

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
UNIDADE ACADÊMICA DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CURSO DE BACHARELADO EM ODONTOLOGIA**

MARIA ISABEL SERPA SIMÕES DE FARIAS

**O EMPREGO DA TERAPIA FOTODINÂMICA NA REDUÇÃO FÚNGICA EM
ODONTOLOGIA**

**PATOS-PB
2014**

MARIA ISABEL SERPA SIMÕES DE FARIAS

**O EMPREGO DA TERAPIA FOTODINÂMICA NA REDUÇÃO FÚNGICA EM
ODONTOLOGIA**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC)
apresentado a Coordenação do Curso de
Odontologia da Universidade Federal de
Campina Grande – UFCG como parte dos
requisitos para obtenção do título de
Bacharel em Odontologia

Orientadora: Prof^a Msc. Rachel de Queiroz
Ferreira Rodrigues

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSRT DA UFCG

F224e Farias, Maria Isabel Serpa Simões de
O emprego da terapia fotodinâmica na redução fúngica em odontologia /
Maria Isabel Serpa Simões de Farias. – Patos, 2014.
44f.

Trabalho de Conclusão de Curso (Odontologia) – Universidade Federal
de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2014.

"Orientação: Profa. Msc. Rachel de Queiroz Ferreira Rodrigues"

Referências.

1. Terapia fotodinâmica. 2. Fungos. 3. *Candida*.
- I. Título.

CDU 616.314-77

MARIA ISABEL SERPA SIMÕES DE FARIAS

**O EMPREGO DA TERAPIA FOTODINÂMICA NA REDUÇÃO FÚNGICA EM
ODONTOLOGIA**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC)
apresentado a Coordenação do Curso de
Odontologia da Universidade Federal de
Campina Grande – UFCG como parte dos
requisitos para obtenção do título de
Bacharel em Odontologia

Orientadora: Prof^a Msc. Rachel de Queiroz
Ferreira Rodrigues

Aprovado em ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof^a MsC. Rachel de Queiroz Ferreira Rodrigues
Universidade Federal de Campina Grande

Prof. MsC. João Nilton Lopes de Sousa- 1^a Membro
Universidade Federal de Campina Grande

Prof. Dr. Rodrigo Araújo Rodrigues - 2^a Membro
Universidade Federal de Campina Grande

Dedico este trabalho aos meus pais, Amélia Serpa e Marcos Antonio Simões, que sempre se dedicaram aos filhos, construindo o exemplo de caráter e honestidade que desejo seguir na minha vida, e, principalmente, por todo amor que sempre foi cultivado dentro de nosso lar.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que proporcionou muitas mudanças na minha vida, muitas vezes incompreendidas por mim, mas que fizeram aumentar minha fé, para poder entender que nossos planos nem sempre coincidem com os dEle; por estar presente no meu coração e na minha vida, me dando forças pra superar meus momentos de dificuldade, me mostrando o caminho nas horas incertas e me ensinando a esperar o tempo dEle.

Aos meus pais amados, Amélia Serpa e Marcos Antonio Simões, pelo imensurável amor e zelo; por terem, desde sempre, me incentivado a procurar a educação como forma de crescimento pessoal e profissional; por me apoiarem e confiarem nas minhas escolhas.

Aos meus irmãos, Thiago Serpa e Diego Serpa, que sempre me apoiaram e me ajudaram da maneira deles.

À minha irmã, Cecília Serpa, por acreditar em mim e sempre me estimular a buscar mais conhecimento.

À minha orientadora, Professora Rachel Rodrigues, pela paciência, dedicação e olhar crítico nesse trabalho, me direcionando sempre com sensatez; por ter se mostrado, ao longo do curso, mais do que uma professora, uma amiga.

A todos da turma pioneira, em especial, meus queridos amigos, Naiara Farias, Samuel Férrer, Izabelle Vale, Kenny Rogers e Alberto Hafid, por terem sido meu alicerce durante todo o período acadêmico, compartilhando alegrias e tristezas diárias, aguentando e superando juntos todas as dificuldades.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, colaboraram para a realização desse sonho.

"Tem dias que a gente se sente como quem partiu ou morreu. A gente estancou de repente ou foi o mundo, então, que cresceu? A gente quer ter voz ativa, no nosso destino mandar, mas eis que chega a roda-viva e carrega o destino pra lá. (...) No peito a saudade cativa, faz força pro tempo parar, mas eis que chega a roda-viva e carrega a saudade pra lá. Roda mundo, roda-gigante, rodamoinho, roda pião. O tempo rodou num instante nas voltas do meu coração."

