



**CATOLICA**  
**FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA**

---

VISEU

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE DIFERENTES  
FOTOSENSIBILIZADORES NA DESINFEÇÃO INTRACANAL EM  
ENDODONTIA: REVISÃO SISTEMÁTICA DE LITERATURA**

Dissertação apresentada à Universidade Católica Portuguesa para  
obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Por:

Rafael de Castro Pereira

Viseu, 2023





**CATOLICA**  
**FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA**

---

VISEU

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE DIFERENTES  
FOTOSENSIBILIZADORES NA DESINFEÇÃO INTRACANAL EM  
ENDODONTIA: REVISÃO SISTEMÁTICA DE LITERATURA**

Dissertação apresentada à Universidade Católica Portuguesa para  
obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Por:

Rafael de Castro Pereira

**Orientadora:** Professora Doutora Rita Noites

**Co-orientadores:** Doutora Ana Peixoto e Professor Doutor Miguel  
Cardoso

Viseu, 2023







# **DEDICATÓRIA**

**À minha família que esteve ao meu lado  
durante este longo período.**

## **AGRADECIMENTOS**

**À minha Orientadora Profa. Dra. Rita Noites e à Co-orientadora Profa. Dra. Ana Peixoto, pela paciência e disponibilidade demonstrada a minha pessoa.**

**À minha esposa, Taila, por ter me apoiado neste novo projeto, que envolve toda a família.**

**Aos meus filhos, Lucas e Miguel, que muitas vezes ficaram sem a minha presença.**





## RESUMO

**Introdução:** A terapia fotodinâmica, uma terapia não invasiva que inclui a combinação de um fotossensibilizador, oxigênio e uma fonte de luz, é descrita pela sua ação antimicrobiana promissora que pode eliminar os microrganismos presentes nas infecções endodônticas, considerada como opção prometedora aos protocolos convencionais de irrigação do tratamento endodôntico. O objetivo deste estudo foi identificar o benefício no uso de agentes fotossensibilizadores para melhoria da atividade antimicrobiana em dentes com infecção intra-canal, quando comparado ao método de desinfecção tradicional.

**Material e métodos:** Revisão sistemática realizada através da metodologia PRISMA, de acordo com os critérios PICO, para a questão de investigação. A pesquisa foi efetuada nas bases de dados PubMed® e Web of Science® de estudos/artigos, de acordo com os critérios de inclusão definidos. A avaliação da qualidade dos estudos incluídos foi feita de forma independente por dois investigadores. Este procedimento foi suportado com o preenchimento do questionário de qualidade *Newcastle - Ottawa Quality Assessment Scale*.

**Resultados:** Dos 81 registos obtidos através da pesquisa nos motores de busca, foram selecionados 7 artigos. Os resultados obtidos indicam que a terapia fotodinâmica antimicrobiana revela ser uma abordagem adjuvante, conservadora e não seletiva de eliminação bacteriana, utilizada para melhorar a desinfecção dos canais radiculares sem induzir resistência bacteriana. Oferece múltiplas capacidades que podem ser consideradas para a desinfecção do sistema de canais radiculares com perspectivas futuras no *design* e desempenho de plataformas nanométricas. Esta modalidade terapêutica reduziu as contagens bacterianas em grande parte dos estudos, sobretudo quando utilizada como adjuvante da técnica endodôntica convencional para tratar infecções refratárias. No entanto, os seus efeitos no biofilme bacteriano *in vitro* não foram quantificados de forma exata o que se deveu aos vieses encontrados nos estudos considerados.

**Conclusão:** A terapia fotodinâmica antimicrobiana é uma das terapias adjuvantes desenvolvidas para melhorar a eficácia da desinfecção dos canais radiculares, em casos de infecções orais e microrganismos resistentes. Todavia, a taxa de sucesso tem implícitos fatores, entre outros, o tipo de fotossensibilizador, a sua concentração, o tempo de irradiação e a difusão usada.

**Palavras-chave:** Atividade antibacteriana; Terapia fotodinâmica antimicrobiana; Fotossensibilizadores; Endodontia.

## ABSTRACT

**Introduction:** Photodynamic therapy, a non-invasive approach involving the combination of a photosensitizer, oxygen, and a light source, is described as a promising antimicrobial therapy that can eliminate microorganisms present in endodontic infections. It is considered a promising alternative to conventional irrigation protocols in endodontic treatment. The aim of this study was to identify the benefits of using photosensitizing agents to enhance the antimicrobial activity in teeth with intra-canal infection, when compared to traditional disinfection methods.

**Materials and Methods:** A systematic review was conducted following the PRISMA methodology and adhering to the PICO criteria for the research question. The search was performed in the PubMed® and Web of Science® databases for studies/articles published, based on the predefined inclusion criteria. The quality assessment of the included studies was independently conducted by two researchers. This process was supported by completing the Newcastle-Ottawa Quality Assessment Scale questionnaire.

**Results:** Out of the 81 records obtained from the search in the search engines, seven articles were selected. The obtained results indicate that antimicrobial photodynamic therapy proves to be an adjunctive, conservative, and non-selective approach for bacterial elimination, used to enhance root canal disinfection without inducing bacterial resistance. It offers multiple capabilities that can be considered for disinfection of the root canal system with future prospects in the design and performance of nanoscale platforms. This therapeutic modality reduced bacterial counts in the majority of studies, especially when used as an adjunct to conventional endodontic techniques to treat refractory infections. However, the effects on bacterial biofilm in vitro were not accurately quantified due to biases in the analyzed studies.

**Conclusion:** Antimicrobial photodynamic therapy is one of the adjunctive therapies developed to improve the effectiveness of root canal disinfection in cases of oral infections and resistant microorganisms. However, the success rate is influenced by various factors, including the type of photosensitizer, its concentration, irradiation time, and the technique used for diffusion.

**Keywords:** Antibacterial activity; Antimicrobial photodynamic therapy; Photosensitizers; Endodontics





# ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO .....	1
1.1 IMPORTÂNCIA DA DESINFEÇÃO NO TRATAMENTO ENDODÔNTICO .....	3
1.2 MICROBIOLOGIA DAS INFEÇÕES ENDODÔNTICAS.....	5
1.3. CARACTERÍSTICAS DA DESINFEÇÃO DO TRATAMENTO ENDODÔNTICO .....	6
1.3.1. HIPOCLORITO DE SÓDIO.....	6
1.3.2. CLOREXIDINA.....	7
1.4. TERAPIA FOTODINÂMICA .....	7
1.5 TIPOS DE LUZ E FOTOSSENSIBILIZADORES .....	12
1.5.1 AGENTES FOTOSSENSIBILIZADORES .....	14
1.6 TERAPIA FOTODINÂMICA COMO COADJUVANTE DO TRATAMENTO.....	16
1.6.1 VANTAGENS E DESVANTAGENS NA ENDODONTIA .....	16
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	20
2.1. FORMULAÇÃO DO PROBLEMA.....	22
2.2 PESQUISA E SELEÇÃO DOS ESTUDOS .....	22
2.3 DEFINIÇÃO DOS CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO .....	23
2.4 ANÁLISE DOS ESTUDOS ENCONTRADOS .....	23
2.5 EXTRAÇÃO DOS DADOS.....	24
2.6. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS ESTUDOS .....	24
2.7. SÍNTESE DOS DADOS E AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA EVIDÊNCIA... ..	25
3. RESULTADOS .....	26
4. DISCUSSÃO .....	34
5. CONCLUSÃO.....	42
6. BIBLIOGRAFIA.....	46



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Diagrama de Jablonski modificado do mecanismo de ação da aTFD10	
<b>Figura 2.</b> Estruturas químicas de fotossensibilizadores típicos de tetrapirrólicos	11
<b>Figura 3.</b> Estrutura química geral de uma porfirina, clorina e bacterioclorina .....	14
<b>Figura 4.</b> Fluxograma PRISMA com dados de pesquisa .....	25



## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Questão de investigação PICO .....	22
<b>Tabela 2</b> - Síntese dos dados da avaliação de qualidade dos estudos.....	24
<b>Tabela 3</b> - Síntese dos resultados dos estudos incluídos .....	29



## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1.</b> Número de dentes por estudo.....	28
<b>Gráfico 2.</b> Comprimento da onda da fonte de luz .....	28
<b>Gráfico 3.</b> Fotossensibilizador .....	29



## ÍNDICE DE SIGLAS E ACRÓNIMOS

aTFD - Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana

EDTA - Ácido etilenodiamino tetra-acético

FT-IR - *Fourier transform infrared spectroscopy*,

ICG - indocianina verde

LED - Lasers de Díodo

MB - Azul de metileno

Met - metformina

NaOCl - Hipoclorito de sódio

N-CUR - Nanocurcumina

NiTi - Níquel-Titânio

nm - nanometro

PACT – Quimioterapia fotodinâmica antimicrobiana

PDI - Inativação fotodinâmica

PICO - Population (P); Intervention (I); Comparison (C); Outcome (O)

PS – Fotossensibilizador

rGO-Cur - Grafeno reduzido-curcumina

ROS - Espécies reativas de oxigênio

SEM - *Scanning electron microscope*

TER - Tratamento endodôntico radical

XRD - Difração de raios X





## **1. INTRODUÇÃO**



## 1.1 IMPORTÂNCIA DA DESINFEÇÃO NO TRATAMENTO ENDODÔNTICO

Os tratamentos das patologias endodônticas têm sido praticados desde 1928 e a taxa de sucesso aumentou exponencialmente ao longo dos anos devido a vários avanços no campo da microbiologia. A infecção endodôntica é a infecção do sistema de canais radiculares dentários e o principal agente etiológico da periodontite apical. Vários fatores químicos e físicos induzem a inflamação perirradicular e as evidências científicas indicam que a eliminação dos microrganismos dos canais radiculares infetados se assume como prioritária em Endodontia. O objetivo do tratamento endodôntico é erradicar a infecção, prevenir que os microrganismos infetem ou reinfetem a raiz e/ou os tecidos perirradiculares. Assim, uma compreensão completa da microbiota endodôntica associada a diferentes formas de doença é a base para o sucesso do tratamento endodôntico. Embora os avanços técnicos ocorridos nos últimos anos no que diz respeito aos instrumentos e ligas de Níquel-Titânio (NiTi), existem casos em que a infecção persiste devido às infecções secundárias ou a persistência dos microrganismos no interior do canal radicular após o tratamento endodôntico que pode levar ao insucesso do mesmo. <sup>(1)</sup>

A principal etiologia de infecção pulpar e periapical é a existência de bactérias no interior da câmara pulpar e canal radicular. Como tal, o tratamento endodôntico tem como objetivo *major* a eliminação da microflora e do tecido pulpar inflamado do canal radicular, bem como evitar e prevenir a periodontite apical <sup>(2)</sup>. O biofilme bacteriano é constituído por células individuais e micro-colónias, embebidas numa matriz de exopolímero altamente hidratada <sup>(2)</sup>. Chávez de Paz *et al.* <sup>(3)</sup> isolou 248 estirpes bacterianas em canais radiculares, sendo as bactérias Gram-positivas as mais prevalentes (85%) e determinou que as bactérias Gram-positivas no sistema de canais radiculares podem sobreviver mesmo após a limpeza e desinfeção do canal radicular. Os microrganismos vivem protegidos das ameaças ambientais pela estrutura do biofilme, pelo que as infecções persistentes dependem não só da robustez dos organismos nos locais infetados, mas também da sua capacidade de adaptar a sua fisiologia às novas condições ambientais estabelecidas pelo tratamento <sup>(4)</sup>.

