



UEPB

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS VIII – PROFESSORA MARIA DA PENHA – ARARUNA
CENTRO DE CIÊNCIAS, TECNOLOGIA E SAÚDE
CURSO DE ODONTOLOGIA**

ANDREA BRILHANTE GALDINO

**TERAPIA FOTODINÂMICA NA REDUÇÃO DE MICRORGANISMOS
RELACIONADOS À INFECÇÃO PERSISTENTE DO SISTEMA DE CANAIS
RADICULARES**

**ARARUNA - PB
2019**

ANDREA BRILHANTE GALDINO

**TERAPIA FOTODINÂMICA NA REDUÇÃO DE MICRORGANISMOS
RELACIONADOS À INFECÇÃO PERSISTENTE DO SISTEMA DE CANAIS
RADICULARES**

Trabalho de Conclusão de Curso (Artigo) apresentado a Coordenação do Curso de Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de bacharel em Odontologia.

Área de concentração: Endodontia

Orientadora: Profa. Me. Liege Helena Freitas Fernandes

**ARARUNA-PB
2019**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

G149t Galdino, Andrea Brilhante.
Terapia fotodinâmica na redução de microrganismos relacionados à infecção persistente do sistema de canais radiculares [manuscrito] / Andrea Brilhante Galdino. - 2019.
33 p. : il. colorido.
Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências, Tecnologia e Saúde, 2019.
"Orientação : Profa. Ma. Liege Helena Freitas Fernandes, Coordenação do Curso de Odontologia - CCTS."
1. Endodontia. 2. Infecção. 3. Lasers. 4. Terapia fotodinâmica. I. Título
21. ed. CDD 617.634 2

ANDREA BRILHANTE GALDINO

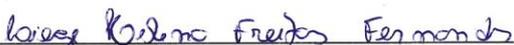
**TERAPIA FOTODINÂMICA NA REDUÇÃO DE MICRORGANISMOS
RELACIONADOS À INFECÇÃO PERSISTENTE DO SISTEMA DE CANAIS
RADICULARES**

Trabalho de Conclusão de Curso (Artigo)
apresentado a Coordenação do Curso
ODONTOLOGIA da Universidade
Estadual da Paraíba, como requisito
parcial à obtenção do título de bacharel
em Odontologia.

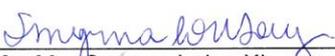
Área de concentração: Endodontia

Aprovada em: 05/11/2019.

BANCA EXAMINADORA


Profa. Me. Liege Helena Freitas Fernandes (Orientadora)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)


Prof. Dra. Eveline Angelica Lira de Souza Sales Rocha
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)


Profa. Me. Smyrna Luiza Ximenes de Sousa
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

À Deus, por me proporcionar a cada dia amor e sabedoria. Aos meus pais e ao meu esposo por todo amor, carinho e apoio, DEDICO.

“Tudo o que fizerdes, em palavras ou obras, seja feito em nome do Senhor Jesus Cristo. Por meio dele dai graças a Deus, o Pai.”

Colossenses 3:17 – Bíblia Sagrada

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 - Grupos experimentais e controle de estudo	19
Figura 1 - Esquema representativo da distribuição das amostras nas microplacas	20
Figura 2 - Irradiação da luz laser na microplaca	21
Figura 3 - Irradiação com proteção contra a luz dos poços circundantes	21
Figura 4 - Contagem de unidades formadoras de colônia (UFC/ ml)	21

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Atividade antimicrobiana dos grupos experimentais frente ao <i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212).....	21
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AM	Azul de metileno
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
BHI	Brain Heart Infusion
CHX	Clorexidina
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
E. faecalis	<i>Enterococcus faecalis</i>
FS	Fotossensibilizador
Ca (OH) ₂	Hidróxido de cálcio
LABDEM	Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos
MO	Microrganismo
NaOCl	Hipoclorito de sódio
NM	Nanômetro
OH	Radical hidroxila
PACT	Quimioterapia fotoativada
PDT	Terapia fotodinâmica
PUI	Irrigação ultrassônica passiva
ROS	Espécies reativas de oxigênio
SCR	Sistema de Canais Radiculares
UEPB	Universidade Estadual da Paraíba
UFC	Unidade Formadora de Colônia
O ₂	Oxigênio molecular
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
¹ O ₂	Oxigênio singlete
- O ₂	Superóxido

LISTA DE SÍMBOLOS

μ Micron

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1	Mecanismo de ação	13
2.2	Fontes de Luz	13
2.3	Fotossensibilizadores	14
2.4	Tempo de pré-irradiação	15
2.5	PDT na endodontia	15
2.6	Microbiota resistente x Infecção endodôntica x Insucesso no Tratamento	16
2.7	Fitoterapia x Terapia Endodôntica	17
3	MATERIAIS E MÉTODOS	18
3.1	Caracterização do estudo	18
3.2	Local do estudo	18
3.3	Microrganismos e Inóculo microbiano	18
3.4	Obtenção do material vegetal	19
3.5	Distribuição dos grupos	19
3.6	Laser	19
3.7	Análise da atividade antimicrobiana	19
4	RESULTADOS	21
5	DISCUSSÃO	22
6	CONCLUSÃO	25
	REFERÊNCIAS	25

TERAPIA FOTODINÂMICA NA REDUÇÃO DE MICRORGANISMOS RELACIONADOS À INFECÇÃO PERSISTENTE DO SISTEMA DE CANAIS RADICULARES

PHOTODYNAMIC THERAPY IN REDUCING MICRORGANISMSRELATED TO PERSISTENT INFECTION OF THE RADICAL CHANNEL SYSTEM

ANDREA BRILHANTE GALDINO*

RESUMO

Objetivo: avaliar o potencial antimicrobiano da terapia fotodinâmica na redução de microrganismos relacionados à infecção persistente do sistema de canais radiculares. **Métodos:** Foi realizada uma pesquisa do tipo experimental laboratorial *in vitro*. Para testar a atividade antimicrobiana dos grupos experimentais (controle de viabilidade celular, controle positivo (hidróxido de cálcio), PDT com azul de metileno, extrato vegetal e PDT com o extrato vegetal), foram utilizadas cepas padrão de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). O inóculo microbiano foi padronizado em espectrofotômetro de modo a obter uma absorvância de 0,08 a 0,10 que corresponde a 5×10^5 UFC/ml. Os grupos experimentais foram dispostos separados entre si em microplacas de 96 poços estéreis. Foram inseridos 100 µl de meio de cultura estéril BHI, 80 µl do corante azul de metileno, o extrato vegetal (4mg/ml), e 20 µl do inóculo bacteriano. Foram realizados o controle do crescimento microbiano inserindo apenas o meio de cultura do caldo estéril nos poços, a respectiva alíquota de inóculo microbiano e o controle positivo com Hidróxido de cálcio, diluído em água destilada, a 4mg/ml. O corante Azul de Metileno foi utilizado na concentração de 5 mg/ml, diluída em 0,01% em cada poço da triplicata. Quanto aos grupos submetidos ao extrato, ambos receberam o extrato na concentração de 4mg/ml. O laser utilizado foi o InGaAlP Therapy XT (DMC Importação e Exportação de Equipamentos Ltda, São Carlos, SP, Brasil), com comprimento de onda (λ) de 660 nm, uma potência útil de 100mW, área de spot de $0,028 \text{ cm}^2$, energia total foi de 6,0 J, correspondendo a um tempo de 60 segundos em cada poço. A inserção da luz laser foi de uma única vez, de forma contínua, de modo pontual e com aplicação perpendicular aos poços. Para avaliação da ação dos grupos experimentais, foi repicada 1 alíquota de 1 µl do conteúdo dos poços em placas contendo BHI ágar e as microplacas foram levadas para estufa à 37°C, por 24 horas. Após isso, foi realizada a leitura dos resultados por meio da contagem das unidades formadoras de colônias (UFC/ml) de *Enterococcus faecalis*. **Resultados:** A avaliação da atividade antimicrobiana dos grupos em estudo frente à *Enterococcus faecalis* resultou no controle em $6,0 \times 10^8$ UFC/ml; controle positivo, contendo hidróxido de cálcio em $5,0 \times 10^8$ UFC/ml; Terapia fotodinâmica com corante azul de metileno em $3,0 \times 10^7$ UFC/ml; Extrato vegetal de *Schinopsis brasiliensis* em $3,8 \times 10^4$ UFC/ml; Terapia Fotodinâmica com extrato vegetal de *Schinopsis brasiliensis* em 0. **Conclusões:** A PDT quando associada ao azul de metileno foi capaz de reduzir as cepas do *Enterococcus faecalis*, porém não foi capaz de eliminá-lo. Quando associada ao extrato da planta *Schinopsis brasiliensis*, a PDT foi capaz de eliminar completamente as cepas microbianas testadas.

