Investigação Científica

Efeito *in vitro* da laserterapia e da terapia fotodinâmica na redução de bactérias presentes em canais radiculares

In vitro effect of lasertherapy and photodynamic therapy in bacterial reduction presents in root canals

Yasmin Carla Bianchini* Caroline Pietroski Grando** Neiva Aparecida Grazziotin*** Pauline Mastella Lang**** SimoneTuchtenhagen***** Bruno Emmanuelli******

Resumo

Este estudo tem por objetivo verificar in vitro o efeito bactericida da laserterapia e da terapia fotodinâmica com laser de baixa potência (660 nm e 808 nm) em bactérias presentes nos canais radiculares. Métodos: foram preparadas 60 placas de Petri com bactérias: 20 placas com Enterococcus faecalis, 20 placas com Staphylococcus aureus e 20 com Pseudomonas aeruginosa. Aleatoriamente, dividiu-se cada grupo em 10 subgrupos (duas placas cada): três subgrupos tratados com laserterapia 660 nm em doses de 150, 225 e 300J/ cm², três subgrupos tratados com terapia fotodinâmica (azul de metileno 0,2% e laser 660 nm) em doses de 150, 225 e 300J/cm²; um subgrupo tratado com laserterapia 808 nm na dose de 225J/cm², um subgrupo com terapia fotodinâmica e laser 808 nm, em dose 225J/cm²; um subgrupo tratado apenas com fotossensibilizante (FS), e um não tratado (controle). Os tratados com laserterapia e terapia fotodinâmica foram irradiados uma única vez e incubados por 24 horas. Os últimos dois não receberam irradiação. As culturas foram analisadas visualmente para verificação do halo de inibição. Nos grupos submetidos somente à laserterapia, para o grupo FS e para o grupo controle, não foram observados halos de inibição, já onde houve aplicação da TFD, tanto com L1 quanto com L2, observaram-se halos de inibição em todas as espécies bacterianas estudadas. Conclui-se que a laserterapia, não produziu efeitos bactericidas e/ou bacteriostáticos, enquanto a terapia fotodinâmica nos dois comprimentos de onda produziu halos significativos de inibição de crescimento nas três bactérias do estudo.

Palavras-chave: Endodontia. Desinfecção. Fototerapia. Terapia fotodinâmica.

http://dx.doi.org/10.5335/rfo.v25i2.10645

^{*} Cirurgiã-dentista graduada pela Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, bolsista de iniciação científica pelo programa PIIC URI.

^{**} Professora de Endodontia da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, especialista e mestre em endodontia, doutora em clínicas odontológicas – concentração endodontia.

Professora de Microbiologia da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, mestre em Ciências Biológicas.

Professora de Endodontia da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, especialista e mestre em endodontia, doutora em clínicas odontológicas – concentração endodontia.

Professora de Odontopediatria da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, mestre em ciências odontológicas com ênfase em odontopediatria e doutora em ciências – área de concentração em epidemiologia.

^{*****}Professor de Odontopediatria da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, mestre em ciências odontológicas com ênfase em odontopediatria.

Introdução

A endodontia é a área da odontologia que visa o diagnóstico e o tratamento das alterações da polpa dentária e dos tecidos periapicais². Porém, por meio de estudos, sabe-se que os instrumentos endodônticos ainda são incapazes de tocar todas as paredes do canal radicular durante a realização do preparo químico mecânico devido à presença de complexidades anatômicas como canais acessórios, curvaturas e ramificações, dificultando a completa desinfecção e o sucesso dos tratamentos³. Além disso, os túbulos dentinários possuem um ambiente favorável para a formação de biofilmes e podem atuar como um reservatório de micro-organismos, contribuindo para a perpetuação da infecção endodôntica¹,⁴.

A Terapia Fotodinâmica (TFD) vem sendo estudada como possibilidade de ser uma técnica coadjuvante no tratamento endodôntico, contribuindo para uma desinfecção mais eficaz dos canais radiculares. O princípio desta terapia surgiu por meio dos estudos de Raab (1900)⁵. Esse autor observou a morte de micro-organismos quando expostos à luz solar e ao ar, na presença de certos corantes. A TFD utiliza como pressuposto o conceito de que a interação entre a luz com um composto não tóxico, fotossensibilizador (FS), e oxigênio resulta em reações capazes de inviabilizar as células bacterianas⁶.