É quase impossível que ocorra a esterilização do sistema de canais radiculares, mesmo com os instrumentos atuais, soluções irrigadoras e diferentes

técnicas de irrigação. Portanto, o que se procura no tratamento dos canais radiculares é a diminuição da carga bacteriana em níveis coadunáveis com a cicatrização do tecido perirradicular <sup>(4)</sup>. O uso de agentes químicos durante a instrumentação para uma completa desinfecção de todo o sistema de canais radiculares é primordial para que se alcance o sucesso no tratamento endodôntico. A irrigação é complementar à instrumentação para simplificar e contribuir para a supressão de microrganismos e do tecido pulpar <sup>(5)</sup>. Devido à complexa anatomia do canal radicular, o uso de várias técnicas de instrumentação por si só não é eficaz na completa eliminação dos microrganismos. O hipoclorito de sódio (NaOCl), um composto halogenado, é usado frequentemente para irrigar o canal radicular durante os tratamentos endodônticos. O NaOCl é conhecido pela sua ação antibacteriana, capacidade proteolítica e de dissolução e propriedades de desbridamento. O NaOCl, no entanto, pode alterar a composição da dentina e, portanto, a sua interação com as resinas adesivas usadas para unir os materiais restauradores à dentina tratada <sup>(5)</sup>. A clorexidina é uma solução com forte efeito bactericida, mas a sua capacidade de dissolver a matéria orgânica e o biofilme é limitada <sup>(6)</sup>. Foi demonstrado que a ativação do irrigante melhora o efeito da irrigação <sup>(6)</sup>. A irrigação ultrassônica do sistema de canais radiculares tem sido estudada extensivamente com bons resultados. No entanto, existe desacordo quanto à eficácia relativa da ativação ultrassônica para erradicar completamente os microrganismos <sup>(6)</sup>.

A eliminação de bactérias do sistema de canais radiculares consiste numa etapa essencial no tratamento endodôntico, sendo um dos seus objetivos a eliminação de bactérias do sistema de canais e a prevenção da contaminação. A desinfecção do sistema de canais radiculares, como parte do tratamento endodôntico, é fundamental para reduzir o número de bactérias dentro do canal radicular e ajudar a controlar a doença periapical. <sup>(6,7)</sup>.

Uma estratégia que pode levar a um melhor tratamento antimicrobiano é a aplicação da terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT), que envolve o uso de um fotossensibilizador químico ou um corante fotoativado não tóxico [fotossensibilizador (PS)], luz visível e oxigénio reativo. A aPDT baseia-se na energia (absorvida na forma de luz via fotossensibilizador intracelular) transferida para as moléculas de oxigénio produzindo mediações extremamente reativas, como oxigénio singlete e superóxido <sup>(8)</sup>.

Assim sendo, parece-nos ainda pertinente investigar novos produtos e/ou protocolos terapêuticos que possam ser coadjuvantes no controlo da infeção dos canais radiculares. Nesse sentido a aTFD tem vindo a ser estudada e aplicada como coadjuvante na desinfeção intracanal em endodontia

Este trabalho tem como objetivo, através de uma revisão sistemática da literatura, descrever e avaliar se diferentes PSs são eficazes na desinfeção em endodontia.

## 1.2 MICROBIOLOGIA DAS INFEÇÕES ENDODÔNTICAS

A cavidade oral é o *habitat* de elevadas taxas microbianas que evoluíram para coexistir em comunidades multiespecíficas neste ecossistema único. Pelo contrário, o tecido interno do dente, ou seja, a polpa dentária, é um tecido conjuntivo fisiologicamente estéril no qual qualquer invasão microbiana é um sinal patológico. Nas últimas décadas, tem sido dada uma ênfase substancial à compreensão da microbiologia das infeções endodônticas. Para desenvolver regimes de tratamento clinicamente eficazes no tratamento endodôntico radical (TER) e resistente a vários agentes antimicrobianos é necessária uma compreensão rigorosa da microbiologia das infeções endodônticas <sup>(9)</sup>.

O *Enterococcus Faecalis* (*E. faecalis*) é um microorganismo Gram positivo e anaeróbio facultativo, presente em 70% dos casos de insucesso do TER e resistente a vários agentes antimicrobianos, nomeadamente ao hidróxido de cálcio [Ca(OH)<sub>2</sub>], pois tem tolerância de pH até 11,5. Apresenta uma capacidade de se restabelecer mesmo após prolongado período de escassez de nutrientes, sendo a sua presença no momento da obturação dos canais radiculares, um agente que pode promover infeção. O *E. faecalis* é natural da microbiota intestinal e é raramente encontrado nas infeções endodônticas primárias, contudo, é isolado com muita frequência em pacientes com insucesso no tratamento <sup>(8)</sup>.

### 1.3. CARACTERÍSTICAS DA DESINFEÇÃO DO TRATAMENTO ENDODÔNTICO

A desinfecção do sistema tridimensional de canais radiculares com soluções antibacterianas é condição fundamental para o sucesso do tratamento endodôntico, assumindo-se como indispensável a remoção de todo o conteúdo infetado de forma a eliminar a infecção ou reduzi-la para se obter uma situação clínica aceitável. Como auxiliares no TER, temos as soluções irrigadoras. Substâncias essas que são desinfetantes e devem apresentar inúmeras vantagens, tais como: excelente solvência; baixa toxicidade; baixa tensão superficial; baixo custo; ser lubrificante; capacidade de desinfecção; amplo espectro antimicrobiano; inativação da endotoxinas <sup>(10)</sup>.

#### 1.3.1. HIPOCLORITO DE SÓDIO

O hipoclorito de sódio (NaOCl) é usado no tratamento endodôntico como coadjuvante químico do desbridamento mecânico do sistema de canais radiculares. É um bom irrigante uma vez que tem a capacidade de funcionar como lubrificante durante a preparação biomecânica dos canais radiculares, de dissolver os tecidos pulpare e os componentes orgânicos. O cloro livre libertado pelo NaOCl, sob a forma de íões hipoclorito, também lhe permite funcionar como um excelente agente antimicrobiano, sendo altamente alcalino (pH 11-12) e um forte agente oxidante das proteínas <sup>(11)</sup>. Possui ação antimicrobiana e em água, o NaOCl ioniza-se em Na e OCl. Entre os valores de pH 4 e 7, o íão cloro existe como ácido hipocloroso (HClO) enquanto, em pH acima de 9, é predominante o OCl. O HClO tem uma forte ação antibacteriana em comparação com o OCl devido à sua capacidade de interromper a fosforilação oxidativa e outras atividades associadas à membrana <sup>(12)</sup>. O HClO também exerce um rápido efeito inibitório na função mitocondrial e na síntese de DNA de bactérias. Além da sua ação antibacteriana, o NaOCl tem a capacidade de dissolver os remanescentes pulpare e o componente orgânico da dentina (ou seja, ação proteolítica inespecífica. Possui ainda a capacidade de neutralizar parcialmente os tecidos necróticos ou qualquer componente antigénico ou microbiano deixado no espaço do canal radicular e remover todos os remanescentes pulpare e pré-dentina

nas superfícies não instrumentadas. Tem como principais desvantagens a sua toxicidade, sabor e odor desagradável, capacidade de manchar tecidos assim como provocar a corrosão de objetos metálicos <sup>(12)</sup>.

### 1.3.2. CLOREXIDINA

A clorexidina é uma bis-biguanida catiónica com ampla atividade antibacteriana e atividade variada compreendendo bactérias gram-positivas e gram-negativas, leveduras, dermatófitos e alguns vírus lipofílicos. Altera a permeabilidade da membrana bacteriana, bem como neutraliza patógenos periodontais, como *Streptococcus aureus*, *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella intermedia*. O efeito do digluconato de clorexidina nas alterações cinéticas da membrana celular foi investigado com recurso à polarização de fluorescência do ácido n-(9-antroiloxi) esteárico com diferentes mobilidades rotacionais dependendo da posição de substituição da sonda na cadeia alifática fosfolipídica da membrana <sup>(13)</sup>. Em baixas concentrações (0,2%), as substâncias de baixo peso molecular, particularmente potássio e fósforo, vazam; em concentrações mais elevadas (2%), a clorexidina é bactericida, ocorrendo a precipitação do conteúdo citoplasmático resultando em morte celular <sup>(13, 14)</sup>. Importa referir que as suas vantagens comparativamente ao hipoclorito de sódio consistem na sua capacidade substantiva, na sua efetividade antimicrobiana e na baixa toxicidade. É o agente antimicrobiano mais eficaz, e o efeito clínico da clorexidina deve-se provavelmente às suas propriedades substantivas e antibacterianas. A literatura relata que a clorexidina é antiplaca, antigengivite, fungicida e eficaz tanto na prevenção como no tratamento da candidíase oral <sup>(13, 14)</sup>.

### 1.4. TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA (aTFD)

A aTFD é uma abordagem não invasiva que envolve um PS, uma luz visível de um comprimento de onda apropriado e a produção de espécies reativas de oxigénio (principalmente oxigénio singlete), que causa imediatamente fototoxicidade e conduz a danos bacterianos graves e à morte <sup>(15)</sup>. A sua eficácia sobre o *Streptococcus mutans* (uma bactéria Gram-positiva e a principal responsável pela

cárie dentária) foi demonstrada, tanto na fase de microrganismo livre como quando organizado em biofilmes <sup>(15-17)</sup>. A aTFD é capaz de reduzir fortemente o número de bactérias das superfícies dentárias colonizadas.

A aTFD para a inativação microbiana foi reportada em 1900 por Oscar Raab. Este estudante de Medicina Dentária demonstrou o efeito letal da acridina na *Paramecia caudatum* quando irradiada com luz e na presença de oxigénio. Este estudo mostrou ainda que os microrganismos que eram mantidos no escuro se mantiveram viáveis. Com o aparecimento dos antibióticos na década de 1940, esta terapêutica caiu em desuso. No entanto, com o aumento da resistência aos antibióticos dos microrganismos patogénicos, novos estudos se fizeram necessário <sup>(18)</sup>.

A ATFD utiliza um corante fotoativo (fPS) que, na presença de oxigénio, é ativado na exposição à luz de um comprimento de onda específico. A energia que é transferida do PS ativado para o oxigénio disponível dá origem ao oxigénio singlete e a radicais livres, que são espécies tóxicas de oxigénio. Estas espécies químicas altamente reativas podem danificar proteínas, lípidos, ácidos nucleicos e outros componentes celulares <sup>(18, 19)</sup>. A propriedade mais importante da aTFD é o facto de as bactérias presentes no sistema de canais radiculares não desenvolverem resistência à aTFD. É eficaz contra vírus, fungos e protozoários, mata as bactérias rapidamente e atua instantaneamente. A produção de calor durante a exposição é menor, sem efeitos secundários. Por este motivo, as aplicações da aTFD em medicina dentária estão a crescer rapidamente para várias modalidades de tratamento, como o tratamento do cancro oral, o tratamento do líquen plano oral, da leucoplasia e do cancro da cabeça e do pescoço, bem como o tratamento de infeções bacterianas e fúngicas. A aTFD, também conhecida como quimioterapia fotodinâmica antimicrobiana (PACT) ou fotoinativação microbiana (PDI) também tem sido eficaz no tratamento de infeções bacterianas, fúngicas, parasitárias e virais <sup>(18, 19)</sup>.

Em 2014 o economista O'Neil previu, no seu relatório a morte de 10 milhões de pessoas por ano (1 pessoa a cada 3 segundos) a partir do ano 2050 devido a resistência aos antibióticos. Nesse sentido, a partir da publicação deste relatório, tem havido um esforço mundial na tentativa de descobrir novas abordagens terapêuticas antibacterianas alternativas aos antibióticos <sup>(19)</sup>.