Palavras-chave: Endodontia. Infecção. Lasers. Terapia fotodinâmica.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the antimicrobial potential of photodynamic therapy in reducing microorganisms related to persistent root canal system infection. **Methods:** An in vitro experimental laboratory research was performed. To test the antimicrobial activity of the experimental groups (cell viability control, positive control (calcium hydroxide) methylene blue PDT, plant extract and PDT with plant extract) standard *Enterococcus faecalis* strains (ATCC 29212) were used. The microbial inoculum was standardized in a spectrophotometer to obtain an absorbance of 0,08 to 0,10 corresponding to 5×10^5 CFU/ml. The experimental groups were arranged separately in 96-well sterile microplates. 100 μ l of sterile BHI culture medium, 80 μ l of methylene blue dye, plant extract (4mg/ml), and 20 μ l of bacterial inoculum were inserted. Microbial growth control was performed by inserting only the sterile broth culture medium into the wells the respective, aliquot of microbial inoculum and the positive control with calcium hydroxide diluted in distilled water at 4 mg/ml. Methylene blue dye was used at a concentration of 5 mg/ml, diluted 0,01% in each triplicate well. As for the groups submitted to the extract, both received the extract at a concentration of 4mg/ml. The laser used was InGaAlP Therapy XT (DMC Import and Export Equipment Ltd., São Carlos, SP, Brazil), with wavelength (λ) of 660 nm, a useful power of 100mW, a spot area of 0,028 cm², energy total was 6.0 J, corresponding to a time of 60 seconds in each well. Laser light insertion was performed at one time, continuously, punctually and with application perpendicular to the wells. To evaluate the action of the experimental groups, 1 aliquot of 1 μ L of the well contents was plated on plates containing BHI agar and the microplates were incubated at 37°C for 24 hours. After that, the results were read by counting the colony forming units (CFU/ml) of *Enterococcus faecalis*. **Results:** The evaluation of the antimicrobial activity of the study groups against *Enterococcus faecalis* resulted in a control of $6,0 \times 10^8$ UFC/ml; positive control containing calcium hydroxide 5×10^8 UFC/ml; Photodynamic therapy with methylene blue dye at $3,0 \times 10^7$ UFC/ml; *Schinopsis brasiliensis* plant extract $3,8 \times 10^4$ UFC/ml; Photodynamic therapy with *Schinopsis brasiliensis* plant extract at 0. **Conclusions:** PDT when associated with methylene blue was able to reduce *Enterococcus faecalis* strains, but was not able to eliminate it. When combined with *Schinopsis brasiliensis* plant extract, PDT was able to completely eliminate the tested microbial strains.

Keywords: Endodontics. Infection. Lasers. Photodynamic therapy.

1 INTRODUÇÃO

O sucesso do tratamento endodôntico depende de um PQM (preparo químico mecânico) adequado, da remoção de bactérias dos canais infectados, do controle da infecção secundária, da limpeza química do canal infectado, seguido de uma adequada obturação, contudo, a remoção dos microrganismos presentes no canal radicular trata-se do requisito fundamental para a obtenção do sucesso no tratamento, este que, em alguns casos, pode não ser alcançado (YAMAGUCHI et al., 2018).

Rocha et al. (2013), relata que há uma diversidade das cepas de microrganismos resistentes encontrados nas infecções endodônticas, dentre esses, encontra-se o *Enterococcus faecalis*. Além disso, a presença de fungos como a *Cândida albicans* (levedura), *C. glabrata*, *C. quilliermondii*, dentre outros, no interior do SCR (sistema de canais radiculares) também têm sido encontrados, sendo importante salientar que a persistência desses microrganismos nos canais radiculares corrobora para o insucesso no tratamento endodôntico (LOPES; SIQUEIRA, 2010).

O *Enterococcus faecalis* é um coco Gram-positivo, anaeróbio facultativo, capaz de resistir a procedimentos intracanaís e a antibióticos sistêmicos devido às suas características morfológicas e genéticas (MASUDA et al., 2018; TINOCO et al., 2016). Segundo Khalifa et al. (2016), o *Enterococcus faecalis* tornou-se uma das bactérias mais resistentes e difíceis de serem erradicadas do interior do SCR, pois apresenta resistência aos antibióticos, dispõe de uma natureza altamente recalcitrante, pode persistir em condições extremas devido a sua capacidade de suportar um meio alcalino e também pela capacidade de persistir na ausência de glicose. Trata-se de um microrganismo capaz de perder sua capacidade de crescimento em cultura, mas manter a patogenicidade e a viabilidade de voltar a se dividir no momento em que as condições do microambiente se tornarem favoráveis (LACERDA et al, 2016), sendo assim, é considerado uma das principais bactérias responsáveis pelo insucesso no tratamento de canais radiculares (KHALIFA et al., 2016; MASUDA et al., 2018; TINOCO et al., 2016).

Então, mesmo que a terapia endodôntica seja executada adequadamente, fracassos podem ocorrer devido a persistência de microrganismos no SCR (COSTA et al., 2008). Visando contornar esse problema, muitos autores têm realizado estudos associando os lasers, por meio da terapia fotodinâmica (PDT) no tratamento endodôntico, pois esta terapia é considerada uma modalidade promissora capaz de intensificar o tratamento convencional do SCR, apresentando uma boa eficácia na redução de microrganismos tanto organizados em colônias como em biofilme (PRAZMO et al., 2016).

Nunes et al. (2011) conceitua a PDT como uma associação entre a luz gerada por um laser de baixa potência e um fotossensibilizador (FS) excitado pela luz do laser, reagindo com o oxigênio molecular (O₂), o radical hidroxila (OH) e o peróxido de hidrogênio (H₂O₂), estes radicais livres e o O₂ provocam reações de oxidação ou redução nas células bacterianas, resultando na eliminação de microrganismos.

Atualmente há uma grande variedade de FS e os mais utilizados clinicamente são os sais de fenotiazina, e dentre eles, têm-se o azul de metileno (PLOTINO et al., 2019). Entretanto, tendo em vista que os fitoquímicos exercem sua atividade antibacteriana através de diferentes mecanismos de ação, tais como danos à membrana bacteriana, supressão de fatores de virulência, inibição da atividade de

enzimas, toxinas e biofilmes bacterianos (SIQUEIRA et al., 2018), têm-se investigado se os extratos de base vegetal também podem se apresentar como agentes fotossensibilizadores eficientes, já que segundo Machado et al. (2017), os mesmos possuem atividade antimicrobiana.

Assim, a utilização de plantas tem sido investigada como uma alternativa promissora na PDT, tendo em vista que sua ação antimicrobiana é potencializada mediante a aplicação do laser vermelho, e desta forma, a PDT é capaz de agir mais rapidamente contra os microrganismos do que de antimicrobianos isolados (SIQUEIRA et al. 2018).

Então, o objetivo deste trabalho foi avaliar através de uma pesquisa laboratorial *in vitro*, o potencial antimicrobiano da terapia fotodinâmica nas infecções endodônticas persistentes, fazendo o uso de diferentes agentes fotossensibilizadores, dentre eles, o extrato da planta *Schinopsis brasiliensis*, bem como revisar a literatura sobre o assunto em questão.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A terapia fotodinâmica, PDT, vem sendo utilizada em diferentes estudos na endodontia, a mesma surgiu como uma promissora terapia antimicrobiana, envolvendo a utilização de um FS ativado por uma luz de comprimento de onda específico na presença do oxigênio, sendo essa tríade, coadjuvantes do preparo químico-mecânico e da terapia do sistema de canais radiculares (AMARAL et al., 2010).

2.1 Mecanismo de ação

A terapia fotodinâmica (PDT) também conhecida como fototerapia, fotoquimioterapia ou quimioterapia fotoativada (PACT) é um tratamento que utiliza a ativação de um fotossensibilizador (FS) por exposição à luz de um comprimento de onda na presença do oxigênio (TENNERT et al., 2014).

A luz é responsável por excitar o agente FS, que por sua vez, interage com moléculas vizinhas, sendo que este, em seu estado excitado, pode agir removendo os átomos de hidrogênio de uma molécula do substrato biológico como os fosfolipídeos, ou transferindo elétrons, formando íons radicais que tendem a reagir com o oxigênio, e neste processo, são formados produtos oxidados responsáveis pela cadeia de radicais livres, como o radical superóxido (O_2), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidroxila (OH) (EDUARDO et al., 2015).

Desta forma, quando ocorre a transferência de energia do FS excitado para o oxigênio disponível, resulta na formação de substâncias tóxicas, como o oxigênio singlete e os radicais livres, esse tipo de oxigênio é altamente reativo e é considerado o principal mediador do dano fotoquímico causado aos microrganismos, e por muitos sensibilizadores, o seu raio de ação é extremamente reduzido (<0,02 micrômetros), atuando apenas onde é produzido, baseado no efeito fotodinâmico localizado (EDUARDO et al., 2015; TENNERT et al., 2014).

