Revista Perquirere, vol. 23, n. 1: 695-707, 2026
© Centro Universitário de Patos de Minas
https://revistas.unipam.edu.br/index.php/perquirere

Avaliação da capacidade do corante alimentício azul atuar como fotoiniciador na terapia fotodinâmica

Evaluation of the ability of blue food coloring to act as a photoinitiator in photodynamic therapy

SABRINA MEDEIROS PEREIRA
Discente de Odontologia (UNIPAM)
sabrinamedeiros@unipam.edu.br

DANIELLA CRISTINA BORGES
Professora orientadora (UNIPAM)
daniellacborges@unipam.edu.br

LEONARDO BÍSCARO PEREIRA
Professor coorientador (UNIPAM)
leonardobiscaro@unipam.edu.br

Resumo: Nas últimas décadas, a endodontia evoluiu gradativamente, permitindo que cirurgiões-dentistas disponham de novas técnicas, instrumentos, materiais e tecnologias para melhorar os resultados do tratamento endodôntico e reduzir seu tempo de execução. Diante disso, a terapia fotodinâmica (TFD) surge como método tecnológico de desinfecção de canais radiculares, com eficácia na redução microbiana. Este estudo *in vitro* avaliou a TFD com azul de metileno e corante alimentício azul (0,01%) sobre *Escherichia coli*. Seis grupos experimentais (controle negativo/positivo, fotossensibilizadores isolados e com laser vermelho de 600 nm/9 J) foram incubados em BHI e analisados por espectrofotometria em 24 e 48 horas. Todos os grupos contaminados mostraram crescimento bacteriano similar ao controle positivo ($p > 0,05$), sem efeito antimicrobiano significativo. Conclui-se que os parâmetros foram insuficientes, recomendando-se doses acima de 20 J em modelos com biofilme endodôntico *ex vivo*.
Palavras-chave: terapia fotodinâmica; endodontia azul de metileno.

Abstract: Over the past decades, endodontics has gradually evolved, enabling dentists to access new techniques, instruments, materials, and technologies to improve endodontic treatment outcomes and reduce execution time. Consequently, photodynamic therapy (PDT) emerges as a technological method for root canal disinfection, effective in microbial reduction. This *in vitro* study evaluated PDT using methylene blue and food-grade blue dye (0.01%) against *Escherichia coli*. Six experimental groups (negative/positive controls, photosensitizers alone and with red laser at 600 nm/9 J) were incubated in BHI and analyzed by spectrophotometry at 24 and 48 hours. All contaminated groups showed bacterial growth similar to the positive control ($p > 0.05$), with no significant antimicrobial effect. Parameters were deemed insufficient, recommending doses above 20 J in *ex vivo* endodontic biofilm models.
Keywords: Photochemotherapy; endodontics; methylene blue.

1 INTRODUÇÃO

A ciência que estuda a morfologia da câmara pulpar, a fisiologia dos canais radiculares e a patologia da polpa é denominada endodontia. Ela consiste na prevenção, tratamento e recuperação dos tecidos periapicais (Schaeffer *et al*., 2019).

Nas infecções endodônticas os microrganismos desempenham papel fundamental. Seus metabólitos tóxicos são responsáveis pelo desenvolvimento e pela persistência de periodontites apicais.

Dentre os objetivos que o tratamento endodôntico possui, tem-se a máxima desinfecção do sistema de canais radiculares, bem como a prevenção da sua reinfecção (Lacerda *et al*., 2014). Comumente, para cumprir esses objetivos, utiliza-se a terapia convencional, que consiste na limpeza e modelagem dos canais radiculares por meio de limas manuais e rotatórias, em conjunto com irrigação de substâncias químicas auxiliares, e em alguns casos, complementa-se com medicação intracanal (Schaeffer *et al*., 2019).

No entanto, na prática clínica, a erradicação completa dos microrganismos patogênicos nem sempre é alcançada, o que pode culminar no fracasso do tratamento endodôntico (Lacerda *et al*., 2014). Com isso, a maioria dos casos de falhas ou insucessos endodônticos estão associados à persistência de microrganismos que conseguiram resistir ao preparo químico-mecânico ou à medicação intracanal (Siqueira Júnior; Rôças, 2008).

Nas últimas décadas, a endodontia está evoluindo gradativamente e, por essa razão, os cirurgiões-dentistas dispõem cada vez mais de novas técnicas, instrumentos (Chevigny *et al*., 2008), materiais e novas tecnologias, possibilitando, assim, melhorar o resultado do tratamento endodôntico e, ainda, facilitando e diminuindo o tempo de execução do tratamento (Amaral *et al.,* 2010).

