intracanal bacterial reduction promoted by xp-endo shaper and reciproc instruments. **Journal of Endodontics**, USA, v. 44, n. 7, p. 44-47, 2018.
- AMARAL, R. R. et al. Terapia fotodinâmica na endodontia - revisão de literatura. **Revista da Faculdade de Odontologia**, São Paulo, v. 15, n. 2, p. 207-211, 2010.
- ANDRADE, F. B. et al; AMOROSO-SILVA, et al. A new improved protocol for *in vitro* intratubular dentinal bacterial contamination for antimicrobial endodontic tests: standardization and validation by confocal laser scanning microscopy. **J Appl Oral Sci**. USA, v. 23, p. 591-598, 2015.
- ANDERSON, A. C. et al. Comprehensive analysis of secondary dental root canal infections: a combination of culture and culture-independent approaches reveals new insights. **PLoS One**, USA, v. 7, n. 11, p. 49576, 2012.
- AFKHAMI, F.; AKBARI, S.; CHINIFORUSH, N. Entococcus faecalis elimination in root canals using silver nanoparticles, photodynamic therapy, diode laser, or laser-activated nanoparticles: an *in vitro* study. **Journal of Endodontics**, USA, v. 43, n. 2, 2017.
- AGOSTINIS, P.; BERG, K.; CENGEL, K. et al. Photodynamic therapy of cancer: an update. CA: **A Cancer Journal for Clinicians**. USA, v. 61, n. 4, p. 250-81, 2011.
- ALFENAS, C. F. et al. Terapia fotodinâmica na redução de microrganismos no sistema de canais radiculares. **Revista Brasileira de Odontologia**, São Paulo, v. 68, n. 1, p. 68-71, 2011.
- ARAÚJO, N. C.; FONTANA, C. R.; BAGNATO, V. S.; GERBI, M. E. Photodynamic antimicrobial therapy of curcumin in biofilms and carious dentine. **Lasers Med Sci**, USA, v. 29, n. 2, p. 629-35, 2014.
- AZIM, A. A. et al. Efficacy of 4 irrigation protocols in killing bacteria colonized in dentinal tubules examined by a novel confocal laser scanning microscope analysis. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 42, n. 6, p. 928-34, 2016.
- BAGO, I. et al. Antimicrobial efficacy of a high-power diode laser, photo-activated disinfection, conventional and sonic activated irrigation during root canal treatment. **International Endodontic Journal**, Oxford, v. 46, n. 4, p. 339- 347, 2013.
- BAO, P.; SHEN, Y.; LIN, J.; HAAPASALO, M. *In vitro* efficacy of xp-endo finisher with 2 different protocols on biofilm removal from apical root canals. **Journal of Endodontics**, USA, v. 43, n. 2, 2017.
- BAUMGARTNER, J. C.; FALKLER, W. A. Bacteria in the apical 5 mm of infected root canals. **Journal of Endodontics**, USA, v. 17, n. 8, p. 380-3, 1991.