2.2 Fontes de luz

A abordagem da PDT envolve a combinação do fotossensibilizador e uma fonte de luz que geralmente é o laser de baixa intensidade, que no espectro das cores azul e vermelha, e em um comprimento de onda específico para ativação do

FS, serve para inibir um amplo espectro de microrganismos (XHEVDET et al., 2014). A PDT é uma forma de tratamento minimamente invasiva, minimamente tóxica para o ser humano e para que ela seja efetiva é necessário que a fonte de luz interaja com o FS (GARCEZ; HAMBLIN, 2017).

Dentre os agentes fotossensíveis, o mais estudado é o azul de metileno, sendo a luz vermelha visível a mais utilizada para interagir com este FS, luz essa que pode ser emitida pelos LEDs vermelhos ou pelo laser de baixa potência, e neste caso, para que a PDT aconteça, os fótons na faixa do vermelho visível devem interagir com o azul de metileno respeitando os parâmetros de energia, da potência, do tempo de irradiação e do comprimento de onda da fonte de luz (EDUARDO et al., 2015).

2.3 Fotossensibilizadores

Os primeiros FS, incluindo as porfirinas, foram descobertos há cerca de quarenta anos, os da segunda geração, foram mais eficazes, gerando o oxigênio singlete, seguidos dos da terceira geração, em que houve uma modificação pela incorporação de uma capacidade de clareamento do fotossensibilizador, anticorpos conjugados ou sistema proteína receptor (PRAZMO et al., 2016).

A maioria dos FS são ativados por luz entre (630 e 700nm), sendo que os mais encontrados na literatura são a hematoporfirina (620-650nm), a fenotiazina a exemplo do azul de toluidina e o azul de metileno (620 a 700 nm), a cianina (600-805nm), os agentes fitoterápicos (550-700 nm) e as hialocianinas (660-700 nm) (TENNERT et al., 2014).

O FS deve possuir estabilidade biológica, eficiência fotoquímica, seletividade pela célula-alvo e um mínimo efeito tóxico às células normais, e especificamente na endodontia, vêm sendo bastante empregados os FS derivados das fenotiazinas (AMARAL et al., 2010). As fenotiazinas tratam-se de compostos heteroaromáticos tricíclicos, são corantes azuis, como o azul de toluidina e o azul de metileno, e quando utilizadas em baixas concentrações, não produzem ação citotóxica (AMARAL et al., 2010).

O azul de toluidina é utilizado em procedimento antimicrobiano coadjuvante à terapia endodôntica convencional, interage com a endotoxina bacteriana e com os LPS das bactérias Gram negativas, e em casos em que os canais forem sensibilizados por este FS na concentração de 0,0125%, emitindo o laser vermelho com comprimento de onda de 660 nm, com energia de fluência de 400 J/cm² durante o tempo de 20 minutos e 5 segundos, obtêm-se um resultado de 99,9% na redução das unidades formadoras de colônias bacterianas (AMARAL et al., 2010; ARAUJO et al., 2013).

E se tratando do azul de metileno (AM), sua máxima absorção ocorre em 664 nm, e a PDT associada a este FS, utiliza fontes de luz emitindo fótons na faixa do vermelho visível, como os lasers vermelhos de baixa potência e os LEDs vermelhos (EDUARDO et al., 2015). A característica hidrofílica do AM, seu baixo peso molecular e a sua carga positiva permitem a sua passagem através dos microrganismos no sistema de canais radiculares e o seu caráter catiônico permite sua interação com os grupos aniônicos presentes na superfície das células microbianas, e quanto à concentração, o AM em 0,005% é indicado para casos onde não haja exsudato, sangue, fluido gengival, saliva ou qualquer outro diluente ou conteúdo protéico nos canais radiculares e na superfície dental, pois na presença

dessas substâncias, opta-se pelo AM a 0,01% por ser mais concentrado (EDUARDO et al., 2015).

O azul de metileno trata-se de um FS bem estabelecido, utilizado na PDT, capaz de direcionar muitas bactérias orais, Gram-positivas e Gram-negativas (GURSOY et al., 2012; RAYMOND et al., 2011), este FS vai atuar interagindo com o lipopolissacarídeo de macromolécula aniônica, resultando na formação de compostos dímeros que participam do processo de fotossensibilização (RAYMOND et al., 2011).

A maioria dos FS utilizados na PDT são mais eficazes na inativação de bactérias Gram-positivas do que fungos e bactérias Gram-negativas, pois, a célula fúngica e a membrana externa de bactérias Gram-negativas, em alguns casos, restringem a ligação e impede a penetração do FS, impedindo de ocorrer sua ação adequada (PRAZMO et al., 2016).

2.4 Tempo de pré-irradiação

É considerado o período que corresponde ao tempo ocorrido desde a aplicação do FS ao início do emprego da luz (laser ou LED), trata-se de uma fase importante para o sucesso da PDT, pois se o FS não estiver próximo ao alvo, sua ativação pela luz irá resultar em formação de espécies tóxicas em local não desejado (AMARAL et al., 2010). O período de pré-irradiação pode variar entre dois a cinco minutos, tempo para que o FS possa atingir e ultrapassar a membrana celular bacteriana (ARAUJO et al., 2013)

2.5 PDT na endodontia

É notória a importância das etapas de instrumentação, irrigação e medicação intracanal no tratamento endodôntico, entretanto é importante que a PDT seja acrescentada ao tratamento endodôntico convencional, devido o laser de baixa potência ser um meio seguro, de fácil manipulação e aceitação pelo paciente, não promove resistência bacteriana, e também por tratar-se de um meio de baixo custo em relação ao laser de alta potência, contribuindo assim, para uma redução efetiva da carga microbiana do interior do SCR (ALFENAS et al., 2011).

A PDT é considerada uma forma adjunta para o tratamento endodôntico convencional na redução de infecções do sistema de canais radiculares, essa redução é mais significativa após a irrigação com o hipoclorito de sódio, o uso do peróxido de hidrogênio e do EDTA, tendo assim, uma maior eficiência contra a resistência bacteriana (TENNERT et al., 2014).

Tennert et al. (2014), em seus estudos, ressaltou que o tratamento endodôntico apenas com o auxílio da PDT, proporcionou uma diminuição de 92,7% de *Enterococcus faecalis* e quando associou a PDT à irrigação com o hipoclorito de sódio (NaCl) à 3% a redução chegou a 99,9%, sendo assim, a PDT demonstrou ser uma terapia adjuvante ao tratamento endodôntico convencional para otimizar a redução microbiana nos SCR.

Garcez et al. (2016) fizeram a comparação entre a ação do uso da PDT e do NaOCl à 0,5% na limpeza e na remoção do *E. faecalis* nos sistemas de canais radiculares, e enquanto o NaOCl alcançou 93,25% de desinfecção, a terapia fotodinâmica obteve 99,2% de sucesso, dessa forma, afirmou-se a efetividade da PDT na redução do *E. faecalis*, sugerindo também que esta terapia seja utilizada como coadjuvante ao tratamento endodôntico.

Segundo Nunes et al. (2011), o tempo de exposição à irradiação na PDT é variável e pode ocorrer de 30 segundos até 10 minutos, desta forma, os períodos frequentemente utilizados são de 2, 3 e 5 minutos, e quando trata-se da dose de energia, a mesma é proporcional ao poder e ao tempo de irradiação, tenta-se aumentar a potência e reduzir o tempo de irradiação para que o FS permaneça no sistema de canais radiculares por um menor período de tempo, diminuindo as chances de pigmentação dentária.

2.6 Microbiota resistente x Infecção endodôntica

O principal objetivo do tratamento endodôntico é a completa eliminação dos microrganismos nos canais radiculares previamente à obturação, fato pelo qual torna-se um desafio, pois, os canais radiculares infectados apresentam uma distinta flora de patógenos distribuídos através das paredes dos canais principais e secundários, com a capacidade de penetrar na dentina por meio dos túbulos dentinários (EDUARDO et al., 2015).

As espécies anaeróbias estritas tratam-se de um fato consolidado na dinâmica da infecção endodôntica, porém, as bactérias anaeróbias facultativas são mais resistentes do que os anaeróbios estritos, podendo persistir mesmo após a terapia endodôntica (SILVA et al., 2010). A exemplo dos anaeróbios facultativos, têm-se o *Enterococcus spp*, que pode permanecer em uma fase latente, porém caso aconteça mudanças ambientais, como uma infiltração coronária, esse microrganismo pode ser ativado e acontecer uma subsequente proliferação (SILVA et al., 2010).

Sakko et al. (2016) relata que o *Enterococcus faecalis* têm sido o microrganismo mais frequentemente encontrado após o tratamento de infecções endodônticas, a sua alta prevalência de forma isolada, está associada a dentes comprometidos endodonticamente com lesões perirradiculares, sugerindo a ocorrência dessas patogêneses em lesões recorrentes. Caso seja comprovada a capacidade de desinfecção contra este patógeno, também será eficaz contra a maioria dos outros microrganismos que se encontram presentes no sistema de canais radiculares (ATTIGUPPE et al., 2017).

