



UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOFOTÔNICA APLICADA ÀS CIÊNCIAS
DA SAÚDE

Camila Basilio Okamoto

**“TERAPIA FOTODINÂMICA NO TRATAMENTO ENDODÔNTICO DE DENTES
DECÍDUOS: ENSAIO CLÍNICO CONTROLADO E RANDOMIZADO.”**

São Paulo, SP

2017



CAMILA BASILIO OKAMOTO

**“TERAPIA FOTODINÂMICA NO TRATAMENTO ENDODÔNTICO DE DENTES
DECÍDUOS. ENSAIO CLÍNICO CONTROLADO E RANDOMIZADO.”**

Dissertação apresentada à Universidade Nove de Julho, para obtenção do título de Mestre em Biofotônica aplicada às Ciências da Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Lara Jansiski Motta.

Co-orientadora: Profa. Dra. Sandra Kalil Bussadori

São Paulo, SP

2017

São Paulo, 19 de dezembro de 2017.

TERMO DE APROVAÇÃO

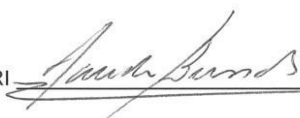
Aluna: CAMILA BASILIO OKAMOTO

Título da Dissertação: "Terapia fotodinâmica no tratamento endodôntico de dentes deciduos. Ensaio clínico controlado randomizado".

Presidente: PROF^a. DR.^a LARA JANSISKI MOTTA



Membro: PROF^a. DR.^a SANDRA KALIL BUSSADORI



Membro: PROF. DR. RICARDO SCARPARO NAVARRO



DEDICATÓRIA

Dedico essa dissertação à minha família, Dannel e Eduardo, pelo apoio incondicional e constante incentivo.

Dedico também as minhas orientadoras Profa. Dra. Lara Jansiski Motta , Profa. Dra, Sandra Kalil Bussadori e ao Prof. Dr. Renato Prates, pela confiança, paciência, incentivo, amizade e orientação.

Sem o apoio de ambos, este trabalho não teria sido realizado. A eles, meu muito obrigada.

AGRADECIMENTOS

A presente dissertação de mestrado não poderia chegar a bom porto sem o preciso apoio de várias pessoas.

A todos os professores da minha Pós-Graduação que me deram o apoio e motivação para continuar esta caminhada em especial a Professora Doutora e orientadora, Lara Jansiski Motta por toda sua paciência, empenho e sentido prático com que sempre me orientou neste trabalho e em todos os outros que realizei durante o curso. Muito obrigada por ter me corrigido quando necessário sem nunca me desmotivar.

Agradeço igualmente a todos os colegas do Mestrado em Biofotônica Aplicada às Ciências da Saúde, especialmente a Professora Doutora Sandra Kalil Bussadori, cujo apoio e amizade estiveram presentes em todos os momentos.

Agradeço aos funcionários dos laboratórios, clínicas, secretaria da Instituição, que sempre foram gentis e prestativos, colaborado para o sucesso desta dissertação.

Agradeço também a Uninove através do programa de Biofotônica aplicada às ciências da saúde e a PROSUP/ CAPES, pela bolsa concedida.

RESUMO

O sucesso do tratamento endodôntico baseia-se na descontaminação do canal radicular. Desta forma, métodos têm sido pesquisados para a obtenção da sanificação do interior do sistema de canais radiculares (SCR) com eficácia; dentre estes, destaca-se a combinação da terapia endodôntica convencional associada ao uso do laser e da terapia fotodinâmica (aPDT). O objetivo deste estudo foi avaliar a redução bacteriana e os aspectos clínicos e radiográficos do tratamento endodôntico em dentes decíduos quando associado à terapia fotodinâmica. Foram selecionados 32 dentes decíduos anteriores com diagnóstico de necrose pulpar. Os pacientes foram divididos aleatoriamente em dois grupos, que receberam tratamentos distintos: Grupo I: tratamento endodôntico convencional (n=15); Grupo II: tratamento endodôntico convencional associado aPDT(n=17). Para aPDT foi utilizado como fotossensibilizador o azul de metileno da marca Chimiolux®, na concentração de 0,005%, aplicado com cone de papel estéril no interior do canal radicular por 3 minutos, associado a aplicação do laser com comprimento de onda de 660nm (DMC, Laser THERAPY XT), o canal foi irradiado por 40s, com o equipamento previamente calibrado com energia de 4J e potência de 100mW. Foi utilizado o método de contato direto, na entrada do canal radicular. Para análise microbiológica, foram realizadas duas coletas do conteúdo intracanal com cones de papel, uma antes e outra logo após os tratamentos propostos nos dois grupos. Os aspectos radiográficos foram avaliados, considerando o processo de reparação e clinicamente observou-se presença de fístula e mobilidade, as avaliações foram realizadas nos períodos de 1 e 3 meses após o tratamento. Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística Mann-Whitney (5%), demonstrando que o Grupo II apresentou 99% de redução bacteriana, enquanto o Grupo I apresentou 93%, porém esta diferença não foi estatisticamente significativa. Observou-se reparo satisfatório dos tecidos clínicos e radiograficamente nos dois grupos. Concluiu-se que o tratamento convencional associado a aPDT foi eficaz, no entanto não apresentou-se superior ao tratamento convencional unicamente neste estudo.

Palavras Chave: Tratamento endodôntico, Dentes decíduos, Terapia Fotodinâmica antimicrobiana, infecção do canal radicular, necrose da polpa dentária.

ABSTRACT

The success of the treatment is based on the decontamination of the root canal. Thus, efficacious methods have been studied as to the disinfection of the root canal systems (RCS). Of the methods studied, a highlight is the combination of conventional root canal therapy associated with laser and Antimicrobial Photodynamic Therapy (aPDT). The aim of this work was to evaluate bacterial reduction and both clinical and radiographic aspects of the root canal treatment in deciduous teeth when associated with photodynamic therapy. 32 deciduous anterior teeth diagnosed with pulp necrosis were selected. The patients were randomly divided into two groups, which underwent distinct treatments: Group I: conventional root canal treatment (n=15); Group II: conventional root canal treatment associated with aPDT (n=17). For the aPDT, Chimiolum® methylene blue (0.005%) was used as photosensitizer, applied with sterile paper cone into the root canal for 3 minutes, associated with laser application at a wavelength of 660nm (DMC, Laser THERAPY XT – EC), the canal was irradiated for 40 seconds, with the apparatus previously set at energy 4J and power 100mw. Direct contact method has been used at the entrance of the root canal. For the microbiological analysis, two samples of intracanal content were collected with paper cones. One sample was collected before and another immediately after the treatments administered in both groups. Radiographic aspects were evaluated, taking into consideration the recovery process, and we clinically observed fistula and mobility. The evaluations were carried out both 1 and 3 months after treatment. The data obtained went through statistical analysis Mann-Whitney (5%) and showed that G II had 99% bacterial reduction, whereas G I had 93%, though this difference was not statistically significant. Satisfactory tissue recovery was clinically and radiographically observed in both groups. It was therefore possible to conclude that the conventional treatment associated with aPDT was efficacious, however, it did not turn out as superior to conventional treatment alone, as far as this study is concerned.

Key Words: Root Canal Therapy, Deciduous Teeth, Antimicrobial Photodynamic Therapy, Infection in root canal, Dental Pulp Necrosis.

ÍNDICE

1. Contextualização	11
2. Objetivo	17
2.1. Objetivo geral	17
2.2. Objetivos específicos	17
3. Justificativa.....	18
4. Material e métodos	19
4.1. Aspectos éticos.....	19
4.2. Delineamento do estudo	19
4.3. Hipótese.....	19
4.4. Sujeitos da pesquisa.....	20
4.4.1. Critérios de inclusão	20
4.4.2. Critérios de exclusão	20
4.5. Grupos de estudos	20
4.6. Randomização.....	22
4.7. Cegamento	22
4.8. Avaliações clínicas e radiográficas dos dentes selecionados	22
4.9. Aplicação da terapia fotodinâmica antimicrobiana	23
4.10. Intervenções.....	25
5. Análise microbiológica.....	28
6. Organização e tratamento estatístico dos dados	29
7. Resultados	30
7.1. Resultados da análise clínica e radiográfica	33
8. Discussão	35
9. Conclusão	40
10. Referências.....	41
11. Anexos	46

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Tabela 1 - Teste de normalidade Shapiro-Wilk.....	29
Tabela 2 - Distribuição dos dentes decíduos nos grupos de tratamento GI e GII.....	30
Tabela 3 - Descrição das unidades formadoras de colônia (UFC/ml) antes e após o tratamento no G1 (sem aPDT)	31
Tabela 4 - Descrição das unidades formadoras de colônia (UFC/ml) antes e após o tratamento no GII (sem aPDT)	31
Tabela 5 - Análise da diferença entre os grupos, considerando a redução microbiana	32
Tabela 6 - Descrição da análise radiográfica após 1 e 3 meses nos dois grupos estudados.....	33
Quardo 1 - Características dos estudos com aPDT na endodontia.....	14
Quadro 2 - Resumo da condição experimental	20
Quadro 3 - Parâmetros do Laser THERAPY XT (DMC)	24

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Fluxograma do estudo (CONSORT).....	21
Figura 2 - Equipamento Laser THERAPY XT, da empresa DMC.....	24
Figura 3 – Representação gráfica da média de redução microbiana do GI e GII.....	32

LISTA DE ABREVIATURAS

SCR	-	Sistema de canais radiculares
aPDT	-	Terapia Fotodinâmica
GI	-	Grupo I
GII	-	Grupo II
H1	-	Hipótese alternativa
H0	-	Hipótese nula
UFC/ml		Unidades formadoras de colônias
N ₂	-	Nitrogênio
CO ₂	-	Dióxido de carbono
H ₂	-	Hidrogênio
BHI	-	Brain Heart Infusion

1. CONTEXTUALIZAÇÃO

Apesar de estudos mostrarem uma diminuição da cárie dentária na dentição decídua em todo o mundo, a prevalência de cárie continua alta em alguns grupos populacionais. A cárie da infância ainda é muito comum e pode causar destruição severa e atingir rapidamente a polpa dentária.¹

As lesões cariosas e traumáticas são as principais causas de inflamação e necrose pulpar em dentes decíduos.² A incidência de cárie na dentição decídua é altamente significativa, cerca de 75% dos dentes com cárie profunda apresentam comprometimento pulpar.³ Uma vez estabelecida condição de irreversibilidade da inflamação pulpar, ou a necrose tecidual, o tratamento endodôntico radical deve ser realizado.² Existem 2 opções de tratamento para dentes decíduos com polpa infectada e ou necrótica: extração ou pulpectomia.¹

O objetivo da pulpectomia é a remoção completa de células necróticas e polpa irreversivelmente infectada de um dente afetado, para que o dente permaneça assintomático e funcional na cavidade oral até esfoliar normalmente.⁴ A perda prematura de dentes pode produzir mudanças no guia de erupção do dente permanente, o que pode causar distúrbios fonéticos e hábitos orais prejudiciais, como a interposição da língua e as consequências estéticas.^{6,8,9,10}

O conhecimento do comportamento biológico da polpa dental constitui um requisito básico para estabelecer a terapia adequada ¹¹, devendo-se levar em conta, que as condições de resposta a um determinado tipo de estímulo, variam em função do estado da polpa. Em casos de necrose pulpar, todos os micro-organismos da cavidade bucal têm a capacidade de invadir o canal radicular⁴, mas as condições existentes no seu interior permitem o crescimento apenas de bactérias capazes de fermentar aminoácidos e peptídeos, que constituem um grupo restrito de espécies.^{3,4}

