



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
CAMPUS ARAÇATUBA**

**Ingrid Bragatto de Mendonça**

**Emprego da terapia fotodinâmica como um coadjuvante na  
eliminação da infecção endodôntica**

Araçatuba-2017

**Ingrid Bragatto de Mendonça**

**Emprego da terapia fotodinâmica como um coadjuvante na  
eliminação da infecção endodôntica**

Trabalho de Conclusão de curso apresentado á Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”-UNESP como parte dos requisitos para a obtenção do título de bacharel em Odontologia.

Orientador: Prof . Dr. Gustavo Sivieri de Araújo

Araçatuba-2017

Dedico em primeiro lugar á Deus por ter me concedido força, saúde e sabedoria nessa trajetória de formação da minha carreira, sempre cheia de realizações, alegrias e também muitas dificuldades. A minha família , em especial a minha mãe Vilma Ambrosio Bragatto por sempre estar ao meu lado me apoiando e dando força. Dedico também á todos os meus amigos que sempre estão ao meu lado me incentivando.

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Estadual Paulista “ Júlio de Mesquita Filho”, na pessoa do diretor da Faculdade de Odontologia de Araçatuba Prof. Dr Wilson Roberto Poi e do vice-diretor Prof. Dr. João Eduardo Gomes Filho.

Ao Prof. Dr. Gustavo Sivieri de Araújo, pela atenção e apoio durante o processo de definição e orientação.

Aos funcionários da FOA , por sempre serem educados, alegres e dedicados, tornando as clínicas mais prazerosas.

Aos meus familiares , em destaque minha mãe, que nos momentos mais difíceis meu deu força e fez com que não desistisse de realizar os meus sonhos. Ao meu irmão que foi uma inspiração para seguir nessa profissão, que sempre me incentivou e me deu dicas.

Aos meus amigos que conheci na graduação , em especial a Andrea e Thayane que me acolheram em sua turma com muito carinho e ajuda. Ao Tiago por ser minha dupla nesse último e tumultuado ano. A Rebeca uma amiga mais que especial , uma irmã , que pude reencontrar e fortalecer a nossa amizade aqui na FOA. Ao Tiago Furlan que se tornou um amigo de todas as horas e que sempre estará em meu coração, e aos muitos que já formaram e deixaram sua marquilha comigo, deixo aqui o meu muito obrigado.

“Só se pode alcançar um grande êxito quando nos mantemos fiéis a nós mesmos.”

Friedrich Nietzsche

MENDONÇA, IB. **Emprego da terapia fotodinâmica como um coadjuvante na eliminação da infecção endodôntica.** 2017.34f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado)-Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2017.

## RESUMO

Para eliminar a infecção nos dentes, o tratamento endodôntico é de extrema importância. O sucesso desse tratamento depende da eliminação da infecção no sistema de canais radiculares (SCR) e do correto selamento pela obturação dos canais radiculares. Assim, devido à complexidade anatômica do SCR, certas áreas podem ser de difícil acesso para o preparo biomecânico (PBM), por conseguinte, o emprego de uma medicação intracanal potencializa a redução dos microrganismos (MO) e seus produtos tóxicos no SCR. Mesmo com o avanço científico e técnico na Endodontia, há MO que ainda consegue resistir ao PBM, assim sendo, os principais responsáveis pela manutenção da infecção endodôntica. Devido há altas taxas de insucesso e reincidência da infecção novos estudos foram pesquisando alternativas para diminuir esses resultados, surgindo assim alternativas de tratamento, como a utilização da terapia fotodinâmica (TFD). A TFD é um conjunto de procedimentos biológicos, químicos e físicos que acontecem após a administração de um agente fotossensibilizador (FS) ativado por meio de uma luz visível de comprimento de onda específico (LED ou *laser*) para destruir a célula-alvo, ou ajudar no combate das infecções. A utilização da TFD atua para potencializar e como coadjuvante na desinfecção do SCR, além de ser de fácil aplicação e não promover resistência microbiana.

**Palavras-chave:** Tratamento endodôntico. Terapia fotodinâmica. Endodontia.

MENDONÇA, IB. **The use of photodynamic therapy as a coadjuvant in the elimination of endodontic infection.**2017.34f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado)-Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2017.

### **ABSTRACT**

To eliminate tooth infection, endodontic treatment is of utmost importance. The success of this treatment depends on the elimination of infection in the root canal system (SCR) and correct sealing by root canal filling. Thus, due to the anatomical complexity of CRS, certain areas may be difficult to approach for biomechanical preparation (PBM), therefore, the use of intracanal medication enhances the reduction of microorganisms (MO) and their toxic products in SCR. Even with the scientific and technical advances in Endodontics, there are MO that still can resist the PBM, being the main responsible for the maintenance of the endodontic infection. Due to the high rates of failure and recurrence of infection, new studies have been exploring alternatives to reduce these results, giving rise to alternative treatments such as the use of photodynamic therapy (PDT). PDT is a set of biological, chemical, and physical procedures that take place following the administration of a photosensitizing agent (FS) activated by means of a visible wavelength-specific light (LED or laser) to destroy the target cell, or help In combating infections. The use of PDT acts to potentiate and as a coadjuvant in SCR disinfection, besides being easy to apply and not promoting microbial resistance.

**Keywords:** Endodontic treatment. Photodynamic therapy. Endodontics.

## LISTA DE FIGURA

<b>Figura 1:</b> Sistema multifuncional de laserterapia(aparelho)	15
<b>Figura 2:</b> Aparelho de <i>laser</i> sendo utilizado no tratamento do câncer de pele	16
<b>Figura 3:</b> Esquema do mecanismo de ação da terapia fotodinâmica	16
<b>Figura 4:</b> Fotossensibilizadores: Azul de metileno e Raiz de açafrão/curcumina	19
<b>Figura 5:</b> Terapia fotodinâmica utilizada na Periodontia	22
<b>Figura 6:</b> Emprego da terapia fotodinâmica no tratamento de canal	23
<b>Figura 7:</b> Emprego da terapia fotodinâmica na Endodontia	24

## LISTA DE ABREVIATURA

ASSIST- Assistente

Dr- Doutor

FOA- Faculdade de Odontologia de Araçatuba

FS – Fotossensibilizador

He-Ne- Hélio-Neônio

LPS- Lipopolissacarídeo

MO- Micro-organismo

PBM- Preparo biomecânico

PDT- *Photodynamic therapy*

Prof- Professor

SCR- Sistema de canais radiculares

TFDA- Terapia fotodinâmica antimicrobiana

TFD -Terapia fotodinâmica

UNESP- Universidade Estadual Paulista- “Júlio de Mesquita Filho”

