



UNIVERSIDADE EVANGÉLICA DE GOIÁS - UNIEVANGÉLICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

Karolina Nunes Macedo

**EMPREGO DA HIBRIDIZAÇÃO DENTINÁRIA COMO
ESTRATÉGIA PARA PREVENIR O MANCHAMENTO
DENTÁRIO APÓS TERAPIA FOTODINÂMICA: UM ESTUDO
EX VIVO**

ANÁPOLIS – GO 2026

Karolina Nunes Macedo

**EMPREGO DA HIBRIDIZAÇÃO DENTINÁRIA COMO
ESTRATÉGIA PARA PREVENIR O MANCHAMENTO
DENTÁRIO APÓS TERAPIA FOTODINÂMICA: UM ESTUDO
EX VIVO**

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Odontologia da
Universidade Evangélica de Goiás –
UniEVANGÉLICA para obtenção do
Título de Mestre em Odontologia.

Área de concentração: Clínica
Odontológica

Orientador: Prof. Dr. Orlando Aguirre
Guedes

Anápolis – GO 2022

SUMÁRIO

RESUMO	5
ABSTRACT/KEYWORDS	6
1. INTRODUÇÃO	7
2. REFERENCIAL TEÓRICO	10
3. PROPOSIÇÃO	24
4. MATERIAL E MÉTODOS	25
5. RESULTADOS	30
6. DISCUSSÃO	32
7. CONCLUSÃO	36
REFERÊNCIAS	37



FOLHA DE APROVAÇÃO

EMPREGO DA HIBRIDIZAÇÃO DENTINÁRIA COMO ESTRATÉGIA PARA PREVENIR O MANCHAMENTO DENTÁRIO APÓS TERAPIA FOTODINÂMICA: UM ESTUDO EX VIVO

Karolina Nunes Macedo

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-graduação
em Odontologia - PPGO da
Universidade Evangélica de
Goiás

- UniEVANGÉLICA como
requisito parcial à obtenção do
grau de MESTRE.

Aprovado em 27 de fevereiro de 2026.

Linha de Pesquisa: Técnicas, materiais e substâncias de aplicação clínica e
laboratorial em odontologia

Banca examinadora

Documento assinado digitalmente
 ORLANDO AGUIRRE GUEDES
Data: 27/02/2026 16:51:47-0300
Verifique em <https://validar.br.gov.br>

Prof. Dr. Orlando Aguirre Guedes

Documento assinado digitalmente
 CYNTHIA RODRIGUES DE ARAÚJO ESTRELA
Data: 27/02/2026 17:47:49-0300
Verifique em <https://validar.br.gov.br>

Profa. Dra. Cynthia Rodrigues de Araújo Estrela
Examinadora Interna / UniEVANGÉLICA

Documento assinado digitalmente
 LUCIANA CARVALHO BOGGIAN
Data: 02/03/2026 15:47:04-0300
Verifique em <https://validar.br.gov.br>

Profa. Dra. Luciana Carvalho Boggian
Examinadora Externa / UniEVANGÉLICA

M141

Macedo, Karolina Nunes.

*Emprego da hibridização dentinária como
estratégia para prevenir o
manchamento dentário após terapia fotodinâmica:
um estudo ex vivo /
Karolina Nunes Macedo – Anápolis: Universidade
Evangélica de Goiás –
UniEvangélica, 2026.*

39 p.; il.

Orientador: Prof. Dr. Orlando Aguirre Guedes.

Dissertação (mestrado) – Programa de pós-graduação em
Odontologia – Universidade Evangélica de Goiás – UniEvangélica, 2026.

Catálogo na Fonte

Elaborado por Rosilene Monteiro da Silva CRB1/3038

RESUMO

A terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) tem sido amplamente investigada como adjuvante no controle microbiológico em Endodontia; entretanto, o potencial de manchamento dentário associado ao uso de fotossensibilizadores permanece uma preocupação clínica relevante, especialmente em áreas estéticas. O presente estudo ex vivo teve como objetivo avaliar a influência da hibridização dentinária na prevenção do manchamento dentário após a aPDT com azul de toluidina. Quarenta e cinco segmentos coronários de incisivos bovinos foram distribuídos aleatoriamente em três grupos (n=15): controle, azul de toluidina com hibridização e azul de toluidina sem hibridização. A alteração de cor (ΔE) foi mensurada por espectrofotometria (Vita Easysshade) nos períodos imediato, 30 e 60 dias. A normalidade foi avaliada pelo teste de Shapiro–Wilk. Como os dados apresentaram distribuição não normal, foram aplicados os testes de Kruskal-Wallis e Dunn-Bonferroni para comparações intergrupos e teste de Friedman para comparação intragrupo ($\alpha=5\%$). Diferenças estatisticamente significativas entre os grupos foram observadas em todos os períodos avaliados ($p<0,05$). O grupo azul de toluidina sem hibridização apresentou os maiores valores medianos de ΔE ao longo do tempo, enquanto o grupo com hibridização demonstrou redução significativa da alteração cromática após 30 e 60 dias ($p<0,05$). Em todos os grupos submetidos à aPDT, os valores de ΔE foram superiores ao limiar clínico de perceptibilidade ($\Delta E \geq 3,3$). Conclui-se que a hibridização dentinária reduz, mas não impede completamente, o manchamento dentário após a terapia fotodinâmica com azul de toluidina, configurando-se como estratégia auxiliar para minimizar alterações cromáticas em situações clínicas de risco estético.

PALAVRAS-CHAVE: Terapia fotodinâmica; Descoloração dentária; Hibridização dentinária.

ABSTRACT

To evaluate the effectiveness of dentin hybridization as a strategy to prevent tooth discoloration after antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) using toluidine blue in an ex vivo model. Forty-five bovine incisor crowns were randomly allocated into three groups (n = 15): Control; aPDT with dentin hybridization; and aPDT without hybridization. In the hybridized group, dentin was conditioned with 37% phosphoric acid followed by application of OptiBond FL adhesive system prior to photodynamic therapy. Toluidine blue 0.2% was applied for 5 minutes and activated with a 660-nm LED (40 mW; 120 J/cm²) for 120 seconds. Color measurements were performed at baseline (T0), immediately after the procedure (T1), and at 30 (T2) and 60 days (T3) using a Vita Easyshade spectrophotometer. Color change (ΔE) was calculated based on CIE Lab coordinates. Data normality was assessed with Shapiro–Wilk test. Intergroup comparisons were performed using Kruskal–Wallis and Dunn–Bonferroni tests, and intragroup comparisons using Friedman test ($\alpha = 5\%$). Significant differences were observed among groups at all evaluation periods ($p < 0.05$). Immediately after treatment, both aPDT groups showed higher ΔE values compared with control. At 30 and 60 days, the non-hybridized group maintained significantly higher discoloration values, whereas the hybridized group demonstrated reduced ΔE over time ($p < 0.05$). The control group showed no significant color variation across periods ($p > 0.05$). Dentin hybridization significantly reduced tooth discoloration after aPDT with toluidine blue, suggesting that immediate dentin sealing may be an effective strategy to minimize aesthetic complications associated with photodynamic therapy in clinical practice.

KEYWORDS: Antimicrobial photodynamic therapy; Tooth discoloration; Immediate dentin sealing.

1. INTRODUÇÃO

O controle microbiano eficaz do sistema de canais radiculares continua sendo um dos principais desafios da endodontia contemporânea. Apesar dos avanços no preparo químico-mecânico e na irrigação intracanal, microrganismos resistentes podem persistir na dentina remanescente e nos túbulos dentinários, contribuindo para o insucesso terapêutico (Afrasiabi & Chiniforush, 2023). Nesse cenário, a terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) tem sido proposta como estratégia adjuvante promissora, com potencial de ampliar a desinfecção intracanal sem induzir resistência bacteriana (Alves *et al.*, 2019).

A terapia fotodinâmica fundamenta-se na interação entre um fotossensibilizador (PS), uma fonte de luz com comprimento de onda específico e oxigênio molecular, resultando na formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) capazes de promover dano oxidativo às células-alvo (Entezari *et al.*, 2022). A ação localizada, o baixo risco de toxicidade sistêmica e a capacidade de atuar em biofilmes estruturados tornam a aPDT particularmente relevante no ambiente endodôntico. Além disso, novas formulações de fotossensibilizadores vêm sendo investigadas com propriedades multifuncionais, como potencial clareador associado à atividade antimicrobiana (Zhang *et al.*, 2022).

Entretanto, apesar de seus benefícios biológicos, a aplicação clínica da aPDT pode estar associada a um efeito adverso estético relevante: o manchamento dentário. Alterações cromáticas após terapias endodônticas são frequentemente relatadas na literatura (Marciano *et al.*, 2013) e representam um problema clínico significativo, sobretudo em dentes anteriores. O impacto estético negativo pode comprometer a satisfação do paciente e exigir intervenções adicionais, como clareamento interno ou reabilitação restauradora (Kohli *et al.*, 2015).