A anatomia complexa dos canais radiculares é a principal causa de infecções persistentes, pois possibilita a sobrevivência de bactérias após o procedimento de limpeza convencional (MASUDA et al., 2018; LEI et al., 2016). O *Enterococcus faecalis* é capaz de sobreviver em condições nutricionais inadequadas, podendo permanecer viável como um único microrganismo (MASUDA et al., 2018), este patógeno, está associado aos casos de infecção persistente ou secundária no SCR e a sua alta prevalência está diretamente relacionada às suas propriedades específicas, como a excelente capacidade de adaptação a condições extremas, de penetrar nos túbulos dentinários, de se recuperar após períodos de prolongada escassez de nutrientes e de sobreviver à baixa atividade metabólica no interior de canais radiculares já tratados (ALFENAS et al., 2011).

Um dos objetivos do tratamento endodôntico é proporcionar uma adequada desinfecção do sistema de canais radiculares (SOUZA, 2015). Entretanto, Frota (2013), relata que mesmo que o preparo biomecânico seja realizado adequadamente, a contaminação bacteriana residual pode permanecer em torno de um quarto do tamanho total do canal, tendo como consequência a persistência da infecção no local.

2.7 Fitoterapia x Terapia endodôntica

Atualmente, a odontologia realça a busca por substâncias biocompatíveis, principalmente aquelas que entram em contato direto com os tecidos, dentre eles, o tecido pulpar e periapical, sendo assim, a ciência da fitoterapia tem evoluído e tem estimulado a avaliação de muitos produtos vegetais com finalidade terapêutica diversa (COSTA et al., 2008).

As plantas apresentam vias metabólicas secundárias que originam compostos como alcalóides, isoflavonóides, cumarinas, glicosídeos, terpenos, flavonóides, taninos (principais grupos antioxidantes naturais), e poliacetilenos específicos em algumas espécies, e atualmente sabe-se que essas substâncias são importantes na defesa das plantas contra bactérias, vírus, parasitas e insetos (NOGUEIRA et al., 2017). A resistência desses microrganismos aos produtos terapêuticos, como antibacterianos e antivirais, levou o interesse da ciência por novos produtos anti-infecciosos, a exemplo dos fitoterápicos (PATRI; SAHU, 2017).

Segundo Patri e Sahu (2017) a fitoterapia é o uso medicinal dos extratos vegetais e dos produtos naturais como extrato de alho, óleo de canela, óleo de tomilho, óleo de malaleuca, aloe vera, dentre outros extratos, mostram suas propriedades antimicrobianas contra muitos microrganismos. No planeta, existe cerca de 500.000 espécies de plantas e apenas 1% estão sendo investigadas fotoquimicamente, tendo em vista que já vem ocorrendo um grande avanço científico quanto aos produtos químicos e farmacológico das plantas (NOGUEIRA et al., 2017).

No Brasil a árvore endêmica, *Schinopsis brasiliensis* é da família da Anacardiaceae, popularmente conhecida como baraúna, braúna, quebracho e chamacoco (SARAIVA et al., 2011), esta planta desencadeia atividade antimicrobiana contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* (FERNANDES et al., 2015; FORMIGA FILHO et al., 2015), *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans*, *Salmonella typhimurium*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus parasanguinis* (FERNANDES et al., 2015).

Nogueira et al. (2017) e Fernandes et al. (2015), em seus estudos com o extrato da planta do semi-árido brasileiro, *Schinopsis brasiliensis* (braúna), promoveu a inibição da formação de biofilme tanto de bactérias Gram-negativas como *Pseudomonas aeruginosa*, quanto em bactérias Gram-positivas como o *Staphylococcus aureus*.

Compostos como taninos, fenólicos e flavonóides são componentes-chaves dos extratos vegetais da planta *S. brasiliensis*, apresentando uma alta atividade antimicrobiana (FORMIGA FILHO et al., 2015). A relação da atividade antioxidante e antimicrobiana de taninos, por associação do mecanismo de ação dos compostos fenólicos, tem poder de inibição de radicais livres em bactérias Gram-negativas e Gram-positivas (SARAIVA et al., 2011). A atividade antimicrobiana dos taninos pode estar relacionada a sua complexação com o metal íons, reduzindo a disponibilidade de íons essenciais para o metabolismo bacteriano, já os flavonóides, como as flavonas e as hexametoxiflavonas são compostos capazes de formar complexos com proteínas solúveis e com a parede celular das bactérias sendo capazes de romper a membrana bacteriana, e são estes mecanismos inibitórios do metabolismo bacteriano que explicam porque o extrato da casca e da folha de *S. brasiliensis*, mesmo sem a aplicação do laser, são eficazes contra muitas bactérias, dentre elas, o *Enterococcus faecalis* (FORMIGA FILHO et al., 2015).

Assim, devido as infecções persistentes relacionadas a resistência bacteriana às substâncias utilizadas no tratamento endodôntico, foi notada a necessidade de busca de outras fontes para potencializar os resultados da terapia endodôntica (ROCHA et al., 2013). O tratamento por meio de plantas, a fitoterapia, não é recente, e seus compostos naturais podem ser utilizados em várias fórmulas, contudo, nos últimos anos as pesquisas relacionadas aos fitoterápicos vêm aumentando devido a busca por produtos com menor toxicidade, maior atividade farmacológica, biocompatibilidade e com custos acessíveis à população (MACHADO; OLIVEIRA, 2014). Dessa forma, a utilização de compostos dessa natureza tem sido explorada também nos estudos que envolvem a sanificação do sistema de canais radiculares.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Caracterização do Estudo

A pesquisa foi do tipo experimental laboratorial *in vitro*.

3.2 Local do Estudo

O estudo foi realizado no setor de microbiologia do Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos (LABDEM) da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB) sob autorização da Professora Doutora Ana Cláudia Dantas de Medeiros (Programa de Pós-graduação em Odontologia- UEPB).

3.3 Microrganismos e Inóculo Microbiano

Foram utilizadas cepas padrão de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) cedidas pela Fundação Oswaldo Cruz (Rio de Janeiro, Brasil), disponíveis no setor de microbiologia do LABDEM da UEPB.

O inóculo microbiano foi padronizado em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 625nm de modo a obter uma absorbância de 0,08 a 0,10, de acordo com as normas do documento M07-A9 (FRANKLIN et al., 2012), correspondendo a 5×10^5 UFC/ml.

Para o preparo do inóculo bacteriano, 50µl do estoque bacteriano congelado com glicerol 20% foi reativado em 5mL de Brain Heart Infusion (BHI), deixado por 18 horas em estufa a 37°C. Após 18 horas, o equivalente a uma alça de platina desse caldo de bactérias é repicado em BHI ágar, de modo a observação de contaminação ao final de 24 horas de incubação a 37°C. Não havendo contaminação, 5-10 colônias isoladas da placa são reativadas em 10ml de BHI e levadas novamente a estufa por 18 horas a 37°C. Após esse período, desse caldo contendo bactérias, coleta-se uma alíquota de aproximadamente 300 µl e a adiciona-se em 4ml de BHI. O conteúdo desse tubo é levado ao espectrofotômetro com comprimento de onda de 625nm, a fim de obter uma absorbância de 0,08-0,10. Se o intervalo de absorbância for atingido, têm-se um inóculo com concentração de $1,5 \times 10^8$ UFC/ml que é diluído em caldo BHI a fim de obter a concentração final nas microplacas de $0,5 \times 10^6$ UFC/ml que é igual a 5×10^5 UFC/ml.

3.4 Obtenção do material vegetal

As folhas de *Schinopsis brasiliensis* foram coletadas, a partir de plantas adultas selecionadas, respeitando suas características fitossanitárias, na região de Campina Grande (7° 13' 50" S, 35° 52' 52" W). As folhas foram embaladas em sacos de papel tipo Kraft sendo posteriormente submetidas ao processo de secagem, em estufa de ventilação forçada, à uma temperatura de 40 +/- 1° C, até a estabilização do peso, por perda de umidade. Após a secagem, o material seco foi triturado em um moinho do tipo Willey, no qual foi obtido um pó fino, peneirado em tamis com partículas no tamanho de 10 mesh.

A extração foi realizada pelo método de ultrassom, utilizando 1 litro de etanol na concentração de 50% para 100 g de planta. Após a extração, o solvente foi removido em evaporador rotativo a 40° C (Quimis). O extrato foi armazenado em um refrigerador a 4° C até o uso para os experimentos propostos. Para a realização de ensaios, a amostra foi previamente diluída em dimetilsulfóxido (DMSO) a 10%.

3.5 Distribuição dos grupos

Foram realizados ensaios em triplicata com os grupos experimentais e com o controle como segue o quadro 1.

Quadro 1. Grupos experimentais e controle de estudo.