A terapia pulpar em dentes decíduos é um tratamento complexo, principalmente pelos procedimentos de instrumentação, complexidade do delta apical, ciclo biológico dos dentes decíduos, reabsorção fisiológica radicular e rizólise e longas sessões de tratamento durante as quais a criança às vezes nem sempre coopera.^{5,6,8} A necessidade de preservar a integridade dos dentes permanentes sucessores por meio da adequada terapia endodôntica dos dentes decíduos, levou

os pesquisadores a estudarem cuidadosamente a topografia radicular, os medicamentos utilizados na desinfecção dos canais e a composição das pastas obturadoras, bem como a viabilidade da biomecânica associada à odontometria desses dentes.³ O objetivo do tratamento do canal radicular é manter dentes com polpa comprometida na cavidade oral para evitar exodontia. A perda precoce dos dentes decíduos pode comprometer o desenvolvimento do sistema estomatognático e da instalação da dentição permanente¹², bem como apresentar consequências que comprometam o convívio social.^{6,7} Além disso, manter os dentes decíduos no arco dentel até a esfoliação fisiológica auxilia no correto irrompimento da dentição permanente e favorece no crescimento maxilo-mandibular.¹¹

O sucesso do tratamento endodôntico baseia-se na descontaminação eficaz do canal radicular^{13,14,15,16,17,18,19,20}, ao passo que os agentes microbianos promovem o desenvolvimento e manutenção do processo patológico que danificam a polpa e a região periapical. A técnica mais utilizada para o tratamento endodôntico em dentes decíduos é realizada com limas manuais e soluções irrigadoras desinfectantes¹³. A instrumentação mecânica associada à irrigação química não elimina totalmente os micro-organismos presentes no canal radicular.^{7,13, 14,17,18,21,22}

A presença de microorganismos é o principal fator etiológico das patologias pulpares e perirradiculares. Assim, o objetivo do tratamento endodôntico é a máxima desinfecção do sistema de canais radiculares (SCR)^{14,23,24,25} e a prevenção da reinfecção. Porém, mesmo quando o tratamento endodôntico é realizado dentro do máximo rigor técnico, infecções secundárias e/ou persistentes podem ocorrer, gerando o insucesso do tratamento endodôntico.^{26,27}

Nestes casos, o *Enterococcus faecalis* tem sido o micro-organismo mais comumente encontrado^{11,14,15}, a prevalência deste microorganismo é de 22 a 77% nos casos de necrose pulpar²⁸, devido a características específicas, tais como: capacidade de colonizar a dentina e os túbulos dentinários, o que dificulta sua remoção pelos meios químicos e mecânicos, podendo inclusive resistir à medicação intracanal e às soluções irrigadoras; potencial de invasão intratubular mesmo em escassez nutricional, além de apresentar alguns fatores de virulência.²⁶ Estudos evidenciam também a alta prevalência de *Enterococcus faecalis* em dentes

comprometidos endodonticamente com lesões perirradiculares associadas, sugerindo um envolvimento desta na patogênese das lesões recorrentes.^{21, 28}

Portanto, é necessário selecionar uma técnica adequada, no tratamento endodôntico de dentes decíduos que possa oferecer atividade antibacteriana e ação biológica, visando a manutenção destes dentes no arco dentário, e restabelecendo a integridade dos tecidos periapicais.^{3,21} Estudos têm mostrado que, em presença de uma cultura microbiológica negativa no canal radicular no momento da obturação, existe uma taxa estimada de sucesso de 94%, porém, quando a obturação é realizada em presença de uma cultura positiva, a taxa de sucesso é reduzida para 68%.^{7,9,24} Desta forma, métodos têm sido pesquisados na tentativa de eliminá-lo com eficácia do interior do SCR; dentre estes, destaca-se a combinação da terapia endodôntica convencional associada ao uso do laser e da terapia fotodinâmica (aPDT).^{8,26} A terapia fotodinâmica antimicrobiana, conhecida como a aPDT (acrônimo de *antimicrobial photodynamic therapy*) tem sido empregada em diferentes estudos na endodontia com a utilização de laser de baixa potência associado a um corante com características fotossensibilizadoras, como coadjuvante para eliminação de microrganismos persistentes após o preparo químico-mecânico.^{7,9}

O tratamento baseia-se na interação de três fatores: uma fonte de luz de comprimento de onda específico, um fármaco fotoativável ou agente fotossensibilizador – tais como o azul de metileno e o azul de toluidina- e o oxigênio. Quando o laser incide sobre a solução fotossensibilizante, gera uma transferência de energia entre a luz, o fotossensibilizador e o substrato, originando o oxigênio singlete e radicais livres.^{11,29} Os mesmos atuam na parede celular bacteriana modificando seu metabolismo através da alteração de lipídios, proteínas e ácidos nucleicos, levando à morte bacteriana por apoptose.^{9,11,16,19,20}

O interesse pela utilização da aPDT na Endodontia está relacionado principalmente ao efeito antimicrobiana comprovadamente constatado desta terapia, visto que esta não promove resistência microbiana, e é uma técnica de fácil aplicação, indolor, e soma a todas essas características os efeitos benéficos advindos da terapia com laser.²¹

Quardo 1 : Características dos estudos com aPDT na endodontia.

Autor	Tipo	FS	Fonte de Luz	Parâmetros	Fibra	Conclusão
Sant'anna 11	In vivo	Azul de Metileno 3-5 min.	660 nm	40j/cm2		A PDT ofereceu um excelente prognostico para redução bacteriana e interessante relação custo benefício em odontopediatria.
Rios et al. 13	In Vitro	Azul de toluidina 30s.	LED	30s.	Com fibra	PDT usando TBO e uma lâmpada de diodo emissor de luz tem o potencial para ser utilizado como um procedimento anti-microbiano adjuvante em endodontia convencional.
Souza et al. 19	In Vitro	Azul de Toluidina e Azul de Metileno 2min.	660nm	40mw – 4min	Com fibra	A PDT quer com MB ou TB não pode exercer um efeito significativo suplementar aos procedimentos de instrumentação/irrigação em relação a desinfecção intra-canal.
Tennert et al. 20	In Vitro	Azul de Toluidina 60s.	635nm	100mw – 120s.		A PDT é um suplemento efetivo na desinfecção do canal radicular especialmente nos retratamentos.
Silva et al. 21	In Vitro	Corante Azuleno 25% com endo- ptc 5min.	685nm	3min.	Com fibra	Conclui-se que a instrumentação associada a PDT frente a <i>Enterococcus faecalis</i> foi efetiva mas não eliminou totalmente o biofilme intra-canal mono espécie.
Garcez et al. 16	In Vitro	Azul de metileno 10 min.	660nm	40mw – 9,6j	Com fibra	Os resultados sugerem que a utilização da PDT para o tratamento endodôntico adicionada em canais infectados com <i>Enterococcus faecalis</i> com a fibra óptica/difusor é melhor do que quando a luz Laser é usada dirigida para o acesso da cavidade.
Garcez et al. 24	In Vivo	PEI e CE6 2min.	660nm	40mw – 9,6j	Com fibra	Os resultados sugerem que a utilização da PDT para o tratamento endodôntico leva a uma maior redução bacteriana e pode ser abordada para o tratamento

						de infecções orais.
Flimple et al.25	In Vitro	Azul de metileno 25µg/ml 10 min.	665nm	30j/cm2	Com fibra	Na PDT obteve-se a redução de 80% da contagem de unidades formadoras de colônias.
Pinheiro et al.29	In Vivo	Azul de Toluidino 0,005% 3min	660nm	4j/cm2 – 100mw 40seg.	Sem fibra	A PDT é recomendada como coadjuvante para redução microbiana em dentes decíduos com polpa necrosada.
Garcez et al.31	In Vitro	PEI e CE6	660nm	40mw /9,6j	Com fibra	Imagem de bioluminescência é uma maneira eficiente para monitorar a terapia endodôntica. A PDT antimicrobiana pode otimizar a terapia endodôntica.
Soukos et al. 27	In Vitro	Azul de metileno 25µg/ml 5min	665nm	30j/cm2	Com fibra	Conclui-se que a PDT pode ser desenvolvida como um procedimento auxiliar para matar as bactérias residuais no sistema de canais radiculares após o tratamento endodôntico padrão.
Silva et al.38	In Vitro	Azul de toluidina 0,005% 3min. Fucsina 0,005% 3min.	660nm 638nm 410nm	4j/cm2 100mw 60s	Sem fibra	A PDT pode ser utilizada como tratamento coadjuvante na redução microbiana das lesões endodônticas.
Raymond et al. 40	Ex Vivo	Azul de metileno 50µg/ml 5min	665nm	30j/cm2 100mw /cm2	Com fibra	Os dados indicam que a PDT reduz significativamente as bactérias residuais dentro do sistema de canais radiculares, e que PDT, se reforçada por melhorias técnicas, é uma promessa substancial como adjuvante no tratamento endodôntico.
XUY et al. 41	In Vitro	Azul de metileno 50µg/ml 10min.	665nm	10,20 e 40mw /cm2 correspondendo uma fluência de 3,6 e 12j/cm2	Com fibra	Os dados sugerem que a uma janela terapêutica segura pelo qual a PDT pode inativar agentes patogênicos endodônticos sem afetar a viabilidade da célula hospedeira.

Silva et al. 42	In Vivo	Cloreto de Fenotiazina 10mg/ml 3min	660nm	60mw /cm ² 1min	Com fibra	A PDT é indicada para ser uma terapia adjuvante promissora para limpeza e modelagem em dentes com periodontite apical submetidos a uma sessão de tratamento endodôntico.
Garcez et al.43	In Vivo	Clorina de polietileno	660nm	40mw – 9,6j 4min	Com fibra	A utilização da PDT adicionada ao tratamento endodôntico convencional levará uma grande redução da carga microbiana.
Pagones et al. 45	In Vitro	Azul de metileno com nanopartículas 6,25µg/ml	650nm	100mw /cm ² 30j/cm ²	Com fibra	A utilização de nanopartículas de PLGA encapsuladas com drogas fotoativadoras pode ser um complemento promissor no tratamento endodôntico antimicrobiano.

O uso da Terapia fotodinâmica antimicrobiana em endodôntia tem se mostrado um método efetivo na redução microbiana intracanal, tanto em trabalhos in vitro, quando em trabalhos in vivo (Quadro 1). Entretanto não há concordância quanto aos seus parâmetros ideais para uso clínico. A padronização de parâmetros de irradiação e de concentração na solução fotossensibilizadora, certamente levará a uma maior utilização e reconhecimento da eficiência desta terapia. A falta de consenso nestes parâmetros dificulta ao clínico na hora da escolha dos protocolos de utilização e na comparação entre diferentes protocolos encontrados na literatura, desestimulando seu uso na rotina do consultório.²⁸

2. OBJETIVO

2.1 Objetivo Geral

Este estudo teve como objetivo avaliar a efetividade do tratamento endodôntico em dentes decíduos quando associado a terapia fotodinâmica.

2.2 Objetivos Específicos

-avaliar o efeito do tratamento endodôntico convencional associado a aPDT, pelo método do contato direto na entrada do conduto, na redução bacteriana intracanal em dentes decíduos e comparar com o tratamento convencional.

-avaliar os aspectos clínicos e radiográficos dos dentes decíduos tratados com a associação da aPDT, pelo método do contato direto na entrada do conduto, e comparar com os grupo tratado convencionalmente.

3. JUSTIFICATIVA

Tendo em vista que o sucesso do tratamento endodôntico está diretamente relacionado com a descontaminação bacteriana intracanal e sabendo da dificuldade do tratamento endodôntico em dentes decíduos, muitas vezes pelo difícil controle da criança, anatomia interna dos canais radiculares, e reabsorções radiculares. A técnica da aPDT veio como uma alternativa indolor e que não promove a resistência bacteriana, que pode auxiliar para o sucesso do tratamento endodôntico de dentes decíduos evitando assim passar a criança por retratamentos e perda precoce dos mesmos. Não estão claramente estabelecidos os protocolos clínicos para utilização da aPDT na desinfecção do conduto radicular em dentes decíduos. Considerando a variedade de métodos e protocolos, se torna necessário conhecer a eficácia de todos eles. Portanto, realizar estudo clínico com uma das propostas, como o método direto na entrada do conduto irá subsidiar a análise para as escolhas dos protocolos mais adequados para este fim.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Aspectos éticos.

