Revista Perquirere, vol. 23, n. 1: 672-685, 2026
© Centro Universitário de Patos de Minas
https://revistas.unipam.edu.br/index.php/perquirere

Avaliação da contaminação microbiana em canais radiculares simulados, após a desinfecção utilizando a terapia fotodinâmica

Assessment of microbial contamination in simulated root canals after disinfection using photodynamic therapy

RAFAELA DE FÁTIMA MOTA BARBOSA
Discente de Odontologia (UNIPAM)
rafaelafmb@unipam.edu.br

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

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

Resumo: A desinfecção do sistema de canais radiculares é essencial para o sucesso do tratamento endodôntico, porém microrganismos persistentes podem comprometer os resultados clínicos. Nesse contexto, a terapia fotodinâmica antimicrobiana tem sido proposta como método auxiliar na redução bacteriana. Este estudo teve como objetivo avaliar a eficácia da terapia fotodinâmica na redução da contaminação por *Escherichia coli* em canais radiculares simulados. Trata-se de um estudo experimental in vitro, no qual foram confeccionados 16 blocos de resina composta, distribuídos em quatro grupos: controle negativo, controle positivo, azul de metileno associado ao laser de diodo de 660 nm e azul de metileno sem laser. A contaminação microbiana foi avaliada por análise espectrofotométrica nos tempos D0, D24 e D48. Observou-se crescimento bacteriano nos grupos contaminados e diferença significativa no terço apical em D24 (p = 0,048), indicando potencial da terapia fotodinâmica como método auxiliar na desinfecção endodôntica.
Palavras-chave: canal radicular; endodontia; terapia fotodinâmica.

Abstract: Disinfection of the root canal system is essential for the success of endodontic treatment; however, persistent microorganisms may compromise clinical outcomes. In this context, antimicrobial photodynamic therapy has been proposed as an auxiliary method for bacterial reduction. This study aimed to evaluate the efficacy of photodynamic therapy in reducing contamination by *Escherichia coli* in simulated root canals. This was an in vitro experimental study in which 16 composite resin blocks were prepared and distributed into four groups: negative control, positive control, methylene blue associated with a 660 nm diode laser, and methylene blue without laser. Microbial contamination was evaluated by spectrophotometric analysis at D0, D24, and D48. Bacterial growth was observed in the contaminated groups, and a significant difference was found in the apical third at D24 (p = 0.048), indicating the potential of photodynamic therapy as an auxiliary method for endodontic disinfection.
Keywords: root canal; endodontics; photodynamic therapy.

1 INTRODUÇÃO

O tratamento endodôntico tradicional baseia-se na preparação química e mecânica do sistema de canais radiculares, com o objetivo principal de eliminar os microrganismos, controlar a inflamação existente e prevenir a reinfecção (Fernandes *et al.*, 2018). O insucesso pode ser justificado por falhas no processo de limpeza e desinfecção, o que irá perpetuar a permanência de microrganismos no sistema de canais radiculares e, algumas vezes, na face externa do ápice radicular, impedindo o processo de cicatrização e reparo da região periapical. Portanto, o controle e a eliminação destes microrganismos são importantes durante todo o tratamento endodôntico (Silva *et al.*, 2019).

Os microrganismos presentes no sistema de canais radiculares podem colonizar os túbulos dentinários, canais acessórios e deltas apicais, dificultando sua eliminação por meio da instrumentação mecânica, do uso de substâncias irrigadoras e da medicação intracanal. Apesar da reconhecida eficácia desses recursos, ainda são observados casos de insucesso relacionados à persistência microbiana no interior do sistema de canais radiculares. Em estudos experimentais, diferentes microrganismos têm sido utilizados como modelos microbiológicos para avaliação da eficácia de protocolos de desinfecção endodôntica, incluindo bactérias gram-negativas como *Escherichia coli*, devido à sua capacidade de adaptação, rápida multiplicação e resistência a diferentes condições ambientais (Garcez *et al*., 2020).

Em função das limitações dos tratamentos endodônticos, estratégias complementares têm sido propostas com intuito de potencializar a desinfecção do sistema de canais radiculares, entre as quais se destacam a terapia fotodinâmica (Machado, 2022). A terapia fotodinâmica (PDT) é uma alternativa promissora para complementar o tratamento endodôntico tradicional no controle e/ou erradicação de microrganismos persistentes. Esse método consiste na associação de uma fonte de luz específica a um fotossensibilizador na presença de oxigênio, produzindo assim espécies reativas de oxigênio que apresentam efeito citotóxico aos microrganismos. Ademais, a PDT é uma técnica de fácil aplicação, indolor, não promove resistência microbiana e não causa efeitos sistêmicos (Alfenas *et al*., 2011).

