



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
Campus de Araçatuba

**CAROLINE ALPONTI SACOMAN**

**Eficácia antimicrobiana da ablação a laser com  
indocianina verde comparada à terapia fotodinâmica  
com azul de metileno em canais radiculares  
contaminados com *Escherichia coli***

**Araçatuba - SP  
2025**

**CAROLINE ALPONTI SACOMAN**

**Eficácia antimicrobiana da ablação a laser com indocianina verde comparada à terapia fotodinâmica com azul de metileno em canais radiculares contaminados com *Escherichia coli***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia de Araçatuba, para obtenção do título de Cirurgiã-Dentista.

Orientador: Prof. Dr. Rogério de Castilho Jacinto

**Araçatuba - SP  
2025**

Dedico este trabalho à  
minha amada avó, Nair Stevanato Alponi,  
que esteve presente nos momentos mais  
marcantes da minha graduação e,  
segundo os planos de Deus, não pôde  
compartilhar desta conquista na vida  
terrena.

## **AGRADECIMENTOS**

Este trabalho foi realizado com o apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), através do processo de número 2023/02279-4.

Agradeço a Deus, pela infinita misericórdia e sabedoria com que tem guiado minha trajetória.

A todos que contribuíram de alguma forma para a concretização deste trabalho, em especial ao meu orientador, Professor Dr. Rogério de Castilho Jacinto, e a todos do Departamento de Odontologia Restauradora.

À minha família, que tem sido meu alicerce durante toda a minha vida. Sobretudo meus pais, Carlos Eduardo Sacoman e Fátima Aparecida Alponi Sacoman; meu irmão, Leonardo Alponi Sacoman; minhas avós, Aparecida Grin Sacoman e Nair Stevanato Alponi (in memorian); meus avôs, Antônio Avelino Sacoman (in memorian) e Antônio José Alponi (in memorian); e meu namorado, Pedro Henrique Faneco Garroti.

Aos pacientes que tive a oportunidade de atender durante a graduação, que me permitiram não apenas aprimorar a técnica, mas também aprender o real significado de cuidar.

## RESUMO

SACOMAN, C. A. **Eficácia antimicrobiana da ablação a laser com indocianina verde comparada à terapia fotodinâmica com azul de metileno em canais radiculares contaminados com *Escherichia coli***. 2025. Trabalho de Conclusão de Curso - Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araçatuba, 2025.

A terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) é usada como adjuvante ao tratamento endodôntico para potencializar a redução microbiana. Este estudo *in vitro* tem como objetivo avaliar a eficiência da ablação a laser com indocianina verde (ICG) em comparação com aPDT utilizando azul de metileno (MB) na redução de biofilmes de *Escherichia coli* (*E. coli*) em canais radiculares. A amostra foi composta por 80 dentes bovinos, divididos em quatro grupos, de acordo com o protocolo de descontaminação: MB+RL (n=20) (Azul de Metileno + Laser Vermelho); ICG+DL (n=20) 2,5/300/100 (Indocianina Verde + laser diodo infravermelho: 2,5 W potência, intervalo de 300 ms e duração de 100 ms); controle negativo (n=20) e controle positivo (n=20). A coleta do conteúdo do canal radicular foi realizada em dois momentos, 10 dias após a contaminação bacteriana (S1) e imediatamente após os protocolos de tratamento (S2). Foram utilizadas três pontas de papel absorvente estéril #60, mantidas nos canais por 1 minuto, após preenchimento dos condutos com 1 mL de solução de Ringer estéril. As pontas foram transferidas para Eppendorf contendo 1 mL de solução de Ringer estéril. Cada amostra foi homogeneizada e diluída a  $10^{-3}$  antes e  $10^{-1}$  após os diferentes protocolos de tratamento. As diluições foram cultivadas em placas de ágar BHI e incubadas por 24h à 37°C. O crescimento microbiano foi determinado pela contagem do número de unidades formadoras de colônia (UFC/mL) de *E. coli*. Foram utilizados os testes ANOVA two-way, teste de Student-Newman-Keuls (5%) e teste de Tukey (5%) para análise estatística. Todos os grupos apresentaram diferenças estatísticas comparando antes e após os protocolos de descontaminação ( $p < 0,05$ ), exceto o controle negativo; o controle positivo apresentou a maior redução. Não houve diferenças estatisticamente significativas entre os fotossensibilizadores ( $p > 0,05$ ). Conclui-se que a ablação a laser com ICG e a aPDT com MB não foram tão eficazes na redução de bactérias *E. coli* quanto o controle positivo.

**Palavras-chave:** tratamento do canal radicular; fotoquimioterapia; Verde de indocianina; Azul de Metileno; *Escherichia coli*.

## ABSTRACT

SACOMAN, C. A. **Antimicrobial efficacy of indocyanine green laser ablation compared to methylene blue photodynamic therapy in root canals contaminated with *Escherichia coli***. 2025. Trabalho de Conclusão de Curso - Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araçatuba, 2025.

Antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) is used as an adjunct to endodontic treatment to enhance microbial reduction. This in vitro study aims to evaluate the efficiency of laser ablation with Indocyanine Green (ICG) compared to aPDT using Methylene Blue (MB) in reducing *Escherichia coli* (*E. coli*) biofilms in root canals. The sample consisted of 80 bovine teeth, divided into four groups based on the decontamination protocol: MB+RL (n=20) (Methylene Blue + Red Laser); ICG+DL (n=20) 2.5/300/100 (Indocyanine Green + Diode Laser: 2.5 W power, 300 ms interval, and 100 ms duration); negative control (n=20); and positive control (n=20). Root canal content was collected at two time points: 10 days after bacterial contamination (S1) and immediately after the different treatment protocols (S2). Three sterile #60 paper points were used, retained in the canals for 1 minute after the root canals were filled with 1 mL of sterile saline solution. The paper points were then transferred to Eppendorf tubes containing 1 mL of sterile Ringer's solution. Each sample was homogenized and diluted at  $10^{-3}$  before and  $10^{-1}$  after the different treatment protocols. The dilutions were cultured on BHI agar plates and incubated for 24 hours at 37°C. Microbial growth was determined by counting the number of colony-forming units (CFU/mL) of *E. coli*. Two-way ANOVA, the Student-Newman-Keuls test (5%), and the Tukey test (5%) were used for statistical analysis. All groups, except the negative control, showed statistically significant differences when comparing before and after the decontamination protocols ( $p < 0.05$ ); the positive control showed the greatest reduction. There were no statistically significant differences between the photosensitizers ( $p > 0.05$ ). It is concluded that laser ablation with ICG and aPDT with MB were not as effective in reducing *E. coli* bacteria as the positive control.

**Keywords:** root canal treatment; photochemotherapy; Indocyanine green; Methylene Blue; *Escherichia coli*.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Contagem de UFC de <i>E. coli</i> (log10) antes e depois dos procedimentos de descontaminação e percentual de redução de UFC de <i>E. coli</i> .....	20
--	----

## LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

#	Número
%	Porcentagem
<	Menor
°C	Graus celsius
$\alpha$	Alpha
$\beta$	Beta
$\lambda$	Lambda
$\mu\text{m}$	Micrômetro
ANOVA	Análise de variância
aPDT	Terapia fotodinâmica antimicrobiana
BHI	Infusão cérebro-coração
DL	Laser diodo infravermelho
DP	Desvio padrão
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
ERO	Espécies reativas de oxigênio
FS	Fotossensibilizador exógeno
g	Gramma
h	Hora
ICG	Indocianina verde
J/cm <sup>2</sup>	Jaule por centímetro quadrado
LED	Diodo emissor de luz
log	Logaritmo
LPS	Lipopolissacarídeo
MB	Azul de metileno
min	Minuto
mL	Mililitro
mm	Milímetro
MO	Microrganismos
ms	Milissegundo
n	Número

NaOCl	Hipoclorito de sódio
NC	Controle negativo
nm	Nanômetro
p	p-valor
PBM	Preparo biomecânico
PC	Controle positivo
RL	Laser vermelho
S1	Primeira coleta
S2	Segunda coleta
SCR	Sistema de canais radiculares
seg	Segundo
TFD	Terapia fotodinâmica
UFC/mL	Unidades formadoras de colônia por mililitro
W	Watt

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. OBJETIVO.....	15
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	16
3.1. CÁLCULO AMOSTRAL.....	16
3.2. PREPARO DOS ESPÉCIMES.....	16
3.3. CONTAMINAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	17
3.4. DESENHO EXPERIMENTAL.....	17
3.5. COLETA DE AMOSTRAS E ANÁLISE MICROBIOLÓGICA.....	18
3.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	18
4. RESULTADOS.....	20
5. DISCUSSÃO.....	21
6. CONCLUSÃO.....	23
REFERÊNCIAS.....	24

## 1 INTRODUÇÃO

O tratamento endodôntico tem como finalidade principal a descontaminação efetiva do sistema de canais radiculares (SCR) em dentes acometidos por necrose pulpar (Machado et al., 2019). Para a obtenção desse objetivo, empregam-se estratégias terapêuticas integradas, como o preparo biomecânico do canal radicular (PBM) (Shuping et al., 2000), a irrigação com soluções à base de hipoclorito de sódio e a utilização de medicações intracanaís contendo hidróxido de cálcio (Siqueira Jr; Guimarães-Pinto; Rôças, 2007), as quais visam a redução significativa da carga microbiana e a neutralização de seus metabólitos citotóxicos. Entretanto, evidências científicas demonstram que a aplicação do PBM, quando associada unicamente às soluções irrigadoras e à medicação intracanal, não é capaz de promover a completa erradicação dos microrganismos (MO) (Machado et al., 2019), sobretudo em situações de infecções persistentes (Siqueira Jr et al., 2018; Garcez et al., 2010). Portanto, novas estratégias terapêuticas vêm sendo continuamente investigadas com o propósito de erradicar de forma mais eficaz as infecções endodônticas.

