



**FAPAC - FACULDADE PRESIDENTE ANTÔNIO CARLOS
INSTITUTO TOCANTINENSE PRESIDENTE ANTÔNIO CARLOS PORTO LTDA
CURSO DE ODONTOLOGIA**

**MARLUCIA VIEIRA DA SILVA
NATHÁLIA DE MATOS SANTOS**

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DA EFICÁCIA DA TERAPIA FOTODINÂMICA
CONVENCIONAL ENERGIZADA COMO COADJUVANTE NO TRATAMENTO
ENDODONTICO**

**PORTO NACIONAL-TO
2019**

**MARLUCIA VIEIRA DA SILVA
NATHÁLIA DE MATOS SANTOS**

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DA EFICÁCIA DA TERAPIA FOTODINÂMICA
CONVENCIONAL ENERGIZADA COMO COADJUVANTE NO TRATAMENTO
ENDODONTICO**

Projeto de pesquisa submetido ao Curso de Odontologia da FAPAC- Faculdade Presidente Antônio Carlos ITPAC Porto Nacional, como requisito parcial para aprovação da disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso I.

Orientador: Prof. Alcides Gomes de Oliveira.

**MARLUCIA VIEIRA DA SILVA
NATHÁLIA DE MATOS SANTOS**

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DA EFICÁCIA DA TERAPIA FOTODINÂMICA
CONVENCIONAL ENERGIZADA COMO COADJUVANTE NO TRATAMENTO
ENDODONTICO**

Projeto de pesquisa submetido ao Curso de Odontologia da FAPAC- Faculdade Presidente Antônio Carlos ITPAC Porto Nacional, como requisito parcial para aprovação da disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso I.

Aprovado em: ____/____/____

Professor: Alcides Gomes de Oliveira
Instituto Presidente Antônio Carlos

Professor: Carina Scolari Gosch
Instituto Presidente Antônio Carlos

Professor: Sérgio Ricardo Rafacho Esteves
Instituto Presidente Antônio Carlos

**PORTO NACIONAL-TO
2019**

RESUMO

Introdução: Os cirurgiões-dentistas buscam alternativas para obter êxito em seus procedimentos, almejando oferecer ao paciente conforto e eficiência. O tratamento endodôntico visa a desinfecção e sanificação dos canais radiculares, através da limpeza e modelagem dos condutos. Há métodos alternativos para intensificar o processo de debridamento e a potencialização das substâncias químicas no tratamento endodôntico, como por exemplo a PUI (Irrigação Ultrassônica Passiva), é uma técnica inovadora que visa intensificar a eficácia no tratamento endodôntico, por meio de uma ativação adjunta as substâncias químicas. A terapia fotodinâmica vem se destacando na Endodontia, mostrando-se cada vez mais promissora como coadjuvante na eliminação dos microrganismos, através da associação do fotossensibilizador (corante), luz e oxigênio, que nada mais é, do que uma terapia antimicrobiana com o objetivo de agir de forma seletiva no local desejado, levando assim a morte microbiana de forma rápida e eficaz. O maior desafio dentre a microbiota bucal, é a bactéria *Enterococcus Faecalis*, é um microrganismo mais comumente encontrado em condutos radiculares endodonticamente tratados, é uma bactéria maleável e extremamente resistente, podendo não manifestar-se sintomatologia durante anos após o tratamento. **Objetivo:** Descrever através de estudos microbiológicos a eficácia da terapia fotodinâmica associada ao tratamento endodôntico convencional sobre a bactéria *E. faecalis*, teste com lasers V e IV com diferentes comprimentos de onda, e ativação da terapia fotodinâmica através de aparelhos sônicos e ultrassônicos. **Métodos:** Estudo descritivo, quantitativo sobre a eficácia da terapia fotodinâmica associada ao tratamento endodôntico convencional sobre a bactéria *E. faecalis*, utilizando-se dentes bovinos. **Resultados Esperados:** Ao realizar e analisar os resultados obtidos com as pesquisas espera-se apresentar se houve eficácia na eliminação dos microrganismos no interior dos sistemas de canais, utilizando-se a terapia fotodinâmica associada no tratamento endodôntico convencional sobre a bactéria *E. faecalis*.

Palavras-chave: *Enterococcus faecalis*. Odontologia. Terapia Fotodinâmica. Tratamento Endodôntico Convencional.

ABSTRACT

Introduction: Dental surgeons seek alternatives to be successful in their procedures, aiming to offer the patient comfort and efficiency. Endodontic treatment aims at disinfection and sanitation of root canals, through cleaning and shaping of the ducts. There are alternative methods to intensify the debridement process and the potentiation of chemicals in endodontic treatment, such as PUI (Passive Ultrasonic Irrigation), is an innovative technique that aims to increase the effectiveness of endodontic treatment by means of adjunctive activation. chemical substances. Photodynamic therapy has been highlighting in Endodontics, proving increasingly promising as an adjunct in the elimination of microorganisms, through the combination of photosensitizer (dye), light and oxygen, which is nothing more than an antimicrobial therapy aiming at act selectively at the desired location, thus leading to rapid and effective microbial death. The biggest challenge among the oral microbiota is the bacterium *Enterococcus Faecalis*. It is a microorganism most commonly found in endodontically treated root ducts. It is a malleable and extremely resistant bacterium and may not show symptoms for years after treatment. **Objective:** To describe through microbiological studies the efficacy of photodynamic therapy associated with conventional endodontic treatment on *E. faecalis* bacteria, test with V and IV lasers with different wavelengths, and activation of photodynamic therapy through sonic and ultrasonic devices. **Methods:** Descriptive and quantitative study on the efficacy of photodynamic therapy associated with conventional endodontic treatment on *E. faecalis* bacteria using bovine teeth. **Expected Results:** In performing and analyzing the results obtained from the research, it is expected to present if there was efficacy in the elimination of microorganisms within the canal systems, using the associated photodynamic therapy in conventional endodontic treatment of *E. faecalis* bacteria.