Diante disso, a terapia fotodinâmica (TFD) surge como um novo método tecnológico de desinfecção dos canais radiculares com significativa eficácia na redução microbiana (Lacerda *et al*., 2014), que foi originalmente empregada para o tratamento de alguns tipos de câncer devido à sua ação citotóxica direcionada (Zorita-García *et al*., 2019).

A TFD vem se mostrando promissora coadjuvante ao tratamento endodôntico, na tentativa de eliminar microrganismos persistentes ao preparo químico-mecânico, com aplicação clínica simples e rápida, além de não gerar resistência microbiana, podendo ser recomendada para tratamentos endodônticos (Soukos *et al.,* 2006 *apud* Amaral *et al.,* 2010).

Ademais, a terapia fotodinâmica antimicrobiana é uma abordagem consistente na interação química entre um fotossensibilizador tópico não tóxico, uma fonte de luz com um comprimento de onda específico (Silva *et al*., 2018) e moléculas de oxigênio ambiente (Gholami *et al.*, 2023).

Neste contexto, atualmente os lasers de diodo, que emitem luz vermelha em baixa potência, são as fontes de luz utilizada, onde os resultados não decorrem do aumento da temperatura, mas de reações fotoquímicas que ocorrem entre o fotossensibilizador, a luz e o oxigênio (Amaral *et al.,* 2010), não prejudicando os tecidos adjacentes.

Estudos demonstram que a maioria das bactérias bucais não absorvem a luz visível de lasers que operam em baixa potência. Desse modo, a utilização de um agente de absorção óptica não tóxica, que se fixa à parede celular bacteriana atraindo para si a luz do laser, é essencial para que ocorra a ação bactericida (Amaral *et al.,* 2010). Logo, é indispensável que a fonte de luz seja absorvida pelo fotossensibilizador, a fim de que a TFD seja efetiva na inviabilização das células dos microrganismos (Gholami *et al.*, 2023).

Os fotossensibilizadores são agentes químicos que são ativados pela luz em um comprimento de onda específico, geralmente entre 600 nm a 700 nm (Oliveira *et al.,* 2014). Entre eles, podem-se destacar os derivados das fenotiazinas, que são compostos heteroaromáticos tricíclicos, corantes azuis, como o corante azul de toluidina e o azul de metileno (Arneiro *et al.,* 2014). Esses corantes em baixas concentrações não produzem ação citotóxica, mas, em altas concentrações, podem ser prejudiciais, causando danos às células, como, por exemplo, aos fibroblastos (Lacerda *et al*., 2014).

Com base no discorrido, o presente trabalho tem como escopo verificar se um corante azul alimentício detém capacidade similar à do azul de metileno e de toluidina para corar células bacterianas no canal radicular, bem como para atrair a luz vermelha dos lasers de baixa potência para uma TFD eficaz na endodontia, revelando-se como um corante mais simples e sem risco de causar danos às células.

2 REVISÃO DE LITERATURA

O tratamento endodôntico consiste em preparar, desinfectar e obturar os canais radiculares para tratar patologias pulpares e periapicais, eliminando os microrganismos presentes nos canais radiculares, impedindo sua propagação (Oliveira *et al.,* 2014).

O tratamento é dividido em quatro etapas principais: instrumentação (desinfecção mecânica), irrigação (desinfecção química), medicação e obturação. Os três primeiros passos são cruciais e devem ser executados de maneira eficaz para assegurar o controle microbiano no sistema de canais radiculares (Chubb, 2019).

Durante a instrumentação utilizando-se a terapia convencional com limas manuais ou rotatórias (Schaeffer *et al*., 2019), há formação de depósitos conhecida como smear layer, que cobre as superfícies das paredes dos canais radiculares, tendo uma camada mais profunda contida nos túbulos dentinários. Essa camada favorece o desenvolvimento de biofilmes e reduz a difusão dos agentes irrigantes nos túbulos dentinários (Pintor *et al.,* 2016).

Com isso, a contaminação microbiana dos canais radiculares pode se estender para os túbulos dentinários, onde os métodos de descontaminação mecânica e irrigação química não conseguem erradicar essa propagação bacteriana, principalmente considerando algumas limitações, como canais acessórios e anatomia do complexo do canal radicular (Abdelkarim-Elafifi *et al.,* 2021), dentre outros.

Ademais, a área da endodontia está em contínuo progresso, com os cirurgiões dentistas tendo acesso crescente a novas técnicas, instrumentos, materiais e tecnologias para aprimorar os tratamentos endodônticos (Chevigny *et al*., 2008; Amaral *et al.,* 2010).

Diante disso, a Terapia Fotodinâmica em endodontia (TFD) surge como uma alternativa promissora coadjuvante na terapia antimicrobiana e na desinfecção do sistema de canais radiculares (Lacerda *et al*., 2014).