Com o avanço das tecnologias baseadas em fontes de Laser e LED, novos recursos foram incorporados a diferentes modalidades terapêuticas na área da saúde, destacando-se a terapia fotodinâmica (TFD) (Plotino; Grande; Mercade, 2019). Essa técnica baseia-se na utilização de um fotossensibilizador exógeno (FS) que, quando ativado por uma luz de comprimento de onda específico (Laser ou LED), promove destruição seletiva de células-alvo (Cushnie; O'Driscoll; Lamb, 2016). O mecanismo de ação da TFD ocorre a partir da absorção de fótons pelo FS, levando este do estado singleto básico para um estado mais estimulado. Na presença de oxigênio, o FS transfere energia para o substrato, resultando na formação de espécies reativas de oxigênio (ERO), como o oxigênio singleto, caracterizadas por sua alta reatividade e curta duração. Tais espécies promovem reações oxidativas sobre lipídios, aminoácidos e proteínas, desencadeando danos celulares localizados, que culminam em necrose ou apoptose das células-alvo.

A TFD pode ser aplicada na endodontia em diferentes momentos do protocolo clínico, dependendo do número de sessões do tratamento. Quando o tratamento endodôntico é realizado em duas sessões, a TFD é empregada após a

realização do PBM e antes da aplicação da medicação intracanal. Já nos casos conduzidos em sessão única, a TFD é realizada após o PBM e anteriormente à obturação dos canais radiculares. Em ambas as abordagens, a utilização da TFD tem como objetivo potencializar a descontaminação do SCR, contribuindo para uma redução adicional da carga microbiana e, conseqüentemente, para o sucesso do tratamento endodôntico.

Estudos apontam que a TFD promove um aumento significativo na desinfecção do sistema de canais radiculares, uma vez que, diferentemente dos antibióticos, que apresentam mecanismo de ação específico, o oxigênio singlete gerado durante a reação fotodinâmica atua de forma inespecífica, evitando o desenvolvimento de resistência microbiana (Shrestha; Kishen, 2012). Entre os fotossensibilizadores (FS) disponíveis comercialmente, destacam-se o azul de metileno (cloreto de metiltionínio) e a indocianina verde (ICG). O azul de metileno (MB) apresenta propriedades fotossensibilizadoras relevantes, possuindo uma banda de absorção entre 500 e 700 nm, o que o torna ativável por luz vermelha (Tardivo et al., 2005). Além desses, outros fotossensibilizadores alternativos de menor custo têm sido investigados, como a curcumina, que quando associada à luz LED azul, demonstrou eficácia comparável à do MB ativado por laser de diodo na eliminação de *Enterococcus faecalis* em canais radiculares (Oda et al., 2019).

Semelhante à terapia fotodinâmica (TFD), a ablação a laser é um procedimento que pode ser realizado em duas etapas. A primeira envolve a aplicação e retenção de um composto fotossensibilizador nos tecidos-alvo, enquanto a segunda consiste em sua ativação pela exposição à luz em um comprimento de onda apropriado. Após a irradiação, o fotossensibilizador sofre uma transição eletrônica do "estado fundamental" singlete (baixa energia) para o "estado tripleto" (alta energia). A eficácia antimicrobiana da ablação a laser depende da seleção de um fotossensibilizador biocompatível, estável e com elevada capacidade de absorção no comprimento de onda empregado. Nesse contexto, a indocianina verde tem se destacado como um agente fotossensibilizador amplamente utilizado.

A ablação a laser fundamenta-se na utilização de um laser de alta potência que apresenta ação fototérmica, ou seja, promove o aumento da temperatura local resultando em ação antimicrobiana (Eduardo et. al, 2015). No entanto, a técnica também permite a associação com FS, capaz de potencializar a ação antimicrobiana do laser (Aytac Bal et. al, 2019).

A indocianina verde (ICG) apresenta propriedades antimicrobianas, especialmente quando ativada por laser de diodo, cujo comprimento de onda (810 nm) coincide com o seu pico de absorção. O espectro de absorção óptica da ICG possibilita uma maior interação com a água presente nos tecidos dentários, quando comparada aos lasers de baixa potência. Evidências na literatura demonstram uma atividade antimicrobiana expressiva da ICG contra biofilmes de *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans* e *Porphyromonas gingivalis* (Higuchi et al., 2021; Pourhajibagher et al., 2017). Entretanto, estudos clínicos que avaliem comparativamente a eficácia antimicrobiana da terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) associada à indocianina verde contra bactérias Gram-negativas permanecem escassos na literatura endodôntica.