Trata-se de um estudo clínico controlado e randomizado com avaliação microbiológica e clínica de dentes decíduos.

O estudo foi conduzido em conformidade com as normas regulamentadoras que regem a pesquisa envolvendo seres humanos, com parecer favorável do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Nove de Julho (São Paulo, Brasil) sob o número 832.657. Os responsáveis pelos participantes assinaram o termo de consentimento livre, após os esclarecimentos relativos ao tratamento proposto neste estudo, para autorizar a participação na pesquisa (Anexo 1 e 2), de acordo com a resolução 196/96 do Conselho Nacional Saúde do Brasil.

Por se tratar de um estudo clínico randomizado e buscando uma maior transparência e qualidade dessa pesquisa, utilizaremos as recomendações CONSORT (Consolidated Standards of Reporting Trials). O protocolo do presente foi registrado na plataforma internacional de ensaios clínicos Clinical Trials, com número de registro NCT02485210.⁴⁴

4.2. Delineamento do estudo.

Tipo do Estudo: Ensaio Clínico Controlado Randomizado.

4.3. Hipóteses.

Hipótese alternativa (H1): A associação da terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) com o tratamento endodôntico convencional é eficaz para descontaminação microbiana no tratamento endodôntico de dentes decíduos, mostrando melhores resultados clínicos, radiográficos e microbiológico quando comparados com o grupo controle.

Hipótese nula (H0): A associação da terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) no tratamento endodôntico de dentes decíduos, não mostrou melhores resultados clínicos e radiográficos e nem microbiológicos quando comparados ao grupo controle.

4.4. Sujeitos da pesquisa.

Foram selecionados 32 dentes decíduos anteriores uniradiculares de crianças com faixa etária entre 2 e 5 anos, saudáveis, de ambos os gêneros, sem distinção de raça ou etnia, com diagnóstico de necrose pulpar. Com base em estudo prévio de Pinheiro et al.³⁰, foi realizado o cálculo amostral, considerando desvio padrão (2.41) e a diferença a ser detectada na mediana da colônia unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC / ml) antes e depois aPDT 2.9, com nível de significância de 5% e potência de 95%.

4.4.1 Critérios de inclusão:

Crianças com idade entre 2 a 5 anos, com pelo menos um dente decíduo anterior com pulpite irreversível ou necrose pulpar por cárie ou trauma, com pelo menos 2/3 de raiz remanescente e crianças que não tenham sido submetidas a terapia com antibiótico nos três meses anteriores.

4.4.2. Critérios de exclusão:

Crianças com a saúde comprometida, com dentes decíduos com reabsorção de 2/3 ou mais de raiz, e envolvimento de cripta.

4.5 Grupos de estudo:

Quadro 2: Resumo da condição experimental

Grupos de estudos	
Grupo I (n=15)	Tratamento endodôntico convencional
Grupo II (n=17)	Tratamento endodôntico com aplicação de terapia fotodinâmica

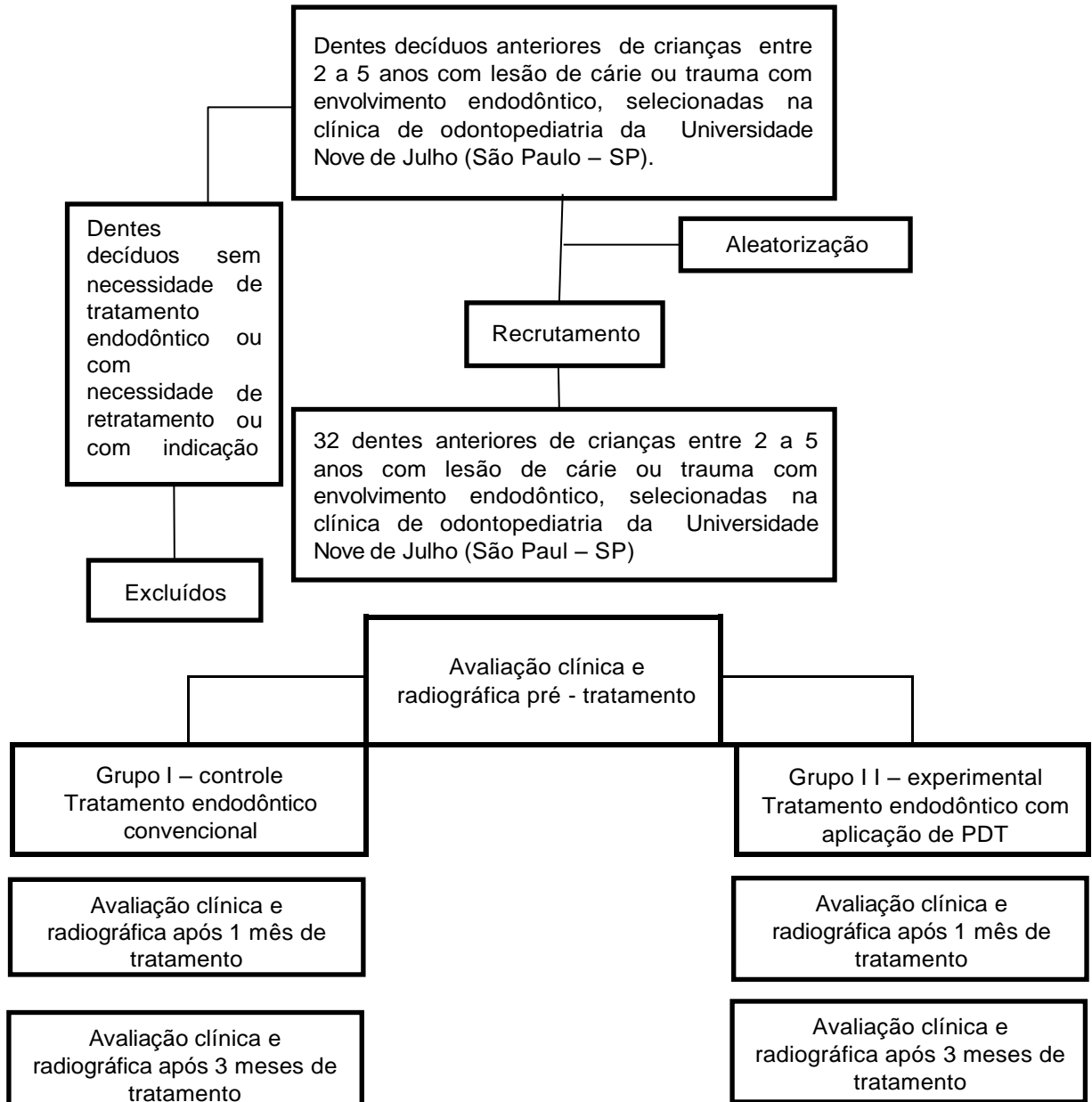


Figura 1: Fluxograma do estudo (CONSORT)

4.6. Randomização

O tipo de tratamento foi determinado aleatoriamente para cada dente, através da realização de um sorteio antes de iniciar o procedimento.

Número 1: Tratamento convencional (Grupo I).

Número 2: Tratamento com aPDT (Grupo II).

4.7. Cegamento

O cegamento foi realizado somente para análise radiográfica do tratamento endodôntico após os controles de 1 e 3 meses. As avaliações foram realizadas por dois profissionais previamente treinados que não sabiam a qual grupo o elemento radiografado pertencia.

4.8. Avaliações clínicas e radiográficas dos dentes selecionados.

As avaliações clínicas foram realizadas em cadeira odontológica sob a luz do refletor, usando espelho clínico bucal e palpação da área do dente afetado. No exame inicial e nos exames de controle de 1 e 3 meses, os seguintes dados clínicos foram registrados: história de dor espontânea indicativa de periodontite apical, presença de fístula ou abscesso, presença de edema gengival, e mobilidade patológica. Radiograficamente foi avaliados sinais de radiolucência na região periapical e de reabsorção radicular patológica.

Os dados clínicos coletados no exame inicial e no controle de 1 e 3 meses após o tratamento e a comparação da radiografia inicial para diagnóstico com a radiografia realizada no exame de controle de 1 e 3 meses foi a base para avaliação do sucesso ou insucesso da terapêutica endodôntica. As radiografias foram analisadas por dois profissionais experientes e treinados, com o auxílio de negatoscópio. Estes profissionais não tiveram nenhuma informação com relação ao grupo de tratamento ao qual cada dente pertencia e, em caso de dúvidas durante a avaliação foi estabelecido um consenso entre os examinadores.

Os seguintes critérios foram utilizados para a determinação de sucesso ou fracasso do tratamento proposto, segundo o trabalho de Chan et al ³⁷:

1. Reparo completo (= sucesso)

Clinicamente: ausência de sinais e sintomas.

Radiograficamente: ausência de reabsorção radicular patológica, largura do espaço do ligamento periodontal normal, ausência de desenvolvimento de lesão na região de periapical nos casos de ausência de lesão observada na radiografia inicial para diagnóstico e regressão total da lesão quando presente no início do tratamento.

2. Reparo incompleto (= sucesso)

Clinicamente: ausência de sinais e sintomas.

Radiograficamente: ausência de reabsorção radicular patológica e redução em tamanho da lesão na região de periapical.

3. Ausência de reparo (= insucesso)

Clinicamente: sinais e sintomas indicativos de periodontite apical em fase aguda.

Radiograficamente: presença de reabsorção radicular patológica, lesão na região de furca/periapical de tamanho inalterado durante o período de acompanhamento, aumento ou desenvolvimento de nova lesão radiográfica.

Todas as radiografias foram padronizadas, usando filme periapical adulto (Kodak, Rochester, NY, EUA) na posição oclusal (radiografia oclusal modificada).

O mesmo tempo de revelação, lavagem intermediária, fixação e a lavagem final em todos os tempos de avaliação foi usada para padronizar o processamento da radiografia.

4.9. Aplicação da terapia fotodinâmica antimicrobiana

O Laser Therapy XT (DMC, São Carlos, SP, Brasil) foi usado para a aPDT, com emissão laser na banda vermelha (660 nm) (Figura 2). Durante a administração, apenas o voluntário e operador estiveram presentes e ambos usaram proteção para os olhos. A ponta ativa do laser foi envolvido em papel de plástico transparente descartável (polivinil cloreto, PVC) por razões de higiene e evasão de contaminação cruzada.

Uma sessão de aPDT com o fotossensibilizador azul metileno Chimiolux® (DMC, São Carlos, SP, Brasil) em uma concentração de 0,005% foi realizado na entrada do canal radicular. O fotossensibilizador foi aplicado com um cone de papel estéril por 3 minutos e o excesso foi removido com um aspirador endodôntico. O canal foi irradiado pelo método do contato direto, por 40 segundos, com o dispositivo previamente calibrado para emitir um comprimento de onda em 660nm, com 4J e potência de 100mW. Estes parâmetros foram baseados no estudo de Pinheiro et al.³⁰



Figura2: Equipamento Laser THERAPY XT, da empresa DMC

Quadro3: Parâmetros do Laser THERAPY XT (DMC)

Parâmetros	Laser Vermelho
Comprimento de onda (nm)	660nm \pm 10nm
Largura espectral FWHM (nm)	0,82
Modo de funcionamento	Contínuo
Potência útil do emissor (mW)	100mW \pm 20%
Polarização	Random
Diâmetro de abertura(cm)	0,060

Irradiância na abertura (mW/cm ²)	38197
Perfil do feixe	Multimodo
Área do feixe (cm ²)	1
Irradiância no alvo (mW/cm ²)	108
Tempo de exposição (s)	40
Exposição Radiante (J/cm ²)	4,3
Energia Radiante(J)	4,32
Números de pontos irradiados	1
Área irradiada (cm ²)	1
Técnica de aplicação	Contato
Número de sessões e frequência	1
Energia Total Irradiada (J)	4,32

4.10. Intervenções.

Os procedimentos foram realizados por um único operador previamente treinado, que realizou todos os tratamentos.