## SUMARIO

1 INTRODUÇÃO .....	11
2 PROPOSIÇÃO.....	12
3 INFECÇÕES ENDODÔNTICAS.....	13
3.1 Microbiota endodôntica.....	13
3.2 Tratamento endodôntico e os micro-organismos.....	14
3.3 A óptica na área da ciências da saúde.....	14
3.4 Fonte de luz.....	15
3.5 Terapia fotodinâmica.....	15
3.6 Reação fototóxica da terapia fotodinâmica.....	17
3.7 Fotossensibilizador.....	17
3.8 Período de pré-irradiação.....	19
3.9 Terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFDA) na Odontologia.....	19
3.10 Terapia fotodinâmica antimicrobiana(TFDA) na Endodontia.....	21
3.11 Técnica da terapia fotodinâmica na Endodontia.....	23
3.12 Biossegurança.....	25
4 PERSPECTIVA DA TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA NA ENDODONTIA.....	26
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	27
REFERÊNCIAS.....	28

## 1 INTRODUÇÃO

Dentre os objetivos do tratamento endodôntico de dentes com necrose pulpar destaca-se a eliminação da infecção no sistema de canais radiculares (SCR), promovendo condições para reparação apical e periapical<sup>1,2,3</sup>. O preparo biomecânico (PBM) do canal radicular reduz o número de bactérias, porém micro-organismos (MO) resistem à sua atuação no interior do SCR, principalmente MO anaeróbios Gram-negativos e/ou aeróbios resistentes como o *Enterococcus faecalis*, ou mesmo fungos como a *Candida albicans*<sup>1</sup>.

Considerando a complexidade anatômica do SCR, certas áreas inacessíveis ao PBM tornam importante o uso da medicação intracanal com ação complementar na desinfecção endodôntica. Hidróxido de cálcio em associação ou não a outras substâncias como, por exemplo, o paramonocloretonol canforado ou a clorexidina, assumem um papel essencial para potencializar a eliminação dos MO no SCR<sup>4</sup>. A persistência de MO resistentes aos procedimentos endodônticos constituem a grande causa dos insucessos do tratamento endodôntico<sup>5</sup>.

A Terapia Fotodinâmica (TFD) - *Photodynamic Therapy (PDT)*, utiliza luz Laser ou Led em comprimento de onda específico para ativação de fotossensibilizador (FS). Este FS geralmente exógeno, tem a finalidade possibilitar atuação da luz promovendo necrose celular em local específico, ou seja, na célula-alvo, como por exemplo, no tratamento de algumas neoplasias (TFD), ou na redução microbiana (TFD antimicrobiana). O mecanismo de ação está relacionado à absorção de fótons da fonte de luz pelo FS levando seus elétrons a um estado mais excitado (quando elétrons saltam temporariamente para uma camada mais distante do núcleo). Na presença de um substrato como o oxigênio, o FS transfere a energia ao substrato, e ao retornar ao seu estado natural, forma espécies altamente reativas e de vida curta, como o oxigênio singleto, que pode provocar sérios danos aos MO ou a célula alvo, via oxidação irreversível de componentes celulares<sup>6</sup>.

Levando em consideração, o atual emprego da tecnologia da luz Laser ou Led na área de saúde, a idéia de aplicá-la na terapia endodôntica como um coadjuvante ao PBM para potencializar a redução antimicrobiana, torna-se a TFD antimicrobiana promissora para o tratamento endodôntico.

## **2 PROPOSIÇÃO**

A proposta do presente estudo foi realizar uma revisão da literatura do emprego da terapia fotodinâmica na Endodontia.

### 3 INFECÇÕES ENDODÔNTICAS

Os MO tem a capacidade de penetração pelos túbulos dentinários por meio de algumas vias, destacando as lesões de cárie (com ou sem exposição pulpar). Os MO podem também atingir o forame apical em dentes tratados endodonticamente com selamento insatisfatório ou ainda obter acesso pela via hematogênica (anacorese)<sup>7</sup>.

Mais de 700 espécies microbianas foram identificadas na cavidade bucal, e cerca de 150 espécies foram detectadas em amostras provenientes do SCR<sup>8</sup>. A infecção endodôntica inicialmente apresenta fatores nutricionais que favorecem a colonização da microbiota sacarolítica. Com o esgotamento de nutrientes como O<sub>2</sub>, ocorre a transição e mudança da microbiota, conhecido como *Shift Microbiano*<sup>9</sup>.

#### 3.1 Microbiota endodôntica

As infecções endodônticas primárias apresentam espécies distintas que irão colonizar o SCR e determinam a característica polimicrobiana, com predomínio de bactérias anaeróbias Gram-negativas<sup>1,10</sup>. No entanto, nos insucessos do tratamento endodôntico, o processo infeccioso observado apresenta poucas espécies microbianas e exibe características diferentes das infecções primárias. Nestes casos, de infecções endodônticas secundárias ocorre maior colonização de Gram-positivos<sup>11</sup>.

Os MO anaeróbios facultativos, como *Enterococcus faecalis*, podem permanecer com baixa taxa metabólica por longo período de tempo. Esta peculiaridade e fatores de resistência tornam o *Enterococcus faecalis* um importante MO relacionado aos insucessos endodônticos. Este MO apresenta resistência a alguns medicamentos intracanaais como hidróxido de cálcio e sua eliminação no SCR apresenta importância fundamental para o sucesso do tratamento<sup>4,12</sup>. Dentes com lesões periapicais crônicas persistentes, refratárias, apresentam microbiota diferente daquela dos dentes com necrose pulpar e lesão periapical não tratados, também sendo evidenciada presença de fungos como a *Candida albicans*<sup>13</sup>.

Estudos têm demonstrado que hidróxido de cálcio, embora com atividade antimicrobiana comprovada em Endodontia, não é totalmente efetivo frente à *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans*. Este fato justifica o aparecimento de

associações de medicações para tratamento endodôntico, assim como a associação de técnicas<sup>14</sup>.

As bactérias anaeróbias Gram-negativas são predominantes nas colônias polimicrobiana do SCR nas infecções endodônticas primárias. A bactéria anaeróbia Gram-negativa apresenta em sua parede celular a molécula de lipopolissacarídeo (LPS) também conhecido como Endotoxina. Este LPS que é citotóxico quando liberado durante a multiplicação ou morte bacteriana promove uma série de efeitos biológicos nocivos<sup>3, 15, 16</sup>.

O biofilme é um termo que pode ser definido como um aglomerado microbiano complexo, onde bactérias se associam e estão envolvidas por uma matriz-extracelular polissacarídica, tornando resistentes à ação de agente antimicrobianos<sup>15</sup>.

### **3.2 Tratamento endodôntico e os micro-organismos**

Atualmente, o tratamento de endodôntico de dentes com necrose pulpar e lesão periapical crônica, tem não apenas o objetivo de redução e eliminação bacteriana, mas também a inativação do LPS e biofilme apical, em níveis que proporcionem condições de reparação após as condutas clínicas<sup>15, 16</sup>. Devido à complexidade anatômica e dificuldade de desinfecção de todo o SCR torna-se necessário o uso de medicação intracanal no combate as infecções endodônticas<sup>1, 3, 17</sup>. Dentre as substâncias usadas como medicação intracanal destaca-se o hidróxido de cálcio, seja na fórmula única ou associado a outros medicamentos<sup>14, 15, 18</sup>, com importante papel no sucesso da terapia das infecções endodônticas<sup>19, 20</sup>.