Chico Buarque

RESUMO

Espécies de *Candida* são fungos comuns de serem encontrados na microbiota oral, sendo a *Candida albicans* a espécie mais prevalente e patogênica. Estas leveduras coexistem com comensais ou bactérias patogênicas, o que representa um importante fator de virulência. A *Candida albicans* possui fatores de patogenicidade, os quais se sobressaem quando há um comprometimento imunológico do paciente, podendo causar desde infecções localizadas até infecções disseminadas. O tratamento convencional, composto pela administração tópica ou sistêmica de medicamentos antifúngicos, pode causar recorrência da infecção fúngica, sendo necessário um tratamento coadjuvante. A terapia fotodinâmica é, então, proposta como um tratamento coadjuvante à terapia convencional, surgindo como um método eficaz de redução microbiana, por meio da associação de uma fonte de luz e um agente fotossensibilizador. Apesar dos benefícios desta terapia, ainda não há um protocolo estabelecido da terapia fotodinâmica, que seja comprovadamente efetivo, seguro e que proporcione benefícios significativos. O presente trabalho tem o propósito de apresentar uma revisão de literatura sobre o efeito da terapia fotodinâmica nas espécies fúngicas, que podem causar infecções oportunistas.

Palavras-Chave: Terapia Fotodinâmica; Fungos; *Candida*

ABSTRACT

Candida species are common fungi are usually found in the oral microflora and *Candida albicans* is the most prevalent and pathogenic species. These yeasts coexist with commensal or pathogenic bacteria, which represents an important virulence factor. *Candida albicans* has pathogenicity factors, which are evident when there is an immune compromised of the patient and this situation may cause localized infections and spread infections. Conventional treatment consists of the administration of topical or systemic antifungal medications, can cause recurrence of the fungal infection, then a supportive treatment is needed. Photodynamic therapy is proposed as a treatment adjunct to conventional therapy due to their efficiency of microbial reduction by combining a light source and a photosensitizing agent. Despite the benefits of this therapy, there is no photodynamic therapy protocol that is proven effective, safe and indicating significant benefits. This article aims to show a review of literature on the effect of photodynamic therapy in fungal species that can cause opportunistic infections.

Key words: Photodynamic therapy; Fungi; *Candida*

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

LED	Light Emitting Diode
TFD	Terapia Fotodinâmica

LISTA DE SÍMBOLOS

μM	Micromol
O_2	Oxigênio
mM	Milimol
nm	Nanômetro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	13
2.1 INFECCÕES FÚNGICAS	13
2.2 TERAPIA FOTODINÂMICA.....	15
2.2.1 Histórico	15
2.2.2 Mecanismo de ação.....	15
2.2.3 Fotossensibilizadores.....	17
2.2.4 Fontes de luz	18
2.3 INATIVAÇÃO DA CÂNDIDA PELA TFD	19
REFERÊNCIAS	24
3 ARTIGO.....	30
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	42
ANEXO	43

1 INTRODUÇÃO

A cavidade oral é amplamente colonizada por uma variedade relativamente complexa e altamente inter-relacionada de microrganismos, incluindo espécies bacterianas aeróbicas e anaeróbicas, Gram positivas e Gram negativas (AVILA *et al.*, 2009), além da presença de alguns fungos, como espécies de *Candida* (LEUNG *et al.*, 2000). O biofilme dental, fator determinante da cárie e da doença periodontal, é formado através de um processo ordenado e dinâmico onde há fixação e proliferação de microrganismos sobre as superfícies dos dentes (PEREIRA *et al.*, 2010).

Espécies de *Candida* são fungos comuns de serem encontrados na microbiota do trato digestivo e membranas mucocutâneas (HOWELL; HAZEN, 2011). A *Candida albicans* é considerada a espécie isolada a partir da cavidade oral mais prevalente e patogênica, mas, outras espécies do mesmo gênero também tem sido isoladas e são frequentemente associadas ao desenvolvimento de infecções, tais como a *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei* e *Candida guilliermondi*, devido a uma crescente população de pacientes imunodeprimidos e a utilização de antimicrobianos de largo espectro (POMARICO *et al.*, 2009).

Alterações do estado imunológico e o uso de prótese dentária são os principais fatores predisponentes para infecções fúngicas oportunistas (SCULLY; EL-KABIR, 1994). A infecção da cavidade bucal por *Candida spp*, denominada de candidose, pode ser considerada uma das infecções oportunistas mais comumente observadas em pacientes portadores de AIDS e, quando não corretamente tratada e prevenida, pode contribuir consideravelmente para a mortalidade desses pacientes (THULER *et al.*, 1998).