Keywords: *Enterococcus faecalis*. Dentistry. Photodynamic therapy. Conventional Endodontic Treatment.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

FAPAC – Faculdade Presidente Antônio Carlos

TO – Tocantins

ITPAC – Instituto Tocantinense Presidente Antônio Carlos

E. FAECALIS – *Enterococcus faecalis*

PDT– Terapia Fotodinâmica

SEPLAN – Secretaria do Planejamento e Orçamento

NaClO – Hipoclorito de Sódio

EDTA – Agente quelante

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	6
1.1 PROBLEMA DA PESQUISA	7
1.2 HIPÓTESE	7
1.3 JUSTIFICATIVA	7
2 OBJETIVOS	8
2.1 OBJETIVO GERAL	8
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	8
3 REFERENCIAL TEÓRICO	9
3.1 TRATAMENTO ENDODÔNTICO CONVENCIONAL	9
3.2 MICRORGANISMOS PRESENTES NOS SISTEMAS DE CANAIS	10
3.3 USO DOS LASERS NA ODONTOLOGIA	12
3.3.1 Laser associado ao tratamento endodôntico convencional	12
3.3.2 Terapia fotodinâmica no controle bacteriano	13
3.3.3 Fotossensibilizador azul de metileno	14
4 METODOLOGIA	15
4.1 DESENHO DO ESTUDO	15
4.2 LOCAL E PERÍODO DE REALIZAÇÃO DA PESQUISA	15
4.3 POPULAÇÃO E AMOSTRA	15
4.4. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	15
4.5 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	15
4.6 VARIÁVEIS	15
4.7 PROCEDIMENTOS	16
4.7.1 Laser de baixa potência associado ao PDT	16
4.7.2 Microrganismo	16
4.7.3 Preparação dos dentes bovinos	16
4.7.4 Imersão das colônias bacterianas nos canais radiculares das amostras	17
4.7.5 Tratamento endodôntico convencional	17
5 DELINEAMENTO	19
6 ASPÉCTOS ÉTICOS	19
6.1 RISCOS	19
6.2 BENEFÍCIOS	19
7 DESFECHO	19
7.1 DESFECHO PRIMÁRIO	19
7.2 DESFECHO SECUNDÁRIO	19
8 CRONOGRAMA	20
9 ORÇAMENTO	21
REFERÊNCIAS	22

1 INTRODUÇÃO

O tratamento endodôntico é um procedimento utilizado pelos cirurgiões-dentistas para a desinfecção e sanificação dos canais radiculares, que se encontram clinicamente comprometidos. Fundamenta-se na limpeza completa e modelagem dos condutos radiculares, através do processo de instrumentação e irrigação dos sistemas de canais. O preparo químico-mecânico tem participação assídua no tratamento endodôntico, etapa que se realiza a instrumentação resultando o aparecimento do smear layer. Está estrutura amorfa que deve ser removida com agentes quelantes e compostos halogenados, como o EDTA (agente quelante) e o hipoclorito de sódio. (MANCINI, *et. al.* 2013).

Devido à complexidade anatômica do sistema de canais radiculares, possíveis patógenos residuais poderão se manter presentes em istmos e reentrâncias, obter nutrientes e persistir com processo infeccioso. Dentre as microbiotas existentes nos sistemas de canais, encontram-se microrganismos como: *Enterococcus faecalis*, patógeno gram-positivo que possui bomba de prótons que se acidificam no seu interior, em situações adversas a fim de perpetua doença. A probabilidade de se multiplicarem e adentrarem aos túbulos dentinários são maiores do que outros patógenos, assim sendo considerado a causa dos insucessos no tratamento endodôntico, ocasionando a recidiva das infecções pulpares e perirradiculares (SIMÕES, *et.al.* 2018).

O maior desafio dentre a microbiota bucal, é a bactéria *Enterococcus Faecalis*, um microrganismo mais comumente encontrado em condutos radiculares endodonticamente tratados, é uma bactéria maleável e extremamente resistente, podendo não manifestar-se sintomatologia durante anos após o tratamento. *Enterococcus* faz parte de um grupo de bactérias Gram positivas que estão ligadas a infecções endodônticas, a *E. faecalis* é frequentemente encontrada em canais obturados, exibindo sinais de periodontite crônica apical. Estudos científicos demonstram a habilidade e a capacidade do *E. faecalis* de adentrarem aos túbulos dentinários. Essas bactérias evolui de forma adaptável ao pH e temperatura, são microrganismos facultativos, que apresentam resistência aos efeitos antimicrobianos da medicação intracanal como por exemplo o hidróxido de cálcio, o *E. faecalis* é ainda o microrganismo mais comumente isolado de dentes com infecções, podendo manifestar-se depois de anos pós-tratamento, tornando-o

um microrganismo altamente resistente tanto aos medicamentos intracanal, quanto a técnica convencional químico-mecânico durante tratamento endodôntico (PARADELLA *et al.* 2007).

Terapia fotodinâmica atua como método coadjuvante, tem como principal elemento o fator antimicrobiano, vêm, destacando-se na Odontologia devido a sua ação bactericida, por meio do seu amplo espectro de ação. Ocasionalmente assim, uma redução significativa na utilização de terapia medicamentosa, consequentemente, tendo como vantagem não provocar resistência microbiana. Mediante a isto, esta terapia possibilita a aplicabilidade nas camadas mais profunda da dentina em seus canalículos radiculares, dessa forma, atingindo áreas de difícil acesso (POURHAJIBAGHER, *et.al.* 2018).

Diante da atuação dinâmica na prática clínica entre o método de descontaminação ao PDT (terapia fotodinâmica), vem se destacando como fator determinante e coadjuvante ao tratamento endodôntico, mostrando-se eficaz na eliminação de microrganismos persistentes. Isso obtêm-se devido seu mecanismo de interação, caracterizando-se pela combinação entre fotossensibilizador (corante), luz e oxigênio (ZAGAR, *et.al.* 2019).