A crescente resistência aos antimicrobianos observada em todo o mundo⁷ também representa um desafio adicional ao sucesso do tratamento endodôntico. Nesse sentido, a TFD apresenta vantagens em relação ao uso dos antimicrobianos tradicionais, pois a morte celular mediada pela liberação de radicais livres torna o desenvolvimento de resistência pelos micro-organismos improvável⁸.

Nesta conjuntura, a Odontologia tende cada vez mais para a incorporação de métodos menos invasivos, com o objetivo de minimizar a dor e o desconforto durante e após as intervenções odontológicas. Por isso, acredita-se também que a laserterapia de baixa intensidade seja uma excelente opção de tratamento, na medida em que apresenta efeitos benéficos para os tecidos irradiados, como ativação da microcirculação, produção de novos capilares, efeitos anti-inflamatórios e anal-

gésicos, além de estímulo ao crescimento e à regeneração celular⁹. Porém, a consagração do *laser* como terapia exige um conhecimento da energia aplicada, uma investigação dos efeitos que produz no organismo, aliado a um protocolo correto¹⁰.

Diante disso, evidencia-se a necessidade de estudos que investiguem tratamentos coadjuvantes aos tradicionais já utilizados na área endodôntica, que possam auxiliar na desinfecção do sistema de canais radiculares e contribuir para um tratamento mais eficaz e para uma melhora na qualidade de vida dos pacientes. Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito bactericida *in vitro* da TFD e da laserterapia de baixa potência (660 nm / 808 nm), nas doses 150, 225 e 300J/cm², sobre espécies bacterianas comumente isoladas em infecções endodônticas secundárias, a fim de identificar seu potencial e mecanismo de ação e padronizar uma dosagem eficaz que possa auxiliar nos tratamentos odontológicos.

Metodologia

O estudo foi realizado no laboratório de Microbiologia da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões (URI) – *Campus* Erechim, Erechim, Rio Grande do Sul, Brasil.

Para a avaliação da atividade antimicrobiana in vitro da TFD e da laserterapia, foi realizado o teste de difusão em ágar. Foram selecionadas três cepas padrão (American TypeCultureCollection -ATCC), sendo elas *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), Staphylococcus aureus (ATCC 25923) e Pseudomonas aeruginosa (ATCC 27853), obtidas na bacterioteca da URI. Após crescimento em Ágar Mueller-Hinton (AMH) (MerkKGaA), 36°C por 24 horas, 4 a 5 colônias de cada bactéria foram transferidas para tubos de ensaio contendo solução fisiológica estéril, ajustando-se a turbidez da suspensão ao padrão 0,5 da escala de McFarland, equivalente a 1,5 x 10⁸ Unidades Formadoras de Colônias por mililitro (UFC/mL). Para cada suspensão bacteriana foi acrescido azul de metileno (AM), obtendo-se 0,2% de AM. Dentro de 15 minutos, procedeu-se à semeadura, umedecendo um swab estéril na suspensão bacteriana acrescida de AM, retirando o excesso pressionando o swab na lateral do tubo e estriando em duas direções na superfície da placa de Petri, de 50 mm de diâmetro, contendo AMH, obtendo-se uma inoculação homogênea, conforme a metodologia de Benvindo et al.¹¹ (2008), o experimento foi realizado em duplicata.

Um total de 60 placas de Petri com AMH foram utilizadas, 20 para cada micro-organismo. As placas foram divididas aleatoriamente em 10 grupos (n=2, para cada espécie bacteriana): Laserterapia- V (*laser* vermelho) 150J/cm²; Laser-

terapia-V (*laser* vermelho) 225J/cm²; Laserterapia-V (*laser* vermelho) 300J/cm²; TFD-V (azul de metileno 0,2% e *laser* vermelho) 150J/cm²; TFD-V (azul de metileno 0,2% e *laser* vermelho) 225J/cm²; TFD-V (azul de metileno 2% e *laser* vermelho) 300J/cm²; Laserterapia-I (*laser* infravermelho) 225J/cm²; TFD-I (azul de metileno 0,2% e *laser* infravermelho) 225J/cm²; FS (somente fotossensibilizante); controle (não tratado) (Figura 1).