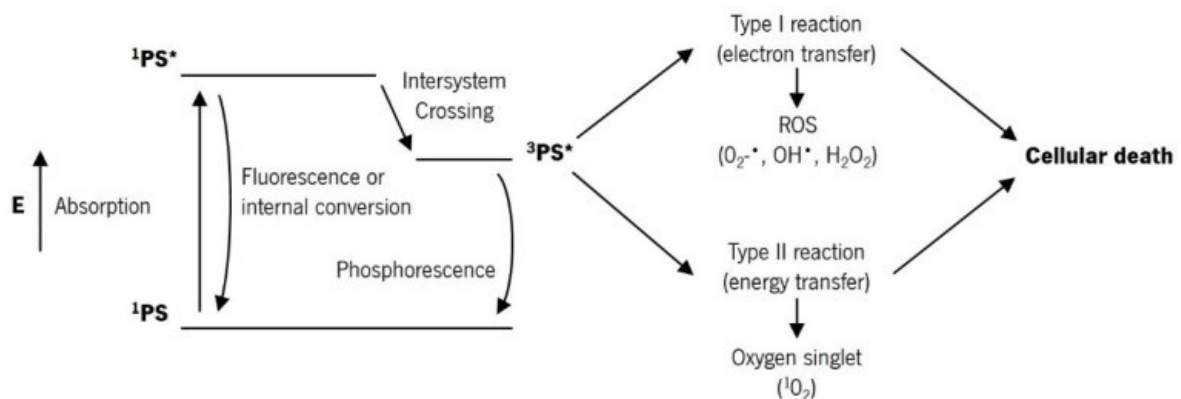
É neste contexto que a aTFD surge como alternativa ao uso de antibióticos. Como já foi anteriormente descrito, esta abordagem terapêutica envolve o uso de um PS que na presença de luz visível e oxigênio produz espécies reativas de oxigênio (ROS). Esta abordagem apresenta algumas vantagens quando comparada com o uso de antibióticos, como ser eficiente independentemente o perfil de resistência do microrganismo a antibióticos, não induz o desenvolvimento de resistência, mesmo após vários ciclos de tratamento e pode ser aplicado com eficácia contra bactérias de Gram-negativo e de Gram-positivo, sendo considerada mais eficaz contra bactérias de Gram-positivo <sup>(19-21)</sup>.

As primeiras fontes de luz que foram utilizadas na aTFD são as lâmpadas convencionais, que emitem luz policromática e incandescente, forte fonte de calor. O desenvolvimento do Laser de Díodo de luz monocromática e baixa intensidade veio facilitar a associação com os PSs. A dose de radiação emitida é facilmente calculada, controlada e foca no tratamento, sendo a sua transição através de fibra ótica, que recebem adaptações com microlentes e difusores para melhorar sua ação <sup>(20-21)</sup>.

Atualmente são usados Lasers de Díodo (LED), emissores no espectro de vermelho em baixa intensidade uma vez que são muito bem absorvidos pelos tecidos biológicos. Na aTFD, temos a ação, não por acréscimo de temperatura, mas por reações fotoquímicas entre o agente emissor, fotossensibilizador e o substrato. Uma fonte alternativa de luz para os PSs podem ser os LED, pois apresentam baixo componente térmico e luz monocromática com banda estreita de comprimento de onda, outra característica destes emissores de luz são: mecanismo espontâneo de radiação com pouca energia para geração da luz, apresenta largo espectro e maior divergência <sup>(21, 22)</sup>. O processo fotodinâmico que surge na aTFD compreende a absorção de um fóton no comprimento de onda adaptado por parte do PS para uma reação na qual se obtém a liberação de oxigênio <sup>(23)</sup>.

No que diz respeito ao mecanismo de ação da aTFD, esta baseia-se na combinação de três fatores: PS - luz com um comprimento de onda específico e a presença de oxigênio molecular. A reação fotodinâmica inicia-se com a absorção da luz pelo PS no tecido alvo, o que desencadeia uma série de reações fotoquímicas que levam à geração de ROS. Após a absorção da luz, o PS passa

do seu estado fundamental (estado singleto,  $^1PS$ ) para um estado singleto de curta duração, excitado eletronicamente (alguns nanossegundos ou menos,  $^1PS^*$ ). Este estado excitado é muito instável e pode decair para o estado fundamental, perdendo o excesso de energia através da emissão de luz (fluorescência) ou da produção de calor (conversão interna) <sup>(24)</sup>. No entanto, o estado singleto pode sofrer um cruzamento intersistemas e evoluir para um estado excitado eletronicamente mais estável e de longa duração (estado tripleto,  $^3PS^*$ ), através da conversão de spin do elétron na orbital de maior energia <sup>(24)</sup>. Este estado excitado pode decair para o estado fundamental através da emissão de luz (fosforescência) ou sofrer dois tipos de reações <sup>(25)</sup>. O estado tripleto tem um tempo de vida mais longo (até dezenas de microssegundos), o que permite tempo suficiente para a transferência direta de energia para o oxigênio molecular ( $O_2$ ). Este passo de transferência de energia leva à formação de oxigênio singleto ( $^1O_2$ ) e ao estado fundamental do PS, denominado de reação do tipo II <sup>(26)</sup>. O oxigênio singleto é extremamente reativo e pode interagir com um grande número de substratos biológicos, induzindo danos oxidativos e, em última análise, a morte celular <sup>(26)</sup>. A reação do tipo I também pode ocorrer se o estado excitado do PS reagir diretamente com um substrato, como a membrana celular ou uma molécula, e sofrer abstração de átomos de hidrogênio ou reações de transferência de elétrons, para produzir radicais livres e íons radicais. Estes radicais reagem com o oxigênio molecular, produzindo ROS, como  $O_2^-$ ,  $OH^*$ , e  $H_2O_2$ , que produzem danos oxidativos que levam a lesões biológicas <sup>(26)</sup>.

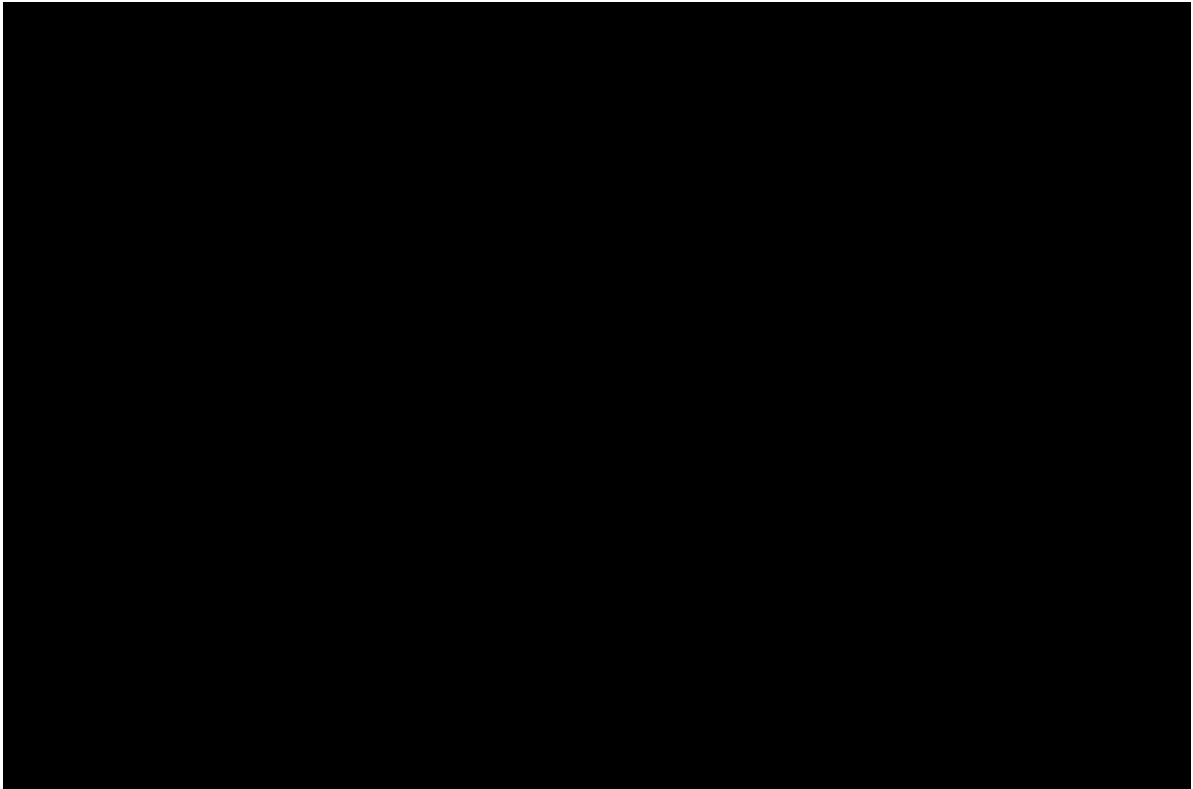


**Figura 1.** Diagrama de Jablonski modificado do mecanismo de ação da ATFD

Fonte: adaptado de Donnelly & McCarron <sup>(24)</sup>

Os principais tipos de fontes de luz empregadas na PDT são lasers, diodos emissores de luz e lâmpadas, cuja escolha depende da localização do alvo, espectro de absorção do fotossensibilizador usado e dose de luz necessária. Sob irradiação de luz apropriada, o composto fotossensibilizante não tóxico colocado no local alvo é ativado, sendo capaz de absorver e transferir elétrons, enquanto as moléculas de oxigênio encontradas *in situ* atuam como aceptores de elétrons (27).

A penetração da luz depende das propriedades óticas do tecido e do comprimento da onda da luz utilizada. Existe uma heterogeneidade entre os tecidos e mesmo dentro de um tecido. Esses locais de heterogeneidade (por exemplo, núcleos, membranas, entre outros) causam dispersão, reflexão, transmissão ou absorção de luz (27). Além disso, a água absorve a luz em comprimentos de onda mais longos, o que afeta a profundidade de penetração da luz no tecido. A hemoglobina e a melanina, que são corantes endógenos, absorvem a luz em comprimentos de onda mais curtos. Portanto, influenciam a penetração da luz (27). Tais resultados demonstraram que a luz da faixa espectral (a chamada “janela fototerapêutica”) é importante para o PDT. A “janela fototerapêutica” está entre 600 e 1.300 nm. Por outro lado, a luz dentro da faixa de comprimentos de onda entre 620 e 850 nm tem a capacidade mais penetrante para atingir a permeabilidade máxima do tecido. Acima de 850 nm, a luz não fornece energia suficiente necessária para ativar o PS, como resultado, o PS não pode gerar transferência de energia suficiente para seu estado tripleto para produzir oxigênio singleto. Em conclusão, a luz dentro da faixa de espectro de 620-850 nm atinge a penetração ideal nos tecidos e as aplicações de PDT (27).



**Figura 2.** Estruturas químicas de PSs típicos de tetrapirrólicos  
Fonte: St Denis & Hamblin <sup>(27)</sup>

## 1.5 TIPOS DE LUZ E FOTOSSENSIBILIZADORES

As primeiras fontes de luz usadas em aTFD foram lâmpadas convencionais, com emissão de luz não conexa e policromática, possuindo grande capacidade térmica associada <sup>(28)</sup>. A aTFD consiste na técnica cujo agente fotossensibilizante, designado PS, é, assim, despoletado através de uma luz de comprimento de onda próprio, dando origem à produção de oxigénio singlete, superóxidos e radicais livres (ROS), que funcionam como citotóxicos para as células alvo. <sup>(28)</sup>.

A administração eficaz do tratamento na PDT requer a coordenação da fonte de luz, do fotossensibilizador e do dispositivo de administração apropriado ao tecido alvo. Lasers, díodos emissores de luz (LEDs) e lâmpadas são os principais tipos de fontes de luz utilizadas para aplicações PDT. A escolha da fonte de luz depende do local alvo, do fotossensibilizador utilizado e da dose de luz a ser aplicada. A

geometria de áreas minimamente acessíveis também desempenha um papel na decisão do tipo de aplicador de luz <sup>(28)</sup>. Normalmente, os dispositivos baseados em fibra ótica são usados para fornecer a luz de tratamento próximo ao alvo. As propriedades óticas do tecido também afetam a distribuição da luz de tratamento que sofre dispersão e absorção no tecido. A maioria dos tecidos irá dispersar a luz, mas as áreas altamente pigmentadas irão absorver a luz, especialmente em comprimentos de onda curtos. Os *lasers* de Hélio-neon (He-Ne), como mostra a literatura científica, revelam notáveis resultados na diminuição microbiana de várias culturas de bactérias e fungos com uso do corante azul de toluidina e azul de metileno <sup>(28)</sup>. Pode, assim, emitir várias linhas na faixa visível e infravermelha, mas a maioria dos *lasers* disponíveis comercialmente são baseados na linha vermelha em 632,8 nm, com uma potência de vários *miliwatts*. Os *lasers* HeNe têm vindo a ganhar eficiência excepcionalmente baixa e sua saída cw não excede 100 mW. As suas aplicações são limitadas a tarefas de baixo consumo de energia <sup>(28)</sup>.