Essa interação ocorrerá em conformidade à combinação da luz gerada no laser, com o comprimento de ondas, intensidade, tempo de radiação junto ao fotossensibilizador, ao entrarem em contato com o oxigênio disponível no ar, produzirá o oxigênio singlete que é altamente citotóxico para a microbiota bacteriana encontrada nos canais radiculares. O efeito sobre as bactérias gerará um estresse altamente oxidativo, desta forma ocasionando imediatamente a morte celular desses microrganismos (GHORBANI, *et.al.* 2018).

De acordo com a literatura, o corante mais utilizado na Endodontia é o fotossensibilizador azul de metileno. O tratamento endodôntico é caracterizado como longo e doloroso, proporcionando assim demasiado desconforto aos pacientes, a terapia fotodinâmica traz consigo algumas vantagens, dentre elas ser totalmente indolor e de rápida aplicabilidade. Automaticamente fornecendo ao paciente uma qualidade de vida maior, por meio de não proporcionar efeitos adversos e sistêmicos (SIMÕES, *et.al.* 2018).

1.1 PROBLEMA DE PESQUISA

Verificar se a terapia fotodinâmica com diferentes comprimentos de onda e energizada atua como coadjuvante no tratamento endodôntico e se é eficaz no controle da bactéria *Enterococcus faecalis*?

1.2 HIPÓTESE

A terapia fotodinâmica é um tratamento promissor, que pode atuar em prol da erradicação parcial ou completa de patógenos endodônticos.

1.1 JUSTIFICATIVA

A técnica convencional de sanificação dos condutos radiculares meramente vem sendo utilizada pelos cirurgiões-dentistas em tratamentos endodônticos. Falhas na eliminação de patógenos são comuns no dia a dia na especialidade de endodontia, dessa forma, analisar a interação laser mais corante energizados faz-se necessários.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Comparar através de estudos microbiológicos a terapia fotodinâmica como método coadjuvante no tratamento endodôntico convencional em diferentes comprimentos de ondas, utilizando o azul de metileno energizado com o intuito de potencializar o efeito redutor sobre a bactéria *E.faecalis* nos condutos radiculares.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever através dos estudos a efetividade da terapia fotodinâmica sobre a bactéria *E. faecalis*.
- Determinar qual o comprimento de onda dos lasers é mais eficaz no controle microbiano.
- Verificar se a interação da luz e do fotossensibilizador é capaz de levar a inibição bacteriana.
- Avaliar as variáveis, e o comprimento de onda 660 nm em relação ao 808 nm.
- Avaliar a eficiência no controle microbiano desempenhado por diferentes aparelhos, como o sônico e o ultrassônico.
- Certificar-se qual o protocolo apresentado em seu comprimento de onda, dos lasers vermelho e infravermelho, quanto a sua efetividade no controle bacteriano, e verificar qual será mais eficaz na inibição (*bactéria E. faecalis*).

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 TRATAMENTO ENDODÔNTICO CONVENCIONAL

O processo de desinfecção e sanificação dos canais radiculares tem como etapa primária a cirurgia de acesso, alcançada com a eliminação total do teto da câmara pulpar, obtendo assim acesso ao sistema de canais radiculares. Para facilitar a visão e o acesso ao conduto é realizado o preparo do terço cervical e médio, que podem ser realizado com as brocas Gates Glidden, Cp Drill, La Axxs, Largo e Alargadores de Orifício. Para viabilizar uma maior expulsividade nas paredes de entrada dos canais, utiliza-se a broca Endo Z com finalidade de remoção do teto da câmara pulpar. Em seguida realiza-se o esvaziamento radicular, decorrente da utilização de instrumentais e substâncias químicas, removendo-se todo o conteúdo do interior dos canais radiculares, acometendo desde um tecido pulpar vivo até restos necróticos em estágios de degeneração, promovendo a sanificação e abrangendo além do canal principal, os laterais, secundários, intercondutos, deltas apicais e ramificações (LIANG YUHONG, 2019).

A utilização de instrumentos flexíveis e alto poder de corte no tratamento endodôntico possibilita realizar desgaste no tecido dentinário, que adjunto aos restos necróticos serão removidos através da utilização de agentes quelantes e compostos halogenados, proporcionando uma limpeza inicial nos condutos radiculares. Devido a alta complexibilidade anatômica dos sistemas de canais, a instrumentação por si só não promove uma desinfecção eficaz, tornando-se necessário a utilização de substâncias químicas, como o NaOCL e EDTA, tendo como objetivo intensificar a remoção completa da microbiota bacteriana em regiões onde a instrumentação não foi suficiente (LEONARDO, ANTONIO, 2013).

Segundo Saquy (1994), a associação do NaClO 0,5% (solução de Dakin) com a solução de EDTA, promove a desinfecção dos condutos radiculares, tem como consequência o aumento na permeabilidade dentinária que proporcionará uma maior eliminação dos microrganismos. Tendo o EDTA a solvência da matéria inorgânica como alvo e o NaClO o da matéria orgânica.

O processo de desinfecção dos condutos radiculares estende-se desde a porção coronária até o terço apical. Tem como finalidade a obtenção de uma cavidade com forma cilíndrico-cônica, capaz de acomodar e promover a adaptação

necessária dos cones de guta-percha em todas as paredes radiculares, durante a realização do processo de obturação dos canais (LIANG YUHONG, 2019).

Há casos clínicos em que o elemento dentário vem advindo de lesão periapical extensa, nestes casos faz-se uso da medicação intracanal, com o objetivo de eliminar e impedir a proliferação dos microrganismos, atuando como barreira física e química contra a recontaminação e conseqüentemente redução da inflamação periapical sintomatológica. Impedindo assim o crescimento bacteriano no interior dos canais e permitindo um controle dos quadros de dor pós-operatórias (BALAKRISHNA 2017).