O escurecimento pós-terapia endodôntica pode estar relacionado a múltiplos fatores, incluindo necrose pulpar, traumatismos dentários,

remanescentes teciduais e materiais utilizados no interior da câmara pulpar (Suliman, 2005; Ahmed & Abbott, 2012; Krastl *et al.*, 2013). No contexto da aPDT, o potencial cromogênico está diretamente associado à natureza química dos fotossensibilizadores, muitos dos quais apresentam estrutura aromática conjugada e alta afinidade por substratos orgânicos, favorecendo sua retenção na matriz dentinária.

A dentina, por sua estrutura tubular e composição rica em colágeno, apresenta elevada permeabilidade, especialmente após procedimentos endodônticos que removem o teto da câmara pulpar e expõem amplamente os túbulos dentinários. Essa condição facilita a difusão e adsorção de moléculas pigmentadas na matriz dentinária, podendo resultar em alteração óptica significativa. Mesmo quando o fotossensibilizador é removido da superfície coronária, sua penetração intratubular pode manter pigmentos retidos na estrutura dentária.

Diante dessa problemática, estratégias que reduzam a permeabilidade dentinária e limitem a difusão de agentes cromogênicos tornam-se clinicamente relevantes. A hibridização dentinária, obtida por meio da aplicação de sistemas adesivos que promovem infiltração de monômeros resinosos na matriz colagenosa desmineralizada, resulta na formação de uma camada híbrida e no selamento dos túbulos dentinários. Essa técnica, amplamente utilizada na odontologia restauradora, pode atuar como barreira física contra a penetração de pigmentos.

O conceito de selamento dentinário imediato, descrito por Magne *et al.* (2007), demonstra que a aplicação precoce de sistemas adesivos melhora a integridade interfacial, reduz a microinfiltração e promove estabilidade da união adesiva. Estudos adicionais mostraram benefícios relacionados à diminuição de formação de gaps, controle de microinfiltração bacteriana e melhora da resistência de união (Qanungo *et al.*, 2016; Khim *et al.*, 2018). Embora tais vantagens estejam bem estabelecidas no contexto restaurador, ainda são escassas as investigações que avaliam a hibridização dentinária como estratégia preventiva contra o manchamento decorrente da terapia fotodinâmica.

Considerando que a estética constitui um dos pilares da odontologia contemporânea, torna-se essencial que protocolos terapêuticos endodônticos, especialmente aqueles aplicados em áreas estéticas, sejam avaliados não apenas sob o prisma biológico e antimicrobiano, mas também quanto ao seu impacto cromático. Embora a remoção criteriosa do fotossensibilizador seja recomendada, a simples limpeza da câmara pulpar pode não ser suficiente para impedir a incorporação de pigmentos na dentina.

Adicionalmente, há escassez de estudos que avaliem o potencial de manchamento de fotossensibilizadores recentemente introduzidos no mercado, bem como a eficácia de barreiras adesivas como medida preventiva. A ausência de evidência consolidada justifica a investigação sistemática dessa associação. Dessa forma, o presente estudo ex vivo propôs avaliar o emprego da hibridização dentinária como estratégia para prevenir o manchamento dentário após terapia fotodinâmica. A hipótese nula testada foi a de que a aplicação do sistema adesivo não reduziria significativamente a alteração cromática induzida pelo protocolo fotodinâmico.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

Dentre as várias pesquisas realizadas com esta temática, foram empregadas na revisão da literatura aquelas que buscaram discutir o problema proposto.

Kuzekanani e Walsh (2009) investigaram as mudanças ópticas em pacientes com descoloração dental causada por tetraciclina, utilizando um método de análise digital objetiva. O estudo incluiu 23 pacientes adultos atendidos na Clínica de Odontologia para Necessidades Especiais da Universidade de Queensland, totalizando 90 incisivos superiores analisados. Foram excluídos dentes com coroas, facetas ou restaurações na face labial. A confirmação da presença de tetraciclina foi realizada por meio de irradiação com luz ultravioleta, observando-se fluorescência amarelo-esverdeada característica. O protocolo clínico foi padronizado e executado por um único operador. Inicialmente, os dentes anteriores foram isolados, e realizou-se profilaxia com pedra-pomes para remoção de manchas externas, seguida do registro fotográfico inicial. Os tecidos gengivais e áreas cervicais expostas foram protegidos com resina composta fluida. Em seguida, aplicou-se um gel clareador à base de rodamina na superfície labial dos dentes. O tratamento foi realizado com laser KTP em modo contínuo, por 30 segundos em cada dente, com potência entre 0,8 e 1,0 W, movimentando-se a fibra óptica em varredura sobre a superfície dental. Após cada aplicação, o gel era removido, os dentes enxaguados e um novo ciclo iniciado, totalizando quatro ciclos por sessão e 120 segundos de exposição ao laser por dente. A sessão completa durava entre 60 e 70 minutos, com o gel permanecendo nos dentes por cerca de 24 minutos. Durante todo o procedimento, os dentes foram mantidos hidratados para evitar alterações de cor relacionadas à desidratação. Ao final, removeu-se o material protetor e aplicou-se gel de fluoreto de sódio neutro, com o objetivo de aumentar a resistência do esmalte à desmineralização, sem interferir na cor dental. Um novo registro fotográfico foi então realizado. A análise das imagens pré e pós-

tratamento foi conduzida por um investigador independente, sem conhecimento dos procedimentos realizados, utilizando um método digital de avaliação de cor. Também foi feita uma avaliação clínica adicional com luz ultravioleta em ambiente escuro, registrando-se as emissões fluorescentes antes e após o tratamento. Os resultados demonstraram melhora visível na tonalidade dos dentes após o uso do laser KTP, com redução da presença de tetraciclina confirmada pela diminuição da fluorescência. Estatisticamente, os dados apresentaram distribuição normal, e houve forte correlação linear entre os valores antes e depois do tratamento. A análise indicou melhora geral dos dentes, com 78% apresentando resposta positiva ao clareamento. Observou-se aumento significativo nos valores médios de cor, passando de 116 ± 26 para 141 ± 27 ($p < 0,001$), confirmando a eficácia do tratamento proposto.

Figueiredo *et al.* (2014) avaliaram se a terapia fotodinâmica (PDT), utilizando azul de metileno (MB) e azul de toluidina (TB) como fotossensibilizadores, poderia causar descoloração das estruturas dentárias, bem como se essa alteração poderia ser revertida após a remoção dos corantes. O estudo utilizou 40 dentes humanos unirradiculares recém-extraídos por motivos ortodônticos, que foram previamente limpos, esterilizados e armazenados em solução salina. Os dentes passaram por preparo endodôntico padronizado, incluindo abertura coronária, limpeza e modelagem dos canais com técnica crown-down e irrigação com hipoclorito de sódio a 2,5%. Após o preparo, foi aplicado EDTA a 17% por três minutos para remoção da camada de biofilme, seguido de irrigação com solução salina e secagem dos canais. Para padronizar a análise de cor, os dentes foram posicionados em um suporte de gesso e moldados com silicone, permitindo medições consistentes na face vestibular. A cor dental foi mensurada com espectrofotômetro, utilizando o sistema CIELAB, que avalia luminosidade (L^*) e variações de cor nos eixos vermelho-verde (a^*) e amarelo-azul (b^*). As medições foram realizadas em três momentos: antes da PDT (T_0), imediatamente após o procedimento (T_1) e após a remoção do

fotossensibilizador (T2). A variação total de cor (ΔE) foi calculada a partir dessas coordenadas. As amostras foram divididas em quatro grupos ($n=10$), de acordo com o tipo de corante e o tempo de pré-irradiação: MB5, MB10, TB5 e TB10. Os fotossensibilizadores, em concentração de 0,01%, foram inseridos nos canais e mantidos por 5 ou 10 minutos antes da irradiação com laser de diodo (660 nm) por 3 minutos. Após a PDT, realizou-se nova leitura de cor. Em seguida, os corantes foram removidos com creme Endo-PTC associado à irrigação com hipoclorito de sódio, e uma terceira medição foi realizada. Os resultados mostraram que, imediatamente após a PDT (T1), todos os grupos apresentaram redução nos valores de luminosidade (ΔL negativo), indicando escurecimento dental, sendo mais acentuado no grupo TB10. No entanto, diferença estatística significativa foi observada apenas nesse grupo. A variação total de cor (ΔE) após a PDT foi pequena (entre 2,33 e 2,76), sem diferença significativa entre os grupos. Após a remoção dos fotossensibilizadores (T2), houve aumento nos valores de luminosidade (ΔL positivo) em todos os grupos, indicando recuperação da cor dental. Essa melhora foi estatisticamente significativa em todos os grupos na comparação entre T1 e T2. Além disso, quando comparados os valores iniciais (T0) com os finais (T2), observou-se que os dentes apresentaram tonalidade mais próxima do branco, com diferença significativa nos grupos MB10 e TB5. De modo geral, não houve diferenças estatísticas relevantes entre os grupos na análise intergrupos. Os valores de ΔE após a remoção dos corantes variaram entre 2,18 e 3,02. Os resultados indicam que a PDT pode causar escurecimento temporário dos dentes, mas essa alteração é revertida após a remoção adequada dos fotossensibilizadores, restabelecendo a cor dental próxima à condição inicial.