## 1 OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi avaliar os diferentes protocolos de terapia fotodinâmica com os fotossensibilizadores azul de metileno e indocianina verde, comparados ao hipoclorito de sódio a 2,5% (controle positivo) e soro fisiológico (controle negativo) na redução de biofilme da espécie bacteriana Gram-negativa *Escherichia coli* (*E. coli*) em canais radiculares. As hipóteses nulas testadas foram: 1) não há diferença entre os protocolos e 2) a terapia a laser não é efetiva contra bactérias *E. coli*.

### **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1 Cálculo Amostral**

O cálculo do tamanho da amostra foi baseado em dados de uma investigação anterior (Marinho et al., 2014). Foi realizado por meio do software ([www.sealedenvelope.com/power](http://www.sealedenvelope.com/power)), com erro do tipo  $\alpha = 0,05$  e potência  $\beta = 0,80$ . O cálculo indicou que 17 dentes seriam necessários para cada grupo. Um total de 20 dentes foram incluídos por grupo considerando a possibilidade de perda dentária ao longo do estudo.

#### **3.2 Preparo dos espécimes**

Este projeto de pesquisa foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP (191-2023). Foram utilizados 80 dentes incisivos bovinos, recém-extraídos, doados para fins de pesquisa científica (Frigorífico JBS S.A., Andradina, SP, Brasil), com idade entre 29 e 35 meses. Dentes com trincas, fraturas e raízes curvas foram descartados e substituídos. A coroa de cada dente foi removida e a raiz seccionada para um padrão de comprimento de 19 mm utilizando serra diamantada em baixa velocidade. O comprimento de trabalho foi estabelecido 1,0 mm aquém do comprimento real do dente, e os espécimes foram tratados endodonticamente por instrumentação mecânica. As raízes foram limpas e modeladas até atingir a lima K nº60 (Maillefer Instruments, Tulsa, OK, EUA) sob irrigação de 5 mL com hipoclorito de sódio a 2,5% a cada troca de lima. Foi feita a remoção de smear layer, utilizando 10 mL de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) a 17% (Biodinâmica Química e Farmacêutica LTDA, Ibiporã, PR, Brasil) que foram inseridos nos canais radiculares por 3 min e posteriormente removidos na irrigação com 10 mL de hipoclorito de sódio a 2,5% por 15 seg, e inativados por 2 mL de tiosulfato de sódio a 5%, em seguida os canais foram aspirados e secos com pontas de papel absorvente estéreis (Dentsply Sirona, York, PA, EUA) e jatos de ar. Os dentes foram alocados individualmente em Eppendorfs de 2 mL e foram esterilizados a 121°C em autoclave por 30 min.

Para evitar o escape do FS, os forames apicais foram selados com ácido

fosfórico a 35% (3 M ESPE, St Paul, MN, EUA), adesivo dental (Adper Single Bond 2; 3 M ESPE) e resina composta (Filtek Z350 XT; 3 M ESPE).

### 3.3 Contaminação das amostras

*Escherichia coli* (ATCC 25922) foi utilizada para contaminar as amostras. As bactérias foram reativadas em infusão cérebro-coração (BHI) ágar e mantidas a 37°C por 24 horas, uma suspensão da cepa bacteriana foi transferida para 5,0 mL de caldo BHI. A suspensão celular foi ajustada no espectrofotômetro para igualar a turbidez de  $1,5 \times 10^{-8}$  unidades formadoras de colônia (UFC/mL) (equivalente a 0,5 padrão McFarland). Os frascos contendo cada espécime foram abertos sob capela de fluxo laminar. Pipetas estéreis foram utilizadas para remover 2,0 mL de BHI estéril e substituí-lo por 2,0 mL do inóculo bacteriano centrifugando em sequência 1.400g, 2.000g e 3.600g, 2 ciclos de 5 min para cada velocidade. Os frascos foram fechados e mantidos a 37°C por 10 dias, com a substituição de 1,0 mL de BHI contaminado por 1,0 mL de BHI recém-preparado a cada 1 dia, para evitar saturação média, durante esse período foi realizado a cada troca de meio, agitação em vortex por 1 min e centrifugação por 5 min a 3.600g a 25°C de forma alternada.

### 3.4 Desenho experimental

Oitenta amostras de raízes foram preparadas e infectadas como descrito acima. As amostras foram distribuídas aleatoriamente em 4 grupos experimentais de acordo com o protocolo de descontaminação:

Grupo MB+RL (n=20) (Azul de Metileno + Laser Vermelho) - os canais radiculares foram preenchidos com azul de metileno 0,01% OS ChimioLux (DMC Importação Exportação de Equipamentos LTDA, São Carlos – SP, Brasil) com tempo de pré-irradiação de 180 segundos, e ativado por luz laser vermelha  $\lambda$  660 nm - Laser DUO (MMOptics, São Carlos, SP, Brasil), por 60 segundos, utilizando uma fibra óptica flexível de 300  $\mu$ m de diâmetro (MMOptics, São Carlos, SP, Brasil), com energia final de 72 J/cm<sup>2</sup>.