O último passo para conclusão da terapia endodôntica é a obturação do canal radicular, considerada o espelho de toda a terapia, pois é nesta etapa que determina-se tanto as qualidades como os defeitos do tratamento, pondo-se em questão a qualidade do tratamento fornecido. A etapa final de obturação promove o selamento dos canais no sentido ápice-coroa. Esta blindagem de certa forma impede a sobrevivência de patógenos oportunistas, que possam sobreviver ao sepultamento endodôntico (JR SIRQUERIRA *et al*, 2012).

Quando o elemento dentário tratado endodonticamente tem suas funções reconstituídas, considera-se o tratamento concluído. Porém, o cirurgião-dentista deve atentar-se que qualquer procedimento está suscetível a falhas. No caso da endodontia, vários fatores podem influenciar ao insucesso do tratamento. Dentre eles estão a instrumentação e obturação inadequada, complexibilidade dos sistemas de canais, infiltrações nas restaurações - que podem ocasionar re-infecções nos condutos radiculares e alta resistência da microbiota após o debridamento mecânico (ALMEIDA, *et. al.* 2011).

3.2 MICRORGANISMOS PRESENTES NOS SISTEMAS DE CANAIS

O insucesso do tratamento endodôntico é caracterizado por infecção secundária e persistente, decorrente da recontaminação de microrganismos após a realização do tratamento nos canais radiculares. A microbiota encontrada nas infecções intra-orais variam, de espécies orais e não-orais, podendo ser gram-positivas ou gram-negativas. Dentre os espécimes localizados no interior dos sistemas de canais, predominam-se a bactéria *E. faecalis*, que representa parte dos microrganismos presentes nas infecções persistentes (VIDAL, 2016).

O corpo humano é tido como habitat natural para vários grupos de bactérias, estas originam a microbiota normal do ser humano e distribui-se pelas partes do corpo, manifestando-se na pele, intestino, cavidade oral e vias aéreas. Seu nível de virulência é determinado pelo sistema imunológico, bactérias oportunistas, são aquelas que tornam-se prejudiciais no momento em que o sistema de defesa do organismo está debilitado (RACHID, ALTERTHUM, 2008).

Dentre a microbiota normal da cavidade oral e do trato intestinal, encontra-se a bactéria *E. faecalis*, são microrganismos gram-positivos em forma de cocos, anaeróbios facultativos, pertencentes a família *Enterococcaceae*. Possuem como característica fácil adaptação aos níveis elevados de pH, conseqüentemente favorecendo sua capacidade de resistência ao serem submetidas a doses de antibióticos (TRABULSI, ALTERTHUM, 2008).

Encontrada em geral no meio ambiente, o microrganismo *E. faecalis* é altamente transmitidos pelos alimentos. Mediante a isto, ao entrarem em contato com a cavidade oral, procuraram um ambiente onde possam alimentar-se e proliferar-se. Por serem bactérias oportunistas, imediatamente translocam-se para locais ou órgãos sensíveis, ocasionando assim uma possível infecção (RACHID, ALTERTHUM, 2008).

A bactéria *E. faecalis* é altamente adaptável, diante da complexidade dos canais radiculares torna-se cada vez mais difícil sua completa remoção. Uma camada de biofilme é formada quando o microrganismo se adere na superfície da dentina, alojando-se nos seus canalículos. Conhecida como Smear Layer, quando essa lama dentinária se aloja no interior dos canalículos é conhecida como Smear plug (GARCEZ *et. al*, 2006).

Com relação aos microrganismos, um teste microbiológico foi feito com intuito de observar o grau de suscetibilidade de bactérias envolvidas em infecções endodôntica antimicrobiana comuns no meio bucal. As bactérias encontradas no interior do conduto radicular - anaeróbicas e gram-positivas são as principais e relevante nas infecções secundárias nos tratamentos endodônticos. Além de serem patógenos causadores de infecções secundárias no tratamento endodôntico, são patógenos que por sua vez adquirem resistência aos medicamentos utilizados na prática técnica, o que torna difícil a sanificação dos condutos (DI SANT *et.al*, 2015).

3.3 USO DOS LASERS NA ODONTOLOGIA

O uso dos lasers na Odontologia vem sendo utilizados nos últimos anos, associados aos tratamentos endodônticos. Logo, os resultados demonstram relevâncias positivas, esta associação entre tecnologia, terapêutica e tratamento endodôntico na eliminação de bactérias altamente resistentes ao preparo químico-mecânico vem mostrando-se promissora (JORGE;CASSONI;RODRIGUES, 2010).

Os lasers expõem comprimentos de ondas diferentes umas das outras, que possuem peculiaridade específica, mais que podem sofrer alguns efeitos, como a absorção, penetração, transmissão e difusão. Na Odontologia entre todos esses efeitos, a absorção é o fenômeno mais desejado, pois se tem íntima relação com tecido alvo, promovendo o reparo tecidual e a redução bacteriana (JORGE;CASSONI;RODRIGUES,2010).

3.3.1 Laser associado ao tratamento endodôntico convencional

A ação do laser no preparo mecânico do canal radicular ainda é discreta. A literatura demonstra que diferentes tipos de laser são capazes de remover debris e smear layer das paredes dentinárias, como a maioria dos canais radiculares é de difícil acesso devido a sua complexibilidade, dificultando ainda mais a remoção de smear layer nas paredes dentinárias, uma opção ao sistema de entrega da luz diretamente no local de difícil acesso, é a fibra óptica, que são flexíveis e de vários diâmetros compatíveis ao canal (AMARAL *et al*, 2010).

Lasers de baixa potência são associados ao controle bacteriano em condutos radiculares. A erradicação bacteriana foi consideravelmente maior no grupo utilizando laser quando comparada ao grupo tratado com o hipoclorito de sódio. O estudo dessa comparação aponta que a terapia fotodinâmica foi um método efetivo de redução bacteriana (SEGUNDO; 2002).