A TFD é descrita como uma terapia de amplo espectro, minimamente invasiva, reprodutível e eficaz contra uma vasta gama de microrganismos. Essa técnica integra três componentes principais, um fotossensibilizador, uma fonte de luz e oxigênio. Juntos esses três elementos causam danos a células bacterianas (Zorita-García *et al.,* 2019).

A terapia fotodinâmica requer o uso de dispositivos luminosos como fonte de luz, para ativar os fotossensibilizadores, em um comprimento de onda específico, variando entre 600 nm à 700 nm (Oliveira *et al*., 2014).

Neste contexto, em alguns estudos analisados, foram utilizados lasers de alta potência com o propósito de desinfecção completa, cujo resultado apurado foi de 99% de eliminação bacteriana por aumento de temperatura e desnaturação proteica. No entanto, danos aos tecidos dentários e tecidos adjacentes foram identificados (Schaeffer *et al*., 2019).

Com isso, atualmente o uso de lasers de baixa potência vem mostrando resultados promissores, exercendo efeito antimicrobiano e permitindo o reparo rápido dos tecidos periapicais e a redução dos desconfortos pós-instrumentação (Arneiro *et al*., 2014), onde os resultados não decorrem do aumento da temperatura, mas sim de reações fotoquímicas que ocorrem entre o fotossensibilizador, a luz e o oxigênio (Amaral *et al*., 2010), não prejudicando os tecidos adjacentes.

O comprimento de cada onda emitida pelo aparelho laser, necessita de uma dose para conseguir acessar a parede da célula, possibilitando-a de absorver a luz. Ao atingir o citocromo C oxidase que se encontra na mitocôndria da célula de mamíferos, a luz irá intensificar a respiração celular, acelerar o transporte de elétrons, causar aumento de metabolismo, aumento de ATP, liberação de óxido nítrico, vasodilatação, modulação de mediadores inflamatórios e de dor, que acontecem em uma regeneração tecidual (Correa *et. al.,* 2020).

Ao se verificar que as bactérias não apresentam fotossensibilizadores e não possuem mitocôndrias, não sendo um alvo primário para a luz do laser, preconizou-se então a utilização de um composto capaz de absorver a luz, o fotossensibilizador (corante), que deverá se ligar e penetrar fortemente nas células bacterianas para atrair a luz vermelha do laser, que na presença de oxigênio irá causar danos a membrana externa das células (Lacerda *et al*., 2014).

Dentre os fotossensibilizantes pode-se destacar os derivados das fenotiazinas, que são compostos heteroaromáticos tricíclicos, corantes azuis, como o corante azul de toluidina e o azul de metileno (Arneiro *et al.,* 2014), sendo os mais utilizados devido a sua capacidade de corar bactérias gram-negativas e gram-positivas responsáveis pela maioria das infecções endodônticas (Gajdács; Spengler; Urbán, 2017).

O azul de metileno é utilizado há séculos como corante histológico, sendo encontrado em temperatura ambiente na forma de pó verde escuro e, diluído em água, resulta em uma solução de cor azul. Este fotossensibilizador catiônico possui uma absorção máxima de luz vermelha de 670 nm, sendo particularmente tóxico contra espécies de *Estreptococos* comparado a espécies de *E. Faecalis* (Lee *et al.,* 2004).

O azul toluidina ou cloreto de tolônio, é um corante azul, utilizado em concentrações que variam de 0,001% a 0,01%, o que evita o risco de coloração dentária e a irritação dos tecidos moles (Singh *et. al.,* 2014).

Nesta dinâmica, o fotossensibilizador é ativado pela luz na presença de oxigênio, onde irá haver a transferência de energia do fotossensibilizador ativado para o oxigênio disponível, resultando na formação de espécies tóxicas de oxigênio, conhecida como oxigênio singleto e radicais livres. São espécies químicas altamente reativas que danificam proteínas, lípides, ácidos nucleicos e outros componentes microbianos (Amaral *et. al.,* 2010).

Para elucidar tal efeito da excitação eletrônica do fotossensibilizador, são descritos dois tipos de reações responsáveis pela produção de oxigênio singleto e radicais livres levando ao efeito bactericida (Silva *et al.*, 2018), tipo I - onde ocorre a transferência de elétrons, produzindo radicais livres que vão interagir com o oxigênio, causando numerosos danos à membrana celular, proteínas e ADN, e tipo II - que ocorre a transferência de energia, onde o fotossensibilizador interage diretamente com o oxigênio para formar oxigênio singlete. Está espécie muito reativa é capaz de interagir com a membrana bacteriana, peptídeos e ácidos nucleicos (Amaral *et al.,* 2010; Plotino *et. al.,* 2018).