Mohammad *et al.* (2017) avaliaram a eficácia da ativação ultrassônica do medicamento fotossensibilizador (FS) Foscan na eliminação de patógenos endodônticos do sistema de canais radiculares. A concentração bactericida mínima de “Foscan” foi determinada utilizando os métodos de difusão em disco e diluição em caldo. Foram utilizados 48

pré-molares de raiz única, extraídos devido à patologia periapical. Após a abertura do acesso, a primeira amostra microbiana foi coletada. Os dentes foram divididos aleatoriamente em quatro grupos: Grupo 1: Desbridamento químico-mecânico (CMD), Grupo 2: CMD com irrigação ultrassônica passiva (CMD + PUI), Grupo 3: CMD com terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) e Grupo 4: CMD com aPDT ativada por ultrassom. Após os protocolos antimicrobianos, a segunda amostra microbiológica foi coletada. As amostras foram analisadas por meio de reação em cadeia da polimerase multiplex para avaliar a eficácia de quatro protocolos antimicrobianos em *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis* e *Treponema denticola*. Teste de postos sinalizados de Wilcoxon e teste U de Mann-Whitney com nível de significância $P < 0,05$, usando o software IBM SPSS Statistics versão 20. A concentração de 3,125 µg/ml de Foscan foi selecionada para análise antimicrobiana. A prevalência de *Treponema denticola*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella intermedia* foi de 79,17%, 70,84%, 70,83% e 58,33%, respectivamente. O grupo 4 apresentou a maior redução bacteriana, com 99,51%, seguido pelo grupo 1, que mostrou uma redução de 97,35%.

Alves *et al.* (2019) avaliaram o efeito da terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT), utilizando laser InGaAlP (660 nm) associado ao azul de metileno a 0,005%, na redução de *Streptococcus mutans* em lesões de cárie, além de investigar o desempenho clínico das restaurações realizadas após o tratamento. O estudo foi um ensaio clínico randomizado do tipo boca dividida, envolvendo 20 crianças com lesões de cárie ativas em molares decíduos homólogos (classe I). As variáveis analisadas incluíram a contagem de unidades formadoras de colônias (CFUs) de *S. mutans* em três momentos: antes da remoção da cárie, após a remoção seletiva e após a aplicação da aPDT. Também foi realizada avaliação clínica das restaurações, com e sem o uso da aPDT, imediatamente após o procedimento e após 6 meses, utilizando critérios modificados da USPHS (Alpha, Bravo e Charlie). O estudo foi aprovado

por comitê de ética, e os responsáveis pelas crianças assinaram o termo de consentimento. A amostra final foi composta por 20 crianças (13 meninas e 7 meninos), selecionadas a partir de um universo inicial de 3.265 indivíduos. Todas receberam profilaxia e orientações de higiene bucal antes dos procedimentos. A coleta microbiológica foi feita em três etapas, com amostras de dentina obtidas antes e após a remoção da cárie e após a aPDT. A remoção seletiva da cárie foi realizada com instrumentos rotatórios específicos, seguida de proteção pulpar indireta e restauração com cimento de ionômero de vidro e resina composta. Os resultados microbiológicos mostraram que os dados apresentaram distribuição normal, sendo analisados por ANOVA de medidas repetidas com ajuste de Greenhouse-Geisser. Observou-se efeito significativo do tratamento na redução de microrganismos ($p = 0,004$). A remoção seletiva da cárie promoveu redução de 76,4% nos níveis de *S. mutans* ($p = 0,04$), enquanto a associação com a aPDT aumentou essa redução para 92,6% ($p = 0,01$), indicando maior eficácia quando o laser foi utilizado como complemento. Em relação às restaurações, não houve diferença significativa entre os grupos com e sem aPDT em nenhum dos critérios avaliados, como retenção, adaptação marginal, descoloração, presença de cárie secundária e cor. Após 6 meses, apenas duas restaurações apresentaram adaptação marginal inadequada, uma em cada grupo. De modo geral, os resultados indicam que a aPDT potencializa a redução de *S. mutans* quando associada à remoção da cárie, sem comprometer o desempenho clínico das restaurações a curto prazo.

Afrasiabi *et al.* (2020) avaliaram os efeitos da terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) utilizando o fotossensibilizador CHL-PC na redução de *Streptococcus mutans* em biofilmes cariogênicos formados sobre lâminas de esmalte. O estudo utilizou cepas de *S. mutans* cultivadas em meio apropriado até atingir alta concentração bacteriana, e o CHL-PC foi preparado em diferentes concentrações para análise. A ativação do fotossensibilizador foi realizada com laser de diodo de 635 nm, com potência de 220 mW e densidade de energia de 103,12 J/cm²,

simulando condições clínicas controladas. Para reproduzir o ambiente bucal, foram utilizadas 63 lâminas de esmalte humano previamente preparadas, esterilizadas e expostas à saliva humana, permitindo a formação de biofilme bacteriano. Após 96 horas de crescimento, os biofilmes foram submetidos aos diferentes protocolos de tratamento. Inicialmente, determinou-se a concentração inibitória mínima (CIM) do CHL-PC contra células planctônicas, sendo estabelecida em 625 µg/mL, concentração capaz de reduzir significativamente o crescimento bacteriano. A atividade antibiofilme da aPDT foi avaliada por meio de diferentes métodos, incluindo coloração com cristal violeta, microscopia eletrônica de varredura (MEV) e análise da atividade metabólica celular (ensaio XTT). Os resultados mostraram que a eficácia da aPDT foi dependente da concentração do fotossensibilizador. Em biofilmes pré-formados, apenas a maior concentração testada (5000 µg/mL) associada ao laser apresentou efeito bactericida significativo, com redução de aproximadamente 36,9% no crescimento bacteriano ($p < 0,05$). Concentrações menores não demonstraram redução significativa. Em comparação, a clorexidina a 2% apresentou maior eficácia, reduzindo cerca de 63% das bactérias viáveis no biofilme. As análises por MEV confirmaram esses achados, evidenciando redução da densidade bacteriana apenas nas maiores concentrações de CHL-PC, enquanto a clorexidina promoveu redução mais expressiva. A avaliação da atividade metabólica revelou redução significativa (77%) no grupo tratado com aPDT em comparação aos controles ($p < 0,05$), indicando comprometimento funcional das células bacterianas. Além disso, foi observado aumento significativo na produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), cerca de seis vezes maior no grupo tratado, sugerindo que o mecanismo de ação da aPDT está relacionado ao estresse oxidativo induzido. Quanto à segurança, o CHL-PC isoladamente não apresentou redução significativa na viabilidade celular, embora tenha sido observada diminuição progressiva da sobrevivência com o aumento da concentração. Em relação à alteração de cor dental, mudanças

perceptíveis foram identificadas em algumas concentrações, sendo mais acentuadas nas maiores doses, enquanto a clorexidina também apresentou alteração de cor relevante. De modo geral, os resultados indicam que a aPDT mediada por CHL-PC apresenta efeito antimicrobiano contra *S. mutans*, especialmente em concentrações mais elevadas, porém sua eficácia em biofilmes maduros é limitada quando comparada à clorexidina. Ainda assim, a técnica demonstra potencial como abordagem complementar no controle microbiológico, com ação associada à geração de espécies reativas de oxigênio.