A efetivação dos lasers depende do seu comprimento de onda e das propriedades ópticas do tecido irradiado. Os lasers de alta potência são empregados para a elevação da descontaminação intracanal, com índices de sintetização, que podem superar 99%. Assim como os lasers de alta potência, os lasers de baixa potência vêm sendo utilizados para redução microbiana de forma satisfatória. Seu efeito, porém, não é decorrente mediante a produção de calor, e sim através da PDT (terapia fotodinâmica), na qual a associação de luz com fotossensibilizadores

(corante), exógenos estimulando uma série de eventos fotoquímicos que levam a célula ao estresse oxidativo, e, portanto à morte (EDUARDO, 2010).

3.3.2 Terapia fotodinâmica no controle bacteriano

O termo Terapia Fotodinâmica (PDT - Photodynamic Therapy) foi mencionado na literatura médica pela primeira vez, em 1941. Nesse contexto, essa terapia decorre de uma ação fotoquímica, em que a excitação eletrônica do fotossensibilizador sucede de dois mecanismos, sendo o primeiro, mecanismo em que ocorre a transferência de elétrons havendo a formação de produtos oxidados. Já, o segundo mecanismo, ocorre transferência de energia do fotossensibilizador, o que é esperado e responsável pela morte dos microrganismos, não promovendo injúria aos tecidos adjacentes. Como não há lise celular, não haverá o extravasamento do conteúdo citoplasmático, e assim impedindo, lesão tecidual. O que faz da PDT (terapia fotodinâmica), uma terapia eficaz e segura (LACERDA, ALFENAS, CAMPOS, 2014).

Pesquisas mostram que o uso do PDT (terapia fotodinâmica) associado aos tratamentos endodônticos, elimina significativamente de forma seletiva microrganismos, inclusive os mais resistentes, como por exemplo o *E. faecalis*. No entanto, os resultados obtidos em diferentes estudos com os lasers de baixa potência adjunto a PDT demonstram diferença, pois não faz-se da mesma intensidade, o comprimento de onda ou diâmetro utilizado para a absorção luz, do laser. Dessa forma, decorrente de alguns estudos limitados analisados, conclui-se que a eficácia da PDT na eliminação dos microrganismos presentes nos condutos radiculares infectados mantêm-se ainda questionáveis (SIDDIQUI et al. 2013).

A PDT na endodontia, não deve substituir tratamentos convencionais, e sim ser associado como fator coadjuvante ao tratamento convencional, já que o laser de baixa intensidade é seguro, de fácil manipulação e aceitação pelo paciente. Esta terapia, associada ao tratamento endodôntico intracanal, tem como as vantagens ser seletiva, de fácil aplicação, não ocasionando resistência bacteriana, de baixo custo, assim ocasionando melhor qualidade de vida ao paciente. Talvez, devido aos inúmeros fatores que influenciam a efetividade da PDT a diversidade microbiana associada a cada quadro clínico endodôntico, resulta na necessidade de mais estudos sobre o tema (AMARAL et al. 2010).

A PDT, é uma alternativa adicional ao tratamento endodôntico, afim de promover a sanificação dos condutos antes da obturação, assim como diminuir o contingente bacteriano em elementos dentais com ou sem lesão apical. Uma alternativa utilizada atualmente é o emprego de soluções quelantes, com o intuito de remover o smear layer, promovendo então a abertura dos túbulos dentinários. Assim o corante atingirá os túbulos da dentina com mais facilidade, favorecendo a ação do PDT na microbiota ali presente. A pré-irradiação do fotossensibilizador no conduto desejado será de cinco minutos, após essa ação de cinco minutos a luz vermelha do laser de baixa intensidade, será ativada iniciando então a terapia fotodinâmica. As principais desvantagens atribuídas a aplicação da terapia fotodinâmica está diretamente ligadas ao protocolo, que seja suficientemente seguro, para a técnica deseja. A dosagem, fonte de luz, o corante mais adequado para cada tipo de microrganismo ou tecido alvo, quantidade de energia e a potência a serem aplicados (MENEZES, 2017).

3.3.3 Fotossensibilizador Azul de Metileno

Na endodontia, destacam-se os fotossensibilizadores (corante), provenientes das fenotiazinas, muito utilizados na PDT (terapia fotodinâmica). São constituintes heteroaromáticos triciclos, tendo como característica a cor azul, destacam-se o azul de metileno e o azul de toluidina. Os fotossensibilizadores devem possuir como fatores primordiais estabilidade biológica, eficiência fotoquímica, bandas de absorção ressonante com o comprimento de onda, seletividade, e não acarretar efeitos tóxicos aos tecidos (RODRIGUES *et al*, 2010).

O processo de fotossensibilização relaciona-se com a carga utilizada ao fotossensibilizador. Para a obtenção de uma maior destruição bacteriana utilizando-se o azul de metileno, é necessário aumentar a concentração e a densidade da energia provinda da luz. Seu mecanismo de ação é possível devido a interação com macromoléculas lipopolissacárides aniônicas. Bactérias gram-positivas são mais sensíveis aos fotossensibilizadores derivados das fenotiazinas, por possuir em sua membrana externa uma camada peptidoglicano e ácido lipoteicoico permitindo assim a difusão sobre os microrganismos e por consequência inativando-as (RODRIGUES *et al*, 2010).

4 METODOLOGIA

4.1 DESENHO DO ESTUDO

Estudo descritivo, quantitativo, qualitativo sobre a eficácia da terapia fotodinâmica convencional energizada como coadjuvante no tratamento endodôntico em relação à bactéria *Enterococcus faecalis*.

4.2 LOCAL E PERÍODO DE REALIZAÇÃO DA PESQUISA

O estudo será realizado no Laboratório de análise clínica e microbiológica da FAPAC ITPAC/Porto Nacional, entre o período de Fevereiro a Março de 2020.