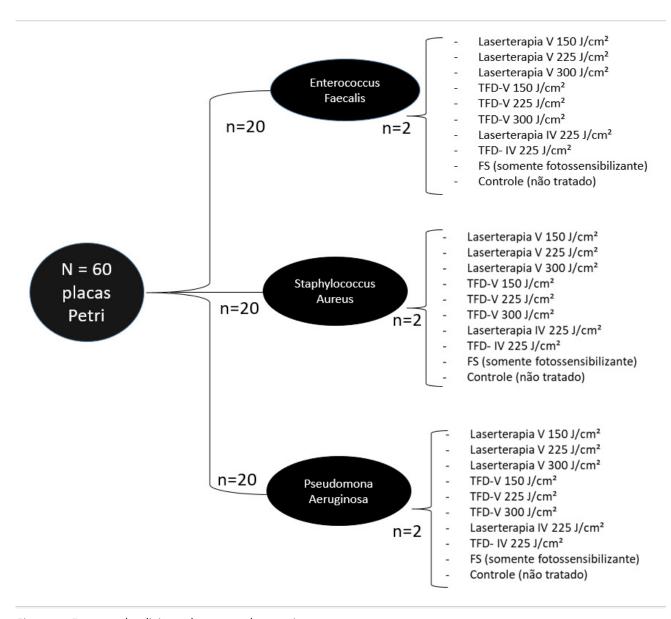


Figura 1 – Esquema das divisões dos grupos de pesquisa Fonte: autores.

Para o estudo, foi utilizado um equipamento *laser* emissor de luz GaA1As e InGaAIP, da marca MMO, modelo DUO, (MMoptics, São Paulo, Brasil), com os seguintes parâmetros: comprimento de onda 660 nm (*laser* vermelho) e 808 nm (*laser* infravermelho), com área de feixe de saída

no bico da caneta *laser* de 3 mm², emissão contínua e direta. As placas submetidas à laserterapia e à TFD foram irradiadas, uma única vez, na região central, pela técnica por zona¹². A área de distância entre a ponta do *laser* e o meio foi padronizada e mantida a 0,5 cm² pelo suporte *laser*.

Os tempos de irradiação foram estabelecidos levando-se em conta o protocolo de laserterapia e da TFD da MMO para o laser modelo Duo, utilizado nesta pesquisa, tendo como referência de dosimetria os valores preconizados para Endodontia. Laser L1(vermelho): tempo de 90 segundos, dose 225J/cm², energia 9J, uma a quatro sessões com intervalos de 48 horas¹³. A partir deste valor padrão utilizado pela marca MMO, optou-se por avaliar se uma dosimetria abaixo e uma acima da utilizada no protocolo, teriam efeito diferente na redução bacteriana. Dessa forma, além da dosimetria padrão (225J/cm² - 90s - 9J), optou-se pelas dosimetrias de $(150 \text{J/cm}^2 - 60 \text{s} - 6 \text{J})$ e $(300 \text{J/cm}^2 - 120 \text{s})$ - 12J). O laser L2 (infravermelho, 808 nm), na dosimetria intermediária, preconizada pelo protocolo (225J/cm²), também foi utilizado. Um ambiente escuro foi simulado, a fim de assemelhar-se ao ambiente dos canais radiculares. As amostras do grupo FS e do grupo controle não foram submetidas aos procedimentos de irradiação. Após a aplicação da técnica, as placas foram incubadas por 24 horas em estufa, com temperatura de 36°C.

Decorrido esse período, os halos de inibição do crescimento bacteriano foram mensurados em milímetros, em duplicata com o auxílio de uma régua milimetrada. Os resultados foram considerados pela verificação de existência ou ausência de halo de inibição.

Resultados

Para os grupos submetidos somente à laserterapia, para o grupo FS e para o grupo controle, não foram observados halos de inibição.

Nos grupos em que houve aplicação da TFD, tanto com L1 quanto com L2, observaram-se halos de inibição em todas as espécies bacterianas estudadas (Tabela 1).

Tabela 1 – Média dos halos de inibição (em milímetros) das espécies bacterianas submetidas à TFD

Espécie bacteriana	TFD-V 150J/cm ²	TFD-V 225J/cm ²	TFD-V 300J/cm ²	TFD-I 225J/cm ²
Enterococcus faecalis (ATCC 29212)	6 mm	6 mm	9 mm	4 mm
Pseudomonas aeruginosa (ATCC 27853)	6 mm	5 mm	9 mm	4 mm
Staphylococcus aureus (ATCC 25923)	7 mm	8 mm	9 mm	5 mm

Fonte: autores.