Grupo ICG+DL 2,5/300/100 (n=20) (Indocianina Verde + laser diodo infravermelho 2,5 W potência, intervalo de 300 ms e duração de 100ms); – os canais

radiculares foram preenchidos com 0,05% de indocianina verde PS (MP Biomedicals - Thermo Fisher Scientific), com tempo de pré-irradiação de 30s, e ativados por 30s com laser de diodo infravermelho  $\lambda$  810 nm (Donatello, CAO Group, West Jordan-UT), por 2 vezes sob potência de 2,5 W, intervalo de 300 ms e duração de 100 ms.

Grupo NC (Controle Negativo) n=20 - os canais radiculares foram irrigados com 2 mL de solução salina estéril e não receberam tratamento com laser.

Grupo PC (Controle Positivo) n=20 – os canais radiculares foram irrigados com 2 mL de hipoclorito de sódio 2,5% (NaOCl), inativado por 2 mL de tiosulfato de sódio 5%, e não receberam tratamento com laser.

### **3.5 Coleta de amostras e análise microbiológica**

A coleta do conteúdo do canal radicular foi realizada em dois momentos: 10 dias após a contaminação bacteriana (S1) e imediatamente após os diferentes protocolos de tratamento (S2). Cada canal foi preenchido com solução de Ringer (1 mL), e três pontas de papel absorvente estéril #60 (Dentsply Maillefer, Suíça) foram inseridas no canal por 1 minuto cada. Em seguida, as pontas de papel foram transferidas para tubos Eppendorf de 2 mL contendo 1 mL de solução de Ringer estéril (Sigma-Aldrich, St Luis, MI, EUA). Cada amostra foi homogeneizada e diluída a  $10^{-3}$  antes e  $10^{-1}$  após diferentes protocolos de tratamento. As diluições foram cultivadas em placas de ágar BHI e incubadas por 24h a 37°C. O crescimento microbiano foi determinado pela contagem do número de unidades formadoras de colônia (UFC/mL) de *E. coli*.

### **3.6 Análise estatística**

Os dados coletados (UFC/mL) foram analisados estatisticamente usando o software Sigma Plot 12.0 para Windows (Systat Software Inc, San Jose, CA). Uma comparação antes e depois da descontaminação foi realizada usando o teste ANOVA Two-way e teste de Student-Newman-Keuls,  $p < 0,05$ . Para análise microbiológica, após o período de incubação, foi realizada a contagem do número de unidades formadoras de colônias nas placas comparando as coletas das amostras S1 e S2. Para análise estatística, os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade,

foi aplicado o teste ANOVA na avaliação microbiológica, seguido pelo teste de Tukey, a um nível de significância de 5%.

## 4 RESULTADOS

A Tabela 1 mostra as contagens de UFC de *E. coli* (log10) antes e depois dos procedimentos de descontaminação, juntamente com a porcentagem de redução de UFC de *E. coli*. Todos os grupos apresentaram diferenças estatísticas comparando antes e após os protocolos de descontaminação ( $p < 0,05$ ), exceto o controle negativo (solução salina).

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os protocolos de aPDT com MB e a ablação a laser com ICG após a descontaminação ( $p > 0,05$ ). No entanto, nesta mesma etapa, o controle positivo apresentou a menor contagem de UFC de *E. coli* ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 1 - Contagens de UFC de *E. coli* (log10) antes e depois dos procedimentos de descontaminação e percentual de redução de UFC de *E. coli***

	Grupos			
	MB+RL	ICG+DL	NC	PC
<b>Antes da descontaminação</b>	6.13(0.76) <sup>A,a</sup>	6.27(0.66) <sup>A,a</sup>	6.40(0.43) <sup>A,a</sup>	5.82(0.83) <sup>A,a</sup>
<b>Depois da descontaminação</b>	4.38(0.49) <sup>B,a</sup>	3.86(0.23) <sup>B,a</sup>	6.03(0.65) <sup>A,b</sup>	2.76(2.86) <sup>B,c</sup>
<b>%UCF redução*</b>	28(6) <sup>a</sup>	38(9) <sup>a</sup>	6(7) <sup>b</sup>	55(46) <sup>c</sup>

Resultados expressos em média (DP). Letras maiúsculas indicam comparações pareadas entre antes e depois da descontaminação dentro de cada grupo (colunas) e letras minúsculas entre tratamentos antes ou depois da descontaminação (linhas) (2 vias, ANOVA e teste de Student-Newman-Keuls,  $p < 0,05$ ,  $n=20$ ). Para redução de % de UFC, letras sobrescritas indicam diferenças significativas entre os grupos (teste de Kruskal Wallis e Dunn,  $p < 0,05$ ,  $n=20$ /grupo). (MB+RL – Azul de Metileno ativado por Laser Vermelho; ICG+DL – Verde de Indocianina ativado por Laser Diodo Infravermelho; NC – Controle Negativo; PC – Controle Positivo).