Grupo	Intervenção
1	<i>Enterococcus faecalis</i> (Controle de viabilidade celular)
2	Controle Positivo (Hidróxido de Cálcio)
3	Terapia Fotodinâmica com azul de metileno
4	Extrato de <i>Schinopsis brasiliensis</i>
5	Terapia Fotodinâmica com Extrato de <i>Schinopsis brasiliensis</i>

Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

3.6 Laser

A fonte de luz utilizada na PDT foi o Laser InGaAlP Therapy XT (DMC Importação e Exportação de Equipamentos Ltda, São Carlos, SP, Brasil), com comprimento de onda (λ) de 660 nm, com período de pré-irradiação 5 minutos. O feixe de luz vermelho foi inserido com uma potência útil de 100 mW em uma área de spot correspondendo a 0,028 cm², resultando em uma dose aproximada de 214 J/cm² durante cada aplicação. A energia total foi de 6,0 J, e como cada J corresponde a 10 segundos, neste caso, totalizou-se o tempo de 60 segundos em cada poço, com altura do poço 0,5 cm das células bacterianas presentes neles. A inserção do laser foi realizada de uma única vez, de forma contínua, com modo de operação pontual e aplicação perpendicular aos poços (Figura 2).

3.7 Análise da Atividade Antimicrobiana

Foram utilizadas microplacas de 96 poços estéreis, em que os grupos experimentais e controles pré-estabelecidos foram dispostos fisicamente separados entre si, a fim de evitar a possibilidade de sobre-exposição de irradiação entre os

grupos submetidos ao laser, como também qualquer absorção mínima pelos demais (Figura 1).

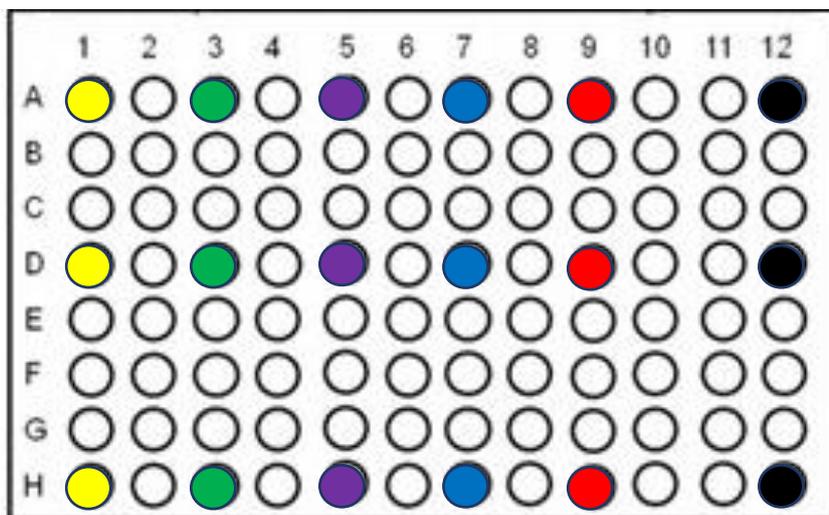


Fig.1. Esquema representativo da distribuição das amostras nas microplacas. Em 1: Controle de esterilidade do meio; 3: Controle de viabilidade celular; 5: Controle positivo; 7: Terapia Fotodinâmica com azul de metileno; 9: Extrato de *Schinopsis brasiliensis*; 12: Terapia fotodinâmica com extrato de *Schinopsis brasiliensis*.

Inicialmente, foram inseridos em todos os poços da microplaca, 100 µl de meio de cultura estéril (BHI para *E. faecalis*), 80 µl do corante (azul de metileno) na fileira 7, 4mg/ml do extrato vegetal nas fileiras 9 e 12, e 20 µl do inóculo bacteriano nas fileiras, exceto na fileira 1, de acordo com a distribuição na figura 1.

Foram realizados controle de crescimento microbiano inserindo apenas meio de cultura do caldo estéril nos poços e 20 µl da alíquota de inóculo microbiano (controle de crescimento). E assim foi avaliada a viabilidade celular do inóculo microbiano, como também a esterilidade das substâncias testadas.

O controle positivo foi realizado com o hidróxido de cálcio diluído em água destilada na concentração de 4mg/ml, e como na microplaca já existia 100 µl de meio estéril em cada poço, a concentração foi diminuída pela metade, sendo realizado o teste com uma concentração final de 2mg/ml.

O Azul de Metileno, como corante aplicado para a sensibilização, foi utilizado na concentração de 5 mg/ml (*Sigma-Aldrich*, St Louis, MO, USA). Os grupos, submetidos ao fotossensibilizador, receberam o volume (80 µl) da substância diluída a 0,01%, inseridos em cada poço da triplicata em ambiente escuro, o tempo de pré-irradiação foram de 5 minutos, para ambos os grupos.

Para irradiação dos grupos experimentais, a distância entre os poços foi de aproximadamente, 7,0 cm. O objetivo desse espaçamento foi respeitar os limites visíveis da irradiação e impedir que a aplicação do laser em um grupo influenciasse o adjacente. E além disso, um anteparo plástico de cor preta foi colocado para impedir a passagem de luz para os outros poços e evitar a sobre-exposição (Figura 3).

Para avaliação da ação dos grupos experimentais, foi repicada 1 alíquota de 1 µl do conteúdo dos poços em placas contendo BHI ágar e as microplacas foram levadas para estufa à 37°C, por 24 horas. Os testes foram realizados em triplicata,

em capela de fluxo laminar, por 2 examinadores, sendo realizada a posterior contagem manual das unidades formadoras de colônia (UFC/ml) (Figura 4).

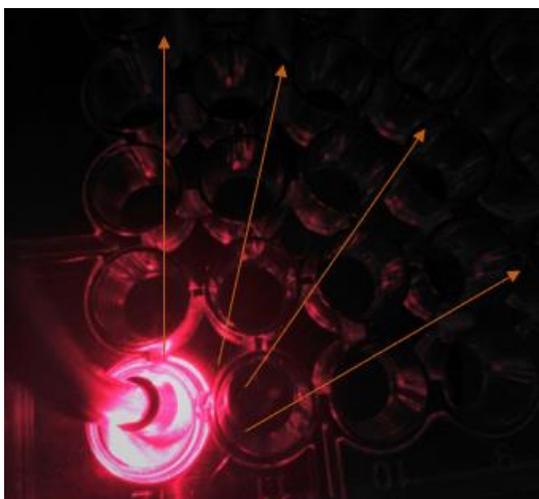


Fig. 2. Irradiação da luz laser na microplaca.

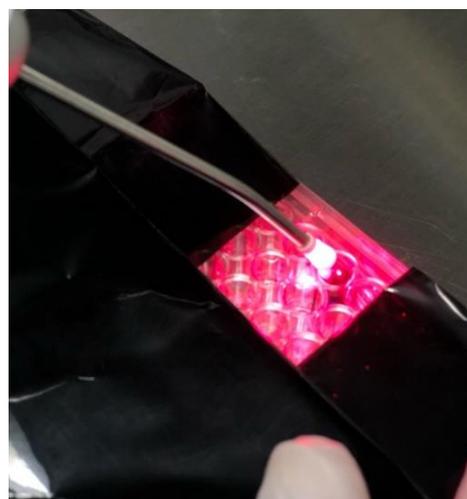


Fig. 3. Irradiação com proteção contra a luz dos poços circundantes.

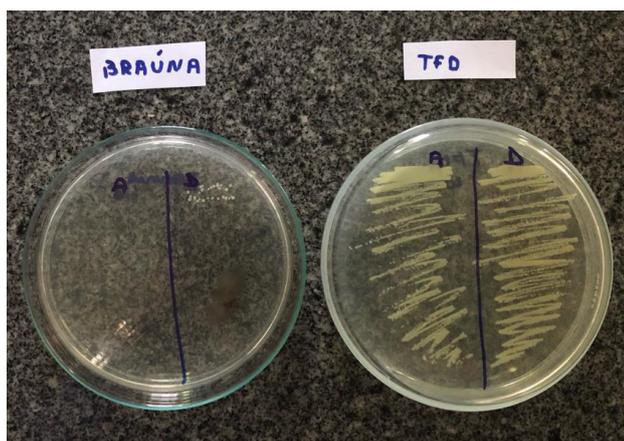


Fig. 4. Contagem de unidades formadoras de colônia (UFC/ml).

4 RESULTADOS

Tabela 1. Atividade antimicrobiana dos grupos experimentais frente ao *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212).

Grupos Experimentais	UFC/ml
Controle	$6,0 \times 10^8$
Hidróxido de Cálcio	$5,0 \times 10^8$
TPD com azul de metileno	$3,0 \times 10^7$
Extrato vegetal de <i>Schinopsis brasiliensis</i>	$3,8 \times 10^4$
PDT com extrato vegetal de <i>Schinopsis brasiliensis</i>	0

5 DISCUSSÃO

É de suma importância ressaltar que a finalidade do tratamento endodôntico é reduzir o máximo possível dos microrganismos responsáveis pela infecção do sistema de canais radiculares, porém devido a complexa estrutura dos SCR, a completa eliminação desses microrganismos torna-se um grande desafio (XHEVDET et al., 2014; MACHADO et al., 2017).