### **3.3 A óptica na área da ciências da saúde**

A óptica vem contribuindo para o avanço técnico-científico na área da Ciências da Saúde, como por exemplo, o diagnóstico e a terapêutica. Com o advento do Laser em 1960 e posteriormente o Led, surgiram novas alternativas nos tratamentos Médico, Odontológico, Fisioterápico, devido às suas diversas propriedades terapêuticas<sup>21</sup>.

### 3.4 Fonte de luz

O Laser possui características especiais como: monocromaticidade, pequena divergência, coerência espacial e temporal, intensa energia, pulsos ultracurtos, possibilidade de ajuste do comprimento de onda, entre outras. Os Leds são diodos emissores de luz, de baixo componente térmico, que consistem de uma banda espectral relativamente estreita que é produzida pelas interações energéticas do elétron (Fig 1). No Led, predomina o mecanismo espontâneo de radiação com pouca energia para geração de luz. Dentre as inúmeras aplicações da luz, podemos destacar Laser e/ou Led, empregada nas aplicações das áreas médicas ou afins, como por exemplo, a Terapia Fotodinâmica<sup>21,22</sup>.



**Figura 1.** Sistema multifuncional de laserterapia. ( Fonte:www.odontomagazine.com.br)

### 3.5 Terapia fotodinâmica

A Terapia Fotodinâmica - (TFD), em língua inglesa, *photodynamic therapy (PDT)*, obteve sua primeira comprovação foi feita por Raab em 1900, que utilizou células microbianas, e observou que pequenas concentrações de azul de metileno não eram capazes de causar efeitos letais em protozoários em um ambiente escuro, mas poderia ser letal aos protozoários quando expostos á luz solar<sup>23</sup>.

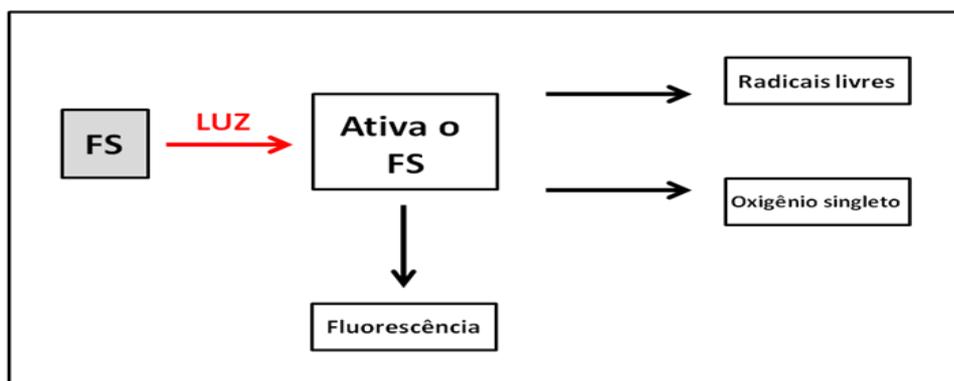
A TFD é um método clínico já consolidado de uma modalidade de tratamento contra o câncer e doenças não oncológicas, que pode atuar como uma coadjuvante a outras terapias já conhecidas (Fig 2). A TFD diferencia-se por um

conjunto de procedimentos físicos, químicos e biológicos, que ocorrem após administrar um FS exógeno, que apresenta afinidade com a célula-alvo, ou seja, com os tecidos lesados e também sobre MO presentes<sup>24</sup>.



**Figura 2.** Terapia fotodinâmica sendo utilizada no tratamento contra o câncer de pele. (Fonte: www.oatibaiense.com.br)

As moléculas do FS são ativadas por meio de uma fonte de luz visível, de comprimento de onda específico e ocorrendo troca de energia entre as moléculas de oxigênio, produzindo uma espécie de oxigênio altamente reativo: o oxigênio singleto, que oxida de forma rápida e eficiente, eliminando apenas as células patológicas, pois promove necrose celular específica (célula-alvo)<sup>22,25</sup>, (Fig, 1).



**Figura 3.** Mecanismo de ação da terapia fotodinâmica. Adaptado de: Allison RR, Bagnato VS, Sibata CH. *Future of oncologic photodynamic therapy. Future Oncol* 2010 Jun;6:929-40.

Atualmente, a TFD vem sendo estudada por diversos pesquisadores em todo mundo, com intenção de melhorar as propriedades físicas, químicas e biológicas tanto do FS quanto dos parâmetros de aplicação da luz. Na última década houve um grande interesse em se estudar a TFD aqui no Brasil, fortes evidências demonstram o sucesso da TFD, no tratamento contra câncer, doenças não oncológicas e redução microbiana (TFD antimicrobiana). Estudos recentes lideradas pelo Prof. Dr. Vanderlei Salvador Bagnato foram realizados no Laboratório de Biofotônica do Centro de Pesquisa em Óptica e Fotônica - CEPOF, do Programa CEPID-FAPESP (Grupo de Óptica do Instituto de Física de São Carlos da Universidade de São Paulo - IFSC-USP), demonstraram relevantes propriedades básicas e aplicadas da TFD<sup>26-29</sup>.

### **3.6 Reação fototóxica da terapia fotodinâmica**

A ação da TFD na célula-alvo ou aos MO é estabelecida na reação que ocorre em nível molecular.

A Reação Do Tipo I pode elevar os radicais hidroxila, que reagem com biomoléculas ou se combinam para formar peróxido de hidrogênio *in situ*. Os resultados citotóxicos ocasionam a remoção de hidrogênio de moléculas insaturadas, como os fosfolipídeos da membrana citoplasmática bacteriana, alterando a permeabilidade e integridade da membrana<sup>22, 25</sup>.

Na Reação Do Tipo II, o FS transfere sua energia para o oxigênio, que forma o oxigênio singlete, reagindo momentaneamente com componentes celulares (parede celular, ácido nucleico, peptídeos e moléculas envolvidas na manutenção estrutural da parede celular). O período curto de vida do oxigênio singlete novamente assegura uma resposta no local da célula-alvo<sup>22, 25</sup>.

### **3.7 Fotossensibilizador**

Para produzir o efeito desejado na TFD, o FS precisa ter seletividade, capacidade, estabilidade biológica, ser fotoquimicamente eficiente e possuir toxicidade mínima aos tecidos normais<sup>30</sup>. Quanto menos tóxicos forem os FS com

suas bandas de absorção e mais próximas ao comprimento de onda das luzes utilizadas, melhor será a eficácia da TFD, sem causar danos aos tecidos adjacentes<sup>30</sup>.