No mecanismo tipo I, há formação de produtos oxidados e ocorre em cerca de 5% da reação. Por outro lado, 95% ocorrem o mecanismo tipo II, mais desejável e responsável pela apoptose, morte celular que diferentemente da necrose não provoca injúria aos tecidos adjacentes. Na apoptose, a célula tem morte programada com o seu encolhimento e formação de vesículas (corpos apoptóticos) que são fagocitadas por macrófagos posteriormente. Como não há lise celular, não há extravasamento do conteúdo citoplasmático, evitando assim, lesão tecidual. Isso torna a TFD uma terapia eficaz e segura (Lacerda *et al.,* 2014 *apud* Gad *et al.,* 2004)

Os corantes fotossensibilizadores são de suma importância para a eficácia da TFD. Em baixas concentrações não produzem ação citotóxicas, mas, em altas concentrações, podem ser prejudiciais, causando danos às células, como por exemplo, aos fibroblastos (Lacerda *et al*., 2014).

Portanto, a Terapia Fotodinâmica é potencial coadjuvante na endodontia, viabilizando a eliminação de microrganismos persistentes após o preparo químico-mecânico do sistema de canais radiculares. No entanto, a literatura não traz um protocolo em relação aos parâmetros dos fotossensibilizadores, ratificando a necessidade de novas pesquisas sobre novos corantes (fotossensibilizadores), que também sejam eficazes, simples e que não traga a possibilidade de acometer danos a células mamíferas (Amaral *et al., 2010).*

3 METODOLOGIA

Trata-se de um estudo experimental *in vitro*, no qual as variáveis foram controladas em ambiente laboratorial, com o objetivo de investigar a eficácia da terapia fotodinâmica (TFD) utilizando dois fotossensibilizadores/fotoiniciadores distintos — azul de metileno e corante alimentício azul — sobre culturas de *Escherichia coli* (cepa ATCC 25922).

Inicialmente, procedeu-se à preparação do meio de cultura *Brain Heart Infusion* (BHI), seguindo as instruções do fabricante, por meio da dissolução do pó em água destilada. Em seguida, alíquotas de 5 mL de BHI foram distribuídas em 30 tubos de

ensaio, destinados à inoculação de *Escherichia coli*, e posteriormente autoclavadas a 121°C por 15 minutos, obtendo-se meio de cultura estéril, o qual foi então armazenado em estufa.

No segundo momento, foram estabelecidos seis grupos experimentais: G1 – controle negativo, G2 – controle positivo, G3 – teste com azul de metileno, G4 – teste com corante alimentício azul, G5 – teste com azul de metileno associado à TFD e G6 – teste com corante alimentício azul associado à TFD. Para cada grupo foram confeccionadas cinco amostras independentes, totalizando 30 amostras, conforme descrito adiante.

Para a composição dos grupos G4 e G6, utilizou-se o corante alimentício azul Iceberg Chef, linha Color Liquid Gel, na cor Azul Royal, previamente diluído até a concentração de 0,01%, de forma a se aproximar da absorbância (Abs) do azul de metileno em sua concentração padrão de 0,01%.

Nos grupos em que se associaram o azul de metileno à bactéria *Escherichia coli* (G3 e G5) e o corante alimentício azul à *Escherichia coli* (G4 e G6), os componentes foram previamente misturados em recipientes estéreis, obtendo-se as seguintes proporções: 0,5 mL de suspensão de *E. coli* + 0,25 mL de corante alimentício azul (G4 e G6) e 0,5 mL de suspensão de *E. coli* + 0,25 mL de azul de metileno (G3 e G5), sendo cada amostra preparada em seu respectivo recipiente.

Em seguida, as amostras dos grupos G5 e G6 foram submetidas à irradiação com laser vermelho de baixa potência, com comprimento de onda de 600 nm, aplicada por 3 minutos, com a fonte luminosa posicionada na entrada do tubo estéril, resultando em uma dose aproximada de 9 J. Após a irradiação, as amostras foram transferidas para os tubos de ensaio contendo 5 mL de BHI correspondentes a cada grupo.

Dessa forma, foram constituídos os seis grupos experimentais, cada um com cinco amostras (A1, A2, A3, A4 e A5), com os seguintes conteúdos:

- G1: 5mL de BHI
- G2: 5mL de BHI + 0,5mL *Escherichia coli*
- G3: 5mL de BHI + 0,5mL *Escherichia coli* + 0,25mL azul de metileno
- G4: 5mL de BHI + 0,5mL *Escherichia coli* + 0,25mL corante alimentício azul
- G5: 5mL de BHI + 0,5mL *Escherichia coli* + 0,25mL azul de metileno + laser 9J
- G6: 5mL de BHI + 0,5mL *Escherichia coli* + 0,25mL corante alimentício azul + laser 9J

Para a constituição dos grupos experimentais e todas as etapas subsequentes, utilizaram-se pipetas estéreis, empregando-se uma unidade distinta para cada tubo de ensaio, a fim de evitar contaminação cruzada e possíveis vieses nos resultados.