Discussão

A literatura aponta a presença de micro-organismos presentes no sistema de canais radiculares como a principal causa de insucesso do tratamento endodôntico, devido à liberação de seus produtos metabólicos, além do efeito do biofilme que pode colonizar os canais acessórios, ístmos, deltas apicais e túbulos dentinários, dificultando sua eliminação pela instrumentação, uso de substâncias irrigadoras e de medicação intracanal¹⁴. Os motivos que levam ao insucesso podem estar relacionados a incapacidade técnica do profissional, condutas inadequadas, resistência dos micro-organismos e localização inacessível da microbiota, que dificulta a ação de instrumentos e soluções antimicrobianas¹⁵.

Pseudomonas aeruginosa e Staphylococcus aureus foram bactérias de escolha para este estudo por serem encontradas em infecções endodônticas secundárias, sendo comumente introduzidas no canal radicular pela quebra da cadeia asséptica¹⁶. Enterococcus faecalis, pela sua facilidade em se adaptar a condições ambientais adversas, incluindo a disponibilidade limitada de nutrientes, o que favorece sua sobrevivência sobre certas condições desfavoráveis ao seu desenvolvimento¹⁷.

A metodologia *in vitro* utilizada neste estudo difere da prática clínica, devido à aplicação do *laser* por zona¹², que ocorre sem contato da caneta aplicadora com a placa de cultura. Ao contrário, em uma consulta clínica, a aplicação padrão da terapia é realizada com o contato direto da caneta de fibra óptica com o canal radicular. De acordo com a lei gravitacional de Newton¹⁹, por consequência da distância, ocorrerá perda significativa da energia, pois a irradiância cai devido à lei do quadrado inverso (a intensidade da radiação incidente é inversamente proporcional ao quadrado da distância entre a fonte e a superfície) e ao aumento da reflexão.

Segundo Wilson et al.²⁰ (1992), a associação de um FS ao *laser* faz-se necessária, uma vez que o FS se adere à parede bacteriana e atrai para si a luz do *laser*. O AM foi utilizado com esta finalidade, por ser um FS com características desejáveis para o uso em TFD⁶.

Foi observado, no presente estudo, que os grupos que foram tratados com a TFD demonstraram maior efetividade nas espécies bacterianas testadas, o que concorda com Longo e Azevedo²¹ (2010) e Rossoni et al.²² (2008). Israel et al.²³ (2014), através da terapia fotodinâmica empregando o azul de metileno 0,2% como agente fotossensibilizante, conseguiram o controle eficaz de um crescimento tumoral até os 30 dias posteriores observados. Neste estudo, o AM a 0,2% foi eficaz em seu efeito bactericida e bacteriostático sobre os micro-organismos testados, sendo que, no presente estudo, foi utilizado o azul de metileno na mesma concentração.

Sabemos que a TFD é a combinação entre fármacos fotossensibilizadores e luz em um comprimento de onda específico^{24,25}. É importante destacar, porém, que, em nosso estudo, as menores doses de energia também promoveram efeito fotodinâmico. Isso comprovou que o aumento da fluência de energia promoveu um aporte maior de fótons na região alvo, o que resultou em uma interação mais intensa com as moléculas de azul de metileno, gerando uma cascata de eventos maior, resultando em um efeito bactericida mais efetivo. Em contrapartida, as doses com comprimento de onda de 808 nm também promoveram efeito bactericida, mas foram relativamente menores do que quando comparadas à mesma dose aplicada com laser no comprimento de onda 660 nm. Isso pode ser explicado pela evidência de que o comprimento de onda de 660 nm representa o pico de absorção do corante azul de metileno¹³.

Nossos resultados diferem do estudo de Benvindo et al.¹¹ (2008), que compararam o efeito bactericida da laserterapia e da TFD com *laser* de baixa potência, em doses de 2, 4 e 6J/cm², e azul de metileno a 0,1 µg/ml. No estudo, os autores prepararam 32 placas: 16 com *Pseudomonas aeruginosa* e 16 com *Staphylococcus aureus*; que foram divididas em oito subgrupos (duas placas cada). Três placas foram submetidas à laserterapia; três à TFD, uma foi submetida somente ao fotossensibilizante; e uma foi o grupo controle. Os grupos *laser* e TFD foram irradiados uma única vez e incubados, enquanto os outros dois não receberam irradiação. Em todos os subgrupos, não foi observado qualquer halo de inibição, nem de

crescimento. A diferença de resultados entre este estudo e o estudo de Benvindo et al. ¹¹ (2008) pode estar relacionada à concentração extremamente baixa do agente fotossensibilizante utilizada pelos pesquisadores, além das doses relativamente baixas de densidade de energia empregadas.