- BRAITT, A. H. Considerações sobre o uso de aparelhos ultra-sônicos em endodontia. **RevOdonto**, USA, v. 2, n. 8, p. 242-246, 1992.
- BRITO, P. R. et al. Comparison of the effectiveness of three irrigation techniques in reducing intracanal *Enterococcus faecalis* populations: an *in vitro* study. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 35, n.1, p. 1422-1427, 2009.
- BONSOR, S. J.; NICHOL, R.; REID, T. M. S.; PEARSON, G. J. An alternative regimen for root canal disinfection. **British Dental Journal**, USA, v. 201, n. 2, p. 101-105, 2006.
- BROWN JR, L. R.; RUDOLPH, C. E. Isolation and identification of microorganisms from unexposed canals of pulp-involved teeth. **Oral Pathology, and Oral Radiology**, USA, v. 10, p. 1094-9, 1957.
- BUMB, S. S. et al. Assessment of photodynamic therapy (pdt) in disinfection of deeper dentinal tubules in a root canal system: an *in vitro* study. **Journal of Clinical and Diagnostic**. USA, v. 11, p. 67-71, 2014.
- BURLESON, A.; NUSSTEIN, J.; READER, A.; BECK, M. The *in vivo* evaluation of hand/rotary/ultrasound instrumentation in necrotic, human mandibular molars. **Journal of Endodontics**. USA, v. 33, n. 7, p. 782-7, 2007.
- CAMERON, J. A. The synergistic relationship between ultrasound and sodium hypochlorite: a scanning electron microscope evaluation. **Journal of Endodontics**. USA, v. 13, n. 11, p. 541-5, 1987.
- CARVALHO, A. P. L. de. **Avaliação microbiológica de um protocolo de tratamento endodôntico utilizando procedimentos complementares de desinfecção após o preparo químico-cirúrgico em dentes com periodontite apical**. 2019. 146f. Tese (Doutorado em Odontologia) -Curso de Odontologia. Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.
- CARVALHO, K. B. **Identificação das características microbiológicas de canais radiculares de dentes permanentes jovens portadores de infecção primária**. 2009. 17f. Tese Doutorado em Odontologia. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2009.
- CASTANO, A. P.; DEMIDOVA, T. N.; HAMBLIN, M. R. Mechanisms in photodynamic therapy: part two-cellular signaling, cell metabolism and modes of cell death. **Photodiagnosis Photodynamic Therapy**, Amsterdam, v. 2, n. 1, p. 279-293, 2005.
- CASTELO-BAZ, P. et al. *In vitro* comparison of passive and continuous ultrasonic irrigation in curved root canals. **Journal of Clinical and Experimental Dentistry**, USA, v. 8, n. 4: 437-441, 2016.
- CHREPA, V. et al. The effect of photodynamic therapy in root canal disinfection: a systematic review. **Journal of Endodontics**. USA, v. 40, n. 7, p. 891-8, 2014.



COELHO, J de A. Extrusão microbiana e contaminação intradentinária após a utilização da PUI e da CUI em diferentes momentos. 89f. 2020. Dissertação (Mestrado em Odontologia. Faculdade de Odontologia de Bauru. Universidade de São Paulo, 2020.

CROZETA, B. M.; CHAVES de S. L.; CORREA, S. S. Y.; SOUSA-NETO, M. D.; JARAMILLO, D. E.; SILVA, R. M. Evaluation of passive ultrasonic irrigation and gentle wave system as adjuncts in endodontic retreatment. **Journal Endod.** USA, v. 46, n. 9, sep, p. 1279-1285, 2020.

DAMETTO, F. R. et al. *In vitro* assessment of immediate and prolonged antimicrobial action of chlorhexidine against enterococcus faecalis. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, and Oral Radiology**, v. 99, n.6: 768-772, 2005.

DE OLIVEIRA, B. P.; AGUIAR, C.M.; CAMARA, A.C. Photodynamic therapy in combating the causative microorganisms from endodontic infections. **European Journal of Dentistry**, v. 8, n. 3, p. 424-430, 2014.

DOUGHERTY, T. J. et al. Photodynamic therapy. **J Natl Cancer Inst**, USA, v. 90, p. 889-905, 1998.

ELNAGHY, A. M.; MANDORAH, A.; ELSAKA, S. Effectiveness of XP-endo finisher, endo activator, and file agitation on debris and smear layer removal in curved root canals: a comparative study. **Odontology**. Tokyo, v. 105, n. 2, p. 178- 183, 2016.

ELNAGHY, A. M.; MANDORAH A, ELSAKA, S. E. Effectiveness of XP-endo finisher, endoactivator, and file agitation on debris and smear layer removal in curved root canals: a comparative study. **Odontology**. USA, v. 105, n. 2, apr. p. 178-183, 2017.

ESTEVEZ R, et al. Effect of passive ultrasonic activation on organic tissue dissolution from simulated grooves in root canals using sodium hypochlorite with or without surfactants and EDTA. **Journal of Endodontics**, USA, v. 43, p. 1161-1165, 2017.

FALK, K. W.; SEDGLEY, C. M. The influence of preparation size on the mechanical efficacy of root canal irrigation *in vitro*, **Journal of Endodontics**. USA, v. 31, p. 742–5, 2005.

FIMPLE, J. L. et al. Photodynamic treatment of endodontic polymicrobial infection *in vitro*. **Journal of Endodontics**, USA, v. 34, n. 6, p. 728-34.