Após a preparação dos grupos, as amostras foram incubadas a 37°C por 24 e 48 horas. Durante a incubação, realizou-se observação sistemática do crescimento bacteriano nos tempos de 24 horas (Dia 1 – D24) e 48 horas (Dia 2 – D48), registrando-se alterações visuais, como turvação e mudança de coloração, de acordo com os parâmetros específicos de cada grupo, e determinando-se a absorbância (Abs) de cada amostra por espectrofotometria.

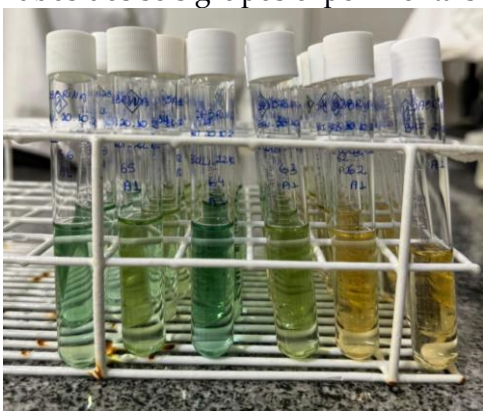
No D24, após 24 horas de incubação, foi realizada a primeira análise espectrofotométrica em laboratório especializado. Para isso, retiraram-se alíquotas de 1,6

mL de cada tubo de ensaio com pipetas estéreis, as quais foram transferidas para cubetas descartáveis estéreis apropriadas para a leitura, que foram descartadas após o uso.

No D48, após 48 horas de incubação, realizou-se a segunda análise espectrofotométrica das mesmas amostras. Novamente foram coletadas alíquotas de 1,6 mL de cada tubo de ensaio, utilizando pipetas estéreis e cubetas descartáveis estéreis específicas para a análise.

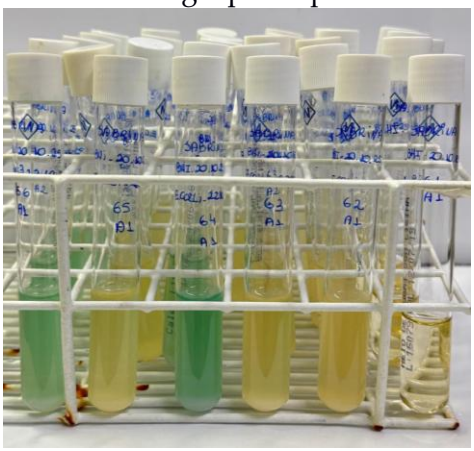
Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística com o objetivo de comparar os efeitos dos diferentes tratamentos com fotossensibilizadores (azul de metileno e corante alimentício azul) sobre a viabilidade de *Escherichia coli* após a TFD. Empregou-se o teste ANOVA unidirecional para comparar as médias dos grupos experimentais (controle, azul de metileno e corante alimentício azul), a fim de verificar a existência de diferenças estatisticamente significativas entre eles.

Figura 1: Tubos dos seis grupos experimentais no dia D0



Fonte: arquivo dos autores, 2026.

Figura 2: Tubos dos seis grupos experimentais no dia D48



Fonte: arquivo dos autores, 2026.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na avaliação do controle negativo (Grupo 1), não foram observadas variações significativas dos valores de absorbância entre os tempos D0, D24 e D48, mantendo-se

próximo de zero em todas as leituras, o que confirma a ausência de crescimento bacteriano e a adequação do meio de cultura como controle. Em contraste, todos os grupos inoculados com *Escherichia coli* (Grupos G2 a G6) apresentaram aumento expressivo de absorbância ao longo do tempo, evidenciando crescimento bacteriano robusto, tanto em 24 como em 48 horas.

A análise de variância com medidas repetidas demonstrou que o fator tempo (D0, D24 e D48) foi estatisticamente significativo em todos os grupos contaminados (Grupos G2 a G6; $p<0,001$), enquanto no Grupo 1 (controle negativo) não houve diferença significativa entre os tempos ($p>0,05$). Esses resultados indicam que, nas condições experimentais adotadas, o sistema foi sensível para detectar o crescimento bacteriano e distinguir adequadamente o comportamento do controle negativo em relação aos grupos com bactéria.