O mecanismo de ação da terapia fotodinâmica envolve aspectos químicos, físicos e biológicos, sendo que estes ocorrem quando o laser vermelho ativa o fotossensibilizador, levando à morte celular dos microrganismos através de um processo de oxidação. A passagem de energia do fotossensibilizador ativado para o oxigênio disponível resulta na produção de espécies tóxicas de oxigênio, conhecida como oxigênio singleto e radicais livres. Essas substâncias químicas reativas provocam danos à membrana celular, mitocôndrias, núcleo e outros componentes celulares microbianos (Silva *et al*., 2019).

Para que o tratamento seja eficaz, o fotossensibilizador utilizado deve apresentar seletividade e estabilidade biológica, além de possuir baixa toxicidade e uma boa capacidade fotoquímica. O resultado da terapia fotodinâmica depende da ligação em nível tecidual com o fotossensibilizador. Quanto mais perto o comprimento de onda da luz empregada em relação ao fotossensibilizador, mais eficiente será o resultado (Silva *et al*., 2019).

Pode-se empregar a PDT com os agentes fotossensibilizantes da classe das fenotiazinas: azul de metileno e azul de toluidina, ambos ativados por laser vermelho de baixa potência. O azul de metileno é o fotossensibilizante mais utilizado por ter baixa toxicidade e não promover manchamento das estruturas dentais nas concentrações utilizadas (Machado, 2022).

Com base no exposto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a eficácia da terapia fotodinâmica (PDT) na redução da contaminação microbiana por *Escherichia coli* em canais radiculares simulados confeccionados em resina composta, por meio de análise microbiológica nos diferentes terços do canal radicular (cervical, médio e apical)

2 REVISÃO DE LITERATURA

O tratamento endodôntico tem como objetivo eliminar microrganismos presentes no sistema de canais radiculares, tratar inflamações e prevenir reinfecções. Tradicionalmente, o sucesso da terapia endodôntica é alcançado através da combinação de preparação química e mecânica dos canais, o que inclui a utilização de instrumentos manuais e rotatórios, soluções irrigadoras e medicações intracanais (Fernandes *et al*., 2018). Porém, esse tratamento, mesmo quando feito dentro das normas, pode vir a ter infecções secundárias ou persistentes, levando ao insucesso (Lacerda *et al*., 2014). Esse insucesso tem como causa principal a dificuldade anatômica e a presença de canais acessórios que, não adequadamente instrumentados, podem levar à reinfecção e até mesmo à resistência bacteriana (Simões *et al*., 2018; Oliveira *et al*., 2021).

Para minimizar as falhas do tratamento endodôntico, a terapia fotodinâmica vem se popularizando como um meio complementar de promover o controle microbiológico (Lima *et al*., 2019). É utilizada em associação com os agentes fotossensibilizantes e uma fonte de luz específica, como o laser de baixa potência, tendo o objetivo de intervir em microrganismos resistentes ao tratamento endodôntico tradicional (Lacerda *et al*., 2014).

A PDT baseia-se em um princípio simples em que a eliminação de microrganismos está relacionada com a associação de um corante não tóxico fotossensível, irradiado por uma luz visível com adequado comprimento de onda, que produz espécies reativas de oxigênio e que, em altas concentrações, são tóxicas para bactérias, fungos e vírus (Alfenas *et al*., 2011; Lima *et al.* 2019).

O mecanismo de ação da terapia fotodinâmica ocorre quando o agente fotossensibilizante absorve fótons da luz, e seus elétrons passam a um estado excitado – estado tripleto. Na presença de um substrato (oxigênio), ao retornar ao seu estado fundamental, o fotossensibilizante transfere energia ao substrato, formando radicais livres de alta citotoxicidade. Na reação o fotossensibilizante excitado transfere energia ao oxigênio, levando à produção de moléculas animadas eletronicamente – oxigênio singleto. Superóxidos, radicais hidroxila, peróxido de hidrogênio e oxigênio singleto causam danos significativos à membrana celular, mitocôndrias, núcleo e outros componentes celulares microbianos (Machado, 2022).

Assim, uma das principais vantagens da PDT é sua capacidade de atacar múltiplos alvos dentro da célula microbiana. A produção de diversas espécies reativas de oxigênio reduz a possibilidade de desenvolvimento de resistência por parte dos

microrganismos, uma vez que a multiplicidade de mecanismos de dano torna mais difícil para as células adaptarem-se e sobreviverem. Além disso, a PDT é um procedimento geralmente não invasivo e não cumulativo, permitindo sua repetição em várias sessões sem efeitos adversos (Garcez *et al*., 2010).