A maior parte das espécies bacterianas não apresenta componentes fotossensíveis ao comprimento de onda empregado, sendo importante a utilização de FS que absorva para si esta luz e de início a formação de radicais livres. As células desprovidas de componentes fotossensíveis endógenos podem tornar-se sensíveis a luz, quando coradas com o FS ou agentes cromóforos exógenos, como o azul de metileno, azul de toluidina, eosina ou hematoporfirinas<sup>32</sup>.

O azul de metileno é um fotossensibilizador catiônico da classe das fenotiazinas (Fig 4). É solúvel em água e álcool, sendo empregado como corante para sinalizar as bactérias. Por apresentar propriedade eletrocatalítica, na participação de várias reações enzimáticas, seu empenho em ser utilizado vem aumentando a cada ano<sup>33</sup>. O azul de metileno possui alta absorção de luz, com picos de bandas em 660 nm, é ativo na TFD e evidencia capacidade em gerar espécies reativas de oxigênio, sendo empregado no combate a certas doenças<sup>34</sup>.

Fimle et al. em 2008<sup>35</sup>, demonstraram que se aumentar a concentração de azul de metileno e a Densidade de Energia da luz ( $J/cm^2$ ), haverá um aumento na destruição bacteriana, pois os principais alvos desses FS parecem ser componentes do DNA e da membrana celular, causando aumento de sua permeabilidade.

A ação do FS sobre as bactérias está diretamente relacionada com a carga do FS, os de carga positiva ou neutra interagem de maneira eficaz inativando as bactérias Gram-positivas. Ao passo que interagem em alguma extensão na membrana externa de bactérias Gram-negativas. A camada de peptidoglicano e ácido lipoteicoico na membrana externa de bactérias Gram-positivas permite a difusão do fotossensibilizador. A membrana externa de bactérias Gram-negativas age como uma barreira física e funcional entre as células e o meio biológico<sup>36</sup>.

Outro fotossensibilizador que pode ser empregado é a curcumina, que é extraída do rizoma da planta *Curcuma longa* L (açafrão) que pode ser empregada como FS na TFD. A curcumina possui efeitos: antimicrobianos<sup>37,38</sup>, anti-inflamatórios<sup>39</sup>, imunomoduladores<sup>40</sup>, que são potencializados na presença da luz visível de  $\lambda$  específico para ativá-la (Laser azul ou Led azul).



**Figura 4.** Fotossensibilizadores: Azul de metileno; Raiz de açafrão que produz a curcumina.  
(Fonte: [www.dentalcremer.com.br](http://www.dentalcremer.com.br)/[www.hsnstore.com.br](http://www.hsnstore.com.br))

### 3.8 Período de pré-irradiação

O período de pré-irradiação é o tempo correspondente entre o emprego do FS na célula-alvo com o início da irradiação, por meio de uma fonte de luz visível (Laser ou Led). Este tempo de pré-irradiação é de fundamental importância antes que se inicie o emprego da luz, para que possa acontecer a absorção pelo FS, sem que ocorra sua degradação pela fonte de luz.

Na terapia fotodinâmica antimicrobiana, o período de pré-irradiação é o tempo em que o FS consegue atingir e ultrapassar a membrana celular bacteriana, variando entre 3 a 5 minutos<sup>30</sup>.

É importante salientar que o FS deve estar no local ou próximo do local da célula-alvo, para que durante o processo de TFD, não ocorra formação de espécies tóxicas fora do local desejado<sup>35</sup>.

### 3.9 Terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFDA) na Odontologia

A terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFDA) tem como grande vantagem a não ocorrência de resistência microbiana, ao contrário do que pode acontecer quanto ao uso de certos antimicrobianos, este fato torna a TFDA um grande atrativo na área Médica e Odontológica. A eficiência da TFDA contra bactérias orais *in vitro*

foi comprovada em 1992 por Wilson et al.<sup>41</sup>, que verificaram a redução de *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* e *Actinobacillus actinomycetemcomitans* utilizando o Laser He-Ne e fotossensibilizadores azul de toluidina e azul de metileno. No mesmo ano, Dobson e Wilson<sup>42</sup>, observaram eliminação de biofilmes formados in vitro por *Streptococcus sanguis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* e *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, sensibilizados por azul de metileno e azul de toluidina, irradiados com Laser de He-Ne. Estas descobertas sugerem que a fotossensibilização pode ser um meio de eliminar as bactérias periodontopatogênicas do biofilme dental (Fig 5).



**Figura 5.** Terapia fotodinâmica empregada na Periodontia (Fonte:thum.com.br)

Sarkar e Wilson em 1993<sup>43</sup> avaliaram a TFDA em amostras de biofilme subgingival de pacientes com periodontite crônica utilizando o Laser e azul de toluidina como FS, o que reduziu significativamente o número de bactérias aeróbias e anaeróbias, sendo esta redução de 94,2% para os *Streptococcus*. A partir destes estudos, uma série de pesquisas foram realizadas com a finalidade de melhorar as propriedades encontradas nesta nova modalidade da TFD.

A TFDA vem sendo empregada na Odontologia para promover redução dos MO, tanto no tratamento, como na prevenção de doenças periodontais, peri-implantites, descontaminação de próteses totais, de tecido cariado e mais recentemente descontaminação na Endodontia.

Em 2009, Fontana et al.<sup>44</sup>, demonstraram o efeito antimicrobiano do azul de metileno com luz vermelha em culturas planctônicas e em biofilmes multi-espécies formados por bactérias isoladas da cavidade bucal, obtendo respectivamente 64% e 32% de redução para culturas planctônicas e biofilmes. Concluíram que os biofilmes formados por bactérias orais são menos afetados pela

TFDA do que na forma planctônica. Entretanto segundo Cobb et al. em 2010<sup>45</sup>, o emprego da TFDA ainda é controverso, necessitando de novos achados no controle e combate das infecções orais.

### 3.10 Terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFDA) na Endodontia

A TFDA surge como um tratamento alternativo ao uso de agentes antimicrobianos, devido ao fato de surgirem MO resistentes, novos agentes virais, prion, entre outros. A TFDA tem se destacado, nas diversas áreas da Odontologia visando, eliminar ou reduzir os MO, biofilmes orais e combater determinadas doenças da cavidade bucal, na procura por um agente antimicrobiano em que os MO sejam incapazes de obter resistência<sup>46-49</sup>.

A TFDA tem sido sugerida na Endodontia, com a finalidade de auxiliar o PBM e a desinfecção do SCR, como também, agir sobre os biofilmes do canal radicular. O biofilme é um fator que determina dificuldade de ação dos agentes antimicrobianos utilizados via intracanal, além de possibilitar resistência microbiana<sup>50,51</sup>.