4.3 POPULAÇÃO E AMOSTRA

Os Microrganismos bacterianos a serem analisados pertencem à espécie *Enterococcus faecalis*. A amostra será constituída de cepas bacterianas de *E. faecalis* provenientes da NEWprov 0031.

4.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Todos microrganismos derivados da cepa bacteriana *E.faecalis* NEWprov 0031.

4.5 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Quaisquer outras espécies bacterianas ou de demais classes microbianas.

4.6 VARIÁVEIS

Para controle das amostras, após a descontaminação químico-mecânica dos condutos radiculares e inoculação com as bactérias, será utilizado a PDT (terapia fotodinâmica), tendo como fotossensibilizador (corante) o azul de metileno.

Tendo como primeira variável a utilização de diferentes comprimentos de ondas do laser de baixa potência (660nm e 808nm) associado a PDT.

A segunda variável, a PDT será energizada através do aparelho sônico endoactivador.

A terceira variável, a PDT será energizada através do aparelho ultrassônico.

4.7 PROCEDIMENTOS

4.7.1 Laser de baixa potência associado ao PDT

Será utilizado o laser de baixa potência da marca MMO (Laser duo), com o fotossensibilizador azul de metileno da marca DMC (CHIMIOLUX).

4.7.2 Microrganismo

Na análise microbiológica será utilizada uma cepa bacteriana de referência, usada como padrão para controle de qualidade em laboratórios de Microbiologia e testes de suscetibilidade a antimicrobianos, comercializada pela NEWProv. Serão usadas bactérias da espécie *Enterococcus faecalis* (NEWProv – 0031).

O microrganismo encontra-se estabilizado em discos liofilizados numa concentração acima de 100.000 UFC/ml. Estes discos serão revitalizados através dos seguintes procedimentos: Através de uma pinça flambada e resfriada, o disco será removido assepticamente do seu frasco de origem e colocado em 3ml de caldo nutritivo BHI (Brain Heart Infusion). O tubo será identificado e incubado à 35°.+ 2°C até turvação visível (2-3 horas). Em seguida, com o auxílio de uma alça calibrada de 100 microlitros, serão inoculados os microrganismos em placa de meio nutritivo não seletivo (Ágar BHI) pela técnica de esgotamento e novamente serão incubados a 35°.+ 2°C por 24 horas.

4.7.3 Preparação dos dentes bovinos

Nove dentes bovinos serão extraídos e armazenados em solução de NaClO 2,5% durante o período de 30 minutos, com intuito de eliminação dos resíduos orgânicos. Após, serão lavados com H₂O destilada e em seguida colocados em solução salina estéril 0,9% até o início do procedimento.

Preparação das amostras utilizando a técnica endodôntica convencional: Inicialmente as amostras serão numeradas e radiografadas. Dando início ao preparo, será realizada a abertura de acesso, com broca 1015HL. Em seguida, com as limas #08 K, #10 K e #15 K, é realizado a exploração inicial, introduzindo a lima até aparecer no forame apical. O comprimento de trabalho é definido subtraindo 1,0mm deste comprimento, após o estabelecimento da odontometria as amostras serão incluídas em copos descartáveis com gesso tipo IV. Com as brocas Gattes

Glidden é preparado o terço cervical dos elementos dentários, serão submetidos à esterilização em autoclave de 121°C por 20 minutos a 15 lbs de pressão.

4.7.4 Imersão das colônias bacterianas nos canais radiculares das amostras

Será utilizada uma micropipeta com agulha estéril, com o objetivo de inocular os canais radiculares com a suspensão bacteriana em caldo nutriente. As amostras serão divididas em nove grupos, cada um contendo uma (controle piloto) amostra dos elementos dentários, que serão levados a estufa de 37°C por 24 horas.

Após a contaminação das amostras com a bactéria *E. faecalis* na concentração de 1×10^5 ufc/ml, onde cada dente inoculado será fechado com restauração provisória para posterior crescimento da cultura, após passada as 24 horas, os dentes receberão tratamento específico em prol da eliminação dos microrganismos. Ao final das análises será tabelado os resultados e comparados, verificando assim se houve redução significativa da bactéria em diferentes formas de tratamento a saber.

4.7.5 Tratamento endodôntico convencional

Fazendo uso da solução de hipoclorito de sódio 2,5% para a irrigação após cada instrumentação. O preparo do terço cervical, médio e apical será feito com as limas Kerr #15, #20, #25, #30, #35 e #40. Para aumento da permeabilidade dentinária e uma maior remoção do smear layer é utilizado a solução de EDTA durante três minutos. Após a instrumentação, os elementos dentários serão deixados secar ao ar livre em temperatura ambiente, serão submetidos à esterilização em autoclave de 121°C por 20 minutos a 15 lbs de pressão.

Tabela 01: Distribuição dos grupos

Grupos	Amostras	Tratamento
Grupo A	N: 01	Controle positivo: os canais serão contaminados com as bacterianas da <i>E. faecalis</i> .
Grupo B	N: 01	Controle negativo: os canais serão preenchidos com solução salina estéril 0,9%.

Grupo C	N: 01	Tratamento químico-mecânico (instrumentação mais hipoclorito de sódio).
Grupo D	N: 01	Tratamento químico-mecânico, mais PDT, irradiando a luz durante 01 minuto e 30 segundos (9J), no comprimento de onda emitido do laser vermelho em 660nm.
Grupo E	N: 01	Tratamento químico-mecânico mais PDT, irradiando a luz durante 01 minuto e 30 segundos (9J), no comprimento de onda emitido do laser infravermelho em 808nm.
Grupo F	N: 01	Tratamento químico-mecânico mais PDT energizada com aparelho sônico, irradiando a luz durante 01 minuto e 30 segundos (9J), no comprimento de onda emitido do laser vermelho em 660nm.
Grupo G	N: 01	Tratamento químico-mecânico mais PDT energizada, com aparelho ultrassônico, irradiando a luz durante 01 minuto e 30 segundos (9J), no comprimento de onda emitido do laser vermelho em 660nm.
Grupo H	N: 01	Tratamento químico-mecânico mais PDT energizada com aparelho sônico, irradiando a luz durante 01 minuto e 30 segundos (9J), no comprimento de onda emitido do laser infravermelho em 808nm.
Grupo I	N: 01	Tratamento químico-mecânico mais PDT energizada com aparelho ultrassônico, irradiando a luz durante 01 minuto e 30 segundos (9J), no comprimento de onda emitido do laser infravermelho em 808nm.