Para realização da terapia fotodinâmica, é essencial que o fotossensibilizante seja biologicamente estável, minimamente tóxico, fotoquimicamente eficiente e ressonante com o comprimento de onda emitido pela fonte de luz. Segundo Machado (2022), a aplicabilidade de cada sensibilizante é condicionada, principalmente, a duas características: máxima absorção do comprimento de onda e intensidade de absorção de luz. Os agentes fotossensibilizantes utilizados na terapia fotodinâmica pertencem a diferentes grupos de compostos químicos. A maioria é ativada por luzes de 630 e 700 nm de comprimento de onda. Os mais usados são os derivados do grupo das fenotiazinas (azul de toluidina e azul de metileno).

As fontes de radiação são, atualmente, lasers de baixa potência, que fornecem radiação na fluência adequada e no comprimento de onda apropriado para cada fotossensibilizador (Alfenas *et al*., 2011). Os lasers de diodo, que são fáceis de manusear, têm menor custo, são mais versáteis e apresentam melhor absorção tecidual, e por isso, tornaram-se a fonte de luz preferida na PDT (Amaral *et al*., 2010).

Um sistema óptico bastante eficiente no caso da aplicação em canais radiculares é a utilização de feixes de fibras ópticas capazes de direcionar a radiação com perdas mínimas. A utilização do sistema de entrega por fibra óptica justifica-se pela sua compatibilidade com as dimensões do canal radicular, permitindo que o feixe de irradiação alcance toda a extensão do canal radicular durante a ativação do corante fotossensível (Alfenas *et al*., 2011).

Os efeitos colaterais da PTD são insignificantes, permitindo múltiplas aplicações desta terapia em tecidos vivos que apresentam crescimento anormal (Lima *et al*., 2019). Portanto, a PTD é uma tecnologia antimicrobiana promissora que complementa as técnicas tradicionais de desinfecção de canais radiculares, permitindo que uma combinação de instrumentos mecânicos e agentes químicos sejam utilizados como agentes antimicrobianos.

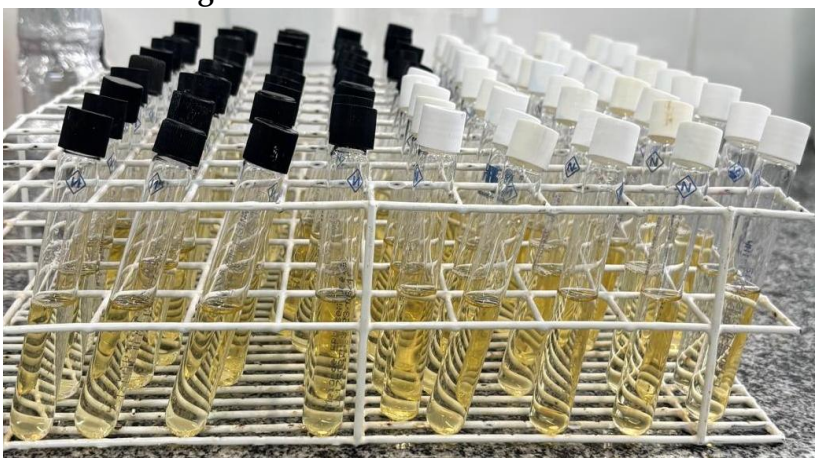
3 METODOLOGIA

O presente estudo é resultado de uma pesquisa experimental in vitro, de abordagem quantitativa, desenvolvida com o objetivo de avaliar a contaminação microbiana em canais radiculares simulados após a desinfecção por meio da terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFDa). Para a realização do experimento, foram confeccionados 16 blocos de resina composta utilizando a resina composta nanohíbrida de dentina (Applic®, Maquira Indústria de Produtos Odontológicos S.A., Maringá, PR, Brasil) na cor DA3, contendo canais radiculares simulados, com 15 mm de comprimento e 0,30 mm de diâmetro, dimensões correspondentes ao instrumento endodôntico nº 30. Após sua confecção, os blocos foram submetidos ao processo de esterilização em autoclave.

Os meios de cultura Brain Heart Infusion (BHI) utilizados na pesquisa foram preparados de acordo com as recomendações do fabricante, por meio da diluição do pó

em água destilada. Em seguida, os tubos contendo o meio de cultura foram submetidos ao processo de esterilização em autoclave a 121 °C durante 15 minutos. Posteriormente, os tubos foram mantidos em estufa bacteriológica a 37 °C por um período de 24 horas para confirmação da esterilidade do meio de cultura, não sendo observada turbidez visível no caldo BHI (Figura 1).

Figura 1: Tubos contendo o meio de cultura.



Fonte: arquivo dos autores, 2025.