Ozkocak *et al.* (2020) avaliaram a eficácia dos agentes utilizados no clareamento de dentes escurecidos por TAP (antibiótico tri-antibiótico), utilizando um software de processamento de imagens. O estudo incluiu 200 dentes incisivos superiores humanos extraídos por razões periodontais. A cor inicial dos dentes foi avaliada usando um espectrofotômetro digital. Após a preparação dos canais radiculares e irrigação com NaOCl e EDTA, foi aplicado o antibiótico TAP (metronidazol, ciprofloxacino e minociclina), mantendo os dentes em um ambiente úmido por 21 dias. Após a remoção do TAP e obturação dos canais, os dentes foram novamente avaliados. Os dentes foram distribuídos em cinco grupos de clareamento: 1. Controle Negativo - Algodão umedecido com água destilada. 2. Perborato de Sódio - Misturado com água destilada. 3. Opalescence Endo - Gel de peróxido de hidrogênio a 35%. 4. Endoperox - Peróxido de carbamida a 100%. 5. Laser Biolase LaserWhite20 - Peróxido de hidrogênio a 38% com aplicação de laser. Os dentes foram avaliados após 3 e 7 dias com um software de processamento de imagens (MATLAB) para calcular as mudanças de cor com base no espaço de cor CIE Lab. O ΔE^* foi calculado para medir a diferença total de cor, representando a eficácia de cada agente de clareamento. A análise de variância (ANOVA) foi usada para avaliar os efeitos dos grupos nos resultados, com ajuste de Bonferroni para comparações múltiplas. Valores de *p* menores que 0,05 foram considerados significativos. Os dados são expressos como média $\pm$ desvio padrão (DP); Análise dos

valores Lab são Grupo Controle: Não houve diferença estatística entre os valores nos dias 3 e 7. ΔL (Luminosidade): Houve aumento nos valores ao longo do tempo, com diferença significativa entre os dias de medição em todos os grupos de clareamento. No terceiro dia, o grupo Biolase diferiu dos grupos de Perborato de Sódio e Endoperox, mas no sétimo dia não houve diferença entre os grupos de clareamento. a (Tonalidade vermelho-verde): Houve uma diferença significativa entre os dias 3 e 7. No terceiro dia, houve diferença estatística entre Biolase e Perborato de Sódio. No sétimo dia, não houve diferença entre os grupos. b (Saturação amarelo-azul): No terceiro dia, não houve diferença entre os grupos. No sétimo dia, houve diferença entre Perborato de Sódio e os grupos Opalescence e Endoperox. O único grupo com diferença entre os dias de medição foi o Perborato de Sódio. Valores ΔE (Mudança total de cor): No grupo controle, não houve diferença significativa entre os dias 3 e 7. No entanto, todos os grupos de clareamento foram mais eficazes que o controle no sétimo dia ($p < 0,05$). Todos os protocolos de clareamento apresentaram maior eficácia no sétimo dia ($p < 0,05$). No terceiro dia, a eficácia de clareamento foi Biolase $\geq$ Opalescence Endo $\geq$ Endoperox $\geq$ Perborato de Sódio, sem diferença estatística entre os procedimentos. No sétimo dia, a eficácia foi Biolase $\geq$ Endoperox $\geq$ Opalescence Endo $\geq$ Perborato de Sódio, com o Biolase sendo superior ao Perborato de Sódio ($p < 0,05$), mas sem diferenças significativas entre Biolase, Endoperox e Opalescence Endo. O Biolase mostrou maior brilho nos dias 3 e 7, e o Endoperox foi tão eficaz quanto o Biolase no sétimo dia.

Papadopoulos *et al.* (2021) investigaram a eficácia de tratamentos de clareamento intracoronário assistidos por laser Er,Cr em dentes tratados endodonticamente, utilizando diferentes configurações de potência, e compará-los com uma técnica convencional. A novidade do estudo está no uso da irradiação a laser Er,Cr para o clareamento intracoronário de dentes não vitais. Um total de 24 caninos humanos saudáveis foram extraídos por razões periodontais e armazenados em solução de cloramina T a 0,5% a 6 °C por até 3 meses. Os dentes

descoloridos foram excluídos do estudo. Os pacientes deram consentimento informado, e o experimento foi realizado de acordo com as normas éticas da Universidade Aristóteles de Tessalônica e da Declaração de Helsinque. Após a limpeza dos resíduos periodontais, os dentes foram armazenados em saliva artificial a 37 °C. Os dentes foram divididos aleatoriamente em três grupos experimentais para um tratamento clareador, sendo um grupo tratado com gel clareador violeta a 35% de H₂O₂ e os outros dois com laser Er,Cr, variando a potência. O tratamento foi repetido após 7 dias para todos os grupos. O clareamento foi avaliado usando um espectrofotômetro em três momentos: antes da 1ª sessão, antes da 2ª sessão (7 dias) e após uma semana da 2ª sessão (14 dias), para garantir a estabilização da cor. A análise estatística foi realizada com ANOVA e o teste de Bonferroni, considerando um nível de significância de 0,05. Os resultados da ANOVA de medidas repetidas mostraram uma tendência de não haver diferença significativa na mudança de cor (ΔE) entre os três grupos de tratamento clareador ($p = 0,063$). No entanto, as comparações entre grupos indicaram que o grupo tratado com laser a 2,5 W apresentou uma mudança de cor (ΔE) significativamente maior do que a técnica convencional após 7 dias. O número de aplicações do agente clareador também teve um efeito significativo na mudança de cor (ΔE) ($p < 0,001$), e foi detectada uma interação significativa entre o grupo de tratamento clareador e o número de aplicações ($p = 0,026$). Os valores médios e desvios padrão da mudança de cor dos dentes (ΔE) para cada grupo experimental após 7 dias das duas sessões de clareamento foram apresentados em uma tabela. Especificamente, a segunda sessão de clareamento aumentou significativamente ΔE em todos os grupos experimentais, variando de 28,8% a 45,6%. Após a primeira sessão, o grupo Laser 2,5 W mostrou ΔE significativamente maior ($p < 0,05$) em comparação aos outros dois grupos, que não apresentaram diferenças significativas entre si ($p = 0,954$). Após a segunda sessão, não houve diferenças significativas entre os grupos experimentais ($p > 0,05$). Resultados semelhantes foram

observados para os valores de ΔL^* , Δa^* e Δb^* . A mudança de cor dos dentes excedeu os limites de perceptibilidade ($\Delta E > 1,2$) e aceitabilidade ($\Delta E > 2,7$) em todos os grupos experimentais após ambas as sessões de clareamento.

Min *et al.* (2021) investigaram o potencial de pigmentação causado por bebidas ácidas infantis comercializadas na Coreia do Sul, além de avaliar a eficácia da tecnologia QLF (quantitative light-induced fluorescence) no monitoramento dessas alterações. O estudo incluiu seis bebidas infantis como grupos experimentais e a Coca-Cola como controle. Foram utilizadas 84 amostras de esmalte bovino, preparadas e padronizadas quanto ao tamanho, polimento e área de exposição, com aplicação de verniz ácido-resistente para delimitar a região de análise. Para simular condições clínicas, foi aplicado um modelo de ciclo de pH durante 8 dias, no qual as amostras eram imersas nas bebidas três vezes ao dia, intercaladas com exposição a uma solução remineralizante composta por saliva artificial e humana. Esse protocolo buscou reproduzir as variações de desmineralização e remineralização que ocorrem na cavidade bucal. As superfícies dentárias foram analisadas diariamente por meio do sistema QLF-D, que permite a obtenção simultânea de imagens em luz branca e fluorescência. A análise de cor foi realizada pelo sistema CIELAB (L^* , a^* , b^*), comparando os valores antes e após o ciclo de pH, além do cálculo da variação total de cor (ΔE). Também foram avaliadas a perda de fluorescência (ΔF), associada à desmineralização, e a rugosidade superficial (R_a), medida por interferometria de luz branca. As análises estatísticas incluíram testes paramétricos e não paramétricos, com nível de significância de 5%. Os resultados mostraram que houve diferença significativa entre as bebidas quanto ao potencial de pigmentação ($p < 0,001$). A Coca-Cola apresentou o maior contraste de cor em relação aos dentes saudáveis, enquanto o Capri-Sun apresentou o menor. Após o ciclo de pH, observou-se alteração significativa nos parâmetros de cor na maioria dos grupos, indicando que as bebidas influenciam a tonalidade dental. A maior alteração de cor (ΔE) foi

observada no grupo Koal-Koal Koala (KKK), seguido pela Coca-Cola, enquanto as demais bebidas apresentaram mudanças mais discretas. Em relação à fluorescência, o grupo KKK também apresentou a maior perda (ΔF), sugerindo maior grau de desmineralização, seguido pelo grupo Qoo. Quanto à rugosidade superficial, o grupo Chorongi apresentou os maiores valores, indicando maior alteração na textura do esmalte. Foi observada correlação negativa significativa entre ΔE e ΔF , indicando que maiores perdas minerais estão associadas a alterações de cor. Também houve correlação entre fluorescência e rugosidade, mas não entre cor e rugosidade. De modo geral, os resultados indicam que bebidas ácidas infantis podem causar alterações na cor, na estrutura e na fluorescência do esmalte dental, sendo a tecnologia QLF uma ferramenta eficaz para monitorar essas mudanças.