Fonte: elaborado pelo autor (2025).

## 5 DISCUSSÃO

O objetivo principal da terapia endodôntica é reduzir bactérias e seus subprodutos, cruciais para a prevenção de doenças apicais (Machado et al., 2019). Bactérias patogênicas, particularmente bastonetes Gram-negativos, podem contribuir para a osteoclastogênese, invadir canais radiculares e induzir a apoptose de osteoblastos (Kim et al., 2010; Tang et al., 2011; Zhang et al., 2010). As bactérias Gram-negativas também estão associadas a infecções endodônticas sintomáticas, manifestando-se como dor, exsudato purulento e sensibilidade à percussão (Jacinto et al., 2003). Esses casos são frequentemente objeto de estudo para buscar novos métodos de controle de dor e infecção, como a terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) (Coelho et al., 2019). Este estudo avaliou a eficácia da ablação a laser com indocianina verde (ICG) na redução de células bacterianas em biofilmes de bactérias Gram-negativas em canais radiculares, em comparação com a terapia fotodinâmica antimicrobiana usando azul de metileno (MB). No entanto, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os fotossensibilizadores, o que confirmou a primeira hipótese nula.

A aPDT tem sido utilizada para melhorar a desinfecção do canal radicular, envolvendo um fotossensibilizador (FS) ativado por luz específica (laser de baixa potência), levando à destruição microbiana (Cushnie; O'Driscoll; Lamb, 2016). Fatores como a dose de energia irradiada, o volume da suspensão bacteriana e a aplicação do laser em ciclos, com renovação do FS a cada ciclo, são essenciais para garantir o sucesso da aPDT (Soares et al., 2018). Segundo De Souza et al. (2008), a irradiação com laser de diodo de alta potência após o PBM em condutos contaminados por *E. faecalis* promoveu maior descontaminação da dentina radicular profunda quando comparada apenas ao PBM, revelando sua eficácia como recurso adjuvante na descontaminação do SCR.

Neste estudo não houve diferença estatisticamente significativa entre a ablação a laser com ICG e aPDT com MB, semelhante a Yamamoto et al. (2021) que relataram não haver diferença entre esses grupos contra bactérias Gram-positivas (*E. faecalis*). Embora nenhuma diferença tenha sido observada entre os FS no que tange a redução bacteriana, o ICG demonstrou a maior redução. Rabello et al. (2017) mostrou que a aPDT não foi eficaz na redução de produtos de bactérias Gram-negativas. Já na análise realizada por De Miranda e Colombo (2018), concluiu-se que

a aPDT como tratamento adjuvante não apresentou diferença significativa na redução da carga microbiana quando comparada ao tratamento convencional (PBM + medicação com hidróxido de cálcio), ambos foram eficazes.

O hipoclorito de sódio (NaOCl) é um irrigante amplamente utilizado durante a preparação biomecânica devido às suas propriedades antimicrobianas e de dissolução de tecidos (Cai et al., 2023). Apesar disso, o emprego do NaOCl como solução irrigadora está associado a diversos riscos descritos na literatura científica, como edema facial severo, dano permanente às estruturas nervosas, necrose gengival e óssea, além de dor severa (Fiorillo et al., 2024). Neste estudo, todos os protocolos de laser foram menos eficazes na redução de *E. coli* em comparação ao NaOCl, em concordância com Yamamoto et al. (2021). No estudo de Aytac Bal et al. (2019), a aPDT utilizando laser de diodo e ICG teve eficácia semelhante ao NaOCl na redução de *S. mutans* no biofilme bacteriano. Além disso, convém mencionar que pesquisas mostram que a associação da aPDT ao hipoclorito de sódio potencializa a desinfecção do conduto contaminado por *E. faecalis* e *S. mutans*, reforçando a ação da aPDT como adjuvante no tratamento endodôntico (Sarda et al., 2019). Adicionalmente, Tennert et al. (2014) destaca particularmente a eficácia da aPDT nos retratamentos.

A estrutura Gram-negativa da *E. coli*, com uma camada externa de lipopolissacarídeo (LPS), pode explicar a eficácia reduzida da terapia a laser, uma vez que os LPS diminuem sua eficácia antimicrobiana (Shrestha; Kishen, 2012).

Considerando a natureza in vitro deste estudo, é necessária cautela na interpretação dos resultados devido às limitações inerentes. O uso de uma única cepa e a ausência de natureza polimicrobiana podem limitar a generalização dos resultados. Investigações futuras com modelos de biofilme multiespécies poderão fornecer informações pré-clínicas valiosas. Embora o presente estudo tenha avaliado a ação antimicrobiana da aPDT e da ablação a laser como protocolos independentes, seu uso clínico é recomendado como complemento ao preparo biomecânico, soluções de irrigação e medicação intracanal. Apesar das suas limitações, o estudo sugere que o ICG, com o seu mecanismo de ação distinto causando danos às paredes bacterianas, pode ser um adjuvante valioso na terapia do canal radicular.