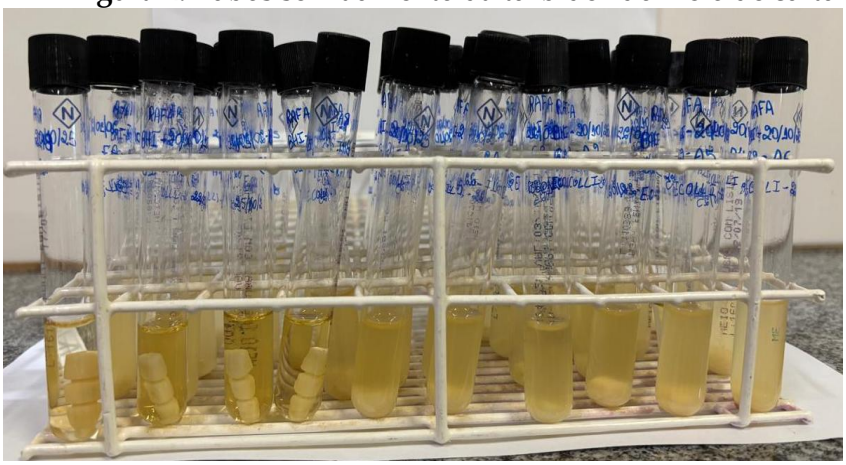
O microrganismo utilizado para a contaminação foi *Escherichia coli* (ATCC 25922), cepa padrão amplamente utilizada em estudos microbiológicos devido à facilidade de cultivo, crescimento rápido e reprodutibilidade experimental. A bactéria foi cultivada em meio BHI e incubada em estufa bacteriológica a 37 °C, permitindo seu crescimento para posterior utilização no processo de contaminação dos canais radiculares simulados. Após a preparação do meio de cultura e obtenção da suspensão bacteriana, os tubos contendo 5 mL de caldo Brain Heart Infusion (BHI) foram distribuídos em quatro grupos experimentais: o Grupo 1, controle negativo**,** constituído apenas por meio de cultura BHI, sem contaminação bacteriana; o Grupo 2, controle positivo, contendo BHI associado à contaminação por *Escherichia coli***,** sem aplicação de laser; o Grupo 3 foi composto por BHI associado à *Escherichia coli* e ao fotossensibilizador azul de metileno, seguido de ativação por laser conforme o protocolo da terapia fotodinâmica; o Grupo 4 foi constituído por BHI associado à *Escherichia coli* e ao azul de metileno**,** sem aplicação do laser.

Após a definição dos grupos experimentais, foram realizados os procedimentos específicos em cada grupo. No Grupo 1, controle negativo, um dente inteiro previamente esterilizado foi colocado em cada tubo de ensaio contendo meio de cultura BHI, sem a adição de microrganismos. No Grupo 2**,** o canal radicular foi contaminado com 0,5 µL da suspensão bacteriana de *Escherichia coli* e, em seguida, os blocos de resina foram seccionados em três segmentos de aproximadamente 5 mm, correspondentes aos terços cervical, médio e apical do canal radicular, sendo cada segmento incubado separadamente em tubos contendo meio de cultura BHI. Para o Grupo 3, inicialmente o canal radicular foi contaminado com 0,5 µL da suspensão de *Escherichia coli*, aguardando-se um período de 10 minutos para permitir a colonização da bactéria com

o interior do canal radicular. Após esse intervalo, a suspensão bacteriana foi aspirada do interior do canal e realizou-se a aplicação do azul de metileno, utilizado como fotossensibilizador e, em seguida, foi realizada a ativação por laser, utilizando fonte de luz com comprimento de onda de 660 nm, aplicada durante 90 segundos em cada terço do canal radicular, totalizando uma dose energética de 9 J por terço. Posteriormente, os blocos de resina foram seccionados em três segmentos de aproximadamente 5 mm, correspondentes aos terços cervical, médio e apical do canal radicular, sendo cada segmento incubado separadamente em tubos contendo meio de cultura BHI. No Grupo 4**,** o canal radicular foi contaminado com 0,5 μL da suspensão bacteriana de *Escherichia coli*, permanecendo em contato por 10 minutos para permitir a colonização bacteriana no interior do canal radicular e após esse intervalo, a suspensão bacteriana foi aspirada do interior do canal e realizou-se a ativação do azul de metileno sem a aplicação do laser. Em seguida, os blocos de resina foram seccionados em três segmentos de aproximadamente 5 mm, correspondentes aos terços cervical, médio e apical do canal radicular, sendo cada segmento incubado separadamente em tubos contendo meio de cultura BHI.

Após a realização dos procedimentos experimentais correspondentes ao tempo inicial (D0), os espécimes foram incubados em estufa bacteriológica a 37 °C. Em seguida, foi coletado 1 mL do líquido de cada tubo utilizando pipetas estéreis, a fim de evitar contaminação cruzada que pudesse comprometer os resultados experimentais. No tempo experimental D0, foi realizada a primeira análise espectrofotométrica em laboratório específico. Para isso, alíquotas de 1 mL foram retiradas de cada tubo e transferidas para cubetas descartáveis, sendo posteriormente submetidas à leitura em espectrofotômetro para avaliação da turbidez do meio de cultura. Nesse momento inicial, ainda não foi observado aumento significativo da turbidez do meio de cultura (Figura 2).