Grupo I (controle) – tratamento endodôntico convencional

1. Profilaxia com pasta profilática e anti-sepsia da região com solução de digluconato de clorexidina 0,12%, por meio de bolinha de algodão estéril.
2. Anestesia
3. Isolamento absoluto e quando não for possível devido à grande perda de remanescente dentário será realizado isolamento relativo com roletes de algodão.

4. Abertura coronária com pontas diamantadas esféricas com tamanho compatível ao dente e broca endo Z em alta rotação, sob refrigeração água e ar.
5. A odontometria foi realizada com régua milimetrada definida como 1 mm aquém do ápice radiográfico.
6. Inserção de 3 cones de papel estéril com diâmetro compatível com o canal por 30 segundos para coleta da primeira amostra de contaminação bacteriana e colocada imediatamente em caldo BHI (Brain Heart Infusion).
7. Preparo químico cirúrgico com limas tipo K em série conforme o caso utilizando o instrumento inicial e mais dois de número maior, com irrigação e aspiração com hipoclorito de sódio a 1% (solução de Milton) e endo PTC (Fórmula & Ação, São Paulo) a cada troca de instrumento.
8. Inserção de 3 cones de papel estéril por 30 segundos para segunda coleta da amostra de contaminação bacteriana e colocada imediatamente em BHI.
9. Obturação dos canais radiculares com hidróxido de cálcio Ultra-cal (Ultradent, Indaiatuba, SP, Brasil). Base de guta percha delgada e preenchimento com Cimento de Ionômero de Vidro, e o tratamento restaurador foi realizado em uma sessão posterior.

Grupo II – Tratamento endodôntico convencional e terapia fotodinâmica

1. Profilaxia com pasta profilática e anti-sepsia da região com solução de digluconato de clorexidina 0,12%, por meio de bolinha de algodão estéril.
2. Anestesia.
3. Isolamento absoluto e quando não for possível devido à grande perda de remanescente dentário será realizado isolamento relativo com roletes de algodão.
4. Abertura coronária com pontas diamantadas esféricas com tamanho compatível ao dente e broca endo Z em alta rotação, sob refrigeração água e ar.
5. A odontometria foi realizada com régua milimetrada e definida como 1 mm aquém do ápice radiográfico.

6. Inserção de 3 cones de papel estéril com diâmetro compatível com o canal por 30 segundos para coleta da primeira amostra de contaminação bacteriana e colocada imediatamente em caldo BHI (Brain Heart Infusion).
7. Preparo químico cirúrgico com limas tipo K em série conforme o caso utilizando o instrumento inicial e mais dois de número maior, com irrigação e aspiração com hipoclorito de sódio a 1% (solução de Milton) e endo PTC (Fórmula & Ação, São Paulo) a cada troca de instrumento.
8. Inserção de cone de papel estéril imerso em azul de metileno Chimiolum®, por 3 minutos e após a remoção do cone será aplicado o laser modelo Therapy XT (DMC – São Carlos, Brasil), com densidade de energia 4J/cm², potência de 100mw e comprimento de onda de 660nm. Aplicado por 40 segundos.
9. Após a aplicação da terapia fotodinâmica foi realizada a irrigação do canal radicular com soro fisiológico estéril e colocado 3 cones de papel estéril por 30 segundos para coleta da segunda amostra de contaminação bacteriana e colocada imediatamente em BHI.
10. Obturação dos canais radiculares com hidróxido de cálcio Ultra cal (Ultradent, Indaiatuba, SP, Brasil). Base de guta percha delgada e preenchimento com Cimento de Ionômero de Vidro, e o tratamento restaurador foi realizado em uma sessão posterior.

5. ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

As amostras foram coletadas com 3 cones de papel, inseridos no conduto após a abertura coronária e mais 3 cones de papel depois da instrumentação associada ou não a PDT, cada cone ficou em contato com o material intra radicular por 30 segundos, em seguida foram colocados em eppendorf contendo BHI (Brain Heart Infusion) servindo como meio de transporte, para posterior cultivo destas amostras para podermos detectar o número total de bactérias viáveis. Inicialmente as amostras serão homogeneizadas por 30 segundos em aparelho Vortex, e em seguida diluída na ordem de 10^{-1} a 10^{-5} em uma placa de microtitulação de 96 poços contendo 180 microlitros de PBS em cada poço, pegamos 20 microlitros de cada amostra e seguimos a sequência de diluição. Depois de realizada a diluição pegamos 5 alíquotas de 10 microlitros dessa suspensão onde foram semeadas em placa de petri com ágar sangue. Em seguida, as culturas serão incubadas por 72 horas a 37° C em 85% nitrogênio(N_2), 10% dióxido de carbono(CO_2) e 5% de hidrogênio (H_2) atmosfera, alcançada através da utilização do sistema de geração de anaerobiose. E assim, foi possível ter um acesso visual do número total de bactérias viáveis em unidades formadoras de colônia (UFC).

6. ORGANIZAÇÃO E TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS DADOS

Os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk. Onde resultou em dados não paramétricos, levando a escolha do teste Mann-Whitney, que faz a análise estatística de amostras independentes. Foi utilizado o Software Bioest. Foi adotado nível de significância de 95% ($p < 0,05$) para todos os testes, conforme descrito na tabela 1.

Tabela1: Teste de normalidade Shapiro-Wilk

Shapiro-Wilk (Normalidade)		
	GI	GII
N	15	17
Média	0.965	0.988
	3	2
Desvio padrão	0.126	0.033
	2	8
W	0.308	0.393
	5	1
<i>p</i>	0.003	0.004
	7	6

7. RESULTADOS

A tabela 2 apresenta a descrição e distribuição dos dentes decíduos nos grupos de tratamento.

Tabela 2. Distribuição dos dentes decíduos nos grupos de tratamento GI e GII.

Elemento dental	Tratamento		Total	
	GI	GI I		
51	n	6	5	11
	%	19,4%	16,1%	35,5%
52	n	1	1	2
	%	3,2%	3,2%	6,5%
61	n	2	7	9
	%	6,5%	22,6%	29,0%
62	n	2	3	5
	%	6,5%	9,7%	16,1%
71	n	1	0	1
	%	3,2%	0,0%	3,2%
72	n	0	1	1
	%	0,0%	3,2%	3,2%
81	n	1	0	1
	%	3,2%	0,0%	3,2%
82	n	1	0	1
	%	3,2%	0,0%	3,2%
Total	n	14	17	31
	%	45,2%	54,8%	100,0%

Ao realizar a contagem de unidades formadoras de colônia (UFC/ml), observou-se que nos dois grupos houve redução bacteriana, sendo que no GII a redução foi de 99% (dp 3%) e no GI de 93% (dp13%), conforme descrito nas tabelas 3 e 4. Nos GI apenas duas amostras não apresentaram 100% de redução microbiológica, sendo uma delas com a menor redução de todo o estudo (51%).

No GII, 10 amostras apresentaram 100% de redução, no entanto mesmo as amostras que não apresentaram redução total, tiveram essa porcentagem alta. Ao realizar o teste estatístico para verificação da diferença entre os grupos, constatou-se que a diferença entre eles não foi estatisticamente significativa ($p > 0,05$), conforme descrito na tabela 5.

Tabela 3: Descrição das unidades formadoras de colônia (UFC/ml) antes e após o tratamento no G1 (sem aPDT)

Amostras GI	Antes (UFC/ml)	Depois (UFC/ml)	Redução Microbiana
1	94000	0	100%
2	86000	3000	97%
3	6460000	0	100%
4	15400	0	100%
5	165160000	3600	100%
6	136000	0	100%
7	58640000	37600	100%
8	18500000	86800	100%
9	1062000	1800	100%
10	1404000	400	100%
11	2428000	400	100%
12	28800	0	100%
13	13260000	400	100%
14	1050000	514000	51%
15	1500000	0	100%
		Média	96%
		SD	13%

Tabela 4: Descrição das unidades formadoras de colônia (UFC/ml) antes e após o tratamento no GII (sem aPDT)

Amostras GII	Antes	Depois	Redução Microbiana
1	2380000	0	100%
2	140 0	200	86%
3	1120000	200	100%
4	160000000	12000	100%
5	200	0	100%
6	37540000	0	100%
7	260 0	0	100%
8	25144000	200	100%

9	1160000	21000	98%
10	36680000	320 0	100%
11	5260000	27800	99%
12	20880000	600	100%
13	5880 0	200	100%
14	5200000	21200	100%
15	1432000	32800	98%
16	20800000	0	100%
17	1160000	11200	99%
		Média	99%
		SD	3%

Tabela 5: Análise da diferença entre os grupos, considerando a redução microbiana.

Mann-Whitney		
Resultado	sem pdt	com pdt
Tamanho da amostra	15	17
Soma dos Postos (Ri)	264.0	264.0
Mediana =	1.00	1.00
U =	111.00	
Z(U) =	0.6231	
p-valor (unilateral) =	0.2666	
p-valor (bilateral) =	0.5332	

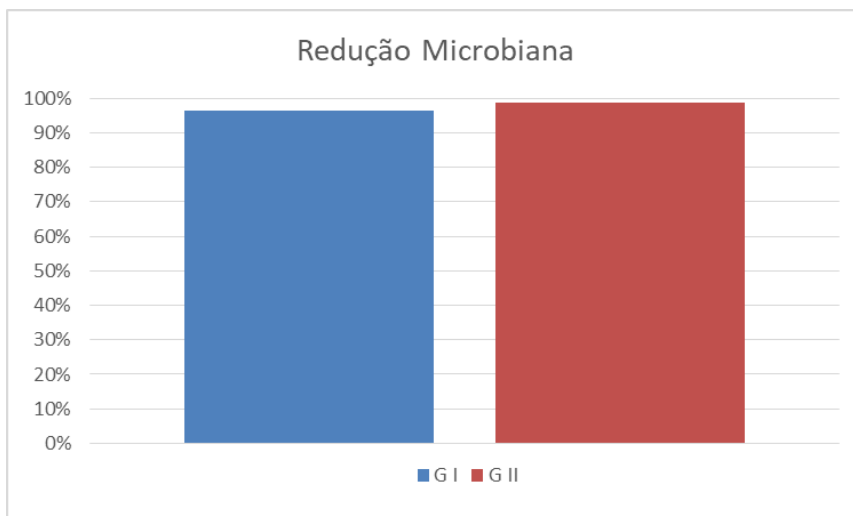


Figura 3: Representação gráfica da média de redução microbiana do Grupo I e Grupo II.

7.1. Resultados da análise clínica e radiográfica

As avaliações clínicas e radiográficas após 1 e 3 meses revelaram sucesso para os dois tratamentos. O GI apresentou reparo total em 63,3% dos casos no primeiro mês e 72,7% no terceiro mês, já o GII apresentou reparo total em 81,8% e 90,9% no primeiro e terceiro mês respectivamente. Apesar de não ter sido observado reparo completo em 100% dos casos, conforme descrito na tabela 6, alguns casos apresentaram reparo incompleto e nenhum dos dois grupos apresentou insucesso (ausência de reparo). Ao realizar a análise estatística, comparando a porcentagem de sucesso radiograficamente entre os dois grupos, não houve diferença estatisticamente significativa ($p>0,05$).

Ao realizar as avaliações clínicas, observou-se apenas 1 caso com mobilidade e recidiva de fístula após o primeiro mês, o caso pertencia ao grupo de tratamento GI.