Fonte: Elaborado pelos autores

4.7.6 Análise dos resultados

Aliquotas serão colhidas para mensuração da massa celular em espectrofotômetro. Tubos de ensaio contendo os controles, em meio BHI, experimento para zerar o espectrofotômetro no momento de avaliação da densidade óptica, usando comprimento de onda de 600nm. Após a leitura, será realizado o cálculo de correção para o fator de diluição empregado.

5 DELINEAMENTO DA PESQUISA

A pesquisa será realizada através da análise microbiológica em dentes bovinos, que serão disponibilizados através do Frigorífico Ideal, localizado na Rodovia TO-264 km 12 em Porto Nacional. As amostras dos microrganismos *E. faecalis* serão adquiridos pela empresa NEWProv – 0031.

Após a distribuição dos grupos, os canais abertos e contaminados, serão fechados com restauração provisória, e então serão abertos novamente para o processo químico-mecânico, após a sanificação do canal o azul de metileno 0,05%, será aplicado no interior dos sistemas de canais radiculares e mantido por 3 a 5 minutos, em seguida os protocolos de irradiação serão implementados de acordo com a tabela 01.

Em seguida, a parte externa do dente será descontaminada com o auxílio do NaClO (hipoclorito) e gases estéril, as amostras serão coletadas e inoculadas em caldo BHI, posteriormente serão incubadas em estufa à 37°C por um período de tempo de 24 horas.

Os resultados serão avaliados por turbidimetria, usando espectrofotômetro com comprimento de onda de 600nm. Os dados serão transcritos para o programa Microsoft Office Excel 2016, no qual, utilizaremos suas ferramentas para serem analisados e interpretados conforme objetivo, para fins de exposição em gráficos e tabelas, para submissão de artigo científico.

6 ASPECTOS ÉTICOS

6.1 RISCOS

Os riscos pertinentes à pesquisa são poucos. O de maior relevância se refere a contaminação e infecção com *E. faecalis* e acidentes ao manipular perfuro cortantes. No entanto, os responsáveis pelo projeto de pesquisa asseguram que será feito o necessário para manter a biossegurança das pessoas envolvidas.

6.2 BENEFÍCIOS

Gerar conhecimento científico aos profissionais de saúde, diretamente aos cirurgiões-dentistas. Relacionado ao uso da eficácia da terapia fotodinâmica convencional energizada como coadjuvante no tratamento endodôntico, com intuito de intensificar a eliminação da bactéria *E. faecalis*.

7 DESFECHO

7.1 DESFECHO PRIMÁRIO

Verificar se a terapia fotodinâmica convencional energizada, possui ação coadjuvante ao tratamento endodôntico garantindo uma remoção efetiva dos microrganismos, reduzindo assim recidivas.

7.2 DESFECHOS SECUNDÁRIOS

Almeja-se que esta pesquisa alcance o maior número de profissionais da área da saúde, levando assim conhecido sobre o tema através de congressos e publicações.

8 CRONOGRAMA

Quadro 1 - Cronograma da pesquisa

ETAPAS	2019				2020				
	Ago.	Set.	Out.	Nov.	Jan.	Fev.	Mar.	Abr.	Maio
Escolha do tema	X								
Pesquisa bibliográfica	X	X							
Elaboração do Projeto	X	X	X	X					
Encontros com o(a) orientador(a)	X	X	X	X		X	X	X	X
Realização dos procedimentos e experimentos						X	X		
Análise dos Resultados							x	x	
Escrita do Artigo Científico						x	x	x	X
Revisão final									X
Defesa do Artigo									x

Fonte: Elaborado pelos autores

9 ORÇAMENTO

Quadro 2 - Orçamento dos recursos gastos com a pesquisa

CATEGORIA: GASTOS COM RECURSOS MATERIAIS			
Itens	Quantidade	Valor Unitário R\$	Valor Total R\$
Resma de folha de A4 chamex Office de A4	3	24,00	72,00
Pasta portfólio	1	10,00	10,00
Impressões	5	45,00	225,00
Caneta bic	4	2,50	10,00
CATEGORIA: GASTOS COM RECURSOS HUMANOS			
Itens	Quantidade	Valor Unitário R\$	Valor Total R\$
Combustível	30l	4,50	135,00
CATEGORIA: FINANCIAMENTO TOTAL DA PESQUISA			
Categorias			Valor Total R\$
Gastos com recursos materiais			317,00
Gastos com recursos humanos			135,00
Valor Total:			452,00