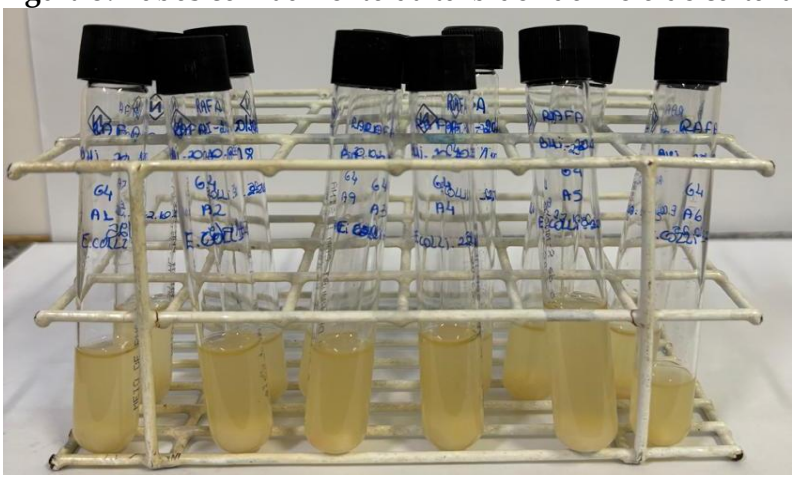
Figura 2: Tubos sem aumento da turbidez do meio de cultura.



Fonte: arquivo dos autores, 2025.

As análises microbiológicas foram realizadas em três momentos experimentais: D0, D24 e D48. No tempo inicial, foram executadas as etapas de contaminação e a primeira coleta das amostras. Após os períodos de incubação de 24 horas (D24) e 48 horas (D48), novas leituras espectrofotométricas foram realizadas, possibilitando a avaliação do crescimento bacteriano ao longo do tempo experimental. Após os períodos de incubação, observou-se aumento da turbidez do meio de cultura, indicativo de crescimento bacteriano (Figura 3).

Figura 3: Tubos com aumento da turbidez do meio de cultura



Fonte: arquivo dos autores, 2025.

A avaliação microbiológica foi feita pela verificação da turbidez do meio de cultura, por meio da leitura de absorbância a 600nm em espectrofotômetro, utilizada como indicador indireto do crescimento bacteriano nas amostras. Os valores de absorbância registrados para cada grupo permitiram comparar a densidade bacteriana entre as diferentes condições experimentais.

Os resultados obtidos foram então analisados estatisticamente pelo teste ANOVA de duas vias, adotando-se nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram avaliados quatro grupos experimentais: Grupo 1 (controle negativo – caldo Brain Heart Infusion – BHI), Grupo 2 (controle positivo – BHI associado a *Escherichia coli*), Grupo 3 (BHI associado a *E. coli* e azul de metileno com ativação por laser) e Grupo 4 (BHI associado a *E. coli* e azul de metileno sem ativação por laser). A análise estatística dos dados obtidos foi realizada utilizando o teste ANOVA de duas vias, adotando-se nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

Inicialmente foram avaliados os valores de absorbância obtidos nos quatro grupos experimentais nos tempos D0 (tempo inicial), D24 (24 horas) e D48 (48 horas). No tempo inicial (D0), todos os grupos apresentaram valores de absorbância próximos de zero, indicando ausência de crescimento bacteriano no início do experimento. Após 24 horas (D24), observou-se aumento dos valores de absorbância nos grupos contaminados com *Escherichia coli* (grupos 2, 3 e 4), enquanto o grupo controle negativo

(grupo 1) manteve valores próximos de zero. No período de 48 horas (D48), verificou-se aumento adicional dos valores de absorbância nos grupos contaminados, indicando crescimento bacteriano ao longo do tempo experimental.

Os valores de absorbância obtidos nos diferentes grupos experimentais nos tempos D0, D24 e D48 encontram-se apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Valores de absorbância nos diferentes grupos experimentais.