Os grupos submetidos à Laserterapia-V nas doses 150, 225 e 300J/cm² e à Laserterapia-I na dose 225J/cm2 não inibiram o crescimento das bactérias testadas neste estudo. Esses resultados corroboram os encontrados por Costa e Assis²⁶ (2012), evidenciando não haver qualquer efeito bactericida ou bacteriostático do laser utilizado com os parâmetros em questão. Esses pesquisadores verificaram o efeito bactericida in vitro do laser de baixa potência, AsGa, 904 nm, na dose 6J/cm². Cultivaram 10 placas de Petri com Pseudomonas aeruginosa e 10 placas com Staphylococcus aureus, aleatoriamente divididas em quatro grupos (5 placas cada): dois foram tratados com o laser AsGa a cada 24 horas, durante cinco dias, e dois não receberam tratamento. De acordo com os resultados, não foi observado halo de inibição de crescimento em nenhum dos grupos. Os autores concluíram que a terapia a laser (AsGa, 904nm, 6J/cm²) não produziu efeito bactericida.

Além disso, também não houve crescimento bacteriano nos grupos submetidos à laserterapia. Tal fato denota a exclusão do efeito bioestimulante do *laser* de baixa potência sobre as bactérias testadas. Esses resultados estão de acordo com os encontrados por Coutinho et al.27 (2007), que, utilizando laser (904nm), irradiaram por 1 minuto 60 placas de Petri contendo Escherichia coli, Haemophilus influenzae e Salmonela sp., não observando crescimento bacteriano. Contudo, os nossos achados diferem dos encontrados por Nussbaum et al.²⁸ (2003), que utilizaram *laser* de 810 nm, com variação na irradiância de 0,015 $W/cm^2 (0-50J/cm^2)$ ou $0.03 W/cm^2 (0-80J/cm^2)$, em uma única sessão, em bactérias gram-positivas e gram-negativas. Os autores observaram aumento no crescimento de Pseudomonas aeruginosa na irradiância de 0,015 W/cm² e diminuição em 0,03 W/cm², em dose de 1J/cm²; sugerem que tal resultado pode ser explicado apenas por diferenças na irradiância e/ou tempo de exposição, visto que outros fatores foram constantes.

Embora a maioria dos estudos abordem uma avaliação da TFD sobre espécies isoladas de bactérias, sabe-se que as infecções endodônticas, primárias ou secundárias, são polimicrobianas e compostas por uma limitada combinação de bactérias anaeróbias estritas em sinergismo, principalmente bacilos gram-negativos²⁹. Fimple et al.30 (2008), ao investigarem in vitro a resposta de infecção polimicrobiana em canais de humanos submetidos à TFD, utilizaram um modelo multiespécie para formação do biofilme. Os dentes foram contaminados com Actinomyces Israel Li, Fusobacteruim Nucleatum, Porphyromonas Gingivalis e Prevotella intermedia, e os canais expostos ao azul de metileno 25 microgamas/ml por 10 minutos, seguidos por irradiação com uso de fibra ótica e laser 665 nm. Foram feitas duas irradiações de 2,5 minutos, totalizando uma densidade de energia de 30J/cm². Os resultados obtidos pela TFD alcançaram 80% nas unidades formadoras de colônias. De acordo com Taraszkiewicz et al.31 (2013), na TFD para biofilmes, as concentrações de fotossensibilizador precisam ser mais elevadas para se obter eficiência completa de morte quando comparada a culturas isoladas. Também, Ghorbanzadeh et al.32 (2020) mostraram que a TFD teve efeitos inibitórios tanto na capacidade de formação de biofilme como na atividade de virulência de E. faecalis, com possíveis aplicações clínicas para controle de infecção em endodontia.

Observa-se que são necessários estudos clínicos e randomizados para que possa se buscar informações de dose de radiação e concentração de fotossensibilizador para nos basearmos em relevância clínica comprovada, para atuarmos como método coadjuvante no controle microbiano dos canais radiculares.