Entezari *et al.* (2022) avaliaram o efeito da terapia fotodinâmica (PDT) utilizando curcumina e azul de metileno (MB) como fotossensibilizadores na redução de *Staphylococcus aureus*. O estudo experimental *in vitro* foi conduzido com cepas padronizadas de *S. aureus*, ajustadas à concentração de 0,5 McFarland ($1,5 \times 10^8$ CFUs/mL), confirmada por espectrofotometria. As amostras foram cultivadas em meio ágar Mueller-Hinton, preparado e esterilizado conforme protocolo laboratorial. Foram utilizados dois tipos de laser: um laser de diodo de 660 nm (100 mW) associado ao azul de metileno a 0,02%, e um laser azul de 445 nm (200 mW) associado à curcumina a 10,2%. As amostras foram distribuídas em nove grupos experimentais (n=11), incluindo combinações de laser e fotossensibilizadores, grupos com fotossensibilizadores sem irradiação, além de controles positivo (com bactéria) e negativo (sem bactéria), e um grupo com clorexidina (CHX). Após a aplicação dos tratamentos, as amostras foram incubadas por 24 horas, e a contagem bacteriana foi realizada em CFUs/mL. A análise estatística foi conduzida com testes não paramétricos (Kruskal-Wallis e Dunn), adotando nível de significância de 5%. Os resultados demonstraram que todos os grupos tratados com PDT apresentaram redução significativa na contagem

bacteriana em comparação ao controle positivo ($p < 0,0001$). Entre os protocolos testados, o mais eficaz foi o uso do laser de 660 nm por 100 segundos associado ao azul de metileno, que apresentou a menor contagem de colônias entre os grupos experimentais. Em contraste, o grupo tratado apenas com curcumina sem irradiação apresentou os maiores valores de CFUs entre os grupos experimentais, evidenciando baixa eficácia quando o fotossensibilizador não é ativado pelo laser. Observou-se também que o aumento do tempo de irradiação potencializou o efeito antimicrobiano, indicando relação direta entre dose de energia e eficácia do tratamento. A clorexidina apresentou eliminação completa das colônias, assim como o controle negativo, enquanto o controle positivo apresentou a maior carga bacteriana. De modo geral, os resultados indicam que a PDT é eficaz na redução de *S. aureus*, especialmente quando se utiliza azul de metileno associado a laser de 660 nm por maior tempo de exposição. A curcumina também demonstrou efeito antimicrobiano quando associada à luz, porém com menor eficácia em comparação ao azul de metileno.

Afrasiabi e Chiniforush (2023) avaliaram a eficácia da terapia fotodinâmica utilizando riboflavina associada a laser de diodo azul na redução de *Enterococcus faecalis*, tanto em forma planctônica quanto em biofilme, além de investigar o potencial de alteração de cor dental causado pelo fotossensibilizador. O estudo utilizou cepas de *E. faecalis* cultivadas em meio BHI, com concentração padronizada de 10^6 CFU/mL. A riboflavina foi testada em diferentes concentrações (6,25 a 100 μ M), e a irradiação foi realizada com laser de 450 nm em potências variando de 200 a 500 mW. Os experimentos foram divididos em grupos: riboflavina isolada, laser isolado, combinação de ambos (PDT), além de controles com hipoclorito de sódio (NaOCl) e solução salina. Após os tratamentos, as amostras foram cultivadas e analisadas quanto à contagem bacteriana. Também foram formados biofilmes em placas de microtitulação para avaliação da ação antibiofilme, e dentes humanos extraídos foram utilizados para análise de alteração de cor por espectrofotometria (sistema

CIE Lab). Os resultados mostraram que a riboflavina isoladamente apresentou baixa eficácia antimicrobiana, sem redução significativa em relação ao controle. Da mesma forma, o laser isolado também não demonstrou efeito antibacteriano relevante, independentemente da potência utilizada. No entanto, a combinação de riboflavina com laser (PDT) promoveu redução significativa do crescimento bacteriano, com efeito dependente tanto da concentração do fotossensibilizador quanto da dose de energia aplicada. Os melhores resultados foram observados com riboflavina a 100 µM associada à maior densidade de energia (30 J/cm²), apresentando maior redução de *E. faecalis* em comparação aos demais protocolos de PDT. Em relação aos biofilmes, também foi observado efeito dose-dependente, com maior inibição nas condições de maior concentração e energia. Apesar disso, o NaOCl a 5,25% foi o tratamento mais eficaz, promovendo eliminação praticamente completa das bactérias e maior destruição do biofilme. Quanto à alteração de cor dental, a riboflavina apresentou mudanças leves ou perceptíveis na maioria das concentrações ($\Delta E < 3,7$), sendo consideradas clinicamente aceitáveis. Entretanto, na concentração mais alta (100 µM), foi observada mudança significativa de cor ($\Delta E = 7,70$), indicando potencial efeito estético adverso em concentrações elevadas. De modo geral, os resultados indicam que a terapia fotodinâmica com riboflavina associada ao laser azul é eficaz na redução de *E. faecalis*, especialmente em maiores concentrações e doses de energia, embora ainda seja inferior ao NaOCl em termos de ação antimicrobiana.

Şahin *et al.* (2024) investigaram o potencial de descoloração dental causado por diferentes fotossensibilizadores utilizados na terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT), incluindo azul de toluidina (TB), azul de metileno (MB), ftalocianina (Pc) e ftalocianina de zinco (TM-ZnPc). O estudo *in vitro* utilizou 75 dentes humanos unirradiculares, extraídos por motivos periodontais, devidamente preparados, limpos e submetidos a tratamento endodôntico padronizado, com irrigação utilizando hipoclorito de sódio e EDTA. As amostras foram distribuídas aleatoriamente em

grupos experimentais, incluindo um grupo controle negativo (sem fotossensibilizador) e grupos com aplicação dos diferentes corantes. Após um tempo de pré-irradiação de 5 minutos, foi realizada a fotoativação com LED de 630 nm por 60 segundos. Em seguida, os canais foram irrigados para remoção dos resíduos dos fotossensibilizadores. A avaliação da cor dental foi realizada com espectrofotômetro, utilizando o sistema CIE Lab*, em cinco momentos: antes do tratamento (T0), imediatamente após (T1), após 7 dias (T7), 30 dias (T30) e 90 dias (T90). A alteração de cor foi expressa pelo valor ΔE , sendo considerada clinicamente perceptível quando $\geq 3,3$. As análises estatísticas foram realizadas por ANOVA de dois fatores e teste de Tukey, com nível de significância de 5%. Os resultados mostraram que o grupo controle não apresentou descoloração significativa em nenhum momento. Já os grupos com fotossensibilizadores apresentaram alterações de cor ao longo do tempo. A descoloração foi observada após 30 dias nos grupos MB e TM-ZnPc, e após 30 e 90 dias no grupo TB. O grupo Pc não apresentou alterações significativas em nenhum período avaliado. De modo geral, todos os fotossensibilizadores promoveram algum grau de descoloração em comparação ao controle. No entanto, TM-ZnPc e Pc apresentaram menor potencial de manchamento em comparação ao MB e TB, especialmente nos períodos iniciais. Aos 30 dias, TM-ZnPc apresentou menor descoloração em relação aos demais grupos. Após 90 dias, não houve diferenças significativas entre os fotossensibilizadores. Assim, os resultados indicam que, embora todos os fotossensibilizadores possam causar alteração de cor dental, a ftalocianina e a ftalocianina de zinco apresentam menor impacto estético, sendo alternativas mais favoráveis em protocolos de aPDT.

3. PROPOSIÇÃO

Avaliar o emprego da hibridização dentinária como estratégia para prevenir o manchamento dentário após terapia fotodinâmica.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Cálculo amostral

O tamanho amostral foi determinado por análise de poder estatístico utilizando o software G*Power 3.1.2 (Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Alemanha), considerando nível de significância $\alpha = 0,05$, poder estatístico de 80% ($1-\beta = 0,80$) e tamanho de efeito médio ($f = 0,25$), conforme recomendações para delineamentos experimentais com múltiplos grupos (Marciano *et al.*, 2017). O cálculo indicou a necessidade mínima de 15 espécimes por grupo, totalizando 45 amostras distribuídas em três grupos experimentais.

4.2 Preparo das amostras

As 45 coroas de incisivos bovinos foram seccionadas utilizando micrótomo para tecidos duros (CPT 40), equipado com disco diamantado dupla face (4" × 0,12 mm; Extec, Enfield, CT, EUA), sob irrigação constante com água e rotação padronizada de 250 rpm. As amostras foram padronizadas com 1 mm de porção radicular remanescente e 7 mm de altura coronária.

Em seguida, cada espécime foi submetido à higienização em cuba ultrassônica (Cristófoli Biossegurança, Campo Mourão, PR, Brasil), seguindo a sequência: imersão em hipoclorito de sódio a 2,5% (Fitofarma, Lt. 20442, Goiânia, GO, Brasil) por 15 minutos; enxágue em água destilada por 1 minuto; imersão em EDTA a 17% (Biodinâmica, Ibioporã, PR, Brasil) por 3 minutos; e novo enxágue com água destilada por 1 minuto. Após secagem com papel filtro (Melitta do Brasil Indústria e Comércio Ltda., Avaré, SP, Brasil), as cavidades coronárias tiveram seu limite apical condicionado com ácido fosfórico a 37% (Condac 37%; FGM, Joinville, SC, Brasil) por 15 segundos, seguido de lavagem com água destilada por 1 minuto e secagem com jato de ar por 10 segundos.