Grupo	Amostra	Terço	D0 (abs)	D24 (abs)	D48 (abs)
1	1	-	-0,022	-0,024	0,002
1	2	-	-0,023	-0,021	-0,016
1	3	-	-0,023	-0,021	-0,017
1	4	-	-0,022	-0,021	-0,019
2	1	Cervical	-0,022	0,620	1,148
2	2	Médio	-0,023	0,643	1,326
2	3	Apical	-0,021	1,226	0,993
2	4	Cervical	-0,021	0,643	0,991
2	5	Médio	-0,022	0,706	1,224
2	6	Apical	-0,020	0,595	1,152
2	7	Cervical	-0,021	0,706	1,023
2	8	Médio	-0,021	0,590	0,484
2	9	Apical	-0,021	0,568	0,852
2	10	Cervical	-0,021	0,500	0,589
2	11	Médio	-0,020	0,520	1,305
2	12	Apical	-0,020	0,085	1,180
3	1	Cervical	-0,020	0,605	0,580
3	2	Médio	-0,020	0,730	0,963
3	3	Apical	-0,017	0,662	0,073
3	4	Cervical	-0,021	0,733	1,234
3	5	Médio	-0,019	0,630	1,232

Grupo	Amostra	Terço	D0 (abs)	D24 (abs)	D48 (abs)
3	6	Apical	-0,022	0,167	0,675
3	7	Cervical	-0,024	0,574	1,259
3	8	Médio	-0,020	0,638	1,339
3	9	Apical	-0,020	-0,019	1,006
3	10	Cervical	-0,018	0,013	1,168
3	11	Médio	-0,020	0,650	1,316
3	12	Apical	-0,017	-0,011	1,129
4	1	Cervical	-0,021	0,679	1,222
4	2	Médio	-0,018	0,406	1,273
4	3	Apical	-0,022	0,739	0,895
4	4	Cervical	-0,023	0,635	1,182
4	5	Médio	-0,020	0,845	1,277
4	6	Apical	-0,024	0,655	1,250
4	7	Cervical	-0,020	0,746	1,257
4	8	Médio	-0,022	0,590	1,347
4	9	Apical	-0,022	0,766	0,895
4	10	Cervical	-0,013	0,958	1,410
4	11	Médio	-0,011	0,726	1,382
4	12	Apical	-0,011	0,680	1,387

Fonte: dados da pesquisa, 2025.

Para avaliar possíveis diferenças estatisticamente significativas entre os grupos experimentais nos tempos avaliados, foi realizada análise de variância **(**ANOVA**)**. Os resultados dessa análise demonstraram diferenças entre os grupos experimentais ao longo do tempo.

Os valores obtidos estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Valores estatisticamente significativos entre os grupos experimentais.

Tempo (h)	Estatística F	Valor-p global	Interpretação
0	2,13	0,114	Diferença não significativa
24	10,72	0,000035	Significativa
48	21,12	$4{,}6\times10^{-6}$	Significativa

Fonte: dados da pesquisa, 2025.

Com o objetivo de identificar quais grupos apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre si, foi aplicado o teste de comparações múltiplas de Tukey, método utilizado para comparação pareada entre os grupos experimentais após a análise de variância.

A partir dessa análise, verificou-se que não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos experimentais nos tempos de 24 e 48 horas ($p > 0{,}05$), indicando comportamento semelhante entre os grupos contaminados ao longo do período avaliado.

Os resultados detalhados do teste de Tukey encontram-se apresentados na Tabela 3A e 3B.

Tabela 3A: Comparações múltiplas entre grupos no tempo de 24 horas (D24).

Comparação entre grupos	Diferença média de absorção	p-ajustado	Diferença estatisticamente significativa (α=0,05)
1 contra 2	0,6386	0,0002	Sim
1 contra 3	0,4694	0,0068	Sim
1 contra 4	0,7238	0,001	Sim
2 contra 3	-0,1692	0,300	Não
2 contra 4	0,0853	0,807	Não
3 contra 4	0,2544	0,052	Não (tendência)

Fonte: dados da pesquisa, 2025.

Tabela 3B: Comparações múltiplas entre grupos no tempo de 48 horas (D48).

Comparação entre grupos	Diferença média de absorção	p-ajustado	Diferença estatisticamente significativa (α=0,05)
1 contra 2	1.0348	0,001	Sim
1 contra 3	1.0103	0,001	Sim

Comparação entre grupos	Diferença média de absorção	p-ajustado	Diferença estatisticamente significativa (α=0,05)
1 contra 4	1.2439	0,001	Sim
2 contra 3	-0,0244	0,996	Não
2 contra 4	0,2092	0,256	Não
3 contra 4	0,2336	0,174	Não

Fonte: dados da pesquisa, 2025.

Na análise interna do Grupo 3**,** referente ao tratamento com azul de metileno associado à aplicação do laser, avaliou-se a variação dos valores de absorbância entre os tempos D0, D24 e D48, verificando-se aumento progressivo desses valores ao longo do período experimental. De maneira semelhante, no Grupo 4**,** relativo ao tratamento com azul de metileno sem ativação por laser, também se observou variação dos valores de absorbância entre os tempos avaliados, evidenciando crescimento bacteriano ao longo do tempo.