Tabela 6. Descrição da análise radiográfica após 1 e 3 meses nos dois grupos estudados.

		1 mês		3 meses		Valor de p
		GI	GII	GI	GII	
Avaliação Radiográfica	Reparo completo	63,3%	81,8%	72,7%	90,9%	p=0,083
	Reparo incompleto	36,4%	18,2%	27,3%	9,1%	
	Ausência de	-	-	-	-	

reparo

8. DISCUSSÃO

A preservação dos dentes decíduos até a esfoliação fisiológica contribui para mastigação, fonação e estética na criança. Dessa maneira, manter os dentes decíduos na cavidade oral até a esfoliação fisiológica é relevante. O sucesso do tratamento endodôntico em dentes decíduos depende da redução microbiana após a instrumentação químico-mecânica. Entretanto, a quantidade de bactérias residuais nos canais radiculares após a instrumentação químico-mecânico é significativa e pode levar a uma nova infecção do canal ^{11,38}. Nos dentes decíduos o tratamento torna-se mais difícil pela menor tolerância do paciente frente ao tratamento, presença de forames acessórios e reabsorção ectópica da raiz. Portanto, segundo Pinheiro SL et al. ³⁰, estudos de novas alternativas para redução microbiana em dentes decíduos com necrose pulpar são de extrema importância.

Novas abordagens para desinfecção de canais radiculares têm sido recentemente propostas, que incluem o uso de lasers de alta potência, bem como aPDT. Os lasers de alta potência funcionam por geração de calor dependente da dose, mas, além de matar bactérias, eles têm potencial de causar danos colaterais, como necrose periradicular, carbonizar a dentina, reabsorção de raiz e fusão do cemento radicular, se parâmetros do incorretos do laser forem utilizados.^{23,24,25} O uso da aPDT como terapia coadjuvante ao tratamento endodôntico convencional tem se mostrado uma alternativa interessante para uma maior redução microbiana intracanal.¹⁸

Uma das vantagens da fotossensibilização em comparação aos antimicrobianos tradicionais é que, como a interação de oxigênio altamente reativo com moléculas orgânicas é não específica, qualquer macromolécula dentro das

células microbianas podem tornar-se um alvo potencial, dificultando assim o desenvolvimento de mecanismos de resistência microbiana. Além disso, o procedimento pode ser repetido várias vezes, pois não há relatos de efeitos cumulativos.³⁰

Este estudo, foi realizado para avaliar a diferença entre a terapia endodôntica convencional (GI) e a terapia endodôntica convencional associada aPDT (GII), os resultados obtidos nos dois grupos apresentaram redução microbiana, sendo que no GI foi constatada uma redução de 93% e o GII foi de 99% . A grande maioria dos artigos que fazem parte da bibliografia deste estudo, tem como conclusão de seu estudo que aPDT pode ser utilizada como adjuvante ao tratamento endodôntico convencional, resultando em redução significativa do número total de bactérias viáveis em dentes com polpa necrótica.³⁰

Segundo Pinheiro et al. ³⁰ em seu estudo ocorreu uma redução de 98,37% na microbiota de canais radiculares de dentes decíduos com a polpa necrótica, após o tratamento endodôntico convencional associado aPDT, usando um laser de 660nm com densidade de potência de 4J/cm², por 40s utilizando como fotossensibilizador o azul de toluidina 0,005%. Estes resultados confirmam o observado no presente estudo, em que o grupo tratado com a associação entre a técnica convencional e aPDT apresentou uma redução de 99%.

Os fotossensibilizadores derivados da fenotiazina, tais como o azul de metileno e azul de toluidina, tem propriedades fotossensibilizantes bem estabelecidas e tem sido frequentemente utilizados para aPDT. Alguns microorganismos, incluindo gram-positivos e gram-negativos são conhecidos por serem fotoativados pelo azul de metileno, devido à sua natureza hidrofílica,

acompanhada de baixo peso molecular e carga positiva, permite passagem através dos canais de proteína na membrana externa de bactérias gram-negativas. Vários estudos mostraram corantes de fenotiazina para exercer a fototoxicidade tanto ao DNA quanto à membrana externa das espécies alvo.^{19,38,39}

O azul de metileno predominantemente interage com a macromolécula aniônica lipopolissacarídeo resultando na geração de dímeros de azul de metileno.^{19,39} Em um trabalho realizado por Soukos et al.¹⁹, foi revelado que ao analisar patógenos orais expostos apenas ao azul de metileno (25µm/ml) durante 5 minutos demonstrou alta citotoxicidade, esta toxicidade levou uma redução de 79% a 100% no número de células, e na sequência foi realizada a aplicação da luz vermelha de 665nm com fluência de 30J/cm² resultando na erradicação completa das referidas espécies.

Garcez et al.³² realizaram um estudo in vitro que avaliou diferentes parâmetros como concentração do fotossensibilizador, tempo/energia de irradiação e uso de fibras ópticas, na a PDT para redução bacteriana intracanal. Concluiu-se que a concentração do fotossensibilizador em que há maior eficiência na formação de espécies reativas de oxigênio é encontrada ente 50 a 100 µm; a energia de irradiação mínima de 7 J promove significativa redução bacteriana intracanal e o uso de fibras ópticas contribui para maior formação de espécies reativas de oxigênio. Neste estudo os parâmetros utilizados foram 4J de energia radiante, 100mw de potência sem o uso de fibra óptica.

Segundo Amaral et al.¹⁰ a forma como a luz é utilizada no interior de canais radiculares durante irradiação no tratamento com aPDT influencia a eficácia do resultado final. Quando utiliza-se sistemas de entrega de luz, como a fibra óptica

difusora, a distribuição da luz no interior do canal é mais uniforme e intensa sobre a área significativamente maior do que apenas com o uso da ponteira laser, aumentando a eficiência na desinfecção do sistema de canais radiculares. Na presente pesquisa, a técnica avaliada foi a irradiação na entrada do conduto, sem o uso da fibra óptica e não foi constatada diferença entre esta técnica e a técnica convencional somente. Com os resultados obtidos sugere-se que novos estudos com maior distribuição da luz no interior do canal sejam realizados para verificar se com a fibra óptica a redução microbiana será superior.

Em um outro estudo de Garcez et al.²⁹, foi estudado a comparação do efeito da endodontia associada aPDT usando fibra óptica e irradiando diretamente com a ponta do laser. Como todos os parâmetros foram os mesmos para ambos os grupos, concluiu-se que o uso da aPDT como adjuvante ao tratamento endodôntico convencional leva uma redução microbiana nos biofilmes dos canais radiculares, a relevância da utilização de uma fibra óptica foi demonstrada. A distribuição da luz ao longo do canal radicular é mais uniforme quando a fibra foi usada. Nos dentes com coroas, a irradiação sem fibra não permitiu uma boa distribuição de luz dentro do canal radicular, diminuindo a eficiência da aPDT. A uniformidade da distribuição da luz ao longo do canal radicular permitiu uma melhor irradiação perto do ápice da raiz podendo levar a melhores resultados na aPDT, os resultados deste estudo corroboram com os observados por Garcez et al.²⁹

Em um estudo in vitro realizado por Silva FC et al.¹⁰ concluiu-se que não houve diferença no número de ufc/ml de *Enterococcus faecalis* entre o grupo tratado com a PDT e aquele em que foi utilizada apenas a instrumentação, este resultado

está se assemelha ao encontrado neste estudo onde constatou-se que a diferença entre os GI E GII, não foi estatisticamente significativa.

As avaliações clínicas e radiográficas após 1 e 3 meses revelaram sucesso para os dois tratamentos. O GI apresentou reparo total em 63,3% dos casos no primeiro mês e 72,7% no terceiro mês, já o GII apresentou reparo total em 81,8% e 90,9% no primeiro e terceiro mês respectivamente. Ao realizar as avaliações clínicas, observou-se apenas 1 caso com mobilidade e recidiva de fístula após o primeiro mês, o caso pertência ao grupo de tratamento GI.

O uso da Terapia fotodinâmica antimicrobiana em endodôntia tem se mostrado um método efetivo na redução microbiana intracanal, tanto em trabalhos in vitro, quando em trabalhos in vivo. Entretanto não há concordância quanto aos seus parâmetros ideais para uso clínico. A padronização de parâmetros de irradiação e de concentração na solução fotossensibilizadora, certamente levará a uma maior utilização e reconhecimento da eficiência desta terapia. A falta de consenso nestes parâmetros dificulta ao clínico na hora da escolha dos protocolos de utilização e na comparação entre diferentes protocolos encontrados na literatura, desestimulando seu uso na rotina do consultório.¹⁸

9. CONCLUSÃO

A associação da terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) associada a técnica convencional no tratamento endodôntico de dentes decíduos, com os parâmetros deste estudo, demonstraram resultados clínicos, radiográficos e microbiológicos semelhantes ao tratamento apenas com a técnica convencional. Sugere-se que sejam realizados novos estudos clínicos para testar diferentes parâmetros e fotossensibilizadores na desinfecção do conduto radicular em dentes decíduos.

10. REFERÊNCIAS:

1. SARI S, OKTE Z. Success rate of sealapex in root canal treatment for primary teeth: 3-year follow-up. *Oral Surg Med Pathol Oral Radiol Endod* 2008; 105; e93-96.
2. MASSARA MLA, TAVARES WLF, NORONHA JC, HENRIQUE LCF, RIBEIRO Sobrinho AP, A Eficácia do Hidróxido de Cálcio no Tratamento Endodôntico de Decíduos: Seis Anos de Avaliação. *Pesq Bras Odontoped Clin. Integr*, 2012 ;abr/jun 12(2):155-59.
3. COSER RM, GIRO EMA. Tratamento endodôntico de molares decíduos humanos com necrose pulpar e lesão periapical. *PGR- Pós-Grad Rev Fac Odontol São José dos Campos*.2002 jan/abr; 5(1):84-92.
4. NAVIT S, JAISWAL N, KHAN SA, MALHOTRA S, SHARMA A, MUKISH, JABEEN S, AGARWAL G. Antimicrobial Efficacy of Contemporary Obturating Materials used in Primary Teeth- An In-vitro Study. *Jour of Clin and Diag Res*. 2016 Sep; 10(9): 9-12.
5. FERREIRA FV, ANGONESE MP, FRIEDRICH HC, WEISS RDN, FRIEDRICH RS, PRAETZEL JR. Antimicrobial Action of root canal filling pastes used in deciduous teeth. *Rev odonto ciênc*. 2010; 25(1):65-68.
6. FABRIS AS, NAKANO V, AVILA-CAMPOS MJ. Bacteriological analysis of necrotic pulp and fistulae in primary teeth. 2014; 22(2);118-124.
7. TRICHES TC, FIGUEIREDO LC, FERES M, FREITAS SFT, ZIMMERMANN GS, CORDEIRO MMR. Microbial Reduction by Two Chemical-Mechanical Protocols in Primary Teeth with Pulp Necrosis and Periradicular Lesion – An In Vivo Study. *Brazilian Dental Journal*. 2014; 25(4): 307 – 313.
8. PINHEIRO SL, ARAUJO G, BINCELLI I, CUNHA R, BUENO C. Evaluation of cleaning capacity and instrumentation time of manual, hybrid and rotary instrumentation techniques in primary molars. *Inter Endod Jour*. 2012 Apr; 45(4):379-385.
9. KOSHY S, LOVE RM. Endodontic Treatment In The Primary Dentition. *Australian Endo Jour*. 2004;30(2):59-68.
10. AMARAL RR, SÁ DM, MENEZES AJAC, Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana na Endodontia: revisão de literatura. *Pós em Rev do Centro Univ Newton Paiva*. 2015; (11): 39-41.