Lopes e Siqueira (2010) , afirmam que a infecção do canal radicular é usualmente mista e semi específica com predomínio das bactérias anaeróbias estritas que correspondem a mais de 90% dos casos isolados, e neste caso, para que aconteça a sanificação do SCR é necessário que se faça um PQM completo, onde mecanicamente a limpeza é promovida por meio dos instrumentos, quimicamente pela ação antimicrobiana das soluções químicas auxiliares, e fisicamente pela irrigação e aspiração da solução irrigadora, desta forma, caminha-se para uma desinfecção adequada dos canais radiculares, todavia, mesmo que o PQM apresente seus benefícios no sucesso da terapia endodôntica, dependendo do caso, faz-se necessário a utilização da medicação intracanal para potencializar a desinfecção do SCR (ROCHA et al., 2013).

Segundo Xhevdet et al. (2014), o PQM associado à irrigação com o NaOCl é capaz de remover a maioria dos microrganismos, porém, ainda é possível o retorno da infecção por causa da camada de smear layer que ainda fica presente no curso do canal radicular, desta forma, é necessário que terapias complementares, como a terapia fotodinâmica, seja utilizada como um método auxiliar na terapia endodôntica convencional.

Plotino et al. (2019), explica que inicialmente, a PDT foi desenvolvida como uma terapia destinada ao tratamento de várias doenças, inclusive de tumores e doenças malignas, sendo que nos últimos anos, a terapia da PDT se expandiu, representando uma alternativa potente e promissora adjuvante na desinfecção intracanal. Esta terapia segue os princípios de que uma luz é capaz de excitar um corante fotossensibilizador não-tóxico no seu destino com efeitos mínimos no tecido circundante (PLOTINO et al., 2019), esta luz, por sua vez, ativa o FS específico que age com um efeito letal sobre os microrganismos (OLIVEIRA et al, 2015). Gursoy et al. (2013), afirma que a PDT trata-se de uma terapia capaz de formar um dano à membrana citoplasmática das bactérias através de espécies citotóxicas geradas pela própria terapia, ocorrendo fatores importantes como a ativação do sistema de transporte da membrana, inibição das atividades enzimáticas da membrana plasmática e peroxidação lipídica, nos microrganismos.

Em meio aos pontos positivos, a PDT apresenta algumas limitações, dentre elas, temos o uso do azul de metileno como agente FS que é capaz de alterar a coloração dos dentes, ademais, quanto ao tempo de pré-irradiação, precisa ser o adequado devido ao risco de ocorrer a descoloração da estrutura do dente, uma vez que quanto maior o tempo, mais o FS penetra na dentina e na interface dentina-esmalte, quando se fala da viscosidade, o FS é capaz impregnar na dentina, formando uma camada de smear layer obliterando os túbulos dentinários, quanto a concentração, o FS também é considerado tóxico semelhante aos irrigantes endodônticos, e quando se refere as fontes laser, esta luz concentra uma grande energia em uma pequena área, uma vez que nos dentes e estruturas circundantes, o aumento da temperatura pode ocasionar trauma térmico nestes tecidos, causando danos irreversíveis (PLOTINO et al., 2019).

A pasta de hidróxido de cálcio, por ser um dos medicamentos intracanalais mais utilizados no tratamento endodôntico convencional, foi utilizada nesta pesquisa como o controle positivo. A eficácia deste medicamento intracanal está ligada à difusão de íons hidroxila através dos túbulos dentinários e canais acessórios, em áreas inacessíveis aos instrumentos endodônticos, ademais, quando este composto é dissolvido em água, se dissocia em íons hidróxido e cálcio, e sua ação antimicrobiana depende dos íons hidróxidos na solução (LEI et al., 2016).

Segundo Lei et al. (2016), mesmo que a pasta de hidróxido de cálcio apresente essas excelentes propriedades, a ação tamponante da dentina é capaz de neutralizar a atividade antimicrobiana contra o *Enterococcus faecalis* no SCR. Isso possivelmente explica os resultados observados nesta pesquisa, onde apesar de ter promovido uma pequena redução do *E. faecalis*, o hidróxido de cálcio permitiu a permanência de cepas de *E. Faecalis* submetidos a sua ação, sendo, portanto, considerado pouco satisfatório quando comparado aos demais grupos experimentais, e dessa forma, justifica-se a necessidade de utilização de métodos complementares ao PQM e à medicação intracanal, tais como a terapia fotodinâmica, para que se obtenha a máxima redução de microrganismos patogênicos do interior do SCR.

Na endodontia, os FS derivados dos sais de fenotiazinas têm sido amplamente utilizados nas pesquisas em que envolve a PDT, estes compostos quando utilizados em baixas concentrações, não produzem ação citotóxica e a dose necessária para a morte bacteriana é menor que a dose para causar danos às células (AMARAL et al., 2010). Devido às suas boas características e o seu vasto uso na endodontia, na presente pesquisa, foi utilizado o FS azul de metileno associado à PDT onde promoveu uma maior redução da quantidade do microrganismo testado, quando comparado ao hidróxido de cálcio, apesar de também não ter conseguido erradicá-lo completamente. E semelhante a esta pesquisa, no estudo de Amaral et al. (2010), a PDT também quando associada ao azul de metileno não apresentou total eficácia contra o *E. faecalis*, porém proporcionou uma redução significativa sobre o microrganismo, que é considerado uma das espécies mais resistentes ao tratamento endodôntico convencional.

Em meio à diversidade de patógenos encontrado nos canais radiculares, de acordo com Soligo et al. (2018), mesmo com os procedimentos de limpeza e modelagem, o uso de instrumentos endodônticos e o uso das soluções irrigantes, não são suficientes para reduzir a contaminação bacteriana no canal radicular, uma vez que bactérias como o *Enterococcus faecalis* estão presentes em 67% dos casos de falhas endodônticas. Então, devido às limitações das terapias atuais, vem crescendo a busca por novas terapêuticas, à exemplo dos fitoterápicos, na tentativa de desenvolver produtos naturais mais sensíveis aos microrganismos resistentes, potencializando o sucesso do tratamento endodôntico (SOUZA, 2015).

Segundo Soligo et al. (2018), os produtos naturais derivados de plantas representam uma fonte abundante de compostos antimicrobianos que podem ser aplicados adicionalmente à terapia endodôntica. De fato, os resultados observados neste estudo pelo uso do extrato vegetal da planta *Schinopsis brasiliensis*, foram soberanos aos das demais terapias testadas, mesmo quando utilizado isoladamente, o extrato vegetal da planta *Schinopsis brasiliensis* apresentou uma redução de *E. Faecalis* muito superior, inclusive ao grupo da PDT com azul de metileno.

Ademais, quando associado à PDT, o extrato da *Schinopsis brasiliensis* conseguiu-se a maior eliminação do microrganismo testado, evidenciando um resultado superior ao da PDT tradicional associada ao azul de metileno. De acordo

com Formiga Filho et al. (2015), o extrato dessa planta possui compostos metabólitos secundários derivados do metabolismo da própria planta que desempenham uma satisfatória atividade bactericida e esse extrato também pode conter estruturas do FS, como as apresentadas no FS azul de metileno, otimizando a atividade antimicrobiana quando submetida a uma luz laser apropriada, o que explica os excelentes resultados encontrados.

É ainda importante ressaltar que as diferentes partes dessa planta como folhas, caule, frutos e casca são utilizadas na medicina com ação anti-inflamatória para várias doenças, tão quanto como ação antisséptica no tratamento de micoses, e são os compostos fenólicos presentes no metabolismo da *Schinopsis brasiliensis*, representados por taninos e flavonóides, que destaca-se como principal grupo de antioxidante naturais por ter a capacidade de atuar como sequestradores de radicais livres e de doadores de hidrogênio, interrompendo assim as reações oxidativas em cadeia (SARAIVA et al, 2011).

Sendo assim, não há sombra de dúvidas quanto a importância das plantas e meio a grande variedade de vegetais evidenciados pela literatura com efeito antimicrobiano na desinfecção do SCR, também encontramos segundo Yadav et al. (2019), a curcumina, um composto polifenólico derivado do açafrão de especiarias da dieta, que possui um vasto espectro de propriedades biológicas e farmacológicas. Esta planta dispõe de uma atividade anti-inflamatória, antioxidante, antimicrobiana (NAJAFI et al., 2016), anticarcinogênica e antiviral (YADAV et al., 2019). Najafi et al., (2016), afirma que este composto é considerado um FS para PDT, que apresenta um pico de absorção entre a faixa de 300 a 500 nm. A cúrcuma e o seu extrato da cúrcuma xanthorrhiza é capaz de induzir uma reação fotodinâmica sob irradiação de uma fonte de luz de 405 nm inibindo células planctônicas de *Streptococcus mutans* (LEE et al., 2017).

