

DESINFECÇÃO BUCAL COM TERAPIA FOTODINÂMICA

D. P. V. Leite*, F. R. Paolillo**, V. H. Panhóca**, H. A. Ricci**, C. Fontana***, V. S. Bagnato**

*Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica, Universidade Camilo Castelo Branco (UNICASTELO), São José dos Campos, Brasil

**Instituto de Física de São Carlos (IFSC), Universidade de São Paulo (USP), São Carlos, Brasil

***Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araraquara, Brasil

e-mail: fer.nanda.rp@hotmail.com

Resumo: Atualmente, a Terapia Fotodinâmica (PDT) tem sido utilizada para inativação bacteriana na odontologia. O objetivo do atual estudo foi investigar os efeitos da PDT com luz azul e curcumina na desinfecção oral. Dezoito adultos foram distribuídos aleatoriamente em 2 grupos: (1) Grupo PDT - tratados com curcumina e luz azul (n = 9); (2) Grupo Luz - tratado apenas com a luz azul. Os parâmetros de irradiação foram: LED azul (450 nm), 400 mW, 600 mW/cm² e 200 J/cm². Foi utilizada a concentração de curcumina de 30 mg/l. As amostras de saliva foram coletadas para a contagem bacteriana no início e após a fase experimental. As diluições em série foram realizadas e as amostras resultantes foram cultivadas em placas de agar BHI com sangue de ovelha. Posteriormente, determinou-se o número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC). O grupo TFD mostrou redução significativa do número de UFC (p<0,05). Não houve mudanças significativas para o grupo luz (p≥0,05). Portanto, PDT com curcumina e LED azul pode ser usada para desinfecção oral.

Palavras-chave: Terapia fotodinâmica, odontologia, inativação bacteriana, desinfecção oral.

Abstract: Currently, photodynamic therapy (PDT) has been used for bacterial inactivation in dentistry. The aim of our study was to evaluate the effects of the PDT with blue light and curcumin on the oral disinfection. Eighteen adults were randomly divided into 2 groups: (1) PDT group - treated with curcumin and blue light (n=9); (2) Light group - treated only with the blue light. The irradiation parameters were: blue LED (450 nm), 400 mW, 600 mW/cm² and 200 J/cm². The curcumin concentration of 30 mg/l was used. The saliva samples were collected for bacterial counts at baseline and after the experimental phase. Serial dilutions were performed, and the resulting samples were cultured on BHI agar plates with sheep blood. The number of colony forming units (CFU) was determined. The PDT group showed a significant reduction of CFU (p<0.05). There were no significant changes for the light group (p≥0.05). The PDT using curcumin and blue LED may be used for overall disinfection of mouth.

Keywords: Photodynamic therapy, dentistry, bacterial inactivation, oral disinfection.

Introdução

A terapia fotodinâmica (PDT, acrônimo de Photodynamic Therapy) foi primeiramente desenvolvida para tratamento de lesões cancerígenas [1], mas recentemente vem sendo amplamente utilizada no tratamento de doenças infecciosas de origem bacteriana, fúngica e algumas doenças causadas por vírus e parasitas [2].

O mecanismo de ação da PDT consiste em gerar dano seletivo as células. Esta técnica induz a citotoxicidade celular associando a luz à medicações fotossensíveis na presença de oxigênio, ou seja, a luz ativa o fotossensibilizador presente nos tecidos, transferindo energia para o oxigênio molecular, resultando em espécies reativas de oxigênio, entre elas o oxigênio singleto, que induz a morte celular ou de micro-organismos [3].

Geralmente, o fotossensibilizador é exógeno, administrado por via tópica e ao ser ativado pela luz é eficaz no tratamento de infecções localizadas principalmente em casos de micro-organismos resistentes. Neste contexto, vários estudos são realizados em pacientes durante os procedimentos odontológicos, por exemplo, em preparos cavitários e na redução bacteriana de canais radiculares, bem como em periimplantites, gengivites e bolsas periodontais, além de diminuir as placas bacterianas [4].

Normalmente, a boca tem um grande número de bactérias, o que aumenta o risco de infecção quando diversos procedimentos cirúrgicos são realizados, principalmente, a cirurgia intra-oral.

Nesses diversos casos de infecção ou de seu risco aumentado, utilizam-se antibióticos sistêmicos, que podem resultar em efeitos colaterais. Entretanto, algumas das principais vantagens da PDT antibacteriana são o baixo custo e ausência de efeitos colaterais, além de não gerar resistência às espécies reativas de oxigênio [5].

Vários estudos utilizaram fotossensibilizadores de primeira e segunda geração, por exemplo, os derivados da porfírina, clorinas, azul de toluidina e azul de metileno para inativação de bactérias gram-negativas e gram-positivas [6,7,8]. Entretanto, a curcumina vem sendo recentemente utilizada para realização da PDT antibacteriana [5,9,10].