As interações fundamentais da luz com os tecidos incluem a reflexão, a refração, a dispersão e a absorção. A reflexão e a refração ocorrem na fronteira de dois meios com índice de refração diferente; são descritas pela lei de Fresnel e pela lei de Snell, respetivamente <sup>(29)</sup>. A dispersão leva à dispersão da luz e à eventual redução da sua intensidade. Dependendo do tamanho das partículas no tecido relativamente ao comprimento de onda da luz incidente, pode ser utilizado o formalismo de dispersão de Rayleigh ou de Mie para descrever o processo. O primeiro fornece uma boa aproximação para partículas pequenas ( $<\lambda/10$ , em que  $\lambda$  é o comprimento de onda da luz) e mostra uma secção transversal significativamente mais forte em comprimentos de onda mais curtos da luz, enquanto a última abordagem, quando aplicada a partículas de escala de comprimento de onda, mostra uma dependência mais complicada do comprimento de onda <sup>(29)</sup>. A dispersão inelástica (Raman e Brillouin) é negligenciável nas aplicações de aTFD e pode ser ignorada com segurança <sup>(30)</sup>. As principais moléculas altamente absorventes nos tecidos incluem a água, a oxihemoglobina, a desoxihemoglobina, a melanina e os citocromos <sup>(30)</sup>. Quando ocorre a absorção da luz, a radiação absorvida é principalmente convertida em calor pelo cromóforo absorvente no tecido. A dispersão e a absorção da luz nos tecidos são quantificadas pelo coeficiente de dispersão reduzido e o coeficiente de absorção <sup>(30)</sup>. Tanto a dispersão como a

absorção retiram energia a um feixe de luz que atravessa o meio, conduzindo à atenuação do feixe. Os diferentes tecidos apresentam uma vasta gama de coeficientes de atenuação dependentes do comprimento de onda e dependentes do comprimento de onda, o que afetará a penetração e a distribuição da luz no volume. A maior parte dos tecidos dispersará a luz, mas as áreas altamente pigmentadas absorverão a luz. A profundidade de penetração ótica (ou seja, a distância a que a intensidade da luz se reduz a 0,37 da intensidade inicial), no tecido é fortemente dependente do comprimento de onda,  $\delta < 0,5$  mm a 400-430 nm, 1 mm a 500 nm, 2-3 mm a 630 nm e 5-6 mm a 700-800 nm, devido ao facto de o conteúdo celular e os cromóforos no tecido terem características de dispersão e absorção dependentes do comprimento de onda <sup>(30)</sup>.

O *laser* de baixa intensidade e *lasers* de díodo, como formas não ionizantes de luz, são usados para fotobiomodulação, que tem benefícios consideráveis para alívio da dor, vasodilatação, cicatrização de feridas e proliferação celular. Os *lasers* de díodo, que emitem em espectro do vermelho em baixa intensidade, são bem absorvidos pelos tecidos biológicos. No que se refere à terapia fotodinâmica, os resultados alcançados não se devem pelo desenvolvimento da temperatura, mas devido às reações fotoquímicas entre o PS, luz e o substrato <sup>(29)</sup>. Neste âmbito, importa referir que cada elemento facultava uma diversidade de emissões díspares no espectro, que recaem na faixa espectral do ultravioleta ao infravermelho, sendo uma das possíveis classificações o modo como o laser executa tais emissões. Por conseguinte, existem *lasers* pulsáteis e *lasers* contínuos, cujas potências podem variar de forma significativa, ou seja, desde *miliwatts* até *kilowatts* de forma contínua, podendo, inclusive, chegar a *megawatts* em forma pulsátil <sup>(29)</sup>.

### 1.5.1 AGENTES FOTOSSENSIBILIZADORES

De modo a terem um efeito antimicrobiano, os PSs têm de expor picos de absorção próximos do comprimento de onda da luz usada, sem que apresentem toxicidade ao hospedeiro <sup>(31)</sup>. São muitos os compostos fotoativos naturais e sintéticos têm o potencial fotossensibilizante. No entanto, para erradicar microrganismos, os PSs mais estudados pertencem aos grupos xantenos

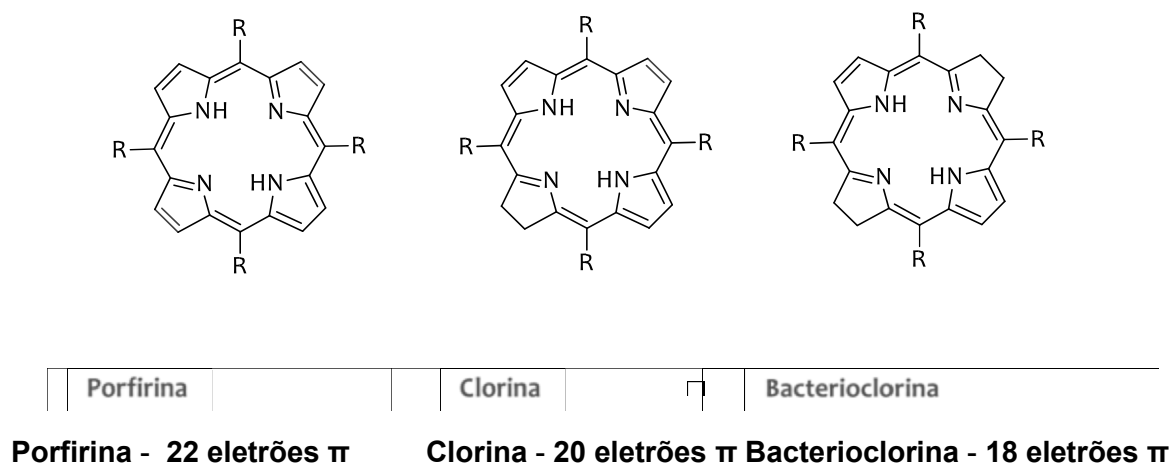
halogenados, fenotiazinas, acridinas e clorinas conjugadas. As condições ideais para um PS ideal consistem: inexistência de toxicidade e subprodutos tóxicos, de efeito mutagénico, acúmulo seletivo no tecido alvo, adaptação para administração tópica, baixo custo <sup>(31)</sup>, elevado coeficiente de absorção na região espectral da luz de excitação, estado triplete de energia adequada para possibilitar a transferência eficiente de energia para o oxigénio no estado primordial, elevado rendimento quântico do triplete e longa vida útil do triplete e alta fotoestabilidade <sup>(31)</sup>.

Para que se possa obter uma PDT com sucesso no que se refere aos objetivos antimicrobianos, é essencial escolher um PS não tóxico apropriado e eficiente, capaz de alta absorção no comprimento de luz utilizado. O papel do PDT na terapia endodôntica foi testado usando-se diferentes combinações de PS e fontes de luz e mostrou resultados divergentes. Mesmo quando o mesmo PS e a fonte de luz foram utilizados, a diversidade de protocolos de irradiação e variação de concentração de PS, tempo de irradiação e potências de luz dificultam a comparação entre os estudos <sup>(32, 33)</sup>. Os principais grupos de PS usados na PDT são derivados de hematoporfirina (620-650 nm), fenotiazinas (620-700 nm), cianina (600-805 nm), agentes fitoterápicos (550-700 nm) e ftalocianinas (660-700 nm) e cloros <sup>(32, 33)</sup>.

Os corantes mais estudados e usados na TFD são as fenotiazinas (compostos sintéticos não porfíricos) azul de metileno (MB) e azul de toluidina A curcumina, o principal constituinte da cúrcuma em pó que tem sido usada há séculos na medicina, como pigmento alimentar e como tempero, também foi usada recentemente na odontologia como PS para PDT <sup>(32,33)</sup>. As fenotiazinas apresentam-se mais eficazes contra espécies de microrganismos Gram-positivos. O MB tem sido usado em microrganismos da microbiota endodôntica. Em decorrência da sua natureza hidrofílica, por possuir baixo peso molecular e uma carga positiva, possibilita o acesso por meio dos canais de proteína-porina na membrana externa de bactérias Gram-negativas, com consequente interação sobretudo com as macromoléculas de lipopolissacarídeos aniónicas, agindo, deste modo, no processo de fotossensibilização <sup>(32, 33)</sup>.

Os macrociclos tetrapirrólicos são uma classe de moléculas que adicionam cor e são os pigmentos mais abundantes encontrados na natureza, cumprem funções bioquímicas amplamente diversas e são essenciais na maioria dos

organismos vivos conhecidos. Os membros mais conhecidos desse grupo de moléculas são os hemes, de cor vermelha, e as clorofilas, que são responsáveis pela cor verde, algas e algumas bactérias. Outros tetrapirróis de ocorrência natural são cobalamina (vitamina B12), siroheme, coenzima F430, heme d1 e as bilinas. As suas propriedades físico-químicas e a relativa facilidade para modelação estrutural despertaram a atenção da comunidade científica nos últimos anos, sobretudo porque possibilitam uma fácil inserção de grupos funcionais, metalação com distintos metais ou a diminuição de uma ou duas ligações duplas dos anéis pirrólicos, alcançando-se, assim, clorinas e bacterioclorinas, respetivamente (figura 3) <sup>(34)</sup>.



**Figura 3.** Estrutura química geral de uma porfirina, clorina e bacterioclorina

Fonte: Adaptado de Zhang et al. <sup>(34)</sup>

## 1.6 TERAPIA FOTODINÂMICA COMO COADJUVANTE DO TRATAMENTO

### 1.6.1 VANTAGENS E DESVANTAGENS NA ENDODONTIA

O crescimento significativo dos avanços científicos e tecnológicos no campo da odontologia tem resultado numa ampla gama de novas modalidades de tratamento. A PDT, com o referido anteriormente, é um método de tratamento

emergente e não invasivo, envolvendo fotossensibilizadores, luz de um comprimento de onda próprio e a criação de oxigênio singlete e ROS para eliminar células eucarióticas indesejadas ou microrganismos patogênicos. As evidências científicas reconhecem que a união de instrumentos mecânicos e a irrigação química são eficientes para a eliminação de microrganismos presentes. Contudo, o uso de técnicas mais aperfeiçoadas de desinfecção canal é indispensável. Tendo em conta que não há uma solução irrigante que compreenda todas as referidas características, devem conjugar-se a distintas técnicas e na aTFD têm sido encontradas determinadas vantagens <sup>(35)</sup>.

A aTFD tem-se revelado muito eficiente na desinfecção dos canais radiculares e como coadjuvante no tratamento endodôntico, possibilitando a aplicação de inferiores concentrações de hipoclorito de sódio e a redução dos seus resultados irritantes e tóxicos. Não existindo um protocolo no que se refere aos parâmetros a usar na aTFD e sabendo-se que as fontes de luz quer de *lasers* de baixa potência ou outra fonte não são completamente letais às bactérias que causam infecções endodônticas por si só, é imprescindível a ativação do agente PS para que ocorra a libertação de oxigênio <sup>(35)</sup>. Por conseguinte, aTFD tem potencial para aprimorar o tratamento endodôntico, todavia, são necessários mais estudos clínicos e laboratoriais para que se possam padronizar determinadas características da técnica, a saber: “concentração dos PSs, tipos de sensibilizadores, tempo de irradiação, comprimento de onda, com a finalidade de aumentar previsibilidade da eliminação dos microrganismos resistentes principalmente o *Enterococcus faecalis*”. <sup>(35)</sup>.

## 1.7 OBJETIVO

Verificar o benefício no uso de agentes PSs para melhoria da atividade antimicrobiana em dentes com infecção intra-canal, quando comparado ao método de desinfecção tradicional.

Mediante o objetivo delineados, formulou-se a seguinte questão de investigação:

- Existe benefício no uso de agentes PSs para a melhoria da atividade antimicrobiana em dentes com infecção intra-canal, quando comparado ao método de desinfecção tradicional?



## **2. MATERIAL E MÉTODOS**



A presente revisão seguiu as orientações da *Cochrane database of Systematic Reviews* enumeradas abaixo. A redação da revisão sistemática utilizou os critérios PRISMA - *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* <sup>(13)</sup>.