A literatura mostra diferentes susceptibilidades dos MO aos efeitos fototóxicos da TFDA, sendo que *Enterococcus faecalis*, embora seja um dos mais difíceis de serem eliminados pela técnica, pode ser reduzido em até 97%<sup>52,53</sup>.

A TFDA pode ser um tratamento coadjuvante inclusive à *Candida albicans* encontradas nas infecções endodônticas. O mecanismo de ação da inativação dos fungos pela TFDA induz o rompimento da parede celular e da membrana, induzido pelo radical oxigênio, que permite a fotossensibilização no interior do MO determinando alterações das organelas celulares e posterior morte celular<sup>52</sup>.

Somente a luz não é capaz de ser letal as bactérias endodônticas, mas quando é utilizado em conjunto com o FS liberando o oxigênio singlete, ocorre o efeito desejado. Dentre as vantagens da TFDA podemos descrever que a não produção de efeitos térmicos, não há sensibilização ou morte de células dos tecidos hígidos e adjacentes ao canal radicular<sup>51</sup>.

As bactérias Gram-positivas e Gram-negativas relacionadas com as infecções endodônticas têm sido recentemente estudadas sobre os aspectos da inativação por meio da TDFA<sup>54</sup>.

O FS possui um espectro de ação da luz sobre um determinado comprimento de onda de máxima absorção. O efeito da TFDA depende do nível tecidual adequado do FS. Os FS mais utilizados na TFDA para Endodontia são os FS sintéticos, como o azul de metileno e azul de toluidina<sup>48, 53</sup>. O FS azuleno também foi avaliado na redução bacteriana intracanal<sup>55</sup>, tem demonstrando redução bacteriana significativa na utilização da técnica, sendo considerado método efetivo na utilização intracanal. Há possibilidade de ocorrer manchas nas estruturas dentárias ocasionadas pelo uso de FS na TFDA na Endodontia. Entretanto desde que utilize uma baixa concentração do azul de metileno e azul de toluidina, poderemos descartar esta hipótese embora possa ocorrer diminuição da ação antimicrobiana, frente à diminuição da concentração do FS<sup>55, 56</sup>.

Atualmente, protocolos clínicos têm sido propostos em relação aos parâmetros de aplicação da luz, alterando os tempos de irradiação, potência do aparelho, como também, mostrando a importância do uso da fibra óptica intracanal<sup>51, 52, 57-67</sup>.

Pagonis et al., em 2010<sup>58</sup>, utilizaram nano-partículas no intuito de potencializar a ação do FS na produção de oxigênio mais reativo e destruir as diversas espécies de MO, e concluíram a efetividade da técnica com auxiliar ao tratamento endodôntico. Nunes et al., em 2011<sup>65</sup>, demonstraram in vitro não haver diferença significativa entre os canais radiculares tratados com auxílio da TFDA, empregando ou não a fibra óptica intra-radicular na redução do *Enterococcus faecalis*. Entretanto os autores recomendam seu uso, devido à possibilidade da fibra óptica atingir todas as áreas acessíveis do canal radicular principal no SCR.

Rios et al., em 2011<sup>66</sup>, concluíram que a TFDA empregando FS azul de toluidina tem o potencial para ser usado como um procedimento adjuvante antimicrobianos na terapia endodôntica convencional. Resultados semelhantes foram encontrados por Ng et al., em 2011<sup>67</sup>, que concluíram ex-vivo a eficiência da TFDA como um coadjuvante a Endodontia convencional. Este autores reforçam a necessidade de pesquisas para melhor embasamento científico deste técnica.

Bouillaguet et al., em 2010<sup>68</sup>, demonstraram que a luz visível é efetiva para ativar os FS clinicamente, e que a luz azul foi tão efetiva quanto a luz vermelha para produção do oxigênio singleto. Com este resultado, os autores recomendam o emprego da TFDA como auxiliar na Endodontia.

Embora estudos na literatura demonstrem resultados promissores do uso da TFD na Endodontia em relação à desinfecção do SCR, ainda é necessária a definição de protocolos clínicos seguros de utilização na clínica da TFD na Endodontia.

Resultados recentes usando novos FS, como por exemplo a curcumina têm demonstrado futuro promissor para o emprego de FS em alta concentração sem o risco de manchamento de estruturas dentais e com resultado antimicrobiano favorável ao combate das bactérias no interior do SCR, resultados distintos dos já conhecidos na literatura que empregam azul de metileno e azul de toluidina como FS<sup>69</sup>.

A combinação da TFD junto à irrigação dos canais radiculares, tem demonstrado atividade antibacteriana<sup>70-73</sup>, podendo ser utilizada para a desinfecção do SCR, e pode ser altamente eficaz em casos que ocorreram falhas endodônticas, com MO resistentes, como *Enterococcus faecalis*.

Recentemente, estudos realizados em nosso Grupo de Pesquisa<sup>74-76</sup>, ficou demonstrado a biocompatibilidade in vitro e in vivo da TFD para emprego na Endodontia, utilizando o FS curcumina na concentração de 500 mg/L, ativado com Led azul  $\lambda$  480 nm (Fig 6).



**Figura 6.** Emprego da terapia fotodinâmica no tratamento endodôntico. (Fonte: youtube.com.br/PDT)

### 3.11 Técnica da terapia fotodinâmica na Endodontia

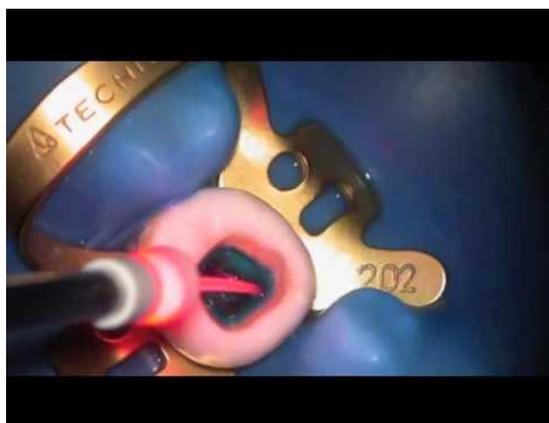
A literatura ainda é controversa em relação aos parâmetros de aplicações, mas é notável que de acordo com os resultados científicos encontrados até o

presente momento, que a TFD na Endodontia vem ganhando destaque, fato este que já é possível encontrar clínicos que há empregam e relatam sucesso endodôntico.

De modo geral, a TFD é indicada na Endodontia em dentes com necrose pulpar com ou sem lesão periapical, tratados sessão única ou múltiplas sessões e também pode ser empregada nos retratamentos.

Após a realização do preparo biomecânico, aspira-se o canal radicular de maneira eficiente com cânulas de sucção, em seguida, devemos secar com pontas de papel absorvente<sup>51</sup>, e realiza-se a TFD, geralmente com fotossensibilizador azul de metileno, azul de toluidina, já encontrados no mercado para uso clínico e em concentração específica. Este FS que é líquido deve ser inserido no canal radicular e agir entre 3 a 4 minutos (período de pré-irradiação)<sup>30, 51, 53, 58, 59, 67</sup>, ou de acordo com cada fabricante.