Fonte: Elaborado pelos autores

REFERÊNCIAS

- AMARAL, Rodrigo Rodrigues, *et al.* Terapia Fotodinâmica na Endodontia. **RFO UPF**, Passo Fundo, vol.15 n.2 maio./agosto, 2010.
- BALAKRISHNA, Niyati. *et al.* Efeito da irrigação convencional fotoativa em *Enterococcus Faecalis* em canais radiculares: um estudo in vitro, **Jornal Of Conservative Dintistry**, Índia, 2017. p 125-128
- DI SANTI, Bárbara Trindade, *et.al.* Avaliação da suscetibilidade antimicrobiana. **Revista Odontológica UNESP**, São Paulo, 200-206, julho/agosto, 2015.
- EDUARDO, Carlos de Paula. **Fundamentos de odontologia Lasers na Odontologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. p.118-119-127-130.
- FLORIANO, Mariane L. S. Lacerda. *et. al.* Terapia fotodinâmica associada ao tratamento endodôntico – revisão de literatura. **RFO**, Passo Fundo, v. 19, n. 1, p. 115-120, janeiro/abril, 2014.
- GHORBANI, Jaber, *et al.* Photosensitizers in antibacterial photodynamic therapy: an overvie **Review Article JMLL**, Tokyo-Japan, 2018. Disponível: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31182904.
- JORGE, Ana Carolina Tedesco, *et, al.* Aplicações dos lasers de alta potência. **Revista Saúde - UNG - SER**, v. 4, n. 3, 2010.
- JUNIOR, José Freitas Sirqueira, *et al.* Princípios Biológicos do Tratamento endodônticos de dentes com polpas necrosadas e lesão perirradicular. **Rev. Bras. Odontol**, Rio de Janeiro, v 69, n 1, jan/jun 2012.
- LACERDA, Mariane F. L. Santos. Infecção secundária e persistente e sua relação com o fracasso do tratamento endodôntico. **Revista Brasileira de Odontologia**, Rio de Janeiro, v. 73, n. 3, p. 212-7, jul./set. 2016.
- LACERDA, Mariane Floriano Lopes Santos. *et.al.* Tratamento fotodinâmica associada ao tratamento endodôntico. **RFO**, Passo Fundo, v. 19, n. 1, p. 115-120, janeiro/abril 2014.
- LIANG YUHONG, Yue Lin. Preparação Mecânica do Canal Radicular da Tecnologia de Tratamento de Canal Radicular (2)- Tecnologia de Preparação do Canal Radicular e Desenvolvimento de Estroncio de níquel titanico. **Chinese Journal Of Stomatology**, 2019, 717-720.
- MENEZES, Marília, *et al.* Efeito da terapia fotodinâmica e plasma não térmico na obturação do canal radicular: A nalise de adesão e penetração aferidor. **Jornal Of Applied Oral Science**, 2017, 396-403.
- NÚÑES, Silvia Cristina. *et. al.* PDT - **Terapia fotodinâmica antimicrobiana na odontologia**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013.
- PARADELLA, Thaís Cachuté, *et al.* *Enterococcus faecalis*: considerações clínicas e microbiológicas. **Revista de odontologia da UNESP**, São Paulo, p. 167-68. 2007.
- POURHAJIBAGHER, Maryam, *et al.* Antibacterial and Antibiofilm Efficacy of Antimicrobial Photodynamic Therapy Against Intracanal *Enterococcus faecalis*: An In

Vitro Comparative Study with Traditional Endodontic Irrigation Solutions, **Journal Of Dentistry**, Tehran, Iran. July/2018; Vol.15, N.4.

PINHEIRO, A. L. B. et.al. **Aplicação do Laser na Odontologia**. 2010. São Paulo: Santos, 2010, p 156 - 271, (978-85-7288812-7).

RONQUI, Maria Rita. **Eficiência da terapia fotodinâmica em Staphylococcus aureus e Escherichia coli**. 2015, 142f. Tese - Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2015.

RODRIGUES, Rodrigo Amaral. et al. Terapia fotodinâmica na endodontia – revisão de literatura. **RVO**, Passo Fundo, v. 15, n.12, p.207-211, maio/agosto 2010.

SIMÕES, Maria S. Thamyres, et al. Aplicabilidade da terapia fotodinâmica antimicrobiana na eliminação do Enterococcus faecalis. **Arch Health Invest**, São Paulo, 492-496, Julho/Novembro, 2018.

SEGUNDO, Aguinaldo Silva Garcez. **Laser em baixa intensidade associado a fotossensibilizador para redução bacteriana intracanal comparado ao controle químico**. 2002. 106f. Tese Mestre profissional em lasers em odontologia - Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

SAQUY, Paulo César. et. al. Evaluation of chelating action of EDTA in association with dakin's solution. **Forp USP Online**, Ribeirão Preto, 1994. Disponível em: [http://www.forp.usp.br/bdj/bdj5\(1\)/pdf/v5n1a09.pdf](http://www.forp.usp.br/bdj/bdj5(1)/pdf/v5n1a09.pdf). Acesso em: 10 Setembro 2019.

SILVA, Francine Cristina, et al. Análise da efetividade da instrumentação associada a terapia fotodinâmica antimicrobiana e a medicação intracanal na eliminação de biofilmes de Enterococcus faecalis. **Braz Dent Sci**, São Paulo, 31-38, Janeiro/Julho, 2010.

SIDDIQUI, Shoaib Haider, et.al. **Eficácia bactericida da terapia fotodinâmica contra Enterococcus faecalis em: uma revisão literária sistemática da literatura**. v 10, e 4, dezembro de 2013, p 632-643

SOUSA, Monica Naufel. Inter-relação entre Enterococcus faecalis, Candida albicans e os tratamentos endodônticos. **Revista de Investigação Biomédica**, São Luís, p.49-57, 2017.

SILVA, Aguinaldo Garcez. et. al. **Laser de baixa potência princípios básicos e aplicações clínicas na odontologia**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.

TAKEHARA, Graziela Naomi Moreno. Terapia Fotodinâmica na Redução de Microorganismos no Sistema de Canais Radiculares. **Revista Brasileira de Odontologia**, Rio de Janeiro, v.68, n.1, p.68-71, janeiro/junho 2011.

TRABULSI, Luiz Rachid. ALTERTHUM, Flávio. **Microbiologia**. 5. Ed. São Paulo: Atheneu, 2008.

ZAGAR, Nazanim, et al. Identification of microorganisms in persistent/secondary endodontic infections with respect to clinical and radiographic findings: bacterial culture and molecular detection. **IJM Iranlan Journal Of Microbiology**, 2019, volume 11, 120-128.