O primer do sistema adesivo OptiBond FL (Kerr) foi aplicado por 20 segundos, seguido de leve secagem com jato de ar por 10

segundos. Em seguida, aplicou-se o adesivo por 15 segundos, com fotopolimerização por 20 segundos utilizando aparelho LED (Valo Grand, Ultradent), permitindo a vedação da interface com resina composta (Vittra APS, cor A1, FGM). As amostras foram mantidas em água deionizada durante todo o período experimental.

4.3 Randomização e delineamento experimental

As amostras foram randomizadas por meio de sequência gerada por computador (www.random.org) e distribuídas em três grupos (n = 15): Grupo 1: Controle; Grupo 2: Com hibridização + PDT + azul de toluidina; Grupo 3: Sem hibridização + PDT + azul de toluidina (Figura 1).

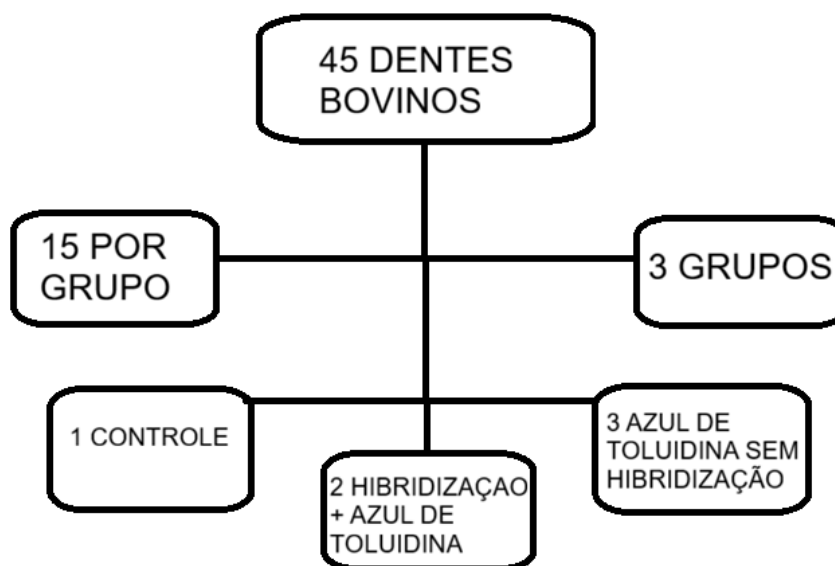


Figura 1. Delineamento experimental da pesquisa.

4.4 Condicionamento e hibridização

Após secagem com papel filtro (Melitta, Avaré, SP, Brasil), os grupos destinados à hibridização tiveram as superfícies condicionadas com ácido fosfórico a 37% (Condac 37%; FGM, Joinville, SC, Brasil) por 15 segundos, lavadas com água destilada por 1 minuto e secas com jato de ar por 10 segundos. Posteriormente, foi aplicado o primer do sistema

adesivo OptiBond FL (Kerr) por 20 segundos, seguido de leve jato de ar por 10 segundos para evaporação do solvente. O adesivo foi então aplicado por 15 segundos e fotopolimerizado com LED (Valo Grand, Ultradent) por 20 segundos.

4.5 Fotossensibilizador

O fotossensibilizador utilizado foi azul de toluidina 0,2% em solução aquosa manipulada (Nox Solutions, São Paulo, SP, Brasil), inserido na cavidade com seringa e mantido em contato com a superfície por 5 minutos (tempo de pré-irradiação).

4.6 Terapia fotodinâmica

A fotoativação foi realizada com LED (DMC Equipamentos®, São Carlos, SP, Brasil), utilizando comprimento de onda de 660 nm, potência de 40 mW, modo de emissão contínua e densidade de energia de 120 J/cm², em virtude de sua compatibilidade espectral com o fotossensibilizador empregado. A ponta do dispositivo foi posicionada na cavidade e mantida por 120 segundos, realizando movimentos helicoidais para melhor distribuição da luz, conforme protocolos previamente descritos (Costa *et al.*, 2016).

Após a fotoativação, as cavidades foram irrigadas com 5 mL de água destilada estéril para remoção de resíduos do fotossensibilizador e secas com papel absorvente. O fechamento da cavidade foi realizado com resina composta (Vittra APS, cor A1, FGM).

4.7 Medição da alteração de cor

As alterações cromáticas foram mensuradas em quatro momentos: T0 (pré-procedimento), T1 (imediato), T2 (30 dias) e T3 (60 dias), utilizando espectrofotômetro Vita Easyshade Advance (VITA Zahnfabrik, Bad Säckingen, Alemanha), calibrado conforme instruções do fabricante. Para garantir reprodutibilidade, foi confeccionado um guia fixo na face vestibular dos espécimes, permitindo o posicionamento

padronizado da sonda.

Duas medições consecutivas foram realizadas para cada espécime, sendo calculada a média aritmética dos valores L^* , a^* e b^* . A variação total de cor (ΔE) foi calculada pela equação:

$$\Delta E_{00}^* = \sqrt{\left(\frac{\Delta L'}{k_L S_L}\right)^2 + \left(\frac{\Delta C'}{k_C S_C}\right)^2 + \left(\frac{\Delta H'}{k_H S_H}\right)^2 + R_T \frac{\Delta C'}{k_C S_C} \frac{\Delta H'}{k_H S_H}}$$

Diferenças iguais ou superiores a 3,3 foram consideradas clinicamente perceptíveis.

4.8 Análise estatística

A normalidade dos dados foi avaliada por meio do teste de Shapiro–Wilk. Constatada a distribuição não normal, os valores de ΔE foram analisados pelo teste de Kruskal–Wallis para comparações intergrupos (dados independentes), seguido do pós-teste de Dunn com correção de Bonferroni. Para as comparações intragrupo (dados pareados), foi utilizado o teste de Friedman. Todas as análises estatísticas foram realizadas no software SPSS (versão 21.0; SPSS Inc., Chicago, IL, EUA), adotando-se nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

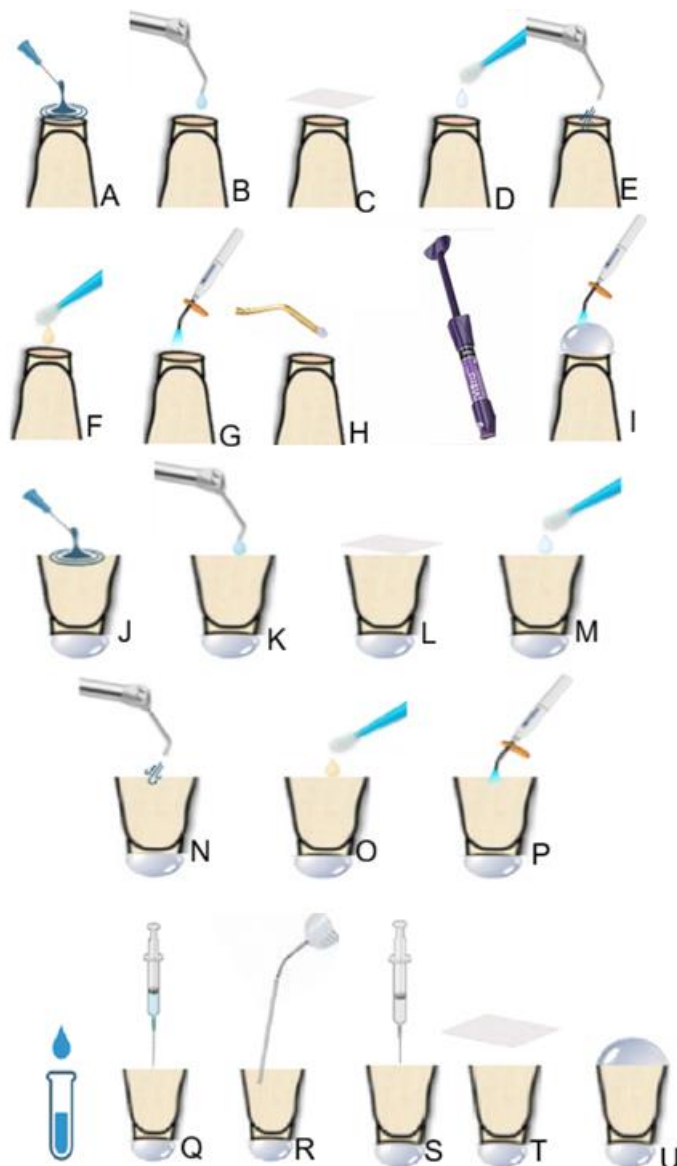


Figura 2: (A – I) Selamento apical. (A) Aplicação de ácido fosfórico. (B) Lavado com água. (C) Seco com papel absorvente. (D) Aplicação de primer. (E) Leve jato de ar. (F) Aplicação do adesivo. (G) fotopolimerização. (H) Aplicação da resina. (I) Fotopolimerização. (J – P) Hibridização dentinária. (J) Aplicação de ácido fosfórico. (K) Lavado com água. (L) Seco com papel absorvente. (M) Aplicação do primer. (N) Leve jato de ar. (O) Aplicação do adesivo. (P) Fotopolimerização. (Q – U) Terapia fotodinâmica. (Q) Aplicação com seringa do azul de toluidina. (R) terapia fotodinâmica com laser de baixa potência. (S) Lavagem para remoção do fotossensibilizador. (T) Seco com papel absorvente. (U) Selamento oclusal com resina composta.