## **6 CONCLUSÃO**

Quando testados individualmente contra bactérias Gram-negativas, a ablação a laser com ICG e a aPDT com MB não foram tão eficazes na redução bacteriana quanto o NaOCl.

## REFERÊNCIAS

- AYTAC BAL, F. et al. Effects of photodynamic therapy with indocyanine green on *Streptococcus mutans* biofilm. **Photodiagnosis Photodyn. Ther.**, v. 26, p. 229-234, jun. 2019. DOI: 10.1016/j.pdpdt.2019.04.005.
- CAI, C. et al. Advances in the Role of Sodium Hypochlorite Irrigant in Chemical Preparation of Root Canal Treatment. **Biomed. Res. Int.**, v. 2023, p. 8858283, 13 jan. 2023.
- COELHO, M. S.; VILAS-BOAS, L.; TAWIL, P. Z. The effects of photodynamic therapy on postoperative pain in teeth with necrotic pulps. **Photodiagnosis Photodyn. Ther.**, v. 27, p. 396-401, set. 2019. DOI: 10.1016/j.pdpdt.2019.07.002.
- CUSHNIE, T. P.; O'DRISCOLL, N. H.; LAMB, A. J. Morphological and ultrastructural changes in bacterial cells as an indicator of antibacterial mechanism of action. **Cell. Mol. Life Sci.**, v. 73, n. 23, p. 4471–4492, 2016.
- DE MIRANDA, R. G.; COLOMBO, A. P. V. Clinical and microbiological effectiveness of photodynamic therapy on primary endodontic infections: a 6-month randomized clinical trial. **Clin. Oral Investig.**, v. 22, n. 4, p. 1751-1761, mai. 2018. DOI: 10.1007/s00784-017-2270-4.
- DE SOUZA, E. B. et al. High-power diode laser in the disinfection in depth of the root canal dentin. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v. 106, n. 1, p. e68-e72, jul. 2008. DOI: 10.1016/j.tripleo.2008.02.032.
- EDUARDO, C. P. et. al. A terapia fotodinâmica como benefício complementar na clínica odontológica. **Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.**, v. 69, n. 3, p. 226-235, set. 2015.
- FIORILLO, L. et al. Sodium Hypochlorite Accidents in Endodontic Practice: Clinical Evidence and State of the Art. **Journal of Craniofacial Surgery**, v. 35, n. 7, p. e636-e645, 1 out. 2024.
- GARCEZ, A. S. et al. Photodynamic therapy associated with conventional endodontic treatment in patients with antibiotic-resistant microflora: a preliminary report. **J. Endod.**, v. 36, n. 9, p. 1463-1466, set. 2010. DOI: 10.1016/j.joen.2010.06.001.
- HIGUCHI, N. et al. Photodynamic Inactivation of an Endodontic Bacteria Using Diode Laser and Indocyanine Green-Loaded Nanosphere. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 22, n. 16, p. 8384, 4 ago. 2021. DOI: 10.3390/ijms22168384.
- JACINTO, R. C. et al. Microbiological analysis of infected root canals from symptomatic and asymptomatic teeth with periapical periodontitis and the antimicrobial susceptibility of some isolated anaerobic bacteria. **Oral Microbiol. Immunol.**, v. 18, n. 5, p. 285-292, 2003.
- KIM, M. et al. Td92, an outer membrane protein of *Treponema denticola*, induces osteoclastogenesis via prostaglandin E(2)- mediated RANKL/osteoprotegerin regulation. **J. Period. Res.**, v. 45, n. 6, p. 772-779, 2010.

MACHADO, C. A. D. et al. Comparison of two rotary systems in bacteria/lps removal from endodontic infections: randomized clinical trial. **Braz. Oral Res.**, v. 33, p. e039, 2019. DOI: 10.1590/1807-3107bor-2019.vol33.0039.

MARINHO, A. C. S. et al. Does the Reciproc file remove root canal bacteria and endotoxins as effectively as multifile rotary systems? **Int. Endod. J.**, v. 48, n. 6, p. 542-548, jul. 2014.

ODA, D. F. et al. Antimicrobial action of photodynamic therapy in root canals using LED curing light, curcumin and carbopol gel. **Int. Endod. J.**, v. 52, n. 7, p. 1010-1019, jul. 2019. DOI: 10.1111/iej.13092.

PLOTINO, G.; GRANDE, N. M.; MERCADE, M. Photodynamic therapy in endodontics. **Int. Endod. J.**, v. 52, n. 6, p. 760-774, jun. 2019. DOI: 10.1111/iej.13057.

POURHAJIBAGHER, M. et al. Photo-activated disinfection based on indocyanine green against cell viability and biofilm formation of *Porphyromonas gingivalis*. **Photodiagnosis Photodyn. Ther.**, v. 17, p. 61-64, mar. 2017. DOI: 10.1016/j.pdpdt.2016.10.003.