Após o período de pré-irradiação emprega-se a luz (Laser ou Led) com comprimento de onda específico para cada FS, no caso do azul de metileno, luz vermelha com que varia nas bandas de 660nm a 685nm, por cerca de 3 a 4 minutos (Fig 7).



**Figura 7.** Emprego da laserterapia na Endodontia. (Fonte:youtube.com.br/PDT)

É recomendado o emprego de fibra óptica intracanal flexível com diâmetro compatível com o canal radicular, levada a 2mm aquém do CRT. Utiliza-se movimentos helicoidais no sentido ápico-cervical, com a fibra óptica para difusão uniforme da luz por toda a extensão do canal radicular, criando melhores possibilidades de entrada da luz no SCR. Os movimentos serão repetidos aproximadamente 10 vezes/minuto.

Após a ação da luz, o FS deve ser removido com a própria solução irrigadora ou soro fisiológico e o canal radicular seco deve ser novamente aspirado com cânulas e secado com pontas de papel absorvente<sup>30, 51, 53, 58, 59, 67</sup>.

Neste momento o cirurgião-dentista deve optar pela conduta que o próprio profissional achar necessário, ou seja, colocar uma medicação intracanal e obturar os canais radiculares em um segunda sessão ou partir diretamente para a obturação dos canais radiculares em sessão única, observando que, a TFD não substitui a medicação intracanal.

### **3.12 Biossegurança**

Assim como qualquer equipamento que empregue fontes de luz (Laser ou Led), o uso de óculos de proteção de comprimento de ondas específicos são obrigatórios tanto para o profissional, quanto para auxiliar e paciente. Este itens de proteção geralmente fazem parte de um kit quando se adquire as fontes de luz. As fibras ópticas empregadas na TFD, devem ser esterilizadas ou desinfetadas de acordo com o recomendado pelo fabricante.

## **4 PERSPECTIVA DA TERAPIA ANTIMICROBIANA NA ENDODONTIA**

A TFDA na Endodontia pode ser um importante instrumento auxiliar na redução e no combate para eliminar os MO e seus produtos tóxicos, por meio de FS mais específicos, seletivos e eficientes e adequados parâmetros de aplicação da luz.

Muito ainda deve ser estudado e avaliado, pois as variáveis são inúmeras: Qual o melhor FS? Em que concentração? Por quanto tempo de aplicação? Quais os melhores parâmetros de aplicação da luz?

## **5 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A TFD na Endodontia pode ser uma importante ferramenta coadjuvante, para auxiliar na redução e combate aos MO e seus produtos tóxicos presentes na infecção endodôntica, desde que, utilize FS seletivos e eficientes, com adequados parâmetros de aplicação de Laser ou Led. Entretanto, são necessários mais estudos para estabelecer protocolos de aplicação clínica mais evidentes.

## REFERÊNCIAS

1. Sundqvist G. Taxonomy, ecology, and pathogenicity of the root canal flora. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1994;78:522-30.
2. Leonardo MR, Leonardo RT. Tratamento de canais radiculares - Avanços tecnológicos de uma endodontia minimamente invasiva e reparadora. 1ª Ed. Artes Médicas; 2012.
3. Tanomaru JMG, Leonardo MR, Tanomaru-Filho M, Bonetti-Filho I, Silva LAB. Effect of different irrigation solutions and calcium hydroxide on bacterial LPS. *Int Endod J* 2003;36:733-9.
4. Tanomaru-Filho M, Leonardo MR, da Silva LA. Effect of irrigating solution and calcium hydroxide root canal dressing on the repair of apical and periapical tissues of teeth with periapical lesion. *J Endod* 2002;28:295-9.
5. Radcliffe CE, Potouridou L, Qureshi R, Habahbeh N, Qualtrough A, Worthington H, Drucker DB. Antimicrobial activity of varying concentrations of sodium hypochlorite on the endodontic microorganisms *Actinomyces israelii*, *A. naeslundii*, *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J* 2004;37:438-46.
6. Allison RR, Moghissi K. Photodynamic Therapy (PDT): PDT Mechanisms. *Clin Endosc.* 2013 Jan;46(1):24-9. doi: 10.5946/ce.2013.46.1.24.
7. Rosa FCS. Eficácia da instrumentação associada à Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana e medicação intra-canal na eliminação de biofilmes e na neutralização de endotoxinas em canais radiculares [Tese Doutorado]. São José dos Campos: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2008.
8. Gomes BP, Pinheiro ET, Gadê-Neto CR, Sousa EL, Ferraz CC, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Microbiological examination of infected dental root canals. *Oral Microbiol Immunol* 2004;19:71-6.
9. Marsh P, Martin M. 1992. *Oral Microbiology*. 3rd ed. Chapman and Hall, London. 249p.
10. Sundqvist G. 1976. Bacteriological studies of necrotic dental pulps. Thesis (PHD). Umeå, Sweden: University of Umea.
11. Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB. *Enterococcus faecalis*: Its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. *J Endod.* 2006;32:93-8.

12. Melker KB, Vertucci FJ, Rojas MF, Progulsk-Fox A, Bélanger M. Antimicrobial efficacy of medicated root canal filling materials. *J Endod* 2006; 32:148-51.
13. Silva LAB, Perassi FT, Ito IY, Bonifácio KC, Tanomaru-Filho M. A presença de fungos nas infecções endodônticas. *FOL* 2000;12:62-6.
14. Basrani B. Irrigation in endodontic treatment. *Alpha Omegan*. 2011 Spring;104(1-2):18-25.
15. Karim IE, Kennedy J, Hussey D. The antimicrobial effects of root canal irrigation and medication. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007;103:560-9.
16. Stashenko P. The role of immune cytokines in the pathogenesis of periapical lesions. *Endod Dent Traumatol* 1990;6:89-96.
17. Mohammadi Z. Endotoxin in endodontic infections: a review. *J Calif Dent Assoc*. 2011 Mar;39(3):152-5, 158-61.
18. Leonardo MR, Tanomaru Filho M, Silva LA, Nelson Filho P, Bonifácio KC, Ito IY. 4. In vivo antimicrobial activity of 2% chlorhexidine used as a root canal irrigating solution. *J Endod* 1999;25:167-71
19. Silva RA, Leonardo MR, da Silva LA, de Castro LM, Rosa AL, de Oliveira PT. Effects of the association between a calcium hydroxide paste and 0.4% chlorhexidine on the development of the osteogenic phenotype in vitro. *J Endod* 2008;34:1485-9.
20. Siqueira JF, Rôças IN, Paiva SSM, Guimarães-Pinto T, Magalhães KM, Lima KC. Bacteriologic investigation of the effects of sodium hypochlorite and chlorhexidine during the endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007;104:122-30.
21. Bagnato VS. Os fundamentos da luz Laser. *Física na Escola*. 2001;2: 4-9.
22. Allison RR, Bagnato VS, Sibata CH. Future of oncologic photodynamic therapy. *Future Oncol*. 2010;6:929-40.
23. Yamada A. Terapia fotodinâmica antimicrobiana: o mais novo aliado do cirurgião-dentista nos processos infecciosos. *DMC J* 2007;1:22-3.
24. Calzavara-Pinton PG, Venturini M, Sala R. Photodynamic therapy: update 2006. Part 1: Photochemistry and photobiology. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2007;21:293-302.
25. Bagnato VS. *Novas técnicas ópticas para a saúde*. Editora Livraria da Física, 2008.