Conclusão

A TFD mediada por AM a 0,2%, no comprimento de onda de 660 nm, e nas doses 150, 225 e 300J/cm², assim como no comprimento de onda de 808 nm, e na dose de 225J/cm², promoveu inibição de crescimento das bactérias *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), sendo que o comprimento de onda de

660 nm na dose 300J/cm² foi o que apresentou maiores áreas de inibição.

Os tratamentos somente com a laserterapia, com o fotossensibilizador e controle, não apresentaram halos de inibição em nenhuma das doses e comprimentos de onda, não realizando efeitos bactericidas e/ou bacteriostáticos.

Ab'stract

This study aims to verify in vitro the bactericidal effect of laser therapy and photodynamic therapy with low power laser (660 nm and 808 nm), in bacteria present in the root canals. Methods: 60 Petri dishes were prepared with bacteria: 20 plates with Enterococcus faecalis, 20 plates with Staphylococcus aureus and 20 with Pseudomonas aeruginosa. At random, each group was divided into 10 subgroups (two plates each): three subgroups treated with 660nm laser therapy at doses of 150, 225 and 300J / cm², three subgroups treated with photodynamic therapy, (0.2% methylene blue and laser 660nm) in doses of 150, 225 and 300J / cm²; a subgroup treated with 808nm laser therapy at a dose of 2251 / cm², a subgroup with (photodynamic therapy and 808nm laser) at a dose of 2251 / cm²; a subgroup treated only with photosensitizer(FS), and an untreated (control). Those treated with laser therapy and photodynamic therapy were irradiated only once and incubated for 24 hours. The last two received no radiation. The cultures were analyzed visually to check the inhibition zone. In the groups submitted to laser therapy only, for the FS group and for the Control group, no inhibition halos were observed, since PDT was applied, with both L1 and L2, inhibition halos were observed in all studied bacterial species. It was concluded that laser therapy did not produce bactericidal and / or bacteriostatic effects, while photodynamic therapy at both wavelengths produced significant growth inhibition halos in the three studied bacteria.

Keywords: Endodontics. Disinfection. Fototherapy. Photodynamic therapy.

Referências

Castilho Filho T. Avaliação da ação da radiação laser em baixa intensidade no processo de ósseo-integração de implantes de titânio inseridos em tíbia de coelhos [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Instituto de Pesquisas Energéticas Nucleares da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo; 2003.