Quando analisados os grupos em cada tempo separadamente, o teste ANOVA de uma via revelou diferenças estatisticamente significativas entre os seis grupos para os tempos D0, D24 e D48 ($p < 0,001$), demonstrando que, em cada tempo de avaliação, pelo menos um grupo apresentou absorbância média distinta dos demais. No entanto, a inspeção das médias mostra que os grupos com *Escherichia coli* (de G2 a G6) mantiveram seus valores elevados, mas relativamente próximos em D24 e D48, sugerindo que nenhum dos tratamentos testados promoveu redução marcante do crescimento quando comparado ao controle positivo.

Nas comparações do tipo "par a par" voltadas para o efeito da associação do laser, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre azul de metileno com e sem laser (Grupos G3 e G5) em nenhum dos tempos avaliados (D0, D24 e D48; $p>0,05$). De forma semelhante, a comparação entre corante azul alimentício com e sem laser (Grupos G4 e G6) não evidenciou diferenças significativas em nenhum dos tempos ($p>0,05$), embora as médias do grupo associado ao laser tenham sido ligeiramente superiores em D24 e D48. Em conjunto, esses achados sugerem que, nas condições testadas (parâmetros de laser e concentração de corantes), a aplicação do laser programado para terapia fotodinâmica em 9 J não produziu efeito adicional detectável sobre a redução do crescimento de *Escherichia coli* quando associada ao azul de metileno ou ao corante azul alimentício.

Tabela 1: Médias e desvios-padrão de absorbância (600 nm) por grupo e tempo

Grupo	Descrição	Tempo	Absorbância média ± DP
1	Controle negativo	D0	-0,0212 ± 0,0018
1	Controle negativo	D24	-0,0308 ± 0,0219
1	Controle negativo	D48	-0,0164 ± 0,0096
2	Controle positivo	D0	0,0166 ± 0,0067
2	Controle positivo	D24	0,8148 ± 0,0774
2	Controle positivo	D48	0,9378 ± 0,0567
3	Azul de metileno	D0	0,0104 ± 0,0027

3	Azul de metileno	D24	0,8164 ± 0,0884
3	Azul de metileno	D48	0,9214 ± 0,0227
4	Corante azul alimentício	D0	0,0470 ± 0,0073
4	Corante azul alimentício	D24	0,8180 ± 0,0191
4	Corante azul alimentício	D48	0,9582 ± 0,0241
5	Azul de metileno + laser (9 J)	D0	0,0086 ± 0,0029
5	Azul de metileno + laser (9 J)	D24	0,7800 ± 0,0066
5	Azul de metileno + laser (9 J)	D48	0,9268 ± 0,0180
6	Corante azul + laser (9 J)	D0	0,0450 ± 0,0031
6	Corante azul + laser (9 J)	D24	0,8464 ± 0,0267
6	Corante azul + laser (9 J)	D48	1,0104 ± 0,0604

Fonte: dados da pesquisa, 2026.

Os resultados obtidos revelam que a terapia fotodinâmica (TFD) com azul de metileno ou com corante azul alimentício, programado para o protocolo PDT, na potência de 9J, não reduziu o crescimento de *Escherichia coli* após 24 e 48 horas apresentando inclusive absorbâncias semelhantes ao controle positivo em todos os grupos. Essa observação sugere que os parâmetros adotados foram insuficientes para gerar espécies reativas de oxigênio capazes de inativar a bactéria, alinhando-se a relatos que enfatizam a necessidade de doses mais elevadas em modelos i*n vitro* endodônticos (Hoedke *et al*., 2018).

A estrutura Gram-negativa de *E.coli,* com sua membrana externa rica em lipopolissacarídeos, limita a penetração dos fotossensibilizadores testados, explicando a ausência de efeito bactericida. Pesquisas indicam que o azul de metileno atua melhor contra Gram-positivos em Endodontia, enquanto Gram-negativos demandam pré-tratamentos ou concentrações ajustadas para superar essa barreira (Oliveira, *et al*., 2014).

O corante azul alimentício, testado como alternativa acessível, comportou-se de modo similar ao azul de metileno, sem evidenciar superioridade foto-iniciadora. Embora corantes alimentícios sejam biocompatíveis, sua eficiência quântica inferior os torna menos promissores para TFD em infecções radiculares, comparados a fenotiazínicos otimizados (Amaral *et al.*, 2010).

Apesar dos resultados negativos, o estudo valida o protocolo espectrofotométrico para avaliações futuras, destacando limitações como ausência de biofilme e dentina. A literatura reforça que otimizações em fluência e associação com irrigantes químicos podem elevar a TFD a adjuvante eficaz no tratamento endodôntico (Carvalho *et al.*, 2011).