FKG SWISS ENDO. XP-endo Finisher: 3d generation. Disponível em: <[www.kkg.ch/sites/default/files/fkg\\_xp\\_endo\\_brochure\\_en\\_vb.pdf](http://www.kkg.ch/sites/default/files/fkg_xp_endo_brochure_en_vb.pdf)>. 2016. Acesso em: 28 ago. 2022.

FIGDOR, D.; JK, D.; STARVATION, S. G. Starvation survival, growth and recovery of enterococcus faecalis in human serum. 234-9, 2003.

FREIRE, L. G. et al. Micro-computed tomographic evaluation of hard tissue debris removal after different irrigation methods and its influence on the filling of curved canals. **Journal of Endodontics** 41, 1660–6, 2015.

FRANSSON, H.; LARSSON, K. M.; WOLF, E. Efficacy of lasers as an adjunct to chemo-mechanical disinfection of infected root canals: a systematic review. **International Endodontic Journal**, USA, v. 6, n.4, p. 296-307, 2013.

GARCEZ, A. et al. Antimicrobial effects of photodynamic therapy on patients with necrotic pulps and periapical lesion. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 34, n. 2, p. 138-142, 2008.

GARCEZ, A. S. et al. Photodynamic therapy associated with conventional endodontic treatment in patients with antibiotic-resistant microflora: a preliminary report. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 36, n. 9, p. 1463-1466, 2010.

GARG, A. D.; AGOSTINIS, P. ER stress, autophagy and immunogenic cell death in photodynamic therapy-induced anti-cancer immune responses. **Photochemical and Photobiological Sciences**, USA, v. 13, p. 474-487, 2014.

GHABRAEI, S.; BOLHARI, B.; YAGHOOBNEJAD, F.; MERAJI, N. Effect of Intra-canal calcium hydroxide remnants on the push-out bond strength of two endodontic sealers. **Iranian Endodontic Journal**, USA, v. 1, n. 2, p. 168–172, 2017.

GHINZELLI, M. A. et al. Influence of ultrasonic activation on photodynamic therapy over root canal system infected with enterococcus faecalis—an *in vitro* study, **Photodiagnosis Photodynamic Therapy**, USA, v. 11, p. 472–478, 2014.

GREGORIO, C.; ESTEVEZ, R.; CISNEROS, R.; HEILBORN, C.; COBENCA, N. Effect of EDTA, sonic, and ultrasonic activation on the penetration of sodium hypochlorite into simulated lateral canals: an *in vitro* study. **J Endod**, USA, v. 35, n. 6, p. 891-5, 2009.

GUIMARÃES, L. D. S, et al. Effect of photobiomodulation on post-operative symptoms in teeth with asymptomatic apical periodontitis treated with foraminal enlargement: A randomized clinical trial. **International Endodontic Journal**. USA, v. 54, n. 10, out., p. 1708-1719, 2021.

GUIMARÃES, B. M. Influência da agitação de 4 cimentos com ultrassom na capacidade seladora, penetrabilidade dentinária e qualidade da obturação pela técnica da condensação lateral ativa. 2013. 98f. Dissertação (Mestrado em Odontologia)-Faculdade de Odontologia de Bauru. Universidade de São Paulo, 2013.

HAMBLIN, M. R.; HASAN, T. Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease? **Photochem Photobiol Sci**, USA, v. 3, p. 436-50, 2004.

HANNIGAN, A.; LYNCH, C. D. Statistical methodology in oral and dental research: pitfalls and recommendations. **Journal of Dentistry**, USA, v. 41, n. 5, p. 385-392, 2013.

HANCOCK, H. H.; SIGURDSSON, A.; TROPE, M.; MOISEWITSCH, J. Bacteria isolated after unsuccessful endodontic treatment in a north america population. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, and Oral Radiology**, USA, v. 91, p. 579-86, 2001.

HARRISON, A. J.; CHIVATXARANUKUL, P.; PARASHOS, P.; MESSER, H. H. The effect of ultrasonically activated irrigation on reduction of *Enterococcus faecalis* in experimentally infected root canals. **International Endodontic Journal**, USA, v. 43, p. 968-77, 2010.

HOEDKE, D. et al. Effect of photodynamic therapy in combination with various irrigation protocols on an endodontic multispecies biofilm ex vivo. **International Endodontic Journal**, USA, v. 51, n. 1, p. 23-34, 2017.