26. Vollet-Filho JD, Menezes PFC, Moriyama LT, Grecco C, Sibata C, Allison RR, Castro-E-Silva O, Bagnato VS. Possibility for a full optical determination of photodynamic therapy outcome. *J Appl Phys* 2009;105:1020381-7.
27. Ferraz RCMC, Ferreira J, Menezes PFC, Sibata CH, Castro-E-Silva O, Bagnato VS. Determination of Threshold Dose of photodynamic Therapy to Measure Superficial Necrosis. *Photomed Laser Surg* 2009;27:93-9.
28. Pratavieira S, Santos PLA, Menezes PFC, Kurachi C, Sibata CH, Jarvi MT, Wilson BC, Bagnato VS. Phototransformation of Hematoporphyrin in Aqueous solution: Anomalous Behavior at low Oxygen concentration. *Laser Phys* 2009;19:1263-7.
29. Mima EG, Pavarina AC, Dovigo LN, Vergani CE, Costa CA, Kurachi C, Bagnato VS. Susceptibility of *Candida albicans* to photodynamic therapy in a murine model of oral candidosis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2010;109:392-401.
30. Garcez AS, Nuñez SC, Hamblin MR, Ribeiro MS. Antimicrobial effects of photodynamic therapy on patients with necrotic pulps and periapical lesion. *J Endod*. 2008;34.2:138-42.
31. Bhatti M, Macrobert A, Meghji S, Henderson B, Wilson M. Effect of dosimetric and physiological factors on the lethal photosensitization of *Porphyromonas gingivalis* in vitro. *Photochem Photobiol B* 1997;65:1026-31.
32. Wilson M. Lethal photosensitization of oral bacteria and its potential application in the photodynamic therapy or oral infections. *Photochem Photobiol* 2004;3:412-8.
33. Tardivo JP, Giglio AD, Oliveira CS, Gabrielli DS, Junqueira HC, Tada DB, et al. Methylene blue in photodynamic therapy: from basic mechanisms to clinical applications. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2005;2:1-17.
34. Pereira CA. Efeitos da terapia fotodinâmica in vitro em biofilmes formados por *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus mutans* [Dissertação Mestrado]. São José dos Campos: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2009.
35. Fimple JL, Fontana CR, Foschi F, Ruggiero K, Song X, Pagonis TC, Tanner AC, Kent R, Doukas AG, Stashenko PP, Soukos NS. Photodynamic treatment of endodontic polymicrobial infection in vitro. *J Endod* 2008;34:728-34.
36. Foschi F, Cavrini F, Montebugnoli L, Stashenko P, Sambri V, Prati C. Detection of bacteria in endodontic samples by polymerase chain reaction assays

and association with defined clinical signs in Italian patients. *Oral Microbiol Immunol* 2005;20:289-95.

37. Wikene KO, Hegge AB, Bruzell E, Tønnesen HH. Formulation and characterization of lyophilized curcumin solid dispersions for antimicrobial photodynamic therapy (aPDT): studies on curcumin and curcuminoids LII. *Drug Dev Ind Pharm* 2015 41:969-77.

38. Neelakantan P, Cheng CQ, Ravichandran V, Mao T, Sriraman P, Sridharan S, Subbarao C, Sharma S, Kishen A. Photoactivation of curcumin and sodium hypochlorite to enhance antibiofilm efficacy in root canal dentin. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2014. pii: S1572-1000(14)00136-7.

39. Wang Z, Zhang Q, Yuan L, Wang S, Liu L, Yang X, Li G, Liu D. The effects of curcumin on depressive-like behavior in mice after lipopolysaccharide administration. *Behav Brain Res* 2014 1;274:282-90.

40. Brandi G, Tavolari S, Guarnieri T, Di Marco M, Paterini P, Macchini M, Di Girolamo S, Papi A, De Rosa F, Biasco G. Antiprotease strategy in pancreatic cancer treatment: emergence from a preclinical study. *Pancreas* 2014;43:53-63.

41. Wilson M, Dobson J, Harvey W. Sensitization of oral bacteria to killing by low-power laser radiation. *Curr Microbiol* 1992;25:77-81.

42. Dobson J, Wilson M. Sensitization of oral bacteria in biofilms to killing by light from a low-power laser. *Arch Oral Biol* 1992;7:883-7.

43. Sakar S, Wilson M. Lethal photosensitization of bacteria in subgingival plaque from patients with chronic periodontitis. *J Periodont Res* 1993;28:204-10.

44. Fontana CR, Abernethy AD, Som S, Ruggiero K, Doucette S, Marcantonio RC, Boussios CI, Kent R, Goodson JM, Tanner AC, Soukos NS. The antibacterial effect of photodynamic therapy in dental plaque-derived biofilms. *J Periodontal Res*. 2009;44:751-9.

45. Cobb CM, Low SB, Coluzzi DJ. Lasers and the treatment of chronic periodontitis. *Dent Clin North Am* 2010;54:35-53.

46. Jori G, Brown SB. Photosensitized inactivation of microorganisms. *Photochem Photobiol Sci* 2004;3:403-5.

47. Wood S, Metcalf D, Devine D, Robinson C. Erythrosine is a potential photosensitizer for the photodynamic therapy of oral plaque biofilms. *J Antimicrob Chemother* 2006;57:680-4.