## 2.1. FORMULAÇÃO DO PROBLEMA

A forma mais comum para a definição desta questão é a sua divisão segundo o acrónimo PICO: Population (P); Intervention (I); Comparison (C); Outcome (O)

Desta forma, a questão de investigação que guiou esta revisão sistemática foi :

Existe benefício no uso de agentes PSs (I) para melhoria da atividade antimicrobiana (O) em dentes com infeção intra-canal (P) quando comparado ao método de desinfeção tradicional? (C) (Tabela 1).

**Tabela 1** - Questão de investigação PICO

P	Dentes com infeção intra-canal
I	Uso de agentes PSs
C	Desinfeção tradicional
O	Melhoria da atividade antimicrobiana

Como critério de exclusão artigos que não comparem com o método tradicional, ou seja, com o hipoclorito de sódio a diferentes concentrações.

## 2.2 PESQUISA E SELEÇÃO DOS ESTUDOS

Uma revisão sistemática deve ser objetiva e transparente, permitindo ser replicável quando necessário. O processo de pesquisa deve ser exaustivo e rigoroso para que possam ser encontrados estudos que respondam a nossa pergunta PICO. Também é importante ter critérios de inclusão e exclusão bem definidos a fim de facilitar a condução da seleção dos artigos de modo a responder a obter a resposta a pergunta e minimizar o risco de viés da revisão.

Os artigos foram pesquisados e selecionados através de plataformas digitais, nas seguintes bases de dados: *PubMed* e *Web of Science*.

Foram utilizadas as palavras-chaves: Macrocielo tetrapirrólico; Desinfecção; endodontia; Antimicrobiano; Terapia Fotodinâmica. Estas foram utilizadas como termos MeSH ou DeCS, juntamente com seus sinónimos, e também como termos livres (Entry Terms): "photosensitizing agents"[All Fields] OR "photosensitizing agents"[MeSH Terms] OR photosensitizing agents [Text Word]; "Tetrapyrrolic"[All Fields]; "disinfection"[MeSH Terms] OR Disinfection[Text Word]; "endodontics"[MeSH Terms] OR endodontics[Text Word]; "photochemotherapy"[MeSH Terms] OR Photodynamic Therapy[Text Word]. Foram empregues termos booleanos AND e OR de forma a combinar os termos livres e termos MeSH. A pesquisa decorreu em março de 2023, com a equação de pesquisa utilizada na *PubMed*: (disinfection)) AND (endodontics)) AND (photodynamic therapy) e na *Web of Science*: disinfection (All Fields) AND endodontics (All Fields) AND photodynamic therapy (All Fields).

### 2.3 DEFINIÇÃO DOS CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Foram incluídas publicações em inglês, estudos publicados entre os anos 2019 a 2023, artigos experimentais, estudos clínicos, estudos que avaliem o efeito dos diferentes PSs sobre o *E. Faecalis* em inglês e português, estudos que utilizam o hipoclorito de sódio em diferentes concentrações como comparação. Foram excluídos estudos de revisão sistemática com ou sem metanálise, estudos em animais e publicados noutros anos sem ser no intervalo estabelecido.

### 2.4 ANÁLISE DOS ESTUDOS ENCONTRADOS

De modo a selecionar os estudos, aplicaram-se os critérios de inclusão e exclusão. Primeiramente procedeu-se à exclusão dos artigos duplicados. De seguida, foram avaliados os títulos, bem como os resumos de todos os artigos, por dois investigadores independentes. Posteriormente, os artigos selecionados foram lidos na íntegra e eliminados aqueles que não cumpriam os requisitos dos critérios de inclusão, sendo registado o motivo da exclusão de cada um. Não foi necessária a intervenção de um terceiro investigador, uma vez que não ocorreu qualquer divergência.

## 2.5 EXTRAÇÃO DOS DADOS

Após a etapa de seleção dos estudos, os mesmos foram extraídos e transpostos para uma tabela do Microsoft® Excel, todas as informações relevantes para o estudo, designadamente: título do estudo, autores, desenho do estudo, ano de publicação, amostra, objetivo do estudo, tipo de PS, tipo/concentração de irrigante utilizado para comparação, e principais conclusões.

## 2.6. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS ESTUDOS

Procedeu-se à avaliação da qualidade dos estudos considerados, um processo realizado de forma independentemente por dois investigadores. Este procedimento foi suportado com respostas do questionário de qualidade Newcastle - *Ottawa Quality Assessment Scale*. Deste modo, ao texto completo de cada artigo aplicou-se a escala de avaliação da qualidade, para inclusão na presente revisão, sendo este um procedimento da extração de dados (Tabela 2).

**Tabela 2** - Síntese dos dados da avaliação de qualidade dos estudos

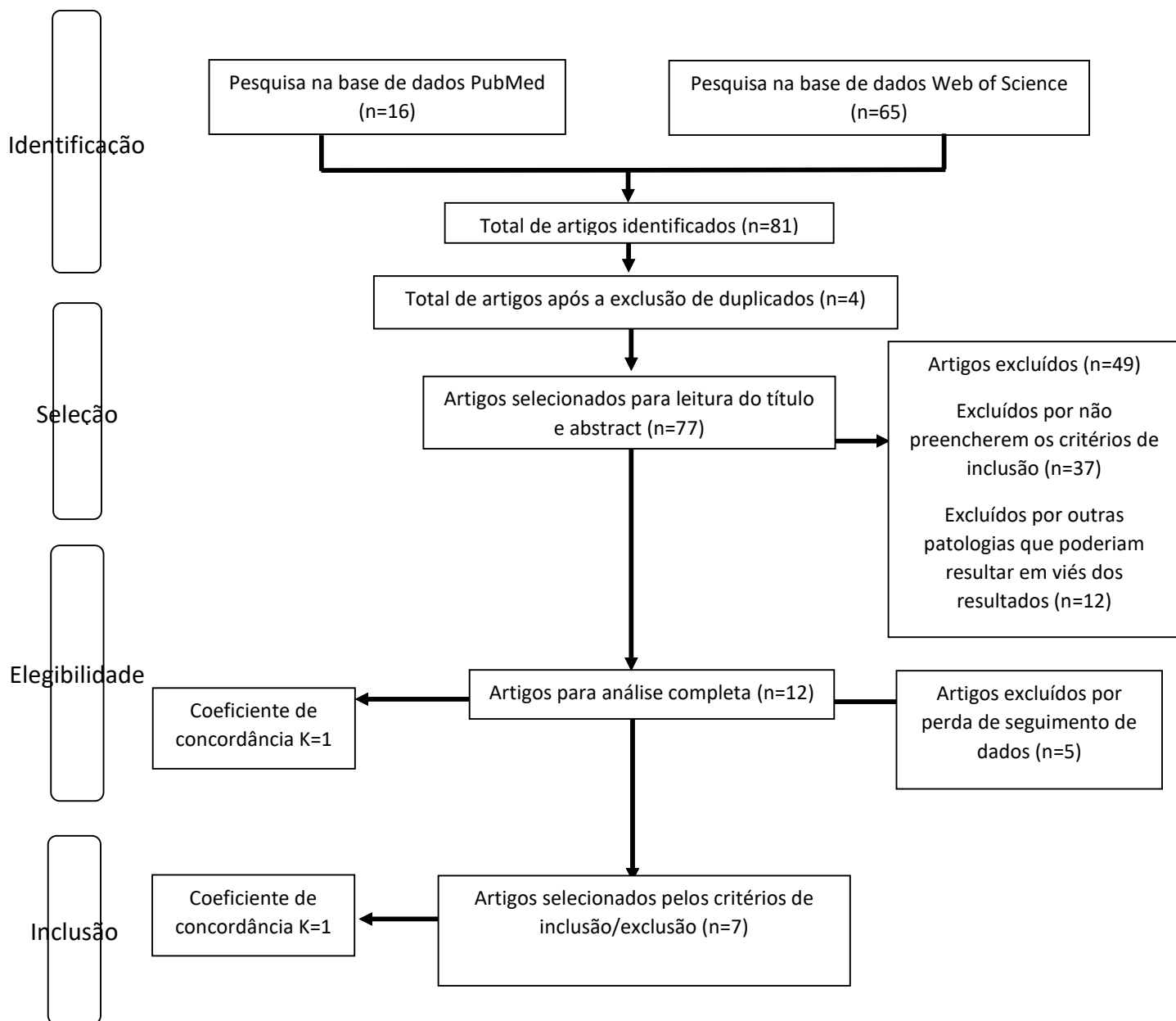
Study ID	Selection	Comparability	Exposure	Total Score (Risk ≤ 6 = high; 7-8 = moderate; ≥ 9 = low)
Niavarzi et al. (2019), Irão <sup>(37)</sup>	***	*	**	*****
Pourhajibagher et al. (2019) – Irão <sup>(38)</sup>	****	*	***	*****
Diogo et al. (2018). Portugal <sup>(39)</sup>	**	*	***	*****
Silva et al. (2019) Brasil <sup>(40)</sup>	****	*	***	*****
Susila et al. (2016) Índia <sup>(41)</sup>	***	*	***	*****
Pražmo et al. (2017) Polónia <sup>(42)</sup>	****	*	***	*****
Ghorbanzadeh et al. (2020) Irão <sup>(43)</sup>	***	*	***	*****

## 2.7. SÍNTESE DOS DADOS E AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA EVIDÊNCIA

Para a extração dos dados, procedeu-se ao resumo de cada artigo para se chegar a conclusões robustas e coerentes. Este resumo incluiu a recolha, combinação e o resumo dos 7 estudos individuais que foram incluídos na presente revisão sistemática. Após a reunião de todos os estudos apropriados, feita a avaliação da qualidade, extração dos dados, passou-se às conclusões, remetendo para a questão de investigação, questionado se existem evidências suficientes que respondessem conclusivamente à mesma e, caso não se verificasse tal situação, o quanto era forte a evidência.

### **3. RESULTADOS**





**Figura 4.** Fluxograma PRISMA com dados de pesquisa

*Fonte:* Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ* 2021;372:n71. doi: 10.1136/bmj.n71

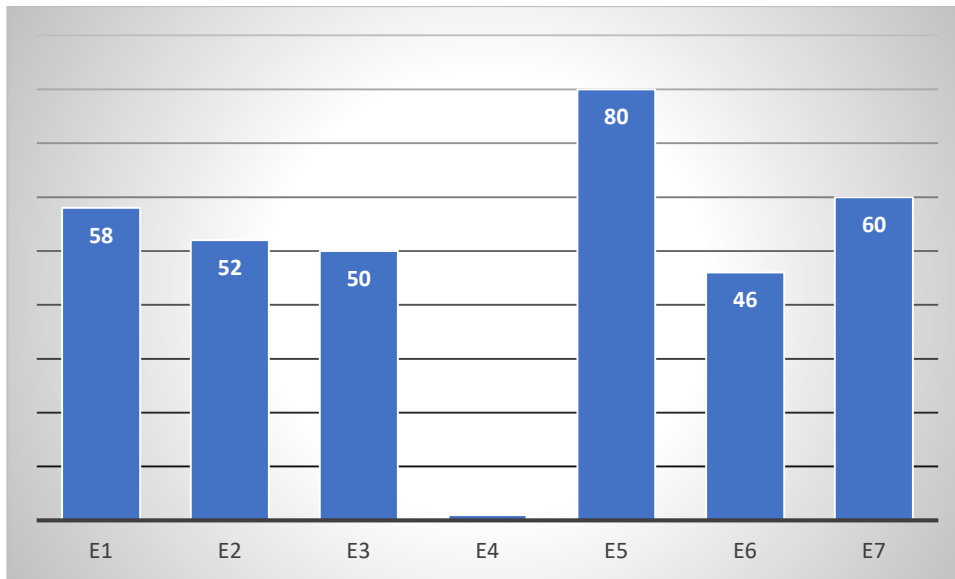
Seguem-se os quadros com a síntese dos resultados de cada estudo, tendo em conta o ano, os autores, ano/país de publicação, PS, Comprimento da onda da fonte de luz, bactéria e resultados (Tabela 3).