HOLLENBECK, B. L.; RICE, L. B. Intrinsic and acquired resistance mechanisms in enterococcus. **Virulence**, USA, v. 3, n. 5, p. 421-433, 2012.

HUANG, T. Y. K.; GULABIVALA, Y. L. Ng A bio-molecular film ex-vivo model to evaluate the influence of canal dimensions and irrigation variables on the efficacy of irrigation, **Int Endod J**. USA, v. 41, n. 60–71, 2008.

IANDOLO, A.; DAGNA, A.; POGGIO, C.; CAPAR, I.; AMATO, A.; ABDELLATIF, D. Evaluation of the actual chlorine concentration and the required time for pulp dissolution using different sodium hypochlorite irrigating solutions. **J Conserv Dent**. USA, v. 22, n. 2, mar-abr, p. 108-113, 2019.

KAKEHASHI, S.; STALEY, H.R.; FITZGERALD, R.J. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, and Oral Radiology**, USA, v. 20, p. 340-349, 1965.

KAYAOGLU, G.; ORSTAVIK, D. Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease. **Critical Reviews in Oral Biology and Medicine**, v.15, n. 5, p. 308-20, 2004.

KOMINE, C.; TSUJIMOTO, Y. A. Small amount of singlet oxygen generated via excited methylene blue by photodynamic therapy induces the sterilization of *Enterococcus faecalis*. **Journal of Endodontics**, USA, v. 39, n. 3, p. 411-414, 2013.

KONOPKA, K.; GOSLINSKI, T. Photodynamic therapy in dentistry. **Journal of Dental Research**, USA, v. 86, n. 8, p. 694-707, 2007.

KUREK, A.; GRUDNIAK, A. M.; KRACZKIEWICZ-DOWJAT, A.; WOLSKA, K. I. New antibacterial therapeutics and strategies. **Pol J Microbiol**, USA, v. 60, n. 1, p. 3-12, 2001.

LACERDA, M. F.; ALFENAS, C. F.; CAMPOS, C. N. Terapia fotodinâmica associada ao tratamento endodôntico - revisão de literatura. **Revista da Faculdade de Odontologia**, São Paulo, v. 19, n. 1, p. 115-120, 2014.

- LANA, M. A. et al. Microorganisms isolates from root canals presenting necrotic Pulp and heir drugs susceptibility *in vitro*. **Oral Microbiology and Immunology**, USA, v.16, n. 2, p. 100-5, 2001.
- LARSON, R.; FARBER, B. **Estatística aplicada**. 6. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2016.
- LEONI, G. B. et al. Ex vivo evaluation of four final irrigation protocols on the removal of hard-tissue debris from the mesial root canal system of mandibular first molars. **International Endodontic Journal**, USA, v. 50, n. 1, p. 398–406, 2017.
- LOPES, H. P.; SIQUEIRA JR, J. F. **Endodontia: biologia e técnica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.
- LOVE, R. M. Enterococcus faecalis: a mechanism for its role in endodontic failure. **International Endodontic Journal**, USA, v. 34, n.1, p. 399-405, 2001.
- LUKSIENE, Z. Photodynamic therapy: mechanism of action and ways to improve the efficiency of treatment. **Medicina Kaunas**. USA, v. 39, p. 1137-50, 2003.
- MACHADO, M. E. et al. Avaliação da reparação pós- tratamento endodôntico de dentes de cães em sessão única ou empregando curativos de demora. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas**, São Paulo, v. 63, n. 2, p. 98-102, 2009.
- MANG, T. S; TAYAL, D. P; BAIER, R. Photodynamic therapy as an alternative treatment for disinfection of bacteria in oral biofilms. **Lasers Surg Med**, USA, v. 44, p. 588-96, 2012.
- MAISCH, T. Anti-microbial photodynamic therapy: useful in the future? **Lasers Med Sci**. USA, v. 22, n. 2, p. 83-91, 2007.
- MILLER, W. D. Na introduction to the study of the bacterio-pathology of the dental pulp. **Dent Cosmos**, USA, p. 36, p. 505-28, 1894.
- MIRANDA, R. G.; SANTOS, E. B.; SOUTO, R. M.; GUSMAN, H.; COLOMBO, A. P. Antimicrobial efficacy of the endovac system plus PDT against intracanal *candida albicans*: an *ex vivo* study int. **Brazilian Oral Research**, USA, v. 29, n.1, 2015.
- MOZO, S.; LLENA, C.; FORNER, L. Review of ultrasonic irrigation in endodontics: increasing action of irrigating solutions. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal**, USA, v. 17, n.3, p. 512-516, 2012.
- NIAVARZI, S. et al. Effect of ultrasonic activation on the efficacy of antimicrobial photodynamic therapy: evaluation of penetration depth of photosensitizer and elimination of enterococcus faecalis biofilms. **Photodiagnosis Photodynamic Therapy**, USA, v. 27, p. 362-366, 2019.