48. Munin E, Giroldo LM, Alves LP, Costa MS. Study of germ tube formation by *Candida albicans* after photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT). *J Photochem Photobiol B* 2007;88:16-20.
49. Müller P, Guggenheim B, Schmidlin PR. Efficacy of gasiform ozone and photodynamic therapy on a multispecies oral biofilm in vitro. *Eur J Oral* 2007;115:77-80.
50. Seal GJ, Ng YL, Spratt D, Bhatti M, Gulabivala K. An in vitro comparison of the bactericidal efficacy of lethal photosensitization or sodium hypochlorite irrigation on *Streptococcus intermedius* biofilms in root canals. *Int Endod J* 2002;35:268-74.
51. Garcez AS, Ribeiro MS, Tegos GP, Núñez SC, Jorge AOC, Hamblin MR. Antimicrobial photodynamic therapy combined with conventional endodontic treatment to eliminate root canal biofilm infection. *Lasers Surg Med* 2007;39:59-66.
52. Teichert MC, Jones JW, Usacheva MN, Biel MA. Treatment of oral candidiasis with methylene blue-mediated photodynamic therapy in an immunodeficient murine model. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002;93:155-60.
53. Soukos NS, Chen PS, Morris JT, Ruggiero K, Abernethy AD, Som S, Foschi F, Doucette S, Bammann LL, Fontana CR, Doukas AG, Stashenko PP. Photodynamic therapy for endodontic disinfection. *J Endod* 2006;32:979-84.
54. Usacheva MN, Teichert MC, Sievert CE, Biel MA. Effect of  $Ca_2^+$  on the photobactericidal efficacy of methylene blue and toluidine blue against Gram-negative bacteria and the dye affinity for lipopolysaccharides. *Lasers Surg Med*. 2006;38:946-54.
55. Segundo ASG. Laser em baixa intensidade associado à fotossensibilizador para redução bacteriana intra-canal comparado ao controle químico [Dissertação Mestrado]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2002.
56. Gonçalves L. Efeito de fotoativadores utilizados na irradiação laser intra-canal [Dissertação Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo; 2005.
57. Garcez AS, Nuñez SC, Hamblin MR, Ribeiro MS. Antimicrobial effects of photodynamic therapy on patients with necrotic pulps and periapical lesion. *J Endod*. 2008 Feb;34(2):138-42.
58. Pagonis TC, Chen J, Fontana CR, Devalapally H, Ruggiero K, Song X, Foschi F, Dunham J, Skobe Z, Yamazaki H, Kent R, Tanner AC, Amiji MM, Soukos NS.

Nanoparticle-based endodontic antimicrobial photodynamic therapy. *J Endod* 2010;36:322-8.

59. Garcez AS, Núñez SC, Lage-Marques JL, Jorge AOC, DDS, Ribeiro MS. Efficiency of NaOCl and laser-assisted photosensitization on the reduction of *Enterococcus faecalis* in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;102:93-8.

60. Foschi F, Fontana CR, Ruggiero K, Riahi R, Vera A, Doukas AG, Pagonis TC, Kent R, Stashenko PP, Soukos NS. Photodynamic inactivation of *Enterococcus faecalis* in dental root canals in vitro. *Lasers Surg Med* 2007;39:782-7.

61. Fonseca MB, Junior PO, Pallota RC, et al. Photodynamic therapy for root canals infected with *Enterococcus faecalis*. *Photomed Laser Surg* 2008;26:209-13.

62. Xu Y, Young MJ, Battaglino RA, Morse LR, Fontana CR, Pagonis TC, Kent R, Soukos NS. Endodontic antimicrobial photodynamic therapy: safety assessment in mammalian cell cultures. *J Endod* 2009;35:1567-72.

63. Souza LC, Brito PR, de Oliveira JC, Alves FR, Moreira EJ, Sampaio-Filho HR, Rôças IN, Siqueira JF Jr. Photodynamic therapy with two different photosensitizers as a supplement to instrumentation/irrigation procedures in promoting intra-canal reduction of *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2010;36:292-296.

64. Terapia Fotodinâmica em Odontologia. Site MM Optics. <http://www.mmo.com.br/pt/index.php?id=18>, 2010.

65. Nunes MR, Mello I, Franco GC, de Medeiros JM, Dos Santos SS, Habitante SM, Lage-Marques JL, Raldi DP. Effectiveness of Photodynamic Therapy Against *Enterococcus faecalis*, With and Without the Use of an Intracanal Optical Fiber: An In Vitro Study. *Photomed Laser Surg*. 2011 Jul 26. [Epub ahead of print].

66. Rios A, He J, Glickman GN, Spears R, Schneiderman ED, Honeyman AL. Evaluation of Photodynamic Therapy Using a Light-emitting Diode Lamp against *Enterococcus faecalis* in Extracted Human Teeth. *J Endod*. 2011 Jun;37:856-9.

67. Ng R, Singh F, Papamanou DA, Song X, Patel C, Holewa C, Patel N, Klepac-Ceraj V, Fontana CR, Kent R, Pagonis TC, Stashenko PP, Soukos NS. Endodontic photodynamic therapy ex vivo. *J Endod*. 2011;37:217-22.

68. Bouillaguet S, Wataha JC, Zapata O, Campo M, Lange N, Schrenzel J. Production of reactive oxygen species from photosensitizers activated with visible light sources available in dental offices. *Photomed Laser Surg*. 2010;28:519-25.

69. Rastelli ANS, Tribioli JT, Jacomassi DP, Bagnato VS. Color changes of dental composite resin and dental structure after immersion in photosensitizer based on curcumin. *Laser Physics*; 2010;19:10-9.
70. Pileggi G, Wataha JC, Girard M, Grad I, Schrenzel J, Lange N, Bouillaguet S. Blue light-mediated inactivation of *Enterococcus faecalis* in vitro. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2013 May;10(2):134-40. doi: 10.1016/j.pdpdt.2012.11.002. Epub 2012 Dec 5.
71. Yildirim C, Karaarslan ES, Ozsevik S, Zer Y, Sari T, Usumez A. Antimicrobial efficiency of photodynamic therapy with different irradiation durations. *Eur J Dent*. 2013 Oct;7(4):469-73. doi: 10.4103/1305-7456.120677.
72. Xhevdet A, Stubljar D, Kriznar I, Jukic T, Skvarc M, Veranic P, Ihan A. The disinfecting efficacy of root canals with laser photodynamic therapy. *J Lasers Med Sci*. 2014;5(1):19-26.
73. Susila AV, Sugumar R, Chandana CS, Subbarao CV. Combined effects of photodynamic therapy and irrigants in disinfection of root canals. *J Biophotonics*. 2015 Aug 3. doi: 10.1002/jbio.201500112. [Epub ahead of print].
74. Sivieri-Araujo G. Influência de diferentes soluções irrigadoras associadas à terapia fotodinâmica: estudo in vitro e in vivo. [Projeto de Pós-Doutorado - FAPESP]. Araçatuba: Faculdade de Odontologia de Araçatuba, UNESP; 2012-2014.
75. Gomes-Filho JE, Sivieri-Araujo G, Cintra LTA, Dezan Junior E, Bagnato VS, Oliveira SHP. Evaluation of Photodynamic therapy with Curcumin on Fibroblast Viability and Cytokine Production. 2016 Marc;13:97-100,doi:10.1016/j.pdpdt.2016.01.007.
76. Sivieri-Araujo G, Gomes-Filho JE, Cintra LTA, Dezan Junior E, Kurachi K, Oliveira SHP, Bagnato VS. Rat tissue reaction and cytokine production induced by photodynamic therapy and irrigating solutions 2017 Jun;18:315-318.doi 10.1016/j.pdpdt.2017.04.002.Epub 2017 apr 5.