Ramezani F et al. (2016) informa em seus estudos que extratos da folha de nim e de uva também disponibilizam um efeito antimicrobiano contra o microrganismo *Enterococcus faecalis* e os extratos de chá verde e chá preto, por sua vez, desempenham um efeito antibacteriano sobre o *Streptococcus mutans*, e o chá verde por si só dispõe de materiais ativos com bons efeitos fisiológicos, suas propriedades curativas, como atividade antioxidante, anti-inflamatória e de eliminação de radicais torna-o eficaz para a irrigação intra-canal.

Então, sabendo que a complexidade anatômica do sistema de canais radiculares favorece a sua limpeza incompleta por meio da terapia endodôntica convencional e que a vulnerabilidade das espécies bacterianas envolvidas na infecção endodôntica são fatores limitantes para o sucesso do tratamento endodôntico em alguns casos (MASSUNARI et al., 2017), torna-se imperativo o uso de terapias complementares que potencializem a sanificação do SCR. A exemplo disso, têm-se o uso de produtos vegetais que são plantas com propriedades medicinais comprovadas, com efeitos antimicrobianos, antifúngicos e anticancerígenos, que estão ganhando um lugar de importância na endodontia, uma vez que podem promover uma desinfecção mais satisfatória no SCR (RAMEZANALI et al., 2016). Assim, salienta-se que as pesquisas envolvendo produtos naturais representam um vasto campo de estudo a ser explorado pelos pesquisadores, pois com base nos bons resultados dessa pesquisa, sugere-se que mais pesquisas sejam realizadas fazendo uso de extratos vegetais na endodontia, bem como a realização de novos estudos utilizando a PDT associada ao extrato vegetal da *Schinopsis brasiliensis* in vivo, para comprovação dos resultados observados nesta pesquisa.

6 CONCLUSÃO

O uso da PDT associado ao FS azul de metileno, tão quanto o hidróxido de cálcio na sua forma pura, reduziram, mas não foram capazes de eliminar completamente as cepas microbianas de *Enterococcus faecalis* testadas. O extrato da planta *Schinopsis brasiliensis*, quando utilizado isoladamente, também reduziu a carga microbiana. Todavia, quando associado na PDT, o extrato da planta *Schinopsis brasiliensis* foi capaz de eliminar completamente as cepas microbianas testadas.

REFERÊNCIAS

- ALFENAS, C. F; SANTOS, M. F. L; TAKEHARA, G. N. M; PAULA, M. V. Q. Terapia fotodinâmica na redução de microorganismos no sistema de canais radiculares. **Revista Brasileira de Odontologia**, Rio de Janeiro, v.68, n.1, p.68-71, jan./jun, 2011.
- AMARAL, R. R; AMORIM, J. C. F; NUNES, E; SOARES, J. A; SILVEIRA, F. F. Terapia fotodinâmica na endodontia - revisão de literatura. **Revista da Faculdade de Odontologia**, Passo Fundo, v. 15, n.2, p. 207-211, mai/ago, 2010.
- ARAUJO, G.S. et al. Terapia Fotodinâmica na Endodontia: emprego de uma estratégia coadjuvante frente à infecção endodôntica. **Dental Press Endodontics**, v.3, n.2, p.52-58, 2013.
- ATTIGUPPE, P. R; TEWANI, K. K; NAIK, S. V; YAVAGAL, C. M; NADIG, B. Comparative Evaluation of Different Modes of Laser Assisted Endodontics in Primary Teeth: An In vitro Study. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v.11, n.4, p.1-4, abril, 2017.
- COSTA, E. M. M. B; ESMERALDO, M.R.A; CARVALHO, M.G.F; DANIEL, R.L.D.P; PASTRO, M.F; JÚNIOR, F.L.S. Avaliação da Ação Antimicrobiana da Própolis e de Substâncias Utilizadas em Endodontia sobre o *Enterococcus Faecalis*. **Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe, Espanha e Portugal**, v.8, n.1, p. 21-25, abril, 2008.
- EDUARDO, C. P; SILVA, M. S. B; RAMALHO, K. M; LEE, E. M. R; ARANHA, A. C. C. A terapia fotodinâmica como benefício complementar na clínica odontológica. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas**, São Paulo, v.69, n.3, p. 226-35, jul./set, 2015.
- FERNANDES, F. H. A; BATISTA, R. S. A; MEDEIROS, F. D; SANTOS, F. S; MEDEIROS, A. C. D. Development of a rapid and simple HPLC-UV method for determination of gallic acid in *Schinopsis brasiliensis*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 25, n.3, p. 208-211, mai/jun, 2015.

FORMIGA FILHO, A. L. N; CARNEIRO, V.S.M; SOUZA, E.A; SANTOS, R.L; CATÃO, M.H.C.V; MEDEIROS, A.C.D. In Vitro Evaluation of Antimicrobial Photodynamic Therapy Associated with Hydroalcoholic Extracts of *Schinopsis brasiliensis* Engl.: New Therapeutic Perspectives. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 33, n.5, p. 240-245, mai, 2015.

FRANKLIN, R. C et al. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement. **Clinical and Laboratory Standards Institute**. v. 32, n. 2, p. 1-9, jan, 2012.

FROTA, M. F. Terapia fotodinâmica em dentes contaminados com *Enterococcus faecalis* utilizando a curcumina como fotossensibilizador. 2013. (Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia – Área de Endodontia, como um dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2013.

GARCEZ, A.S; HAMBLIN, M.R; Methylene Blue and Hydrogen Peroxide for Photodynamic Inactivation in Root Canal - A New Protocol for Use in Endodontics. **European Endodontic Journal**, v. 2, n. 1, p. 1-7, 2017.

GARCEZ, A.S; ROQUE, J. A; MURATA, W. H; HAMBLIN, M. R. Uma nova estratégia para PDT antimicrobiana em Endodontia. **Revista da Associação Paulista de Cirurgões Dentistas**, São Paulo, v.70, n.2, p. 126-130, jun, 2016.

GURSOY, H; OZCAKIR-TOMRUK, C; TANALP, J; YILMAZ, S. Photodynamic therapy in dentistry: a literature review. **Clinical Oral Investigations**, v. 17, n. 4, p. 1113-1125, mai, 2013.

KHALIFA, L. et al. Phage therapy against *Enterococcus faecalis* in dental root canals. **Journal of Oral Microbiology**, v. 8, p. 1-11, set, 2016.

LACERDA, M. F. L.S; COUTINHO, T. M; BARROCAS, D; RODRIGUES, J. T; VIDAL, F. Infecção secundária e persistente e sua relação com o fracasso do tratamento endodôntico. **Revista Brasileira de Odontologia**, Rio de Janeiro, v. 73, n.3, p. 212-217, jul/set, 2016.

LEE, H; KANG, S; JEONG, S; CHUNG, K; KIM, B. Antibacterial photodynamic therapy with curcumin and *Curcuma xanthorrhiza* extract against *Streptococcus mutans*. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 20, n.4, p. 116-119, mai/set, 2017.

LEI, L; SHAO, M; YANG, Y; MAO, M; YANG, Y; HU, T. Exopolysaccharide dispelled calcium hydroxide with volatile vehicles related to bactericidal effect for root canal medication. **Journal of Applied Oral Science**, Bauru, v.24, n. 5, p. 487-495, set/out, 2016.

LOPES H.P; SIQUEIRA JR. J.F. **Endodontia - Biologia e Técnica**. 3ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

MACHADO, A.C; OLIVEIRA, R.C. Medicamentos Fitoterápicos na odontologia: evidências e perspectivas sobre o uso da aroeira-do-sertão (*Myracrodruon urundeuva* Allemão). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.16, n.2, p. 283-289, jun, 2014.

MACHADO, M.E.L. et al. Instrument Design May Influence Bacterial Reduction During Root Canal Preparation. **Brazilian Dental Journal**, Ribeirão Preto, v.28, n.5, p. 587-591, set/ out, 2017.

MASUDA, Y. et al. Photodynamic Therapy with Pyoktanin Blue and Diode Laser for Elimination of *Enterococcus faecalis*. **International Journal of Experimental and Clinical Pathophysiology and Drug Research**, v. 32, n. 4, p. 707-712, jul/ago, 2018.

MASSUNARI, L; NOVAIS, R.Z; OLIVEIRA, M.T; VALENTIM, D; DEZAN-JÚNIOR, E; DUQUE, C. Antimicrobial Activity and Biocompatibility of the *Psidium cattleianum* Extracts for Endodontic Purposes. **Brazilian Dental Journal**, Ribeirão Preto, v.28, n.3, 372-379, mai/ jun,2017.

MOHAMMADI, Z; JAFARZADEH, H; SHALAVI, S; PALAZZI, F. Recent Advances in Root Canal Disinfection: A Review. **Iranian Endodontic Journal**. v.12, n.4, p. 402-406, set, 2017.