**Tabela 3 - Síntese dos resultados dos estudos incluídos**

	Autor/ano	Objetivo	PS	Comprimento da onda da fonte de luz	Microrganismo	Resultados
Estudo 1	Niavarzi et al. (2019), Irão <sup>(37)</sup>	Avaliar o efeito da ativação do PS através de ultrassons na eficácia da aATFD contra <i>E.faecalis</i> e profundidade de penetração do PS.	MB	Laser de diodo 660 nm	<i>E. faecalis</i>	A profundidade de penetração do PS no grupo 3 foi significativamente maior do que no grupo 2 ( $p < 0,05$ ). A contagem de <i>E. faecalis</i> nos três grupos experimentais foi significativamente menor do que no grupo de controlo ( $p < 0,05$ ). 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 ( $p > 0,05$ ). A profundidade de penetração foi mais elevada quando o MB foi ativado com ultrassons 20s antes da aTFD. Entre a irrigação com NaOCl 5,25% e a ativação mediada por ultrassons do azul de metileno+aTFD, sem diferenças estatisticamente significativas na diminuição da carga bacteriana.
Estudo 2	Pourhajibagher et al. (2019) – Irão <sup>(38)</sup>	Avaliar o efeito PS de N-CUR@ICG-Met usado como um novo PS em irradiação de dois comprimentos de onda (laser de diodo e emissor de luz diodo, LED) aTFD em canais radiculares infetados com biofilme de <i>E. faecalis</i> .	NCur@ICG-Met	LED 450 nm; laser de diodo 810 nm	<i>E. faecalis</i>	Todos os grupos aTFD com NCur@ICG-Met apresentaram efeitos antimicrobianos na inativação de <i>E. Faecalis</i> e diminuíram significativamente a contagem bacteriana ( $p < 0,05$ ). A combinação ATFD/Laser Diodo+LED e ATFD/LED+Laser Diodo apresentou uma atividade inibitória significativamente mais elevada.
Estudo 3	Diogo et al. (2018). Portugal <sup>(39)</sup>	Avaliar a eficácia antimicrobiana e os resultados citotóxicos de um PS à base de clorofila (PS)-Zn(II)clorina e6 metil éster (Zn(II)e6Me)-quando aplicado a discos de dentina humana e blocos radiculares infetados com biofilmes de 48 h.	Rosa Bengala, Zn(II)e6Me e Azul de Toluidina	LED vermelho 627 nm; LED Verde 557 nm	<i>E. faecalis</i> e <i>C. albicans</i>	Nos discos de dentina, o derivado da clorofila apresentou eficiências inferiores ao NaOCl, 59,1% vs. 68,1%, respetivamente. Nos blocos radiculares, o grupo derivado da clorofila apresentou maior eficácia na remoção do biofilme (79,9%) e inferior variação entre as três profundidades estudadas. Melhor efeito antimicrobiano no que se refere à viabilidade das células microbianas, maior biocompatibilidade e menor citotoxicidade.
Estudo 4	Silva et al. (2019) Brasil <sup>(40)</sup>	Avaliar a utilização da aTFD no tratamento endodôntico	MB a 0,005%	Laser duo vermelho 660 nm	<i>E. faecalis</i>	Eficácia clínica na desinfeção dos canais radiculares em apenas uma sessão, diminuindo consideravelmente a carga bacteriana. Redução da imagem sugestiva de lesão periapical após 6 meses da finalização do tratamento e melhoria da sintomatologia do paciente
Estudo 5	Susila et al. (2016) India <sup>(41)</sup>	Avaliar efeitos combinados da aTFD e irrigantes na erradicação de patógenos	MB	Laser diodo 665 nm, 1W/cm2	<i>S. mutans</i> e <i>E. faecalis</i>	O grupo 1 com <i>E. faecalis</i> teve unidades de formação de colônias média significativamente menor do que todos os outros grupos ( $p = 0,001$ ). Efeito adicional da aplicação combinada de

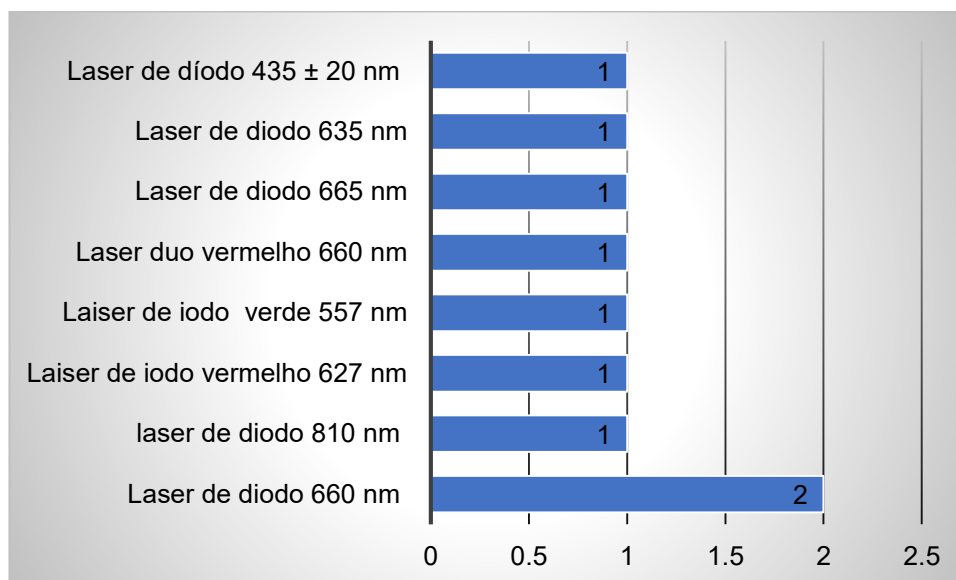
						irrigantes antimicrobianos e aTFD foi observado na erradicação de patógenos endodônticos comuns.
Estudo 6	Pražmo et al. (2017) Polónia <sup>(42)</sup>	Avaliar a eficácia da aTFD na eliminação de <i>E. faecalis</i> e analisar de que forma a irradiação da luz repetida, a reposição de oxigénio e o PS afetam os resultados do protocolo da desinfecção fotodinâmica	Azul de Toluidina	Laser de Diodo 635 nm	<i>E. faecalis</i>	A aplicação de apenas um protocolo de desinfecção fotodinâmica resultou na diminuição de 45% das colónias de <i>E. faecalis</i> . Dois ciclos de ATFD foram significativamente mais eficientes e erradicaram 95% do biofilme bacteriano.
Estudo 7	Ghorbanzadeh et al. (2020) Irão <sup>(43)</sup>	Avaliar as atividades anti-biofilme e antivirulência do rGO-Cur depois de irradiação com diodo emissor de luz como método de desinfecção em comparação com o NaOC	Oxido de grafeno reducido - curcumin a (rGOCur)	Laser de diodo 435 ± 20 nm	<i>E. faecalis</i>	O rGO-Cur- aTFD mostrou efeitos inibidores duplos na capacidade de formação de biofilme e virulência de <i>E. faecalis</i>

Nos estudos incluídos, constatou-se uma variedade de dentes que constituíram amostra, nomeadamente: 58 incisivos inferiores de canal uniradicular (Niavarzi *et al.*, 2019 <sup>37</sup>); 52 dentes uniradiculares recém-extraídos (Pourhajibagher *et al.*, 2019 <sup>38</sup>); 50 discos de dentina obtidos de fragmentos recém-extraídos de terceiros molares com raízes totalmente desenvolvida; 35 blocos radiculares, obtidos de dentes uniradiculares recém-extraídos (Diogo *et al.*, 2018 <sup>39</sup>); 1 incisivo central superior direito; 1 incisivo lateral superior direito; Silva *et al.*, 2019 <sup>40</sup>); 80 raízes uniradiculares recém-extraídas (Susila *et al.*, 2016 <sup>41</sup>); 46 raízes uniradiculares recém-extraídas (Pražmo *et al.*, 2017 <sup>42</sup>) e 60 raízes uniradiculares recém-extraídas (Ghorbanzadeh *et al.*, 2020 <sup>43</sup>) (Gráfico 1).



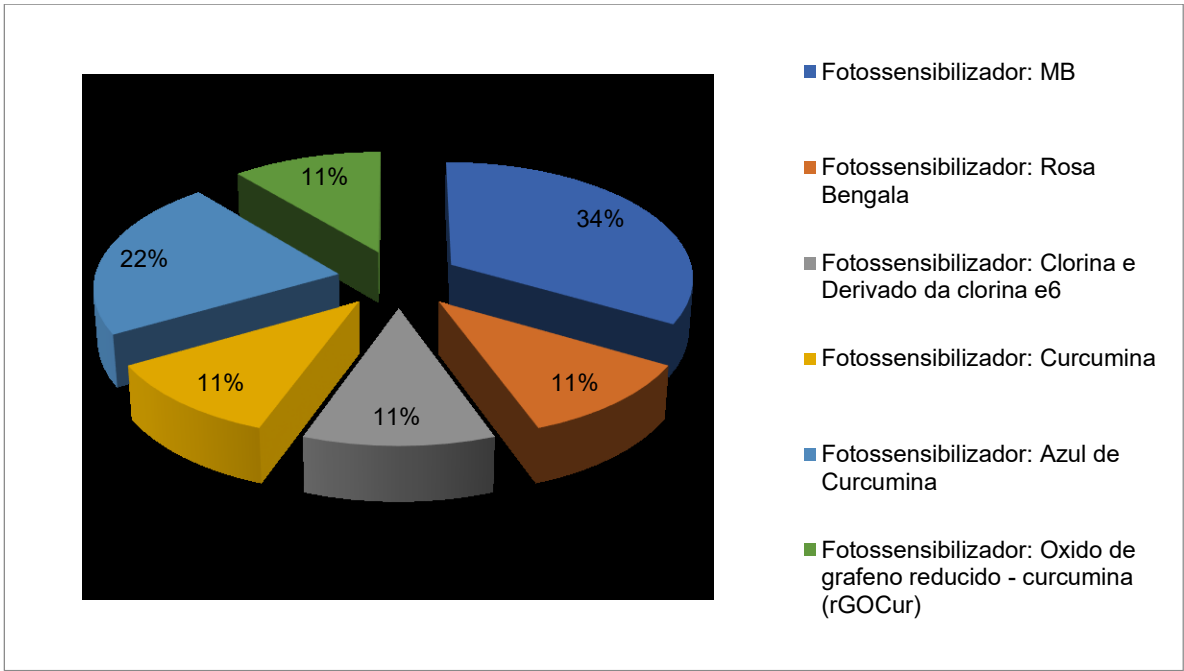
**Gráfico 1.** Número de dentes por estudo (E).

Quanto ao comprimento da onda da fonte de luz, também se registou uma heterogeneidade, com dois estudos a usarem laser de iodo 660 nm, designadamente no estudo de Niavarzi *et al.* (2019), mas com diodo azul, e no estudo de Silva *et al.* (2019) com laser duo vermelho (Gráfico 2).



**Gráfico 2.** Comprimento da onda da fonte de luz usados nos estudos.

No que se refere ao PS, o MB foi o mais usado tendo sido referenciado em três estudos (22%) (Gráfico 3).



**Gráfico 3.** PSs usados nestes estudos.



## **4. DISCUSSÃO**



O insucesso nos tratamentos endodônticos está muitas vezes associada à infecção persistente, difícil de erradicar. Tendo isto em conta, é urgente encontrar tratamentos alternativos que amenizem estas dificuldades melhorando o prognóstico de infecções endodônticas.

É neste contexto que a aTFD surge como alternativa ou terapêutica adjuvante aos tratamentos convencionais usados no tratamento endodôntico. Esta abordagem pouco invasiva apresenta várias vantagens quando comparada com antimicrobianos convencionais, mostrando-se eficiente independentemente do perfil de resistência antimicrobiana e evitando o desenvolvimento de resistência.

De facto, já são muitas as descrições na literatura científica que defendem que esta abordagem terapêutica tem-se mostrado uma alternativa adjuvante ao tratamento de canal radicular convencional na eliminação de microrganismos que permanecem viáveis no sistema de canais <sup>(44)</sup>.

O presente estudo teve como objetivo verificar o benefício no uso de agentes PSs para melhoria da atividade antimicrobiana em dentes com infecção intra-canal, quando comparado ao método de desinfecção tradicional.