Na comparação entre os grupos contaminados (Grupo 2, Grupo 3 e Grupo 4), verificaram-se diferenças nos valores de absorbância entre os diferentes protocolos experimentais. No entanto, de acordo com o teste de Tukey, essas diferenças não foram estatisticamente significativas ($p > 0,05$).

Quando analisados os diferentes terços do canal radicular, observou-se que, no terço apical no tempo de 24 horas (D24)**,** o grupo tratado com azul de metileno sem ativação por laser apresentou valores de absorbância significativamente maiores quando comparado ao grupo submetido à terapia fotodinâmica **(**$p = 0,048$**)**. Nos demais terços dentários e no tempo de 48 horas, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas.

Além disso, foi realizada análise estatística trifatorial, considerando os fatores grupo experimental, terço do canal radicular (cervical, médio e apical) e tempo experimental (D0, D24 e D48)**.**

Os resultados dessa análise encontram-se apresentados na Tabela 4.

Tabela 4: Valores da análise estatística trifatorial do experimento.

Fator	Estatística F	p-valor
Grupo	12,33	0,0009
Terço	5,63	0,0060
Tempo	199,09	0,0001
Grupo × Terço	2,80	0,070
Grupo × Tempo	3,06	0,055

Fonte: dados da pesquisa, 2025.

Os resultados obtidos no presente estudo demonstraram que os grupos controle negativo e controle positivo apresentaram comportamento esperado, confirmando a adequação da metodologia utilizada. O grupo controle negativo, constituído apenas por meio de cultura BHI sem contaminação bacteriana, manteve valores de absorbância próximos de zero ao longo de todo o período experimental, indicando ausência de crescimento bacteriano. Por outro lado, o grupo controle positivo, contaminado com *Escherichia coli*, apresentou aumento progressivo dos valores de absorbância ao longo do tempo, evidenciando crescimento bacteriano esperado.

Esses achados demonstram que o modelo experimental utilizado foi eficiente para simular condições de contaminação microbiana em canais radiculares, permitindo avaliar o comportamento bacteriano ao longo do tempo e a influência dos diferentes protocolos experimentais avaliados. Segundo Garcez *et al*. (2020), a utilização de microrganismos em estudos laboratoriais é amplamente empregada em pesquisas endodônticas, pois permite avaliar a capacidade de diferentes métodos de desinfecção para reduzir ou controlar a carga microbiana presente no sistema de canais radiculares

A persistência de microrganismos no sistema de canais radiculares é um dos principais fatores de insucesso endodôntico, devido à complexidade anatômica com túbulos dentinários e canais acessórios que limitam a ação de instrumentação e irrigantes convencionais (Siqueira Junior; Rôças, 2014). Estratégias complementares como a terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) têm sido investigadas, combinando fotossensibilizador (como azul de metileno a 660 nm), luz e oxigênio para gerar espécies reativas de oxigênio que danificam membranas bacterianas (Garcez *et al*., 2010).

No presente estudo, observou-se aumento dos valores de absorbância nos grupos contaminados ao longo do período experimental, indicando crescimento bacteriano nas diferentes condições avaliadas. Entretanto, embora tenham sido observadas variações entre os grupos submetidos aos diferentes protocolos experimentais, o teste de comparações múltiplas de Tukey demonstrou que não houve diferenças estatisticamente significativas entre os grupos contaminados, exceto no terço apical D24 (G4 > G3, p=0,048; média G4: 0,74 ± 0,05 vs. G3: 0,30 ± 0,30). Isso sugere que a aPDT não reduziu significativamente o crescimento de *E. coli* em comparação ao azul de metileno isolado ou controle, possivelmente devido à pré-irradiação curta (10 min) ou penetração limitada em resina (Alves *et al*., 2023).

Além disso, a análise estatística trifatorial realizada neste estudo evidenciou influência significativa dos fatores grupo experimental, terço do canal radicular e tempo experimental nos valores de absorbância observados. Esses resultados reforçam que o comportamento microbiano ao longo do experimento é influenciado por múltiplos fatores, incluindo o protocolo experimental utilizado, a localização no canal radicular e o tempo de incubação bacteriana.

Apesar de o modelo experimental ter permitido avaliar o comportamento bacteriano em canais radiculares simulados, algumas limitações devem ser consideradas. O estudo foi conduzido em condições laboratoriais, utilizando um único microrganismo e substrato artificial, o que não reproduz completamente a complexidade microbiológica e anatômica encontrada em canais radiculares naturais. Além disso, fatores como concentração do fotossensibilizador, tempo de pré-irradiação e parâmetros de aplicação do laser podem influenciar diretamente a eficácia da terapia fotodinâmica.

Dessa forma, estudos futuros são necessários para investigar diferentes protocolos de aplicação da terapia fotodinâmica e avaliar sua efetividade em condições mais próximas da prática clínica.