5. RESULTADOS

A Tabela 1 e Figura 2 apresentam os valores de mediana e intervalo interquartil de ΔE nos diferentes grupos experimentais ao longo dos períodos avaliados (imediato, 30 e 60 dias).

Na comparação intergrupos, foram observadas diferenças estatisticamente significativas em todos os períodos de avaliação ($p < 0,05$). No período imediato, os grupos submetidos à terapia fotodinâmica apresentaram valores de ΔE significativamente maiores quando comparados ao grupo controle. O grupo azul de toluidina com hibridização apresentou mediana de 8,5 (3,3–29,0), enquanto o grupo sem hibridização apresentou 9,3 (4,4–36), ambos superiores ao controle [3,9 (1,0–10,7)].

Aos 30 dias, o grupo sem hibridização manteve valores elevados de alteração cromática [10,8 (6,6–29,3)], diferindo significativamente do grupo controle [3,7 (1,7–8,5)]. O grupo com hibridização apresentou redução da mediana para 5,9 (1,8–9,3), posicionando-se de forma intermediária entre os demais grupos.

Aos 60 dias, o grupo sem hibridização permaneceu com maiores valores de ΔE [7,6 (5,4–29,5)], enquanto o grupo com hibridização apresentou mediana de 6,6 (2,0–10,2), ambos superiores ao controle [5,2 (1,1–11,2)].

Na análise intragrupo, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas ao longo do tempo para os grupos controle e azul de toluidina sem hibridização ($p > 0,05$). Entretanto, o grupo azul de toluidina com hibridização apresentou diferença significativa entre os períodos avaliados ($p < 0,05$), evidenciando redução dos valores de ΔE após o período imediato.

Tabela 1. Mediana e intervalo interquartil para ΔE nos diferentes grupos experimentais em função dos diferentes períodos de avaliação.

Grupos	Período de avaliação			Valor de P
	imediatos	30 dias	60 dias	
G1	3,9 (1,0– 10,7) ^{Aa}	3,7(1,7-8,5) ^{Aa}	5,2 (1,1– 11,2) ^{Aa}	> 0,05
G2	8,5 (3,3– 29,0) ^{Ab}	5,9(1,8-9,3) ^{A,Ba}	6,6(2,0-10,2) ^{A,Ba}	< 0,05
G3	9,3 (4,4 – 36) ^{Ab}	10,8(6,6-29,3) ^{Ab}	7,6 (5,4 –29,5) ^{Ab}	> 0,05
Valores de P**	< 0,05	< 0,05	< 0,05	

G1: Grupo controle; G2: Azul de toluidina com hibridização; G3: Azul de toluidina sem hibridização.

*Friedman

**Kruskal–Wallis seguido do pós-teste de Dunn com correção de Bonferroni.

Letras maiúsculas diferentes indicam existência de diferença estatisticamente significativa nas linhas. Letras minúsculas diferentes

indicam existência de diferença estatisticamente significativa nas colunas.

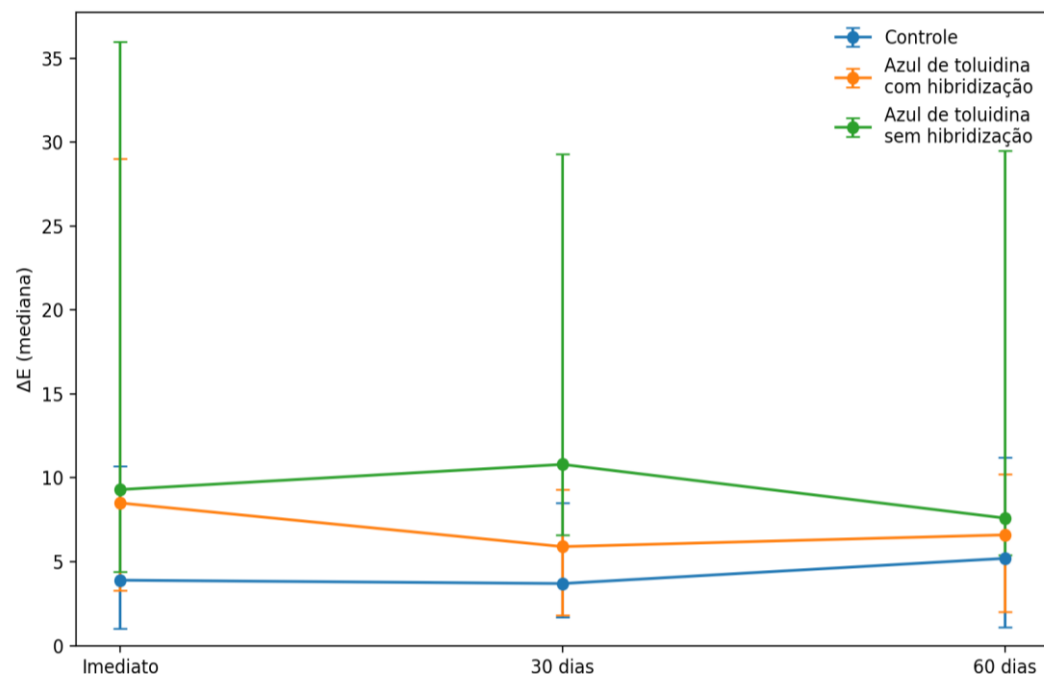


Figura 2. Evolução temporal do ΔE por grupo.

6. DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou o efeito da hibridização dentinária como estratégia preventiva frente ao manchamento dentário decorrente da terapia fotodinâmica (aPDT) com azul de toluidina. Os resultados demonstraram que o fotossensibilizador promoveu alteração cromática significativa, independentemente da presença de hibridização, porém com comportamento distinto ao longo do tempo. Assim, a hipótese nula foi parcialmente rejeitada, uma vez que a hibridização reduziu, mas não impediu, a alteração cromática.

No período imediato, os grupos submetidos à aPDT apresentaram valores de ΔE significativamente superiores ao grupo controle, confirmando o potencial cromogênico do azul de toluidina. Esse comportamento pode ser explicado pela elevada afinidade dos corantes fenotiazínicos pela matriz orgânica da dentina, especialmente pelas fibras colágenas expostas após o preparo cavitário. A estrutura conjugada desses compostos favorece sua adsorção e retenção intratubular, resultando em alterações ópticas perceptíveis. Esses achados corroboram estudos prévios que demonstraram escurecimento dentário imediato após o uso de azul de metileno e azul de toluidina em protocolos de aPDT (Figueiredo *et al.*, 2014; Costa *et al.*, 2016; Şahin *et al.*, 2024), evidenciando que o fenômeno está relacionado às propriedades físico-químicas desses fotossensibilizadores.

A persistência de valores elevados de ΔE no grupo sem hibridização ao longo de 60 dias sugere que a penetração do corante na dentina não se limita a um efeito superficial, mas envolve difusão intratubular profunda e possível interação química com componentes da matriz dentinária. Esse fenômeno pode ser agravado pela remoção da smear layer e pela abertura dos túbulos dentinários durante o preparo endodôntico, aumentando a permeabilidade dentinária (Ahmed & Abbott, 2012; Krastl *et al.*, 2013). Além disso, Marciano *et al.* (2013) destacam que materiais e substâncias aplicadas na câmara pulpar podem sofrer interação com a dentina, promovendo alterações ópticas duradouras.

Por outro lado, o grupo submetido à hibridização apresentou redução

significativa da alteração cromática entre o período imediato e 30 dias, mantendo-se relativamente estável até 60 dias. Esse comportamento pode ser explicado pela formação da camada híbrida, que promove a infiltração de monômeros resinosos na matriz colagenosa desmineralizada, resultando na obliteração parcial dos túbulos dentinários e na redução da permeabilidade (Magne *et al.*, 2007; Qanungo *et al.*, 2016; Khim *et al.*, 2018). Dessa forma, a hibridização atua como uma barreira física que limita a difusão e retenção do fotossensibilizador na dentina, reduzindo a intensidade do manchamento ao longo do tempo.