5 CONCLUSÃO

Em conclusão, o presente estudo demonstrou que a terapia fotodinâmica (TFD), utilizando azul de metileno ou corante azul alimentício a 0,01% ativados por laser de baixa potência na programação para PDT na potência de 9 J, no comprimento de onda 600 nm, não foi capaz de reduzir significativamente o crescimento de *Escherichia coli* (ATCC 25922) em cultura, conforme evidenciado pelas absorbâncias espectrofotométricas semelhantes ao controle positivo após os tempos de 24 e 48 horas ($p > 0,05$), indicando que os parâmetros adotados foram insuficientes para promover a geração efetiva de espécies reativas de oxigênio, limitados especialmente pela barreira da membrana externa da bactéria Gram-negativa e pela baixa fluência luminosa.

Esta pesquisa sugere que, nos futuros trabalhos cujo objetivo seja avaliar a eficácia da terapia fotodinâmica, combinada sinergicamente com uso de irrigantes químicos, como adjuvante sensível no tratamento de infecções radiculares persistentes, as doses sejam otimizadas para valores acima de 20 J, nos momentos de aplicação em biofilmes de patógenos endodônticos (como *Enterococcus faecalis)* presentes nos substratos dentinários "*ex vivo*".

REFERÊNCIAS

ABDELKARIM-ELAFIFI, Haitham; PARADA-AVENDAÑO, Isabel; ARNABAT-DOMINGUEZ, Josep. Photodynamic Therapy in Endodontics: A Helpful Tool to Combat Antibiotic Resistance? A Literature Review. **Antibiotics**, [*S. l.*], v. 10, n. 9, p. 1106, 13 set. 2021. DOI: https://doi.org/10.3390/antibiotics10091106. Disponível em: https://www.mdpi.com/2079-6382/10/9/1106.

AMARAL, Rodrigo Rodrigues *et al*. Terapia fotodinâmica na endodontia: revisão de literatura. **RFO UPF**, Passo Fundo, v. 15, n. 2, p. 207-211, maio/ago. 2010. Disponível em: https://revodonto.bvsalud.org/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1413-40122010000200020&lng=es&nrm=iso&tlng=pt.

ARNEIRO, Ricardo A. S.; NAKANO, Ryan D.; ANTUNES, Lívia A. A.; FERREIRA, Gustavo B.; FONTES, Karla B. F. C.; ANTUNES, Leonardo S. Efficacy of antimicrobial photodynamic therapy for root canals infected with Enterococcus faecalis. **Journal of Oral Science**, v. 56, n. 4, p. 277-285, 2014. DOI: https://doi.org/10.2334/josnusd.56.277. Disponível em: https://www.jstage.jst.go.jp/article/josnusd/56/4/56_277/_article.

CARVALHO, Erica dos Santos *et al*. Effect of chemical substances in removing methylene blue after photodynamic therapy in root canal treatment. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 29, n. 8, p. 541-547, 2011. DOI: 10.1089/pho.2010.2922. Disponível em: https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1089/pho.2010.2922.

CHEVIGNY, Cristian de *et al*. Treatment Outcome in Endodontics: The Toronto Study-Phase 4: Initial Treatment. **Journal of Endodontics**, v. 34, n. 3, p. 258-263, mar. 2008. DOI: 10.1016/j.joen.2007.10.017. Disponível em: https://www.jendodon.com/article/S0099-2399(07)00940-5/abstract.

CHUBB, David Wayne Ronald. A review of the prognostic value of irrigation on root canal treatment success. **Australian Endodontic Journal**, v. 45, n. 1, p. 5-11, 12 abr. 2019. DOI: https://doi.org/10.1111/aej.12348. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/aej.12348.

CORREA, Ana Karina Fonseca de Carvalho Calderan; SANTOS, Maria Vitória Araújo; CORREA, Natália Fernanda Gubbini Calderan; CELÓRIA, Antonio Aparecido. Laser de baixa potência na harmonização orofacial. **Simmetria Harmonização Orofacial na Ciência**, v. 1, n. 4, p. 75-83, 2020. DOI: 10.24077/2020;14-7583. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/346254968_Laser_de_baixa_potencia_na_harmonizacao_orofacial.

GAD, Faten *et al*. Effects of growth phase and extracellular slime layer on photodynamic inactivation of gram-positive pathogenic bacteria. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 48, n. 6, p. 2173-2178, jun. 2004. DOI: 10.1128/AAC.48.6.2173-2178.2004. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15155218/.

GAJDÁCS, Mário; SPENGLER, Gabriella; URBAN, Edit. Identification and antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria: rubik's cube of clinical microbiology? **Antibiotics**, v. 6, n. 4, p. 25, 2017. DOI: 10.3390/antibiotics6040025. Disponível em: https://www.mdpi.com/2079-6382/6/4/25.