Após a análise dos estudos, constatou-se que a terapia aTFD é um método adjuvante com eficácia na irrigação no tratamento endodôntico, uma vez que os estudos revelaram uma melhoria na redução microbiana nos canais radiculares quando a aTFD é utilizada após a preparação químico-mecânica. No estudo Niavarzi *et al.* <sup>(37)</sup> (E1) foi avaliado o efeito da ativação do PS através do uso de ultrassons o efeito da aTFD no *E. faecalis* e a profundidade de penetração do PS. Neste estudo *in vitro*, biofilme microbiano maduro de *E. faecalis* foi formado nos canais radiculares de 58 incisivos inferiores de canal único radiculares. As raízes foram longitudinalmente seccionada por um disco de diamante e dividido em duas metades por um cinzel. O biofilme de *E. faecalis* foi quantificado e a profundidade de penetração do PS foi determinada pelo ensaio de viabilidade microbiana e estereomicroscópica numa análise em três grupos de estudo: (1) Hipoclorito de sódio a 5,25% ativado por ultrassom (NaOCl) para 20s, (2) aaTFD uso de MB mais laser de diodo de 660 nm com potência de 150 mW por 1 minuto e (3) MB ativado por ultrassom por 20s seguido por aaTFD como no grupo 2. O estudo documenta que a profundidade da penetração foi superior quando o MB foi ativado com ultrassom 20s anteriormente à irradiação aTFD. Não foi registada diferença

estatisticamente significativa na diminuição da carga bacteriana entre a irrigação com NaOCl em 5,25% *versus* ativação ultrassônica do MB + ATFD com mediação de azul de metileno. De igual modo, no estudo de Silva et al. <sup>(40)</sup> (E4), o tratamento endodôntico com o auxílio da terapia fotodinâmica através do agente PS MB a 0,005% e laser duo vermelho com comprimento de onda de 660 nm, a instrumentação associada à terapia fotodinâmica foi satisfatória na presença de *E. faecalis*, ou seja, a ação antimicrobiana foi efetiva. Também no estudo de Susila et al. <sup>(41)</sup> (E5) realizou-se uma comparação entre a eficácia da aplicação do EDTA e da TFD em *S. mutans* e *E. faecalis*. Os microrganismos/solução irrigadora foram: *S. mutans* e *E. faecalis*/ Grupo 1: NaOCl a 3% + EDTA + TFD; Grupo 2: Solução salina + TFD; Grupo 3: NaOCl a 3% + EDTA; Grupo 4: Solução salina. Fotosensibilizador/concentração/tempo de pré irradiação: MB em concentração de 25 µg/ml por 5 minutos. “A fonte de luz/comprimento de onda/potência/tempo de irradiação/dentes: laser diodo em 665 nm, 1W/cm<sup>2</sup>, durante 30 segundos através do udo da fibra ótica em 80 dentes unirradiculares”. Os resultados mostram que o grupo 1 com *E. faecalis* teve a formação de unidades formadoras de colônias média significativamente menor em comparação com os outros grupos (p=0,001). Foi observado um efeito adicional da aplicação combinada de irrigantes antimicrobianos e diminuição considerável de ambas as bactérias. Estes resultados corroboram evidências anteriores, como o estudo de Ng et al. <sup>(45)</sup> que avaliou os efeitos antimicrobianos da TFD em dentes humanos infetados *ex vivo*, utilizando 52 dentes recém extraídos com necrose pulpar e radioluscências periradiculares associadas, entre os quais 26 receberam uma preparação químico-mecânica com EDTA a 17%+NaOCl a 6% (grupo 1) e 26 dentes ruma preparação químico-mecânico com EDTA a 17%+NaOCl a 6%+TFD (grupo 2). No que se refere ao protocolo convencional, foi efetuada a agitação e irrigação final, para aplicação de TFD. Os sistemas de canais foram irrigados com MB numa concentração de 50 µg/ml durante 5 minutos, seguindo-se a irradiação com o laser de diodo, no comprimento de onda de 665 nm. As evidências do estudo mostram um significativo desempenho do grupo 1 em comparação com o grupo 2. No grupo 1, as unidades formadoras de colônias das amostras reduziram em 82,5%, enquanto no grupo 2 foi observada uma diminuição das unidades formadoras de colônias em 49%. Por conseguinte, este estudo mostra que a TFD não expôs uma eficiência superior quando aliada ao EDTA e ao NaOCl.

No estudo de Pourhajibagher *et al.* <sup>(38)</sup> (E2), os autores partiram da hipótese que a indocianina verde (ICG) com nanocurcumina (N-CUR) pode aumentar a fotossensibilidade na aATFD. Como a metformina (Met) fornece uma vantagem sinérgica com propriedades fotossensibilizadoras, a mesma foi conjugada com N-CUR@ICG, para avaliar o efeito fotossensibilizante de N-CUR@ICG-Met usado como um novo PS em irradiação de dois comprimentos de onda (laser de diodo e emissor de luz diodo, LED) aATFD em canais radiculares infetados com biofilme de *E. faecalis*. Após a síntese e a confirmação de N-CUR@ICG-Met por *Scanning electron microscope* (SEM), *Fourier transform infrared* (FT-IR) spectroscopy, difração de raios X (XRD) e análise Zetasizer, foi formado o biofilme microbiano. As avaliações quantitativas e qualitativas do biofilme de *E. faecalis* foram feitas usando a viabilidade microbiana e análise SEM dos seguintes grupos de modalidades de tratamento (n=5): 1- NCUR, 2- ICG, 3- Met, 4- N-CUR@ICG, 5- N-CUR@ICG-Met, 6- Laser de diodo, 7- LED, 8- aATFD/diodo, 9- aATFD/LED, 10- aATFD/laser diodo + LED, 11- aATFD/LED + laser diodo, 12- hipoclorito de sódio 2,5% (NaOCl). Além disso, o *E. faecalis* não tratado serviu como controlo negativo. A análise SEM confirmou que todos os grupos aTFD com NCur@ICG-Met apresentaram efeitos antimicrobianos sobre o *E. faecalis* e diminuíram de forma significativa a contagem bacteriana ( $p < 0,05$ ). A combinação aTFD/Laser Diodo+LED e aTFD/LED+Laser Diodo apresentou uma atividade inibitória significativamente mais elevada ( $p < 0,05$ ). No estudo de Diogo *et al.* <sup>(39)</sup> (E3) foi avaliada a eficácia antimicrobiana e os resultados citotóxicos de um PS à base de clorofila [Zn(II) clorina e6 metil éster (Zn(II)e6Me)], quando aplicado a discos de dentina humana e blocos radiculares infetados com biofilmes de 48 h. Os resultados foram comparados com os obtidos com o FotoSan® (formulação comercial de azul de toluidina O) e hipoclorito de sódio a 3% (NaOCl). A dentina e blocos radiculares foram infetados com biofilmes mistos de *E. faecalis* e *C. albicans*; exposto por 15 min a 0,1 mg/mL de Zn(II)e6Me ou Fotosan® e então irradiado com luz vermelha (627 nm, 75 mW, 3150 J/cm<sup>2</sup>) por 90s ou tratados com NaOCl. A remoção do biofilme foi calculada com o ensaio de safranina vermelha e a viabilidade de células de biofilme com ensaio XTT®. A citotoxicidade dos PSs foi avaliada sobre a linha celular primária da papila apical humana (hAPCs) com ensaio AlamarBlue® e a morfologia celular avaliada com microscopia de fluorescência de campo amplo. Nos discos de dentina, o derivado de clorofila teve melhor desempenho na remoção do biofilme (59,1%) do que o

FotoSan® (57,5%), porém, com menor eficácia que o NaOCl (68,1%) (p= 0,018). Por outro lado, no bloco raiz, a clorofila Zn(II)e6Me (79,7%) apresentou melhor eficácia antimicrobiana que o NaOCl (75,5%) e o padrão de desinfecção foi mais consistente nas amostras interna e externa para a primeira. Nenhum resultado citotóxico ou foto-induzido foi detectado para Zn(II)e6Me nas células humanas em 24 e 48 h quando comparado com outros PSs (FotoSan®, Rosa de Bengala e a 5,10,15,20-tetraquis(1-metilpiridínio-4-il)porfirina - TMPyP). O derivado de clorofila Zn(II)e6Me apresentou adequada eficácia antimicrobiana, apresentando melhor eficácia na remoção de biofilme misto do que FotoSan® em ambas as condições experimentais. Sem efeitos citotóxicos nas células apicais identificadas para este derivado de clorofila, todavia, os autores salientam que deve ser realizada, *a posteriori*, uma avaliação mais aprofundada para avaliar o seu potencial uso na terapia endodôntica. No E42 foi avaliada a eficácia da aTFD na remoção de biofilme e foi analisada como a irradiação de luz repetida, a reposição de oxigênio e o PS influenciaram os resultados do protocolo de desinfecção fotodinâmica intra-canal. Foi observado que a aplicação de dois ciclos de aTFD combinados com irrigação de NaOCl 5.25% é significativamente mais eficiente do que um único ciclo de aTFD. No estudo de Prazmo *et al.* <sup>(42)</sup> E6 foi realizada uma comparação de potência dos efeitos antimicrobianos e antibióticos da aTFD através de curcumina com diferentes PSs com a finalidade de obter um melhor procedimento de desinfecção endodôntica, ou seja, o efeito de desinfecção do canal radicular e atividades anti-virulência de inativação fotodinâmica (PDI) de *E. faecalis* utilizando óxido de grafeno reduzido-curcumina (rGO-Cur) como um agente PS após irradiação com o laser de diodo, bem como foram avaliada a produção intracelular de ROS em biofilmes *ex vivo* de *E. faecalis* em comparação com o NaOCl como a solução de irrigação endodôntica tradicional. O PS rGO-Cur-aTFD apresentou duplos efeitos inibidores da capacidade de formação de biofilmes e virulência do *E. faecalis*, podendo inibir o crescimento desta bactéria em biofilmes de uma forma rápida, mas sem diferenças significativas com o NaOCl.

Os resultados encontrados mostram que a aTFD revela ser uma abordagem adjuvante, conservadora e não seletiva de eliminação bacteriana, usada para melhorar a desinfecção dos canais radiculares sem indução de resistência bacteriana. Proporciona múltiplas capacidades para a desinfecção do sistema de canais

radiculares, indo ao encontro de outras evidências, como um estudo de caso clínico de Shahbazi *et al.* <sup>(46)</sup>, com três pacientes encaminhados para o Departamento de Endodontia da Universidade de Ciências Médicas Shahid Beheshti, os quais foram tratados com azul de toluidina 0,1 mg/mL (agente FotoSan®; CMS Dental, Dinamarca) irradiado com uma lâmpada de díodo emissor de luz (FotoSan®; CMS Dental, Dinamarca) com um comprimento de onda médio de 630 nm e uma densidade de potência média de 3 W/cm<sup>2</sup> durante dois períodos de 30 segundos, cujos resultados indicam que a aTFD com o referido comprimento de onda pode ser utilizada em conjunto com o tratamento convencional dos canais radiculares, proporcionando ótimos resultados. Nos casos estudados pelos mesmos autores, o agente FotoSan, um azul de toluidina 0,1 mg/mL de baixa viscosidade, foi escolhido entre as várias opções de PS. De acordo com Gambarini *et al.* <sup>(47)</sup>, o agente FotoSan, quer seja ativado por luz ou não, tem uma citotoxicidade comparável à de outros irrigantes, como o EDTA a 17% e a clorhexidina a 2%. Conseqüentemente pode ser utilizado para desinfecção com as mesmas precauções que outras soluções de irrigação requerem. De acordo com Pourhajibagher *et al.* <sup>(48)</sup>, a utilização de azul de toluidina como PS resultaria numa redução de 99,99% na carga bacteriana. Os mesmos autores investigaram a eficácia de vários PSs sobre o *E. faecalis*, tendo determinado que o efeito antimicrobiano da aTFD utilizando 0,1 mg/mL de azul de toluidina era superior ao de 0,1 mg/mL de azul de metileno.



## **5. CONCLUSÃO**



Apesar dos avanços tecnológicos e científicos na área da endodontia, são ainda muitos os casos de falha do tratamento endodôntico devido a fatores microbiológicos. Este fato tem motivado a comunidade científica para a procura de novas soluções de tratamento que visam a eliminação definitiva de microrganismos persistentes.