RABELLO, D. G. D. et al. Does supplemental photodynamic therapy optimize the disinfection of bacteria and endotoxins in one-visit and two-visit root canal therapy? A randomized clinical trial. **Photodiagnosis Photodyn. Ther.**, v. 19, p. 205-211, set. 2017. DOI: 10.1016/j.pdpdt.2017.06.005.

SARDA, R. A. et al. Antimicrobial efficacy of photodynamic therapy, diode laser, and sodium hypochlorite and their combinations on endodontic pathogens. **Photodiagnosis Photodyn. Ther.**, v. 28, p. 265-272, dez. 2019. DOI: 10.1016/j.pdpdt.2019.09.009.

SHRESTHA, A.; KISHEN, A. The effect of tissue inhibitors on the antibacterial activity of chitosan nanoparticles and photodynamic therapy. **J. Endod.**, v. 38, p. 1275-1278, 2012.

SHUPING, G. B. et al. Reduction of intracanal bacteria using nickel-titanium rotary instrumentation and various medications. **J. Endod.**, v. 26, n. 12, p. 751-755, dez. 2000. DOI: 10.1097/00004770-200012000-00022.

SIQUEIRA JR, J. F.; GUIMARÃES-PINTO, T.; RÔÇAS, I. N. Effects of chemomechanical preparation with 2.5% sodium hypochlorite and intracanal medication with calcium hydroxide on cultivable bacteria in infected root canals. **J. Endod.**, v. 33, n. 7, p. 800-805, jul. 2007. DOI: 10.1016/j.joen.2006.11.023.

SIQUEIRA JR, J. F. et al. Unprepared root canal surface areas: causes, clinical implications, and therapeutic strategies. **Braz. Oral Res.**, v. 32, supl. 1, p. e65, 18 out. 2018. DOI: 10.1590/1807-3107bor-2018.vol32.0065.

SOARES, J. A. et al. Exploring different photodynamic therapy parameters to optimize elimination of *Enterococcus faecalis* in planktonic form. **Photodiagnosis Photodyn. Ther.**, v. 22, p. 127-131, jun. 2018. DOI: 10.1016/j.pdpdt.2018.03.009.

TANG, Y. et al. *Porphyromonas endodontalis* lipopolysaccharides induce RANKL by mouse osteoblast in a way different from that of *Escherichia coli* lipopolysaccharide. **J. Endod.**, v. 37, n. 12, p. 1653-1658, 2011.

TARDIVO, J. P. et al. Methylene blue in photodynamic therapy: From basic mechanisms to clinical applications. **Photodiagnosis Photodyn. Ther.**, v. 2, n. 3, p. 175-191, set. 2005.

TENNERT, C. et al. Effect of photodynamic therapy (PDT) on *Enterococcus faecalis* biofilm in experimental primary and secondary endodontic infections. **BMC Oral Health**, v. 14, p. 132, 4 nov. 2014. DOI: 10.1186/1472-6831-14-132.

YAMAMOTO, L. Y. et al. Antibiofilm activity of laser ablation with indocyanine green activated by different power laser parameters compared with photodynamic therapy on root canals infected with *Enterococcus faecalis*. **Photodiagnosis Photodyn. Ther.**, v. 35, p. 102377, set. 2021. DOI: 10.1016/j.pdpdt.2021.102377.

ZHANG, W. et al. *Porphyromonas gingivalis* invades osteoblasts and inhibits bone formation. **Microbes Infect.**, v. 12, n. 11, p. 838-845, 2010.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"



CAMPUS ARAÇATUBA  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais  
CEUA - Ethics Committee on the Use of Animals

### CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto de Pesquisa intitulado "**Atividade antibiofilme de ablação a laser com indocianina verde comparada à terapia fotodinâmica em canais radiculares infectados com Escherichia coli**", Processo FOA nº 191-2023, sob responsabilidade de Rogério Castilho Jacinto apresenta um protocolo experimental de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal e sua execução foi aprovada pela CEUA em 21 de Março de 2023.

**VALIDADE DESTE CERTIFICADO:** 06 de Novembro de 2023.

**DATA DA SUBMISSÃO DO RELATÓRIO FINAL:** até 06 de Dezembro de 2023.

### CERTIFICATE

We certify that the study entitled "**Antibiofilm activity green laser ablation compared to photodynamic therapy in root canals infected with Escherichia coli**", Protocol FOA nº 191-2023, under the supervision of Rogério Castilho Jacinto presents an experimental protocol in accordance with the Ethical Principles of Animal Experimentation and its implementation was approved by CEUA on March 21, 2023.

**VALIDITY OF THIS CERTIFICATE:** November 06, 2023.

**DATE OF SUBMISSION OF THE FINAL REPORT:** December 06, 2023.

**Prof. Dr. Fellippo Ramos Verri**  
Coordenador da CEUA  
CEUA Coordinator