4 CONCLUSÃO

Com base nos dados obtidos neste estudo, pode-se dizer que a terapia fotodinâmica com azul de metileno e laser 660 nm (9 J/terço) demonstrou eficácia na redução da contaminação bacteriana no terço apical no período de 24h (p=0,048), devido à anatomia do canal que permitiu maior concentração da luz e penetração do fotossensibilizador. Esse resultado indica potencial antimicrobiano da aPDT em áreas profundas, sugerindo seu papel como método auxiliar na desinfecção endodôntica.

Ressalta-se a necessidade de novos estudos que investiguem sua aplicação em diferentes condições experimentais e microbiológicas, a fim de ampliar as evidências acerca de sua efetividade clínica.

REFERÊNCIAS

ALFENAS, C.F. *et al*. Terapia fotodinâmica na redução de micro-organismo no sistema de canais radiculares. **Revista Brasileira de Odontologia**, v. 68, n. 1, p. 68-71, 2011. Disponível em: https://revista.aborj.org.br/index.php/rbo/article/view/255?utm_source=chatgpt.com.

ALVES-SILVA, E. G. *et al*. Effect of antimicrobial photodynamic therapy on the reduction of bacteria and virulence factors in teeth with primary endodontic infection. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 41, p. 103-292, 2023. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36681260/.

AMARAL, R. R. *et al*. Terapia fotodinâmica na endodontia - revisão de literatura. **Revista da Faculdade de Odontologia - UPF**, v. 15, n. 2, p. 207–211, 29 nov. 2010. Disponível em: https://ojs.upf.br/index.php/rfo/article/view/1347.

FERNANDES, Maria Luiza da Matta Felisberto. Terapia fotodinâmica no tratamento endodôntico de dentes decíduos. **Relatório apresentado ao 18º Congresso Nacional de Iniciação Científica – CONIC**, Faculdade de Ciências da Saúde, Curso de Odontologia, Belo Horizonte, jun. 2018. Disponível em: https://www.conic-semesp.org.br/anais/files/2018/trabalho-1000000319.pdf.

GARCEZ, A. S *et al.* Effects of effects of antimicrobial photodynamic therapy on antibiotic-resistant *Escherichia coli*. **Photodiagnosis and photodynamic Therapy**, v. 32, p. 102029, dez. 2020. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7744317/?utm_source=chatgpt.com.

GARCEZ, A. S.; NUNEZ, S. C.; HAMBLIN, M. R. Photodynamic therapy associated with conventional endodontic treatment in patients with antibiotic-resistant microflora: a preliminary report. **Journal of Endodontics**, v. 36, n. 9, p. 1463-1466, 2010. Disponível em: https://www.jendodon.com/article/S0099-2399(10)00504-2/abstract.

LACERDA, M. F. L.; ALFENAS, C. F.; CAMPOS, C. N. Terapia fotodinâmica associada ao tratamento endodôntico - revisão de literatura. **RFO UPF**, v. 19, n. 1, p. 115–120, 2014. Disponível em: http://revodonto.bvsalud.org/scielo.php?pid=S1413-40122014000100019&script=sci_arttext&tlng=pt.

LIMA, S. P. *et al*. Photodynamic therapy as an aiding in the endodontic treatment: case report. **RGO - Revista Gaúcha de Odontologia**, v. 67, 2019. Disponível em: https://www.scielo.br/j/rgo/a/9vhxTKjh5MRs78MBRNNsfBG/abstract/?lang=pt.

MACHADO, Ricardo. **Endodontia**: princípios biológicos e técnicos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2022.

OLIVEIRA, R. F. *et al*. Terapia fotodinâmica associada a laser no tratamento endodôntico. **Archives of Health Investigation**, v. 10, n. 2, p. 236-240, 2021. Disponível em: https://www.archhealthinvestigation.com.br/ArcHI/article/view/5051?utm_source=chatgpt.com.

SILVA, M. D. *et al*. Terapia fotodinâmica na endodontia: relato de caso. **Rev Cient**, v. 3, n. 1, p. 29-35, 2019. Disponível em: https://revistaeletronica.fab.mil.br/index.php/reoarf/article/view/138.

SIMÕES, T. M. S. *et al*. Aplicabilidade de terapia fotodinâmica antimicrobiana na eliminação do *Enterococcus faecalis*. **Archives of Health Investigation,** v. 7, n. 11, p. 492-496, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.21270/archi.v7i11.3053.

SIQUEIRA JUNIOR, J. F.; RÔÇAS, I. N. Present status and future directions: microbiology of endodontic infections. **International Endodontic Journal**, v. 47, n. 9, p. 512-523, 2014. Disponível em: https://megabiteandco.be/wp-content/uploads/2018/01/Present-status-and-future-directions-in-endo-micro-Siqueira-et-al-2014.pdf.