A curcumina tem um pico de absorção entre 300-500 nm, mas o pico máximo de absorção ocorre em 430 nm e, portanto, pode ser utilizada como fotossensibilizador [11].

O objetivo deste trabalho foi investigar os efeitos da PDT com curcumina e luz azul sobre o número de Unidade Formadora de Colônia (UFC) em saliva.

Materiais e métodos

O atual projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP) da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) em São Carlos (Parecer nº 258.461).

Dezoito voluntários participaram do estudo e foram distribuídos aleatoriamente em 2 grupos. (i) Grupo PDT: que realizou PDT com curcumina e luz azul e; (ii) Grupo Luz: expostos apenas à luz azul.

Curcumina– A solução estoque (1,5 g/l) de curcumina (PDT Pharma, Cravinhos, SP, Brasil) foi preparada em DMSO (0,1%) e, em seguida, diluída em água destilada autoclavada (980 ml) para se obter a concentração usada (30 mg/l) [5].

Luz azul– A fim de realizar a PDT na cavidade oral, foi desenvolvido um dispositivo (MM Optics, São Carlos, SP, Brasil) com LED azul (455 ± 30 nm), ponta difusora de acrílico transparente e em forma cilíndrica (comprimento de 89 milímetros e 6,73 milímetros de diâmetro), como observado na Figura 1. Os parâmetros de iluminação foram: 400 mW de potência e 600 mW/cm² de intensidade. A luz foi aplicada durante 5 minutos, o que levou a uma densidade de energia (dose) de 200 J/cm².

Procedimento Clínico– Os voluntários do Grupo PDT bochecharam 20 ml de solução de curcumina por 5 minutos, após a solução ser eliminada, a luz azul foi introduzida na cavidade bucal para ativar a curcumina por 5 min. Da mesma forma, a cavidade oral dos voluntários do Grupo Luz foi iluminada com LED azul por 5 minutos [5].



Figura 1: Dispositivo com LED azul para realização de PDT.

Análise microbiológica– Duas amostras de saliva de cada voluntário foram coletadas antes e após os

procedimentos clínicos e armazenadas em recipientes esterilizados. As amostras de saliva foram submetidas a diluições em série e alíquotas de 100 µl foram plaqueadas em duplicata em Agar Manitol (Difco Laboratories, Detroit, Mich., EUA) com sangue de ovelha (10%) e incubado a 36°C por 48h. Após o período de incubação, as placas foram analisadas para obtenção do número de Unidades Formadoras de Colônias por mililitro de diluição (UFC/ml) [5].

Análise Estatística– Foram realizadas ANOVA two-way para análise intragrupo e ANOVA one-way para análise intergrupo. O software utilizado foi o Statistica for Windows Release 7 (Statsoft Inc., Tulsa, Ok, USA). O nível de significância estatística foi de 5% (p<0.05).

Resultados

Foi constatado que o Grupo PDT mostrou redução bacteriana de aproximadamente 1 Log (p<0,05), enquanto o grupo luz não mostrou diferença significativa (p≥0,05). A resposta bacteriana pode ser observada na Tabela 1.

Tabela 1: Efeitos da PDT sobre os micro-organismos salivares.

Grupos	Pré (UFC/ml)	Pós (UFC/ml)	Δ=Pré-Pós (UFC/ml)
PDT	8,56E+06 ±	4,83E+05 ±	1,26E+00 ±
	5,63E+06	4,23E+05 *	1,30E+00 #
Luz	1,57E+06 ±	1,72E+06 ±	-1,70E-01 ±
	2,61E+06	2,64E+06	6,76E-01

* diferença intragrupo, p<0,05

diferença intergrupo, p<0,05

Discussão

Este estudo mostrou que o grupo PDT apresentou redução significativa de UFC. Esses achados corroboram com estudo de Araújo et al. [5], que investigou os efeitos imediatos da PDT com luz azul e curcumina em estudo clínico. Outros estudos também demonstraram os efeitos positivos da inativação bacteriana com curcumina e LED azul, entretanto, estes estudos foram *in vitro* [9,10].

Dovigo et al. [9] demonstrou que baixas concentrações de curcumina foram eficazes para a inativação de *C. albicans* quando associado com LED azul. Em estudo semelhante, Araújo et al. [10] obteve redução de *S. mutans* e *L. acidophilus* em culturas planctônicas com a realização de PDT com curcumina e LED azul.

Estes resultados são limitados ao modelo *in vitro*, mas fundamentam o resultado da atual pesquisa e também os dados obtidos por Araújo et al. [5] em seu estudo clínico.

Em relação à aplicação apenas de luz azul, o atual estudo não proporcionou alterações significativas na UFC.