De acordo com este estudo, as evidências sugerem um efeito benéfico e promissor no uso da aTFD mediada pelo uso de PSs como terapia adjuvante no tratamento endodôntico. Apesar dos resultados promissores na inativação de microrganismos patogênicos orais, nomeadamente de *E. faecalis*, PSs como o azul de metileno, azul de toluidina, curcumina e mesmo PSs porfirínicos, estudos *in vivo* deverão ser realizados para atestar a eficácia desta abordagem adjuvante na endodontia. Estudos conducentes a novas formulações de PSs, ajuste nos parâmetros da concentração de PS, doses de luz e tempos de irradiação deverão ser também realizados.



## **6. BIBLIOGRAFIA**



1. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*. 1965;20:340–9.
2. Nair PNR. On the Causes of Persistent Apical Periodontitis-a Review. *Internacional Endodontic Journal*. 2006;39:249–81.
3. Chávez De Paz LE, Dahlén G, Molander A, Möller Å, Bergenholtz G. Bacteria recovered from teeth with apical periodontitis after antimicrobial endodontic treatment. *Internacional Endodontic Journal*. 2003;36:500–8.
4. Chávez de Paz LE. Redefining the Persistent Infection in Root Canals: Possible Role of Biofilm Communities. *Journal of Endodontics*. 2007;33:652–62.
5. Shen Y, Stojcic S, Haapasalo M. Antimicrobial efficacy of chlorhexidine against bacteria in biofilms at different stages of development. *Journal of Endodontics*. 2011;37:657–661
6. Teves A, Blanco D, Casaretto M, Torres J, Alvarado D, Jaramillo DE. Effectiveness of different disinfection techniques of the root canal in the elimination of a multi-species biofilm. *J Clin Exp Dent*. 2019 Nov 1;11(11):e978-e983.
7. Rôças IN, Siqueira JF. Root canal microbiota of teeth with chronic apical periodontitis. *Journal of Clinical Microbiology*. 2008;46:3599–606.
8. Tisler CE, Chifor R, Badea ME, Moldovan M, Prodan D, Carpa R, Cuc S, Chifor I, Badea AF. Photodynamic Therapy (PDT) in Prosthodontics: Disinfection of Human Teeth Exposed to *Streptococcus mutans* and the Effect on the Adhesion of Full Ceramic Veneers, Crowns, and Inlays: An In Vitro Study. *Biomedicines*. 2022 Jan 10;10(1):144.
9. Wong J, Manoil D, Näsman P, Belibasakis GN and Neelakantan P . Microbiological Aspects of Root Canal Infections and Disinfection Strategies: An Update Review on the Current Knowledge and Challenges. *Front. Oral. Health*. 2021; 2:672887
10. Boutsoukis C, Psimma Z, van der Sluis LW. Factors affecting irrigant extrusion during root canal irrigation: a systematic review. *Int Endod J*. 2013; 46(7):599-618

Zhu WC, Gyamfi J, Niu LN, Schoeffel GJ, Liu SY, Santarcangelo F, Khan S, Tay KC, Pashley DH, Tay FR. Anatomy of sodium hypochlorite accidents involving facial ecchymosis - a review. *J Dent.* 2013;41(11):935-48.

12. Chubb DWR. A review of the prognostic value of irrigation on root canal treatment success, *Australian Endodontic Journal.* 2019; 45(1): 5-11.

13. Abirami S, Navaneethan R, Jain RK. Effectiveness Of Chlorhexidine Oral Rinse In Preventing Plaque Accumulation And Gingivitis In Patients Undergoing Orthodontic Treatment- A Systematic Review And Meta Analysis. *J Oral Res.*2022;11(4):1-16

14. Karamani I, Kalimeri E, Seremidi K, Gkourtsogianni S, Kloukos D. Chlorhexidine Mouthwash for Gingivitis Control in Orthodontic Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Oral Health Prev Dent.* 2022 Jun 28;20(1):279-294.

15. Garcia M.T., Pereira A.H.C., Figueiredo-Godoi L.M.A., Jorge A.O.C., Strixino J.F., Junqueira J.C. Photodynamic therapy mediated by chlorin-type photosensitizers against *Streptococcus mutans* biofilms. *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* 2018;24:256–261

16. Weber K., Delben J., Bromage T.G., Duarte S. Comparison of SEM and VPSEM imaging techniques with respect to *Streptococcus mutans* biofilm topography. *FEMS Microbiol. Lett.* 2014;350:175–179.

17. Shuwaish M.S.B. Impact of photodynamic therapy on the push out bond strength of fiber post to root dentin: A systematic review. *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* 2020;32:102010.

18. Konopka K, Goslinski T. Photodynamic therapy in dentistry. *Journal of Dental Research.* 2007;86(8):694–707.

19. Bumb SS, Bhaskar DJ, Agali CR, Punia H, Gupta V, Singh V, Kadtane S, Chandra S. Assessment of Photodynamic Therapy (PDT) in Disinfection of Deeper Dentinal Tubules in a Root Canal System: An In Vitro Study. *J Clin Diagn Res.* 2014 Nov;8(11):ZC67-71.

20. Olek M, Machorowska-Pieniążek A, Stós W, Kalukin J, Bartusik-Aebisher D, Aebisher D, Cieślak G, Kawczyk-Krupka A. Photodynamic Therapy in Orthodontics: A Literature Review. *Pharmaceutics.* 2021 May 14;13(5):720.

21. Algerban A. Efficacy of antimicrobial photodynamic and photobiomodulation therapy against *Treponema denticola*, *Fusobacterium nucleatum* and human beta defensin-2 levels in patients with gingivitis undergoing fixed orthodontic treatment: A clinic-laboratory study. *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* 2020;29:101659.
22. Kamran M.A. Clinical, microbiological and immunological outcomes with photodynamic therapy as an adjunct to full-mouth scaling in patients undergoing fixed orthodontic treatment. *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* 2020;29:101585
23. Correia JH, Rodrigues JA, Pimenta S, Dong T, Yang Z. Photodynamic Therapy Review: Principles, Photosensitizers, Applications, and Future Directions. *Pharmaceutics.* 2021 Aug 25;13(9):1332.
24. Donnelly R.F., McCarron P.A., Tunney M.M. Antifungal photodynamic therapy. *Microbiol. Res.* 2008;163:1–12. doi: 10.1016/j.micres.2007.08.001.
25. Dolmans D.E.J.G.J., Fukumura D., Jain R.K. Photodynamic therapy for cancer. *Nat. Rev. Cancer.* 2003;3:380–387.
26. Fitzgerald F. *Photodynamic Therapy (PDT): Principles, Mechanisms and Applications.* Nova Science Publishers, Inc.; New York, NY, USA: 2017.
27. St Denis, T. G., & Hamblin, M. R. (2015). *Supramolecular drug delivery platforms in photodynamic therapy. Applications of Nanoscience in Photomedicine, 465–485.*
28. De Oliveira DSB. aPDT: Fotossensibilizadores e tempos de exposição de luz não influenciaram na resposta tecidual de camundongos isogênicos. [Tese de Doutorado]. Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. 2016.
29. Hecht E. *Optics.* 5th edn. London, England: Pearson Education Inc. 2017.
30. Kim, M. M., & Darafsheh, A. (2020). Light Sources and Dosimetry Techniques for Photodynamic Therapy. *Photochemistry and Photobiology.* doi:10.1111/php.13219
31. Levy JG. Photosensitizers in photodynamic therapy. *Semin Oncol.* 1994 Dec;21(6 Suppl 15):4-10.
32. de Souza Rastelli AN. Antimicrobial Photodynamic Therapy (aPDT) as a Disinfection and Biomodulation Approach in Implant Dentistry. *Photochem Photobiol.* 2021 Sep;97(5):1155-1160.

33. 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 intracanal reduction of *Enterococcus faecalis*. *J Endod*. 2010 Feb;36(2):292-6.
34. Zhang Y, Schulz F, Rytting BM, Walters CC, Kaiser K, Metz JN, Harper MR, Merchant SS, Mennito AS, Qian K, Kushnerick JD, Kilpatrick PK, Gross L. Elucidating the Geometric Substitution of Porphyrins by Spectroscopic Analysis and Atomic Force Microscopy Molecular Imaging. *Energy Fuels*. 2019 Jul 18;33(7):6088-6097.
35. Moreira AL, Novaes AB Jr, Grisi MF, Taba M Jr, Souza SL, Palioto DB, de Oliveira PG, Casati MZ, Casarin RC, Messori MR. Antimicrobial photodynamic therapy as an adjunct to non-surgical treatment of aggressive periodontitis: a split-mouth randomized controlled trial. *J Periodontol*. 2015 Mar;86(3):376-86.
36. Shahbazi S, Esmaili S, Feli M, Asnaashari M. Photodynamic Therapy in Root Canal Disinfection: A Case Series and Mini-Review. *J Lasers Med Sci*. 2022 Apr 29;13:e19.
37. Niavarzi S, Pourhajibagher M, Khedmat S, Ghabraei S, Chiniforush N, Bahador A. Effect of ultrasonic activation on the efficacy of antimicrobial photodynamic therapy: Evaluation of penetration depth of photosensitizer and elimination of *Enterococcus faecalis* biofilms. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2019 Sep;27:362-366.
38. Pourhajibagher M, Plotino G, Chiniforush N, Bahador A. Dual wavelength irradiation antimicrobial photodynamic therapy using indocyanine green and metformin doped with nano-curcumin as an efficient adjunctive endodontic treatment modality. *Photodiagnosis Photodyn Ther* [Internet]. 2020;29(July 2019):101628.
39. Diogo P, Mota M, Fernandes C, Sequeira D, Palma P, Caramelo F, et al. Is the chlorophyll derivative Zn(II)e6Me a good photosensitizer to be used in root canal disinfection? *Photodiagnosis Photodyn Ther* [Internet]. 2018;22(January):205–11.
40. Silva MD, Sampaio MMS, Silva TM, Bravo JFM, Cavalcanti NS. Terapia fotodinâmica na endodontia: relato de caso. *Rev. Cient. OARF*. 2019; v.3,.1, 29-35.

41. Susila AV, Sugumar R, Chandana CS, Subbarao CV. Combined effects of photodynamic therapy and irrigants in disinfection of root canals. *J Biophotonics*. 2016 Jun;9(6):603-9.
42. Prażmo EJ, Godlewska RA, Mielczarek AB. Effectiveness of repeated photodynamic therapy in the elimination of intracanal *Enterococcus faecalis* biofilm: an in vitro study. *Lasers Med Sci*. 2017;32(3):655–61.
43. Ghorbanzadeh R, Assadian H, Chiniforush N, Parker S, Pourakbari B, Ehsani B, et al. Modulation of virulence in *Enterococcus faecalis* cells surviving antimicrobial photodynamic inactivation with reduced graphene oxide-curcumin: An ex vivo biofilm model. *Photodiagnosis Photodyn Ther* [Internet]. 2020;29(October 2019):101643.
44. Plotino G, Grande NM, Mercade M. Photodynamic therapy in endodontics. *Int Endod J*. 2019; 52(6):760-774.
45. Ng R, Singh F, Papamanou DA, Song X, Patel C, Holewa C, et al. Endodontic photodynamic therapy ex vivo. *J Endod*. 2011;37(2):217–22.
46. Shahbazi S, Esmaeili S, Feli M, Asnaashari M. Photodynamic Therapy in Root Canal Disinfection: A Case Series and Mini-Review. *J Lasers Med Sci*. 2022 Apr 29;13:e19.
47. Gambarini G, Plotino G, Grande NM, Nocca G, Lupi A, Giardina B. et al. In vitro evaluation of the cytotoxicity of FotoSan™ light-activated disinfection on human fibroblasts. *Med Sci Monit*. 2011;17(3):MT21–5.
48. Pourhajibagher M, Kazemian H, Chiniforush N, Hosseini N, Pourakbari B, Azizollahi A. et al. Exploring different photosensitizers to optimize elimination of planktonic and biofilm forms of *Enterococcus faecalis* from infected root canal during antimicrobial photodynamic therapy. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2018;24:206–211.