NÚÑEZ C, et al. Effective photodynamic therapy with ir(III) for virulent clinical isolates of extended-spectrum beta-lactamase klebsiella pneumoniae. **Pharmaceutics**. USA, v. 13, n. 5, p. 603, 2021.

NUSSTEIN, J. M. **Sonic and ultrasonic irrigation**. In: BETTINA, B. Endodontic irrigation: chemical disinfection of the root canal system. Switzerland: Springer, 2015.

ODA, D. F. et al. Antimicrobial action of photodynamic therapy in root canals using LED curing light, curcumin and carbopol gel. **International Endodontic Journal**. USA, v. 52, n. 7, p. 1010-1019, 2019.

PAGONIS, T. C. et al. Nanoparticle-based endodontic antimicrobial photodynamic therapy. **Journal of Endodontics**, USA, v. 36, n. 2, p. 322–328, 2010.

PAIVA, S. S. et al. Molecular microbiological evaluation of passive ultrasonic activation as a supplementary disinfecting step: a clinical study. **Journal of Endodontics**, USA, 2013.

PETERS, O. A.; SCHONENBERGER, K.; LAIB, A. Effects of four ni-ti preparation techniques on root canal geometry assessed by micro computed tomography. **International Endodontic Journal**, Oxford, v. 34, n. 1, p. 221-230, 2001.

PINHEIRO, E. T. Microorganisms from canals of root – filled teeth with periapical lesions. **International Endodontic Journal**, Oxford, v. 36, n. 1, p. 1-11, 2003.

PIRANI C, et al. Recovery of enterococcus faecalis in root canal lumen of patients with primary and secondary endodontic lesions. **New Microbiologica**, USA, v. 31, n. 2, p. 235-40, 2008.

POURHAJIBAGHER, M. et al A. Evaluation of photodynamic therapy effect along with colistin on pandrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. **Laser Ther**. USA, v. 30, n. 2, p. 97-103, 2017.

RETSAS, A.; DIJKSTRA, R. J. B.; VAN DER SLUIS, L.; BOUTSIOUKIS, C. The effect of the ultrasonic irrigant activation protocol on the removal of a dual-species biofilm from artificial lateral canals. **Journal of Endodontics**. USA, v. 48, n. 6, p. 775-780, 2022.

RICUCCI, D.; SIQUEIRA JR, J. F. Fate of the tissue in lateral canal and apical ramifications in response to pathologic conditions and treatment procedures. **Journal of Endodontics**, USA, v. 36, n. 1, 2010.

SHEN, Y. et al. Methods and models to study irrigation, **Endodontic Topics**. USA, v. 27, p. 33-4, 2012.

SHUPING, G. B.; ORSTAVIK, D.; SIGURDSSON, A.; TROPE, M. Reduction of intracanal bacteria using nickel-titanium rotary instrumentation and various medications. **Journal of Endodontics**, USA, v. 26, n. 12, 2000.