Entretanto, é importante destacar que, apesar da redução observada, os valores de ΔE no grupo com hibridização permaneceram acima do limiar clínico de perceptibilidade ($\Delta E \geq 3,3$), indicando que a estratégia não é suficiente para evitar completamente o comprometimento estético. Do ponto de vista clínico, valores de ΔE superiores a 3,3 são perceptíveis ao olho humano, enquanto valores acima de aproximadamente 5,5–6,8 podem ser considerados clinicamente inaceitáveis, especialmente em áreas estéticas (Suliman, 2005). No presente estudo, os valores observados reforçam o potencial impacto estético da aPDT, particularmente em dentes anteriores.

Outro aspecto relevante refere-se à escolha do fotossensibilizador. Estudos recentes demonstram que diferentes compostos apresentam potenciais cromogênicos distintos. Afrasiabi e Chiniforush (2023) observaram que a riboflavina apresenta alterações cromáticas mais discretas em concentrações moderadas, enquanto Şahin *et al.* (2024) demonstraram que derivados de ftalocianina apresentam menor potencial de manchamento quando comparados aos corantes fenotiazínicos. Além disso, Zhang *et al.* (2022) destacam o desenvolvimento de novos fotossensibilizadores com propriedades dual-function, capazes de promover ação antimicrobiana associada a efeito clareador, representando uma perspectiva promissora para minimizar efeitos adversos estéticos.

A eficácia antimicrobiana da aPDT é amplamente documentada na literatura, com reduções significativas de microrganismos relevantes na endodontia, como *Enterococcus faecalis* e *Streptococcus mutans* (Mohammad

et al., 2017; Alves *et al.*, 2019; Entezari *et al.*, 2022). No entanto, os benefícios antimicrobianos devem ser cuidadosamente ponderados frente ao risco estético, especialmente em dentes anteriores e regiões de alta demanda estética.

Do ponto de vista metodológico, a utilização de dentes bovinos é amplamente aceita em estudos *ex vivo* devido à sua disponibilidade e padronização (Min *et al.*, 2021). Contudo, diferenças estruturais em relação à dentina humana, como maior diâmetro tubular, podem influenciar a difusão de agentes cromogênicos, devendo-se interpretar os resultados com cautela. Além disso, o modelo *ex vivo* não reproduz completamente as condições do ambiente bucal, como presença de saliva, biofilme e variações de pH, fatores que podem interferir na dinâmica de pigmentação.

Os resultados do presente estudo possuem relevância clínica direta. A hibridização dentinária mostrou-se uma estratégia eficaz para reduzir a magnitude do manchamento ao longo do tempo, embora não tenha sido capaz de eliminá-lo completamente. Clinicamente, isso sugere que o selamento dentinário imediato pode ser utilizado como medida preventiva complementar em protocolos que envolvam a aPDT. No entanto, considerando que os valores de ΔE permaneceram acima do limiar de aceitabilidade, recomenda-se cautela na indicação da técnica com corantes fenotiazínicos em áreas estéticas.

Dessa forma, a tomada de decisão clínica deve considerar não apenas a eficácia antimicrobiana, mas também o impacto estético do tratamento. Estratégias como seleção de fotossensibilizadores com menor potencial cromogênico, protocolos de irrigação mais eficientes e associação com técnicas restauradoras podem contribuir para melhores desfechos clínicos.

7. CONCLUSÃO

A terapia fotodinâmica antimicrobiana com azul de toluidina promoveu alteração cromática significativa da estrutura dentária, com valores de ΔE superiores ao limiar clínico de perceptibilidade em todos os períodos avaliados. A hibridização dentinária reduziu a magnitude do manchamento ao longo do tempo, porém não foi capaz de impedir completamente a alteração de cor.

REFERÊNCIAS

1. Afrasiabi S, Chiniforush N. The efficacy of antimicrobial photodynamic therapy using riboflavin combined with blue diode laser irradiation against *Enterococcus faecalis* and its tooth discoloration potential. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2023;41:103276.
2. Ahmed HM, Abbott PV. Discolouration potential of endodontic procedures and materials: a review. *Int Endod J.* 2012;45(10):883-97.
3. Alves FRF, Silva EJNL, Rôças IN, Siqueira JF Jr. Effect of antimicrobial photodynamic therapy in reducing mutans streptococci in primary teeth and its clinical impact on restorations. *Lasers Med Sci.* 2019;34(1):85-92.
4. Araújo GS, Queiroz IOA, Fabbro RD, et al. Rat tissue reaction and cytokine production induced by antimicrobial photodynamic therapy. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2017, 315 -318.
5. Araújo LP, et al. Tooth color change after photodynamic therapy in endodontics: a systematic review. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy.* 2023.
6. Costa LM, Matos FS, Santana FR, et al. Tooth color change caused by photosensitizers after photodynamic therapy. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2016;15:213–216.
7. Entezari M, Chini Foroush N, Chiniforush N. Antibacterial effect of photodynamic therapy using methylene blue and curcumin activated by 445-nm and 660-nm diode lasers on *Staphylococcus aureus*. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2022;37:102657.
8. Figueiredo C, Lins R, Silva A, et al. Tooth discoloration induced by photodynamic therapy using methylene blue and toluidine blue: in vitro analysis. *Photomed Laser Surg.* 2014;32(2):67-71.
9. Khim TP et al. Prevention of coronal discoloration induced by root canal sealers using dentin bonding agent. *J Conserv Dent.* 2018; 21(5):p 562-568.
10. Kohli S, Bhatia S, Kaur M. Comparative evaluation of tooth discoloration induced by various endodontic materials: an in vitro study. *J*

Conserv Dent. 2015;18(5):386-90.

11. Krastl G, Beyeler B, Zitzmann NU, et al. Tooth discoloration following endodontic procedures and materials. *Swiss Dent J*. 2013;123:701-9.
12. Kuzekanani M, Walsh LJ. Evaluation of tetracycline-stained teeth treated with KTP laser bleaching: clinical and colorimetric analysis. *Aust Dent J*. 2009;54(1):25-30.
13. Magne P, Kim TH, Cascione D, Donovan TE. Immediate dentin sealing improves bond strength of indirect restorations. *J Prosthet Dent*. 2005;94(6):511–519.
14. Magne P, So WS, Cascione D. Immediate dentin sealing supports delayed restoration placement. *J Prosthet Dent*. 2007;98(3):166–74.
15. Marciano MA, Costa RM, Camilleri J. Assessment of discoloration following the use of root canal sealers: a spectrophotometric analysis. *J Endod*. 2013;39(7):898-902.
16. Marciano MA, Duarte MAH, Ordinola-Zapata R. Sample size calculation and statistical power in dental research. *Braz Oral Res*. 2017;31:e56.
17. Min JH, Kim BI, Kwon HK, Kim YS. Evaluation of tooth staining by acidic beverages and monitoring using quantitative light-induced fluorescence. *BMC Oral Health*. 2021;21:109.
18. Mohammad H, Abbaszadegan A, Mehrabani D, et al. Antimicrobial efficacy of photodynamic therapy with Foscan in root canal disinfection. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2017;19:29–34.
19. Mohammad Z, et al. Antimicrobial photodynamic therapy activation by ultrasonic energy in infected root canal systems. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2017;20:1-6.
20. Ozkocak I, et al. Efficacy of bleaching agents on teeth discolored by triple antibiotic paste: a spectrophotometric image-processing study. *J Endod*. 2020;46(4):533-40.
21. Papadopoulos A, et al. Laser-assisted intracoronary bleaching of endodontically treated teeth using Er,Cr:YSGG laser: a comparative study. *Lasers Med Sci*. 2021;36:1303-12.
22. Qanungo A, Aras MA, Chitre V. Immediate dentin sealing for

indirect bonded restorations: a review. *J Prosthodont Res.* 2016;60(4):240–9.

23. Sulieman M. An overview of tooth-bleaching techniques: chemistry, safety and efficacy. *Dent Update.* 2005;32(2):101-8.

24. Sulieman M. An overview of tooth discoloration: extrinsic, intrinsic and internalized stains. *Dent Update.* 2005;32(8):463–71.

25. Şahin S, et al. Comparative evaluation of discoloration potential of different photosensitizers used in antimicrobial photodynamic therapy. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2024;46:103044.

26. Şahin S, Arslan H, Topçuoğlu HS, et al. Effects of different photosensitizers used in antimicrobial photodynamic therapy on tooth discoloration. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2024;45:103874.

27. Zhang Y, et al. Zwitterion-modified porphyrin photosensitizer for dual-function photodynamic dental therapy: tooth bleaching and biofilm eradication. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2022;14(10):12341-51.

28. Zhang Y, Wang L, Li X, Zhao J. Advances in antimicrobial photodynamic therapy for endodontic disinfection and tooth whitening applications. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2022;38:102812.