11. ANTONIAZZI BF, PIRES CW, BRESOLIN CR, WEISS RN, PRAETZEL JR. Antimicrobial activity of diferente filling pastes for deciduous tooth treatment. *Bras Oral Res.* 2015;29(1):1-6.
12. ASNAASHARI M, SAFAVI N. Disinfection of Contaminated Canals by Different Laser Wavelengths, while Performing Root Canal Therapy. *Jour of Lasers in Med Scien.* 2013; 4(1):8-16
13. SOUZA LC, BRITO PRR, OLIVEIRA JCM, ALVES FRFA, MOREIRA E JL et al. Photodynamic Therapy with Two Different Photosensitizers as a Supplement to Instrumentation/Irrigation Procedures in Promoting Intracanal Reduction of *Enterococcus faecalis*. *JOE* 2010 Febr;36(2):292-296.
14. RIOS A, HE J, GLICKMAN GN, SPEARS R, SCHNEIDERMAN ED, HONEYMAN AI. Evaluation of photodynamic therapy using a light-emitting diode lamp against *Enterococcus faecalis* in extractic human teeth. *Joe* 2011 jun; 37(6):856-859.
15. LIM Z, CHENG JL, LIM TW, TEO EG, WONG J, GEORGE S, KISHEN A. Light activated disinfection: an alternative endodontic disinfection strategy. *Australian Dental Jour* 2009; 54: 108-114.
16. SANT'ANNA GR. Photodynamic Therapy for the Endodontic Treatment of a Traumatic Primary Tooth in a Diabetic Pediatric Patient. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospect* .2014;8(1):56-60.
17. TRINDADE AC, FIGUEIREDO JAP, STEIER L, WEBER JBB. Photodynamic Therapy in Endodontics: A Literature Review. *Photomed and Laser Surg.* 2015; 33(3):175-182.
18. GARCEZ AS, ROQUE JA, MURATA WH, HAMBLIN MN. Uma nova estratégia para PDT antimicrobiana em Endodontia. *Rev Assoc Cir Dent* .2016;70(2): 126-130.
19. GONDIM JO, AVACA-CRUSCA JS, VALENTINI SR, ZANELLI CF, SPOLIDORIO DMP, GIRO EMA. Effect of a calcium hydroxide/chlorhexidine paste as intracanal dressing in human primary teeth with necrotic pulp against *Porphyromonas gingivalis* and *Enterococcus faecalis*. *Inter Jour of Paedia Dentis.*2012; 22:116-124.

20. TENNERT C, FELDMANN K, HAAMANN E, AL-AHMAD A, FOLLO M et al. Effect of photodynamic (PDT) on *Enterococcus faecalis* biofilm in experimental primary and secondary endodontic infections. *Bio Med Central*. 2014;14:1-8.
21. CHAN EKM, DESMEULES M, CIELECKI M, DABBAGH B, SANTOS BF. Longitudinal Cohort Study of Regenerative Endodontic Treatment for Immature Necrotic Permanent Teeth. *Journal of Endodontics* 2017 March; 43(3):395-400.
22. SILVA FC, FREITAS LRP, LOURENÇO APA, BRAGA JUNIOR ACR, JORGE AOC, OLIVEIRA LD. Analysis of the effectiveness of the instrumentation associated to antimicrobial photodynamic therapy and root canal dressing in the elimination of *Enterococcus faecalis* in root canals. *Braz DentSci* 2010 jan/jun; 13 (5) 31-38.
23. NEENA IE, ANANTHRAJ A, PRAVEEN P, KARTHIK V, RANI P. Comparison of digital radiography and apex locator with the conventional method in root length determination of primary teeth. *Jour of Indian Society of Pedodont and Preven Dentis*.2011 Oct-Dec; 29(4): 300-3004.
24. CHREPA V, KOTSAKIS GA, PAGONIS TC, HARGREAVES KM. The Effect of Photodynamic Therapy in Root Canal Disinfection: A Systematic Review. 2014 July; 40(7): 891-895.
25. FIMPLE JL, FONTANA CR, FOSCHI F, RUGGIERO K, SONG X, PAGONIS TC, TANNER ACR, KENT R et al. Photodynamic treatment of endodontic polymicrobial infection in vitro. *J Endod*. 2008 June; 34(6): 728-734.
26. ATTIGUPPE PR, TEWANI KK, NAIK SV, YAVAGAL CM, NADIG B. Comparative Evaluation of Different Modes of Laser Assisted Endodontics in Primary Teeth: An in vitro Study. *Jour of Clinical and Diag Resear*. 2017 Apr;11(4): 124-127.
27. POLY A, BRASIL JFW, MARROIG PC, BLEI V, RISSO PA. Efeito antibacteriano dos lasers e terapia fotodinâmica contra *Enterococcus faecalis* no sistema de canais radiculares. *Rev. Odonto. UNESP* 2010 Jul./Agost; 39(4):233-239
28. SOUKOS NS, CHEN PSY, MORRIS JT, RUGGIERO K, ABERNETHY AD, SOM S et al. Photodynamic Therapy for Endodontic Disinfection. *Journal of Endodontics*. 2006 Oct; 32(10): 979-984.

29. GARCEZ AS, FREGNANI ER, RODRIGUEZ HM, NUNEZ SC, SABINO CP, SUZUKI H, RIBEIRO MS. The use of optical fiber in endodontic photodynamic therapy. Is it really relevant?. *Lasers Med Sci.* 2013; 28: 79-85.
30. PINHEIRO SL, SCHENKA AA, NETO AA, SOUZA CP, RODRIGUEZ HMH, RIBEIRO MC. Photodynamic therapy in endodontic treatment of deciduous teeth. *Lasers Med Sci.* 2009 Jul; 24(4):521-6.
31. GARCEZ AS, NUÑEZ SC, HAMBLIN MR, RIBEIRO MS. Antimicrobial Effects of Photodynamic Therapy on Patients with Necrotic Pulps and Periapical Lesion. *J Endod.* 2008 February; 34(2): 138-142.
32. GARCEZ AS, RIBEIRO MS, TEGOS GP, NÚÑEZ SC, JORGE AO, HAMBLIN MR. Antimicrobial photodynamic therapy combined with conventional endodontic treatment to eliminate root canal biofilm infection. *Lasers Surg Med.* 2007 Jan;39(1):59-66
33. SOUZA EB. Efeito da Terapia fotodinâmica na desinfecção do sistema de canais radiculares in vivo.
34. ROSA FCS. Eficácia da Instrumentação Associada à Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana e Medicação Intracanal na Eliminação de Biofilmes e na Neutralização de Endotoxinas em Canais Radiculares.
35. OLIVEIRA BP, AGUIAR CM, CÂMARA AC, Photodynamic therapy in combating the causative microorganisms from endodontic infections. *Eur J Dent* 2014;8:424-30.
36. SOUKOS NS, CHEN PSY, MORRIS JT, RUGGIERO K, ABERNETHY AD, SOM S et al. Photodynamic Therapy for Endodontic Disinfection. *Journal of Endodontics.* 2006 Oct; 32(10): 979-984.
37. XHEVDET A, STUBLJAR D, KRIZNAR I, JUKIC T, SKVARE M, VERANIC P. et al. The Disinfecting Efficacy of Root Canals With Laser Photodynamic Therapy. *Journal of Lasers In Med Sci.* 2014 ; 5(1):19-26.
38. SILVA JN, PINHEIRO SL. Avaliação da capacidade de redução microbiana da instrumentação manual associada coma terapia fotodinâmica em lesões endodônticas de dentes decíduos. *Anais do XVII Encontro de iniciação científica.* 2012 nov:

39. RAMALHO KM, CUNHA SR, MAYER-SANTOS E, EDUARDO CP, FREITAS PM et al. In vitro evaluation of methylene blue removal from root canal after Photodynamic Therapy. *Photodiag PhotodyTherapy* 2107;20:248-252.
40. RAYMOND NG, SINGH F, PAPAMANOU DA, SONG X, PATEL C, et al. Endodontic photodynamic therapy ex vivo. *J Endod.* 2011 February; 37(2): 217-222.
41. XU Y, YOUNG MJ, BATTAGLINO RA, MORSE LR, FONTANA CR, et al. Endodontic antimicrobial photodynamic therapy: Safety assessment in mammalian cell cultures. *J Endod.* 2009 Nov; 35(11):1567-1572.
42. SILVA LAB, NOVAES AB, OLIVEIRA RR, NELSON-FILHO P, SANTAMARIA M, et al. Antimicrobial Photodynamic Therapy for the Treatment of Teeth with Apical Periodontitis: A Histopathological Evaluation. *JOE.* 2012 March; 38(3):360-364.
43. GARCEZ AS, NUNEZ SC, HAMBLIM MR, SUZUKI H, RIBEIRO MS. Photodynamic Therapy Associated with Conventional Endodontic Treatment in Patients with Antibiotic-resistant Microflora: A Preliminary Report. *JOE.* 2010 Sept; 36(9):1463-1466.
44. PAGONIS TC, CHEN J, FONTANA CR, DEVALAPALLY H, RUGGIERO K, et al. Nanoparticle-based endodontic antimicrobial photodynamic therapy. *J Endod.* 2010 February; 36(2): 322.
45. MOTA ACC, GONÇALVES MLL, BORTOLETTO C, OLIVAN SR, SALGUEIRO M, et al. Evaluation of the effectiveness of photodynamic therapy for the endodontic treatment of primary teeth: study protocol for a randomized controlled clinical trial. *Trials* 2015;16:551.

11. ANEXOS

Anexo 1

UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO
DIRETORIA DA SAÚDE
MESTRADO EM BIOFOTÔNICA APLICADA ÀS CIÊNCIAS DA SAÚDE

Termo de Consentimento para Participação em Pesquisa Clínica:

Nome do Voluntário: _____
 Nome do Responsável: _____
 Endereço: _____
 Telefone para contato: _____ Cidade: _____ CEP: _____
 Email: _____

As informações contidas neste prontuário foram fornecidas pela aluna Camila Basilio Okamoto (mestranda em Biofotônica Aplicada às Ciências da Saúde da Universidade Nove de Julho) e Prof^a. Dr^a Lara Jansiski Motta, objetivando firmar acordo escrito mediante o qual, o voluntário da pesquisa autoriza sua participação com pleno conhecimento da natureza dos procedimentos e riscos a que se submeterá, com a capacidade de livre arbítrio e sem qualquer coação.

1. Título do Trabalho Experimental: AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DA TERAPIA FOTODINÂMICA NO TRATAMENTO ENDODÔNTICO DE DENTES DECÍDUOS. ENSAIO CLÍNICO CONTROLADO.

2. Objetivos: O objetivo deste estudo é realizar um ensaio clínico controlado e randomizado para avaliar a efetividade da terapia fotodinâmica no tratamento endodôntico de dentes decíduos.

3. Justificativa: Tendo em vista que o sucesso do tratamento endodôntico este diretamente relacionado com a descontaminação bacteriana intracanal e sabendo da dificuldade do tratamento endodôntico em dentes decíduos, muitas vezes pelo difícil controle da criança, anatomia interna dos canais radiculares, e reabsorções radiculares. A técnica da terapia fotodinâmica veio como uma alternativa de fácil aplicação, indolor e que não promove a resistência bacteriana e que pode auxiliar para o sucesso do tratamento endodôntico de dentes decíduos evitando assim passar a criança por retratamentos e perda precoce dos dentes decíduos.

4. Procedimentos da Fase Experimental: A pesquisa será realizada com pacientes de ambos os sexos matriculados regularmente na Clínica de Odontologia da Universidade Nove de Julho – São Paulo.

5. Desconforto ou Riscos Esperados: O paciente poderá apresentar dor ou desconforto no procedimento anestésico e após tratamento, sendo algumas vezes necessária a utilização de analgésicos nos dias seguintes.