- SIDDIQUI, S. H.; AWAN, K. H.; JAVED, F. Bactericidal efficacy of photodynamic therapy against *Enterococcus faecalis* in infected root canals: a systematic literature review. **Photodiagnosis Photodynamic Therapy**, Amsterdam, v. 10, n. 1, p. 632-643, 2013.
- STOJICIC, S. et al. Ex vivo killing of *Enterococcus faecalis* and mixed plaque bacteria in planktonic and biofilm culture by modified photoactivated disinfection. **International Endodontic Journal**, Oxford, v. 46, n. 1, p. 649-659, 2013.
- SIQUEIRA, J. F.; RÔÇAS, I. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.34, n.11, p. 1291-1301, 2008.
- SILVA, F. C. et al. Análise da efetividade da instrumentação associada à terapia fotodinâmica antimicrobiana e a medicação intracanal na eliminação de biofilmes de *enterococcus faecalis*. **Brazilian Dental Science**, São José dos Campos, v. 13, n. 5, p. 31-38, 2010.
- RÔÇAS, I. N.; SIQUEIRA JR, J. F.; SANTOS, K. R. N. Association of *enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. **Journal of Endodontics**, USA. v. 30, n. 5, 2004.
- SCHNEIDER, M.; KIRFEL, G.; BERTHOLD, M.; FRENTZEN, M.; KRAUSE, F.; BRAUN, A. The impact of antimicrobial photodynamic therapy in an artificial biofilm model. **Lasers Med Sci**, USA, v. 27, p.615-20, 2012.
- SEET, A. N.; ZILM, P.S.; GULLY, N. J.; AND CATHRO, P. R. Qualitative comparison of sonic or laser energisation of 4% sodium hypochlorite on an *Enterococcus faecalis* biofilm grown *in vitro*. **Australia Endodontic Journal**, USA, v. 38, n. 3, 2012.
- SOARES, J. A et al. Monitoring the effectiveness of photodynamic therapy with periodic renewal of the photosensitizer on intracanal *Enterococcus faecalis* biofilms. **Photodiagnosis Photodynamic Therapy**, Amsterdam, v. 13, n. 10, p. 123-127, 2016.
- SOUZA, L. C et al. Photodynamic therapy with two different photosensitizers as a supplement to instrumentation/ irrigation procedures in promoting intracanal reduction of *Enterococcus Faecalis*. **Journal of Endodontics**, USA, v. 36, n. 2, 2010.
- SOUKOS, N. S. et al. Photodynamic therapy for endodontic disinfection. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 32, n. 10, p. 979-984, 2006.
- SUNDQVIST G. Bacteriological studies of necrotic dental pulps. 1976. 123f. Dissertação. (Doutorado em Odontologia)-Umea, Sweden: University of Umea, 1976.
- SUNDQVIST, G. et al. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, and Oral Radiology**, USA, v. 85, p. 86-93, 1998.

TENNERT, C. et al Ultrasonic activation and chemical modification of photosensitizers enhances the effects of photodynamic therapy against *Enterococcus faecalis* root-canal isolates. **PhotodiagnosisPhotodynTher.** USA, n. 12, v. 2, p. 244-51, 2015.

THOMAS, A. R.; VELMURUGAN, N.; SMITA, S.; JOTHILATHA, S. Comparative evaluation of canal isthmus debridement efficacy of modified endovac technique with different irrigation systems. **Journal of Endodontics**, USA, v.40, n. 10, 2014.

TRONSTAD, L.; BARNETT, F.; CERVONE, F. Periapical bacterial plaque in teeth refractory to endodontic treatment. **Endodontics and Dental Traumatology**, v. 6: 73-7, 1990.

TÜFENKÇI, P.; YILMAZ, K. The effects of different endodontic access cavity design and using XP-endo finisher on the reduction of *enterococcus faecalis* in the root canal system. **J Endod.** USA, v. 6, n. 3, p. 419-424, 2020.

URBAN, K.; DONNERMEYER, D.; SCHÄFER, E.; BÜRKLEIN, S. Canal clean lines sousing different irrigation activation systems: a SEM evaluation. **Clinical Oral Investigations**, USA, v. 21, p. 2681–2687, 2017.

VAZIRI, S. et al. Comparison of the bactericidal efficacy of photodynamic therapy, 2.5% sodium hypochlorite, and 2% chlorhexidine against *enterococcusfaecalis* in root canals; an *in vitro* study. **Dental Research Journal**, Isfahan, v. 9, n. 5, p. 613-618, 2012.

VELARDI, J. P. et al. Comparison of gentlewave system and passive ultrasonic irrigationn with minimally invasive and conventional instrumentation against LPS in infected root canals. **Sci Rep.**, USA, v. 12, n. 1, p. 4894, 2022.

VERA, J, et al. One- versus two-visit endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: a histobacteriologic study. **Journal of Endodontics**, v.38, n.8, 2012.