- Walton R, Pashley D, Ogilvie A. Histologia e fisiologia da polpa dental. In: Ingle JI, Taintor JF. Endodontia (1989); 1(3):264-90.
- Bowman C, Baumgartner J. Gutta-percha obturation of lateral grooves and depressions. Journal of Endod 2002; 28(3):220-3.
- Samiei M, Pakdel S, Rikhtegaran S, Shakoei S, Ebrahimpour D, Taghavi P, et al. Scan ning electron microscopy comparison of the cleaning efficacy of a root canal system byNd: YAG laser and Rotary instruments. Microsc Microanal 2003; 20(4):1240-5.
- 5. Raab O. The effect of fluorescente gentsoninfusoria. Z Biol 1900; 1(39):524-6.
- Machado AE. Terapia fotodinâmica: princípios, potencial de aplicação e perspectivas. Rev Quím Nova 2000; 23(2):237-43.
- Kharkwal G, Sharma S, Huang Y, Dai T, Hamblin M. Photodynamic therapy for infections: clinical applications. Lasers Surg Med 2011; 43(7):755-67.
- Marotti J, Pigozzo M, Nakamae A, Neto P, Laganá D, Campos T. Terapia fotodinâmica no tratamento da periimplantite. Implant News 2008; 5(4):401-5.
- Henriques ACG, Maia AMA, Cimões R, Castro JFL. A laserterapia na Odontologia: propriedades, indicações e aspectos atuais. Odontologia Clín Científ 2008; (7):197-200.
- Cavalcanti TM, Almeida-Barros RQ, Catão MHCV, Feitosa APA, Lins RDAU. Conhecimento das propriedades físicas e da interação do laser com os tecidos biológicos na Odontologia. Na Bras Dermatol 2011; 86(5):955-60.
- Benvindo R, Braun G, Carvalho A, Bertolini G. Efeitos da terapia fotodinâmica e de uma única aplicação de laser de baixa potência em bactérias in vitro. Fisioterapia e Pesquisa 2008; (1):15.
- Veçoso MC. Laser em Fisioterapia. São Paulo: Editora Lovise Científica; 1993.
- Nunez SC. Protocolo de laserterapia e terapia fotodinâmica – Laser Duo. São Carlos: MMO; 2003.
- Basmadjian C, Bourgeois F, Lebrun T. Factors influencing the long-term results of endodontic treatment: a review of the literature. Int Dent J 2002; 52(2):81-6.
- Werlang A, Baldissareli F, Werlang F, Vanni J, Hartmann M. Insucesso no tratamento endodôntico: uma revisão de literatura. Revista Tecnológica 2016; (2)31-47.
- 16. Siqueira J, Roças I, Favieri A, Lima K. Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after intrumentation and irrigation with 1%, 2,5% e 5,25% sodion hypochlorite. Journal of Endod 2000; 26(6):331-4.
- Lima C, Fava l, Siqueira J. Susceptibilities of Enterococcus faecalis Biofilms to Some Antimicrobial Medications. J Endod 2001; 27(10):616-9.
- Wilson M, Dobson J, Harvey W. Sensibilization of oral bacteria tokilling by low-power laser iradiation. Curr Microbiol 1992; (25):77-81.
- Longo J, Azevedo R. Efeito da terapia fotodinâmica mediada pelo azul de metileno sobre bactérias cariogênicas. Rev Clín de Pesq Odontol 2010; 6(3):249-57.
- 22. Rossoni R, Souza R, Pereira C, Jorge A, Junqueira J. Comparação da eficácia fotodinâmica do azul de metileno, azul de toluidina e verde de malaquita contra cândida albicans. Jos Cam 2008; 1(7):2142-5.
- 23. Israel C, Santos F, Maués T, Queiroz B, Costa B, Nascimento S. Uso da terapia fotodinâmica empregando azul de metileno a 2% como agente fotossensibilizante para o controle de crescimento tumoral em calopsita (Nynphicushollandicus) portador de sarcoma. Rev Bras Ci Vet 2014; 21(2):86-9.

- Perussi J. Inativação fotodinâmica de microrganismos. Rev Quim Nova 2007; 30(4):988-94.
- Meisel P, Kocher T. Photodynamic therapy for periodontal diseases: state of the art. Photo chem Photobiol 2005; 79(2):159-70.
- Costa F, Assis L. In vitro assessment of the bactericidal effect of low-power arsenium-gallium (AsGa) laser treatment.
 Anais Brasileiros de Dermatol 2012; 87(4):654-6.
- Coutinho F, Giordano V, Santos C, Carneiro A, Amaral N, Touma M. Efeito do laser de baixa energia no crescimento bacteriano "in vitro". Rev Bras Ortop 2007; 42(8):248-53.
- Nussbaum E, Lilge L, Mazzulli T. Effects of low level laser therapy (Illt) of 810 nmupon in vitro grow the of bacteria: relevance of irradiance and radiante exposure. J Clin Laser Med Surg 2003; 21(5):283-90.
- Gomes B, Orucker B, Lilley J. Association of endodontics ymptom sandsigns with particular combinations of specific bacteria. Int Endod J 1996; 1(29):69-75.
- Fimple J, Fontana C, Foschi F, Ruggiero K, Song X, Pagonis T, et al. Photodynamic treatment of endodontic polymicrobial infection in vitro. J Endod 2008; 34(6):728-34.
- Taraszkiewicz A, Fila G, Grinholc M, Nakonieczna J. Innovative strategies too vercome biofilm resistance. Biomed Res Int Polônia 2013; 1(1):1-13.
- 32. Ghorbanzadeh R, Assadian H, Chiniforush N, Parker S, Pourakbari B, Ehsani B, et al. Modulation of virulence in Enterococcus faecalis cells surviving antimicrobial photodynamic inactivation with reduced graphene oxide-curcumin: an ex vivo biofilm model. 2020; 1(29):3-16.

Endereço para correspondência:

Caroline Pietroski Grando Faculdade de Odontologia, Campus Erechim Av. Sete de Setembro, 1621, Fátima CEP 99709-510 – Erechim, RS, Brasil Telefone: (54) 99959 6728 E-mail: carolinepietroski@yahoo.com.br

Recebido: 19/02/2020. Aceito: 07/08/2020.