Entretanto, Lipovsky et al. [12] demonstraram redução bacteriana (*S. aureus* e *E. coli*) somente com a aplicação da luz azul (415 e 455 nm), principalmente em altas doses (120 J/cm²), mas em baixas doses, a luz azul promoveu a proliferação bacteriana. Isto mostra que o efeito bactericida da luz azul é dose-dependente.

De modo geral, a descontaminação usando um procedimento simples é desejável na odontologia. Neste contexto, a redução do número de bactérias é importante para diversos procedimentos cirúrgicos intra-orais durante única sessão. Além disso, a redução microbiana é iniciada na superfície da cavidade bucal, mas após múltiplas sessões de PDT as camadas mais profundas podem ser alcançadas e a PDT resulta em efeito bactericida cumulativo [13].

Entretanto, o tipo de fotossensibilizador, sua concentração, o tempo de incubação, a geometria do dispositivo, os parâmetros de iluminação, bem como a região da área corpórea exposta à luz podem influenciar no impacto da PDT sobre os micro-organismos.

Portanto, o novo dispositivo com LED azul para PDT usando curcumina pode ser um tratamento importante para a redução de micro-organismos salivares e novos protocolos devem ser investigados para potencializar a inativação bacteriana.

Conclusão

Portanto, este trabalho mostra que a desinfecção da boca pode ser feito com um simples procedimento envolvendo ação fotodinâmica.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq (Processo N^o. 573587/2008 e 151008/2012-4), FAPESP (Processo N^o. 2013/07276-1 e 2013/14001-9) e MM Optics.

Referências

- [1]Kurachi C, Moriyama LT, Bagnato VS. Estratégias para otimização da terapia fotodinâmica no tratamento do câncer de pele não-melanoma. *Jornal brasileiro de laser*. 2010; 2:13-17.
- [2]Perussi JR. Inativação fotodinâmica de microorganismos. *Química nova*. 2007; 30(4):1-7.
- [3]Henderson BW, Dougherth TJ. How Does Photodynamic Therapy Work. *Photochemistry & Photobiology*. 1992; 55:145-147.
- [4]Gursoy H, Ozcakil-Tomruk C, Tanalp J, Yilmaz S. Photodynamic therapy in dentistry: a literature review. *Clinical Oral Investigations*. 2013; 17(4):1113-1125.
- [5]Araújo NC, Fontana CR, Gerbi ME, Bagnato VS. Overall-Mouth Disinfection by Photodynamic Therapy Using Curcumin. *Photomedicine and Laser Surgery*. 2012; 30, 96-101.
- [6]Fontana CR, Lerman MA, Patel N, Grecco C, Costa CA, Amiji MM, Bagnato VS, Soukos NS Safety assessment of oral photodynamic therapy in rats. *Lasers in Medical Science*. 2013, 28(2):479-486.
- [7]Kömerik N, Nakanishi H, MacRobert AJ, Henderson B, Speight P, Wilson M. In vivo killing of *Porphyromonas gingivalis* by toluidine blue-mediated photosensitization in an animal model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2003; 47(3):932-940.
- [8]Soukos NS, Chen PS, Morris JT, Ruggiero K, Abernethy AD, Som S, Foschi F, Doucette S, Bammann LL, Fontana CR, Doukas AG, Stashenko PP. Photodynamic therapy for endodontic disinfection. *Journal of Endodontics*. 2006; 32(10):979-984.
- [9]Dovigo LN, Pavarina AC, Carmello JC, Machado AL, Brunetti IL, Bagnato VS. Susceptibility of clinical isolates of *Candida* to photodynamic effects of curcumin. *Lasers in Medical Science*. 2011; 43(9):927-934.
- [10]Araújo NC, Fontana CR, Bagnato VS, Gerbi ME. Photodynamic effects of curcumin against cariogenic pathogens. *Photomedicine and Laser Surgery*. 2012; 30(7): 393-399.
- [11]Haukvik T, Bruzell E, Kristensen S, Tønnesen HH.. Photokilling of bacteria by curcumin in selected polyethylene glycol 400 (PEG 400) preparations. *Studies on curcumin and curcuminoids, XXI. Pharmazie*. 2010; 65(8):600-606.
- [12]Lipovsky A1, Nitzan Y, Gedanken A, Lubart R. Visible light-induced killing of bacteria as a function of wavelength: implication for wound healing. *Lasers in Surgery and Medicine*. 2010; 42(6):467-472.
- [13]Müller Campanile VS, Giannopoulou C, Campanile, G, Cancela JA, Mombelli A. Single or repeated antimicrobial photodynamic therapy as adjunct to ultrasonic debridement in residual periodontal pockets: clinical, microbiological, and local biological effects. *Lasers in Medical Science*. 2013; May 10. [Epub ahead of print].