XHEVDET A, et al. The disinfecting efficacy of root canals with laser photodynamic therapy. **J Lasers Med Sci.** Winter, v. 5, n. 1, p. 19-26, 2014.

ZHANG C, DU J, PENG Z. Correlation between *enterococcusfaecalis* and persistent intraradicular infection comparedwith primary intraradicular infection: a systematic review. **Journal of Endodontics.** USA, v, 41, n. 8, p. 1207-13, 2015.

WAINWRIGHT, M. Local treatment of viral disease using photodynamic therapy. **International Journal of Antimicrobial Agents.** USA, v. 21, n. 6, p. 510-20, 2003

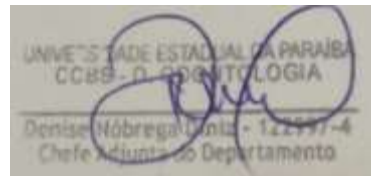
WALTIMO, T. M et al. Clinical aspects related to endodontic yeast infections. **EndodonticTopics**, Oxford, v. 9, n. 1, p. 66-78, 2004.

WISEMAN, A, et al. Efficacy of sonic and ultrasonic activation for removal of calcium hydroxide from mesial canals of mandibular molars: a microtomographic study. **Journal of Endodontics**, USA, v. 37, n. 2, p. 35-38, 2011.

**ANEXO A - TERMO DE AUTORIZAÇÃO INSTITUCIONAL****TERMO DE AUTORIZAÇÃO INSTITUCIONAL**

Estamos cientes da intenção da realização do projeto intitulado **“EFEITO DA TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA FRENTE A DIFERENTES PROTOCOLOS DE AGITAÇÃO DO FOTOSSENSIBILIZADOR”** desenvolvida pela aluna Gabriella de Vasconcelos Neves do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba e orientado pela Profa. Dra. Daliana Queiroga de Castro Gomes.

**Campina Grande, 15 de abril de 2022.**



Assinatura e carimbo do responsável institucional



**ANEXO B - PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** EFICÁCIA DA TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA FRENTE A DIFERENTES PROTOCOLOS DE AGITAÇÃO DO FOTOSSENSIBILIZADOR

**Pesquisador:** Daliana Queiroga de Castro Gomes

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 45208420.8.0000.5187

**Instituição Proponente:** Universidade Estadual da Paraíba - UEPB

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 4.671.543

**Apresentação do Projeto:**

Trata-se de um estudo laboratorial, no qual se avaliará a eficácia da terapia fotodinâmica antimicrobiana frente a diferentes protocolos de agitação do fotossensibilizador. Para isso propõe-se fazer uso de 90 pré- molares inferiores provenientes de banco de dentes da UEPB.

**Objetivo da Pesquisa:****Objetivo Geral**

Avaliar a eficácia da terapia fotodinâmica antimicrobiana frente a diferentes protocolos de agitação do fotossensibilizador.

**Objetivos Específicos**

Analisar a penetrabilidade dentinária do fotossensibilizador frente a diferentes protocolos de agitação por meio da análise com estereomicroscópio;

Comparar o efeito antimicrobiano da TFDa na luz de canal principal em contraste com os túbulos dentinários após agitação do fotossensibilizador

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

O projeto apresenta risco mínimo, de manipulação de material infectado, uma vez que será utilizado dentes devidamente preparados (esterilizados) em Banco de dentes. Os benefícios esperados superam possíveis riscos, uma vez que os estudos na área são ainda incipientes e podem ampliar os horizontes para novas pesquisas para a desinfecção de canais radiculares em tratamento endodôntico.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

A proposta do projeto é relevante, uma vez que é um estudo laboratorial que possibilita a testagem de novas possibilidades de tratamento. Seus resultados podem induzir a futuras pesquisas clínicas e uma possível melhoria do tratamento endodôntico.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Folha de rosto: anexada; Autorização Institucional: anexada;

**Declaração de concordância com projeto de pesquisa:** anexada; Termo de Compromisso do Pesquisador Responsável: anexado. Termo de autorização do Biobanco (banco de dentes): anexado

**Recomendações:**

O projeto é relevante, apresenta importância acadêmica. Uma vez que os dentes serão provenientes de biobanco, e não diretamente do paciente, não se faz necessário TCLE.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

O projeto apresenta todos os termos de apresentação obrigatórios. O projeto está aprovado.