NAJAFI, S; KHAYAMZADEH, M; PAKNEJAD, M; POURSEPANJ, G; FARD, M. J. K; BAHADOR, A. An In Vitro Comparison of Antimicrobial Effects of Curcumin-Based Photodynamic Therapy and Chlorhexidine, on *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. **Journal of Lasers in Medical Sciences**. v. 7, n. 1, p. 21-25, 2016.

NOGUEIRA, J. W. A; COSTA, R. A; CUNHA, M. T; CAVALCANTE, T.T.A; Antibiofilm activity of natural substances derived from plants. **African Journal of Microbiology Research**. v. 11, n.26, p. 1051-1060, julho, 2017.

NUNES, M.R. et al. Effectiveness of Photodynamic Therapy Against *Enterococcus faecalis*, With and Without the Use of an Intracanal Optical Fiber: An In Vitro Study. **Photomedicine and Laser Surgery**. v. 29, n. 12, p. 803-808, dez, 2011.

OLIVEIRA, B. P; AGUIAR, C. M; CÂMARA, A. C; ALBUQUERQUE, M. M; CORREIA, C. R. B; SOARES, M. F. L. R. The efficacy of photodynamic therapy and sodium hypochlorite in root canal disinfection by a single-file instrumentation technique. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 12, n. 3, p. 436- 443, set, 2015.

PATRI, G; SAHU, A; Role of Herbal Agents - Tea Tree Oil and Aloe vera as Cavity Disinfectant Adjuncts in Minimally Invasive Dentistry - An In vivo Comparative Study. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v. 11, n.7, p. 5-9, jul, 2017.

PRAZMO, E.J; KWASNY, M; LAPINSKI, M; MIELCZAREK, A. Photodynamic Therapy As a Promising Method Used in the Treatment of Oral Diseases. **Advances in Clinical Experimental Medicine**, v.25, n.4, p.799-807, 2016.

PLOTINO, G; GRANDE, N. M; MERCADÉ, M. Photodynamic therapy in endodontics, **INTERNATIONAL ENDODONTIC JOURNAL**, v. 52, n.6, p.760- 774, jun, 2019.

ROCHA, E. A. L. S. S; CARVALHO, A. V. O. R; ANDRADE, S. R. A; MEDEIROS, A. C. D; TROVÃO, D. M. B. M; COSTA, E. M. M. B. Potencial antimicrobiano de seis plantas do semiárido paraibano contra bactérias relacionadas à infecção endodôntica. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v. 34, n. 3, p. 351-355, 2013.

SAKKO, M.; TJADERHANE, L.; RAUTEMAA-RICHARDSON, R. MICROBIOLOGY OF ROOT CANAL INFECTIONS. **Primary Dental Journal**, v. 5, n.2, p. 84-89, mai, 2016.

SARAIVA, A.M. et al. In vitro evaluation of antioxidant, antimicrobial and toxicity properties of extracts of *Schinopsis brasiliensis* Engl. (Anacardiaceae). **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.5, n.14, p. 1724-1731, out, 2011.

SILVA, F.C. et al. Análise da efetividade da instrumentação associada à terapia fotodinâmica antimicrobiana e a medicação intracanal na eliminação de biofilmes de *Enterococcus faecalis*. **Brazilian Dental Science**, v.13, n.5, p. 31-38, jan/jun, 2010.

SIQUEIRA, B. O. et al. Potencial fotossensibilizante de extratos de plantas do agreste na técnica de terapia fotodinâmica. **Faculdade de Odontologia de Lins / Unimep** v. 28, n. 2, p. 27-38, jul/dez, 2018.

SOLIGO, L. T; LODI, E; FARINA, A. P; SOUZA, M. A; VIDAL, C. M. P; CECCHIN, D. Antibacterial Efficacy of Synthetic and Natural-Derived Novel Endodontic Irrigant Solutions. **Brazilian Dental Journal**, Ribeirão Preto, v. 29, n. 5, p. 459-464, set/out, 2018.

SOUZA, P. H. S. **POTENCIAL DE EXTRATOS DA *Schinopsis brasiliensis* ENGL. PARA DESENVOLVIMENTO DE PRODUTOS ODONTOLÓGICOS**. 2015. (Dissertação como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em odontologia) – Universidade Estadual da Paraíba, UEPB, Campina-Grande, 2015.

TENNERT, C. et al. Effect of photodynamic therapy (PDT) on *Enterococcus faecalis* biofilm in experimental primary and secondary endodontic infections. **BMC Oral Health**, v.14, n. 132, p.1-8, nov,2014.

TINOCO, J.M; BUTTARO, B; ZHANG, H; LISS, N; SASSONE, L; STEVENS, R. Effect of a Genetically Engineered Bacteriophage on *Enterococcus faecalis* Biofilms. **Archives of Oral Biology**, v.71, p. 80-86, nov, 2017.

XHEVDET, A. et al. The Disinfecting Efficacy of Root Canals with Laser Photodynamic Therapy. **Journal of Lasers in Medical Sciences**, v.5, n.1, p.19-26, 2014.

YADAV, R. K; TIKKU, A. P; CHANDRA, N; VERMA, P; BAINS, R; BHOOT, H. A comparative evaluation of the antimicrobial efficacy of calcium hydroxide, chlorhexidine gel, and a curcumin- based formulation against *Enterococcus faecalis*. **National Journal of Maxillofacial Surgery**, v. 9; n. 1; p. 52-55, jan/jun, 2018.

YAMAGUCHI, M. et al. Factors that cause endodontic failures in general practices in Japan. **BMC Oral Health**, v. 18, n.70, p.2-5, 2018.

AGRADECIMENTOS

A **Santíssima Trindade**, por ser sempre o meu amparo e o meu escudo, por me proporcionar a cada amanhecer o amor, a sabedoria e a serenidade que o meu coração necessita para viver bem e feliz. A minha Mãe e Rainha, **Nossa Senhora**, por ser a medianeira para a realização do meu sonho e por ser a minha luz e a minha companheira de todas as horas.

Aos meus pais, **Manoel Edinan e Maria Aparecida**, por sempre me amar e acreditar em mim e por sempre serem muito presentes em minha vida. Todo meu carinho e gratidão, amo vocês.

Ao meu esposo, **Izaú Júnior**, por sempre me apoiar, por ser o meu grande amigo e por preencher constantemente a minha vida de muito amor e carinho, te amo.

Aos meus sogros, **João e Maria**, por acreditarem em mim e por sempre terem lindas palavras para me fortalecer e me ajudar, todo meu amor e gratidão.

Aos meus familiares e amigos por estarem sempre me apoiando e me fortalecendo com palavras de carinho.

À minha dupla e irmã do coração, **Ana Karoline**, por sempre está ao meu lado, me encorajar e por sempre ser muito presente, meu coração é eternamente grato a você, todo meu amor e gratidão.

À minha amiga **Lucrécia**, por todos os dias repletos de carinho, amor, muitas risadas e por toda irmandade. Ao meu amigo, **Francisco Alisson**, pela irmandade e amizade sincera.

Às minhas amigas **Evellynne Thaynara e Raissa Aragão** e ao meu amigo **Ariely** pela amizade, amor, e irmandade que construímos em Araruna, que nossa amizade permaneça a mesma sempre.

Às amigas **Bárbara e Geovana**, minhas vizinhas de apartamento e amigas do coração, por estarem sempre presentes no meu dia a dia tornando meus dias mais alegres.

À minha orientadora querida, **Liege**, por todos os ensinamentos, paciência e por ter aceitado com tanta doçura e carinho me orientar neste trabalho.

À minha professora amada, **Eveline Angélica**, pela paciência, pelos ensinamentos e por sempre ser tão atenciosa, tornando os meus dias de estudo mais leves, tornando meu amor ainda maior pela endodontia.

À minha professora do coração, **Smyrna Ximenes**, por todos os ensinamentos, por sempre estar pronta para ensinar quando precisei, por ter me proporcionado leveza nas clínicas e por me mostrar sempre que tudo se inicia com um lindo sorriso e educação.

Aos meus professores, dos primeiros períodos até os dias de hoje, por todos os ensinamentos, dedicação e carinho.

Às minhas queridas professoras da disciplina que tanto amo (endodontia), **Eveline Angélica, Gabriela Neves, Andressa Cartaxo, Liege e Manuela**, pela dedicação e por sempre querer ensinar da melhor forma possível, gratidão por todos os ensinamentos e carinho. Toda minha gratidão à minha primeira preceptora na clínica de endodontia, professora **Lívia**, quem me ensinou pela primeira vez a acessar um dente, fazer todo procedimento com leveza e a finalizar um tratamento endodôntico de sucesso, toda minha gratidão pela sua paciência, dedicação e por despertar em mim o amor pela endodontia.

Aos meus queridos pacientes pela confiança no meu trabalho, sem vocês nada teria acontecido, gratidão.