6. Informações: O voluntário tem garantia que receberá respostas a qualquer pergunta ou esclarecimento de qualquer dúvida quanto aos procedimentos, riscos benefícios e outros assuntos relacionados com pesquisa. Também os pesquisadores supracitados assumem o

compromisso de proporcionar informação atualizada obtida durante o estudo, ainda que está possa afetar a vontade do indivíduo em continuar participando. Qualquer dúvida os responsáveis poderão ser contatados pelos fones: Dra.

Lara (11) 99882 9511 ou Camila (11) 99899 9805. Dúvidas sobre questões éticas deverão ser encaminhadas ao Comitê de ética e pesquisa da Uninove através do email comiteetica@uninove.br.

7. Métodos Alternativos Existentes: A pesquisa citada dispensa qualquer método alternativo.

8. Retirada do Consentimento: o voluntário tem a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo.

9. Aspecto Legal: Elaborados de acordo com as diretrizes e normas regulamentadas de pesquisa envolvendo seres humanos atendendo à Resolução n.º 196, de 10 de outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde do Ministério de Saúde – Brasília – DF.

10. Garantia do Sigilo: Os pesquisadores asseguram a privacidade dos voluntários quanto aos dados confidenciais envolvidos na pesquisa.

Serão ressarcidas despesas com eventuais deslocamentos.

12. Local da Pesquisa: A pesquisa será desenvolvida na Universidade Nove de Julho localizado à Rua Vergueiro, 235 – Liberdade, São Paulo, SP. Endereço do Comitê de Ética em Pesquisa da Uninove: Av. Francisco Matarazzo, nº 612 1º andar – Prédio C – Água Branca – 0500110036659310/ 36659309

13. Nome Completo e telefones dos pesquisadores para contato, Orientador: ProfªDrª Lara Jansiski Motta – Tel (11) 99882 9511 Pesquisadora: Camila Basilio Okamoto –Tel (11) 99899 9805

Consentimento pós – informação:

Eu, _____, responsável pelo menor _____, após leitura e compreensão deste termo de informação e consentimento, entendo que a participação é voluntária e que é permitido se retirar do estudo a qualquer momento, sem prejuízo algum. Confirmando que recebi cópia deste termo de consentimento, e autorizo a execução do trabalho de pesquisa e a divulgação dos dados obtidos neste estudo no meio científico.

*Não assine esse termo se estiver com qualquer dúvida a respeito.

São Paulo, _____ de _____ de 201_.

Nome do responsável (por extenso): _____

Assinatura: _____

Anexo 2.

UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO
DIRETORIA DA SAÚDE
MESTRADO EM BIOFOTÔNICA APLICADA ÀS CIÊNCIAS DA SAÚDE
AUTORIZAÇÃO PARA TRATAMENTO COM LASER DE BAIXA POTÊNCIA

Os lasers de baixa potência possuem efeito analgésico, anti-inflamatório e biomodulador, sendo utilizados como nos casos de aftas, herpes labial, queilite angular, trismos, parestesia, hipersensibilidade dentinária, pós-cirurgias, pós-intervenções endodônticas. Como efeitos da laserterapia pode-se citar os aumentos da microcirculação local e da velocidade da cicatrização, além da analgesia temporária e da mudança na polarização celular, permitindo diminuir estados de hiper e de hipossensibilidade. É capaz de auxiliar na resposta imunológica do organismo de forma local e sistêmica.

Riscos: Se todas as normas de segurança para a aplicação da luz laser de baixa intensidade forem corretamente respeitadas, não existe nenhum risco ao paciente, operador e equipe, durante e após o procedimento clínico.

Benefícios: Tratamento menos agressivo e mais rápido, preservando tecidos saudáveis.

Alternativas: tratamento odontológico convencional adequado para cada caso.

Eu, _____ portador do
RG: _____, CPF: _____, responsável legal do
menor _____, concordo com a
terapia com laser de baixa intensidade. Eu tive a oportunidade de questionar o(a)
operador(a) sobre os riscos, benefícios e alternativas para o tratamento. Eu também tive a
oportunidade de questionar sobre as atuais pesquisas e sobre a importância desse
procedimento. Não me foram feitas promessas ou garantias em relação aos procedimentos
em obter resultados miraculosos, existem hipóteses e resultados clínicos e experimentais
que têm sido satisfatórios. Eu dou a permissão para que o tratamento seja documentado
com fotografias e radiografias com finalidade didática e profissional.
Eu dou a permissão para realização da laserterapia.

Resp. Legal: _____
(Nome legível)

(Assinatura)

Operador(a): _____
(Nome legível)

(Assinatura)

_____ de _____ de 20_____.

Anexo 3.

Submission Confirmation

[Print](#)

Thank you for your submission

Submitted to Photochemistry and Photobiology

Manuscript ID PHP-2017-09-RA-0180

Title The Effect of Antimicrobial Photodynamic Therapy as a Co-adjutant in the Endodontic Treatment on Primary Teeth - Case of Series.

Authors Okamoto, Camila
Motta, Lara
Prates, Renato
da Mota, Ana Carolina
Gonçalves, Marcela
Horiana, Anna Carolina
Mesquita-Ferrari, Raquel
Fernandes, Kristianne
Bussadori, Sandra

Date Submitted 02-Sep-2017

Anexo 4.**The Effect of Antimicrobial Photodynamic Therapy as a Co-adjuvant in the Endodontic Treatment on Primary Teeth - Case of Series.**

Camila Basilio Okamoto- dra.camilabasilio@gmail.com

Lara Jasinski Motta - larajmotta@terra.com.br

Renato Araujo Prates – rprates@gmail.com

Ana Carolina Costa da Mota – ana_cmota@yahoo.com.br

Marcela Leticia Leal Gonçalves – marcelalleal@hotmail.com

Anna Carolina Ratto Tempestini Horliana - annacrth@gmail.com

Raquel Agnelli Mesquita Ferrari - raquel.mesquita@gmail.com

Kristianne Porta Santos Fernandes – kristianneporta@gmail.com

Sandra Kalil Bussadori – sandra.skb@gmail.com

*Biophotonics Applied to Science Health – Nove de Julho University – São Paulo – Brasil.

Corresponding Author

Sandra Kalil Bussadori

Sandra.skb@gmail.com

R. Vergueiro 235

Biophotonics Applied to science health

Nove de Julho University

São Paulo – Brasil.

The Effect of Antimicrobial Photodynamic Therapy as a Co-adjuvant in the Endodontic Treatment on Primary Teeth - Case of Series.

ABSTRACT:

The main causes of pulpal necrosis and inflammation of deciduous teeth are carious lesions and traumatic lesions. Studies indicate that 75% of the teeth with deep caries have their pulp compromised, without possibility of reversion, leading to the need of radical root canal treatment. In order for root canal treatment to be successful, the root canal must be completely decontaminated. Thus, some methods have been researched in an attempt to effectively eliminate it from the interior of the root canal system (SCR); among them, is conventional endodontic therapy in conjunction with photodynamic therapy (PDT), used in this study. After the endodontic treatments, the microbiological analysis of the samples collected before and after the treatments was performed. Observing the results obtained in this case series and the clear difficulty in the success of endodontic treatment of deciduous teeth, antimicrobial PDT can be considered an alternative of easy application, and that does not generate microbial resistance, to act as a support in the decontamination of the root canals. However, in order to verify the effectiveness and long-term success of this therapy, more clinical studies will be required.

Keywords: Endodontic Treatment, Primary Teeth, Photodynamic Therapy.

INTRODUCTION:

The main causes of inflammation and pulp necrosis in deciduous teeth are carious lesions and traumatic lesions and the maintenance of these teeth with pulp changes is a challenge (1). Endodontic treatment in primary teeth is complex because of the anatomical and physiological characteristics of primary teeth (2). The knowledge of the biological behavior of the dental pulp is a basic requirement to establish the appropriate therapy, and it should also be considered that the conditions of response to a particular type of stimulus vary according to the state of the pulp. (3).

Endodontic treatment in deciduous teeth consists of a series of factors that make it extremely laborious, such as correct evaluation of the biological cycle, difficulty with instrumentation and mainly the lack of cooperation of children during extensive treatment sections (4,5). The need to preserve the integrity of successor permanent teeth through adequate endodontic therapy of primary teeth led the researchers to carefully study root topography, the medications used to disinfect the canals and the composition of the obturator pastes (2).

The purpose of performing the endodontic treatment in deciduous teeth is to avoid its early loss, without compromising the correct development of the stomatognathic system and the irruption of the permanent dentition. Early loss can lead to many negative psychological and emotional factors for children (5,6).

The effectiveness of endodontic therapy is verified by the decontamination of the root canal, since the microbial agents promote the development and maintenance of the pathological process that damages the pulp and the periapical region (7,8,9). Mechanical instrumentation associated with chemical irrigation does not completely eliminate the microorganisms present in the root canal (7). Therefore, it is important to select an adequate technique in the endodontic treatment of deciduous teeth that can offer antibacterial activity and biological action, aiming the maintenance of these teeth in the dental arch.

Studies have shown that, even though infecting microorganisms are removed during mechanical debridement combined with chemical irrigation, residual bacteria are readily detectable in approximately 50% at the time of root canal filling (7). Consequently, methods have been researched in an attempt to eliminate it effectively; among them, the use of endodontic therapy associated with the use of photodynamic therapy (PDT) is a highlight (10). Antimicrobial photodynamic therapy, known as aPDT (antimicrobial photodynamic therapy), has been used in different studies in endodontics, associating low power laser with a dye that has photosensitizing characteristics, as a support for the elimination of persistent microorganisms to the chemical mechanical preparation (8, 9,11).

Photodynamic therapy is a recent antimicrobial technique that uses the association of a light source with a photosensitizer, which reacts producing reactive

oxygen species causing the cellular death of microorganisms (9,11). It has been widely studied as a possible alternative in the reduction of microorganisms that cause diseases such as periodontitis, peri-implantitis and caries (12). Therefore, the objective of this study was to test the combination of conventional endodontic therapy with photodynamic therapy.

MATERIALS AND METHODS:

With a favorable opinion, No. 832,657 from the Ethics Committee of Research of Nove de Julho University, the study participants signed the consent form authorizing their participation in the research, in accordance with resolution 196/96 of the Brazilian National Health Council.

Five primary teeth were evaluated in healthy children aged from 2 to 6 years, regardless of race or ethnicity, with a diagnosis of pulp necrosis due to caries in condition to be restored and with at least 2/3 of remaining root. The criteria of exclusion were: children with weakened health, deciduous teeth with great root loss (+ 2/3 root), which did not present internal pathological reabsorption, in the impossibility of reconstruction, cases of retreatment and crypt involvement.

Initially, prophylaxis with prophylactic paste and antiseptics of the region was carried out with 0.1% chlorhexidine digluconate solution by means of a sterile cotton ball. The patients were then anesthetized and the surgical field isolation was performed. Coronary opening was performed with spherical diamond tips with an appropriate size for the tooth and endo Z, under water and air cooling.

For odontometry a millimeter ruler was used, and the tooth length for instrumentation was determined at 1 mm before reaching the root apex. After that, the first sample of bacterial contamination was collected, inserting three different cones of sterile paper into the canal. Each cone remained within the canal for 0.5 minutes, and then it was removed and placed immediately into 1 mL brain heart infusion (BHI) culture medium. Subsequently, the chemical mechanical preparation of the root was performed with the "K" files, using the initial instrument and two larger

ones, irrigated with 1% sodium hypochlorite and, at each instrument change, endo-PTC. After preparation, the cone of paper soaked in methylene blue solution was inserted into the root canal for three minutes. After three minutes the cone was removed and the laser was applied with a radiant exposure of $4\text{J}/\text{cm}^2$, output power of 100mW, and laser (Therapy XT EC, DMC, São Carlos, Brazil) emitting at $\lambda=660\text{ nm}$, for 40 seconds. The device used in the study was Therapy XT EC.