GHOLAMI, Leila *et al*. Clinical applications of antimicrobial photodynamic therapy in dentistry. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 1020995, 5 jan. 2023. DOI: 10.3389/fmicb.2022.1020995. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36687594/

HOEDKE, D. et al Effect of photodynamic therapy in combination with different irrigation protocols on an *ex vivo* multispecies endodontic biofilm. **International Endodontic Journal**, v. 51, n. S1, p. e23-e34, 2018. DOI: 10.1111/iej.12763. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/iej.12763.

LACERDA, Mariane Floriano Lopes Santos; ALFENAS, Cristiane Ferreira; CAMPOS, Celso Neiva. Terapia fotodinâmica associada ao tratamento endodôntico - revisão de literatura. **RFO UPF**, Passo Fundo, v. 19, n. 1, p. 114-119, jan./abr. 2014. Disponível em: https://revodonto.bvsalud.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-40122014000100019&lng=en&nrm=iso.

LEE, Michael T.; BIRD, Philip S.; WALSH, Laurence J. Photo-Activated Disinfection of The Root Canal: a New Role for Lasers in Endodontics. **Australian Endodontic Journal**, v. 30, n. 3, p. 93-98, 2004. DOI: 10.1111/j.1747-4477.2004.tb00417.x. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15633797/

OLIVEIRA, Bruna Paloma de; AGUIAR, Carlos Menezes; CÂMARA, Andréa Cruz. Photodynamic therapy in combating the microorganisms responsible for endodontic infections. **European Journal of Dentistry**, v. 8, n. 3, p. 424-430, 2014. DOI: 10.4103/1305-7456.137662. Disponível em: https://www.thieme-connect.de/products/ejournals/abstract/10.4103/1305-7456.137662.

PINTOR, Andréa Vaz Braga *et al*. Does Smear Layer Removal Influence Root Canal Therapy Outcome? A Systematic Review. **Journal of Clinical Pediatric Dentistry**, v. 40, n. 1, p. 1-7, 2016. DOI: 10.17796/1053-4628-40.1.1. Disponível em: https://www.jocpd.com/articles/10.17796/1053-4628-40.1.1.

PLOTINO, G.; GRANDE, N. M.; MERCADE, M. Photodynamic therapy in endodontics. **International Endodontic Journal**, [*S. l.*], v. 52, n. 6, p. 760-774, 12 dez. 2018. DOI: https://doi.org/10.1111/iej.13057. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/iej.13057.

SCHAEFFER, Bárbara; D'AVIZ, Fernando Soveral; GHIGGI, Paula Cristine; KLASSMANN, Larissa Magnus. Terapia fotodinâmica em endodontia: revisão da literatura. **Revista de Investigações Orais**, Passo Fundo, v. 8, n. 1, p. 86-99, jan./jun. 2019. DOI: https://doi.org/10.18256/2238-510X.2019.v8i1.2779. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/332484305_Terapia_fotodinamica_na_endodontia_revisao_de_literatura

SILVA, Caroline C. da *et al*. Antimicrobial photodynamic therapy associated with conventional endodontic treatment: a clinical and molecular microbiological study. **Photochemistry and Photobiology**, [*S. l.*], v. 94, n. 2, p. 351-356, mar./abr. 2018. DOI: 10.1111/php.12869. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/php.12869

SINGH, Shipra *et al*. Photodynamic therapy: an adjunct to conventional root canal disinfection strategies. **Australian Endodontic Journal**, v. 41, n. 2, p. 54-71, 17 nov. 2014. DOI: 10.1111/aej.12088. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/aej.12088.

SIQUEIRA JÚNIOR, José F.; RÔÇAS, Isabela N. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. **Journal of Endodontics**, v. 34, n. 11, p. 1291-1301.e3, nov. 2008. DOI: 10.1016/j.joen.2008.07.028. Disponível em: https://www.jendodon.com/article/S0099-2399(08)00686-9/abstract

SOUKOS, Nikolaos S. *et al*. Photodynamic therapy for endodontic disinfection. **Journal of Endodontics**, [*S. l.*], v. 32, n. 10, p. 979-984, oct. 2006. DOI: 10.1016/j.joen.2006.04.007. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16982278/.

ZORITA-GARCÍA, Mario *et al.* Photodynamic therapy in endodontic root canal treatment significantly increases bacterial clearance, preventing apical periodontitis. **Quintessence International**, v. 50, n. 10, p. 782-789, 4 oct. 2019. DOI: 10.3290/j.qi.a43249. Disponível em: https://www.quintessence-publishing.com/deu/de/article/841258/quintessence-international/2019/10/photodynamic-therapy-in-endodontic-root-canal-treatment-significantly-increases-bacterial-clearance-preventing-apical-periodontitis.