After the application of PDT, the root canal was irrigated with saline solution and the second bacterial collection was done following the same procedure as the first, with 3 different paper cones for 0.5 min each and being placed immediately in BHI. To conclude, the root canals were filled with calcium hydroxide, followed by a thin gutta percha base and covered by glass ionomer cement. For the microbiological analysis, the samples were homogenized for 30 seconds in a Vortex device, and diluted from 10^{-1} to 10^{-5} in a plate containing 180 microliters of PBS in each well. After dilution, 10 μL aliquots were seeded and placed in blood agar petri dish, remaining in the incubator for approximately 72 hours at a temperature of 37°C , in an atmosphere composed of 5% hydrogen, 10% carbon dioxide, and 85% of nitrogen in anaerobic jars. Then, the counting and conversion of colony forming units (CFU) to LOG_{10} (CFU/mL) were performed. All data were analyzed by paired t-test. Data were considered statistically different when $p < 0.05$.

RESULTS:

Five endodontic treatments were performed with PDT. Teeth 61 and 51 were treated in a four-year-old boy (Patient 1). The same two teeth were treated in a three-year-old girl (Patient 2). Tooth 61 was treated in a four-year-old girl (Patient 3).

Patient 1:

A four-year-old resident of São Paulo, visited the Dentistry Clinic at UNINOVE with his mother. The main complaint was a toothache. The physical examination revealed a fistula in the root apex of tooth 51. The modified occlusal x-ray revealed the need for endodontic treatment of teeth 51 and 61. Treatment of both teeth was performed in a single session as described in the methods. The microbiological analysis demonstrated a 77.53% and 54.05% reduction in CFUs/mL in teeth 51 and 61, respectively.

Patient 2:

A three-year-old girl, resident of São Paulo, visited the Dentistry Clinic at UNINOVE with her mother. The main complaint was a toothache affecting the child's ability to chew food (the patient was only receiving nourishment through breast milk). The physical examination revealed a fistula in the root apex of teeth 51 and 61 as well as considerable or complete loss of the crown of the maxillary and mandibular central incisors. The modified occlusal x-ray confirmed the need for endodontic treatment. Treatment of teeth 51 and 61 was performed on different days. Each tooth was treated in a single session as described in the methods. The microbiological analysis revealed a 37.57% and 100% reduction in CFUs/mL in teeth 51 and 61, respectively.

Patient 3:

A four-year-old female, resident of São Paulo, visited the Dentistry Clinic at UNINOVE with her mother. The main complaint was a toothache. The physical examination revealed considerable crown loss on tooth 61. The modified occlusal x-ray confirmed the need for endodontic treatment. Treatment was performed as described in the methods. The microbiological analysis revealed a 100% reduction in CFUs/mL.

Figure 1 – Comparison of CFUs/mL before and after endodontic treatment with antimicrobial PDT per sample. Data are mean and standard deviation of Log_{10} (cfu/mL).

PDT 1: Graphic representation showing bacterial count (colony-forming units) before and after microbial PDT on tooth 61 of a three-year-old female patient.

PDT 2: Graphic representation showing bacterial count (colony-forming units) before and after microbial PDT on tooth 61 of a four-year-old male patient.

PDT 3: Graphic representation showing bacterial count (colony-forming units) before and after microbial PDT on tooth 51 of a four-year-old male patient.

PDT 4: Graphic representation showing bacterial count (colony-forming units) before and after microbial PDT on tooth 51 of a three-year-old female patient.

PDT 5: Graphic representation showing bacterial count (colony-forming units) before and after microbial PDT on tooth 61 of a four-year-old female patient.

Figure 2 – Comparison of mean CFUs/ml before and after endodontic treatment with antimicrobial PDT. Data are mean and standard deviation of Log_{10} (cfu/mL).

Figure 3 – Initial x-ray of Patient 1; presence of periapical lesion; indication for endodontic treatment. Final x-ray of Patient 1 after endodontic treatment and filling with calcium hydroxide. Comparison of CFUs/ml before and after endodontic treatment with antimicrobial PDT

DISCUSSION:

The proposal of the use of PDT in this case series aimed to evaluate its efficacy when used in the endodontic treatment of deciduous teeth. This evaluation was performed by counting colony forming units before and after the treatment.

Conventional endodontic treatment of deciduous teeth with irrigation solutions does not completely eradicate bacteria due to the difficulty of using mechanical chemical instrumentation. Several factors, such as root canal anatomy, ectopic root reabsorption and poor tolerance of patients over prolonged treatment, contribute to

the complexity of the treatment, so it is extremely important to carry out studies in new techniques and alternatives that assist in the process of microbial eradication in affected primary teeth (13).

There is a constant search for the best way to disinfect root canals, since the presence of microorganisms constitutes a significant factor for the maintenance or appearance of periapical lesions (14). PDT is considered an alternative to achieve this goal. Its application consists in the combination of low intensity laser irradiation with a photosensitizing dye. This combination produces singlet oxygen and free radicals that alter the cellular environment causing the microorganisms to die or have their growth reduced.

The promising results regarding the antimicrobial effects of PDT have aroused the interest of endodontists and have been widely discussed in the international literature, since the elimination of microorganisms is one of the main objectives of root canal therapy (14,15). It is important to mention that pediatric dental research involving the use of PDT in endodontic treatment for primary teeth is rare. Most studies focused on permanent dentition (13).

Antimicrobial PDT is based on the simple principle that the elimination of microorganisms is related to the activation of the photosensitized dye in the target organism, which, when exposed to the laser, transforms the molecular oxygen into reactive singlet oxygen (type II reaction) or interacts with other electron acceptors, resulting in the production of toxic hydroxyls and organic radicals (type I reaction) (15). However, the establishment of effective protocols for lethal laser photosensitization continues to be a challenge for researchers, since the factors inherent to the type of irradiation, photosensitizing coloration and cellular structure of microbial species should be taken into account.

Different challenges are faced when antimicrobial PDT is used in Gram-positive, Gram-negative bacteria and fungi. According to the literature, Gram-positive bacteria are more susceptible to PDT due to the existence of a relatively porous outer membrane formed by a thick layer of peptidoglycan and lipoteichoic acid, which allows a better diffusion of the photosensitizer, allowing the effective use of different types of dyes and lower doses of irradiation (16). The photosensitization of bacteria

is related to the loading of the photosensitizer. The characteristics of methylene blue, such as a positive charge, low molecular weight and hydrophilicity, allow this dye to interact with macromolecules of anionic lipopolysaccharides and penetrate the outer membrane of Gram-negative bacteria (16). This organic dye belongs to the phenothiazine family and its photosensitizing properties are well established (17).

The laser technique employed in the present study was based on protocols described by Pinheiro et al., which demonstrated a reduction of 98.37% in bacteria. According to the authors, PDT can be used as an alternative for microbial decrease in primary teeth with pulp necrosis. In the present investigation, there was a decrease in the total number of bacteria of 75.87%. Therefore, the use of PDT seems to be a viable and non-traumatic complement to conventional root canal therapy in pediatric dentistry.

CONCLUSION:

Observing the results obtained in this case series and the difficulty in the success of the endodontic treatment of deciduous teeth, antimicrobial PDT can be considered an alternative of easy application, and that does not generate microbial resistance to act as a support in the decontamination of the root canals. However, more clinical studies are needed to verify the effectiveness of this therapy and its long-term success.

REFERENCES

1. de Sant'Anna G (2014) Photodynamic therapy for the endodontic treatment of a traumatic primary tooth in a diabetic pediatric patient. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects*, 8(1): 56-60.
2. Fabris AS, Nakano V, Avila-Campos MJ (2014) Bacteriological analysis of necrotic pulp and fistulae in primary teeth. *J Appl Oral Sci* 22(2): 118-24.
3. Navit S, Jaiswal N, Khan SA, Malhotra S, Sharma A, Mukish, Jabun S, Agarwal G (2016) Antimicrobial Efficacy of Contemporary Obturating Materials

- used in Primary Teeth- An In-vitro Study. Jour of Clin and Diag Res 10(9):ZC09-ZC12.
4. Ferreira FV, Angonese MP, Friedrich HC, Weiss RDN, Praetzel JR (2010) Antimicrobial Action of root canal filing pastes used in deciduous teeth. *Revodontocienc* 25(1):65-68.
 5. Triches TC, Figueiredo LC, Feres M, Freitas SFT, Zimmermann GS, Cordeiro MMR, (2014) Microbial Reduction by Two Chemical-Mechanical Protocols in Primary Teeth with Pulp Necrosis and Periradicular Lesion – An *In Vivo* Study. *Brazilian Dental Journal*, 25(4):307-13.
 6. Pinheiro SL, Araujo G, Bincelli I, Cunha R, Bueno C (2012) Evaluation of cleaning capacity and instrumentation time of manual, hybrid and rotary instrumentation techniques in primary molars. *Int Endod J* 45(4):379-85.
 7. Tennert C, Feldman K, Haamann E, Al-Ahmad A, Follo M, Wrbas KT, Hellwig E, Altenburger MJ (2014) Effect of photodynamic therapy (PDT) on *Enterococcus faecalis* biofilm in experimental primary and secondary endodontic infections. *BMC Oral Health* 14:132.
 8. da Mota AC, Gonçalves MLL, Bortoletto C, Olivani SR, Salgueiro M, Godoy C, Altavista OM, Pinto MM, Horliana AC, Motta LJ, Bussadori SK (2015) Evaluation of the effectiveness of photodynamic therapy for the endodontic treatment of primary teeth: study protocol for a randomized controlled clinical trial. *Trials* 16:551.
 9. Rios A, He J, Glickman GN, Spears R, Schneiderman ED, Honeyman AL (2011) Evaluation of photodynamic therapy using a light emitting diode lamp against *Enterococcus faecalis* in extracted human teeth. *J Endod* 37(6):856-9.
 10. Poly A, Brasil JFW, Marroig PC, Blei V, Risso PA (2010) Antibacterial effect of lasers and photodynamic therapy against *Enterococcus faecalis* in the root canal system [in Portuguese]. *Rev Odontol UNESP* 39(4):233-239.
 11. Garcez AS, Ribeiro MS, Tegos GP, Núñez SC, Jorge AO, Hamblin MR (2007) Antimicrobial photodynamic therapy combined with conventional endodontic treatment to eliminate root canal biofilm infection. *Lasers Surg Med* 39(1):59-66
 12. Garcez AS, Nuñez SC, Hamblin MR, Ribeiro MS (2008) Antimicrobial Effects of Photodynamic Therapy on Patients with Necrotic Pulps and Periapical Lesion. *J Endod* 34(2):138-142.
 13. Pinheiro SL, Schenka AA, Neto AA, de Souza CP, Rodriguez HM, Ribeiro MC. (2009) Photodynamic therapy in endodontic treatment of deciduous teeth. *Lasers Med Sci* 24(4):521-6.
 14. Ng R, Singh F, Papamanou DA, Song X, Patel C, Holewa C, Patel N, Klepac-Ceraj V, Fontana CR, Kent R, Pagonis TC, Stashenko PP, Soukos NS (2011) Endodontic photodynamic therapy ex vivo. *J Endod* 37(2):217-22.
 15. Trindade AC, De Figueiredo JÁ, Steier L, Weber JB (2015) Photomed Laser Surg 33(3):175-82.

16. Oliveira BP, Aguiar CM, Câmara AC, Photodynamic therapy in combating the causative microorganisms from endodontic infections (2014) *Eur J Dent* 8:424-30.
17. Soukos NS, Chen PSY, Morris JT, Ruggiero K, Abernethy AD, Som S, Foschi F, Doucette S, Bammann LL, Fontana CR, Doukas AG, Stashenko PP (2006) Photodynamic Therapy for Endodontic Disinfection. *J Endod* 32(10):979-84.