O tratamento de escolha para estas infecções é o uso de antifúngicos sistêmicos, porém a recorrência de candidíase é comum, além do risco de resistência ao medicamento e interações com outros fármacos (PAZ-CRISTOBAL *et al.*, 2014). Além disso, os antifúngicos podem causar efeitos adversos como irritação local, distúrbios gastrintestinais, náuseas, vômito, diarreia, anorexia, cefaléia, dor epigástrica, sangramento gengival, parestesia, trombocitopenia e risco de produzir anormalidades hepáticas, sendo necessário pesquisar alguma forma de tratamento coadjuvante (YAGIELA; NEIDLE; DOWD, 2000).

Como um método coadjuvante, que busca a redução microbiana da cavidade oral, pode-se destacar a terapia fotodinâmica. O efeito antimicrobiano potente e de largo espectro, tem destacado esta terapia como uma alternativa promissora para o tratamento das infecções localizadas (KATO *et al.*, 2013). Esta terapia envolve a associação da luz laser de baixa

potência a um corante fotoativo, o fotossensibilizador, o qual é aplicado sobre o biofilme subgingival, penetrando nas células microbianas, e quando irradiado pelo laser se torna excitado. Moléculas de oxigênio da célula microbiana recebem a energia gerada pela reação, e são formados oxigênio singlete e radicais livres altamente reativos, capazes de destruir sistemas biológicos, levando à morte celular (MEISEL; KOCHER, 2005).

A maioria dos microrganismos presentes na cavidade oral não é capaz de absorver a luz visível de alguns tipos de laser de baixa potência. Logo, utiliza-se um agente de absorção óptica não-tóxico para se fixar à parede microbiana, atraindo para si o laser no momento da irradiação. Essa reação é essencial para que se tenha ação antimicrobiana sobre os microrganismos orais (ZANIN; GONÇALVES, 2003).

Acredita-se que a terapia fotodinâmica apresenta algumas vantagens em relação à terapia antimicrobiana tradicional, como o fato de que a morte celular pode ser mais veloz, não sendo necessária a manutenção do agente químico em altas concentrações sobre as lesões por um período de tempo maior, como ocorre com os agentes antissépticos e antimicrobianos. Além disso, a morte celular mediada pela liberação de radicais livres torna improvável o desenvolvimento da resistência pelos microrganismos (CAVALCANTI, 2011). Diante do exposto, o objetivo da presente revisão é avaliar o efeito da terapia fotodinâmica nas espécies fúngicas em Odontologia.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 INFECÇÕES FÚNGICAS

As espécies de *Candida* fazem parte da microbiota comensal da cavidade oral da maioria dos indivíduos saudáveis. Entretanto, na presença de fatores predisponentes podem se tornar patogênicas, produzindo infecções que vão desde lesões mucosas superficiais até disseminações sistêmicas graves e invasivas (KLIS *et al.*, 2009). A capacidade das leveduras de coexistir com comensais ou bactérias patogênicas é um importante fator de virulência. As características quantitativas e qualitativas de microorganismos que coexistem influenciam, portanto, a formação de biofilme de *Candida* (SARDI *et al.*, 2010).

A *Candida albicans* possui fatores de patogenicidade que possibilitam o agravamento da doença periodontal, como a capacidade de invadir o epitélio do sulco, inibição da função dos polimorfonucleares, lisar monócitos e produção de enzimas (MARTINS *et al.*, 2002). Além disso, essa espécie é responsável pela liberação, na superfície celular, de proteinases com capacidade de degradar matriz extracelular e componentes da membrana basal do epitélio, como o colágeno e a fibronectina. Pode-se citar as fosfolipases e aspartil proteinases secretadas como sendo enzimas relevantes, secretadas por *Candida*, responsáveis pela degradação de tecido (SAMARANAYAKE, 2006).

A candidose, infecção causada por espécies de *Candida*, pode comprometer a cavidade oral, o trato gastrointestinal, região perianal, unhas, endocárdio, pulmões, trato urinário, pele e vagina. Estas infecções podem permanecer localizadas ou podem disseminar-se. Das lesões localizadas, os microrganismos podem ser disseminados por via hemática ou diretamente. A partir da infecção inicial, em geral localizada no revestimento cutâneo da pele e na mucosa oral de um hospedeiro imunocomprometido, os fungos podem invadir vasos sanguíneos e disseminar-se por quase todas as áreas do organismo. A candidose superficial está entre as infecções mais comuns da pele e mucosas, e tanto a candidose superficial como a profunda são problemas de saúde pública (OLIVEIRA, 2009).

Uma das formas de candidose orofaríngea frequente na prática clínica do cirurgião-dentista é a estomatite protética que é definida como um processo inflamatório na mucosa subjacente a uma prótese total ou parcial removível, geralmente associada a presença do fungo *C. albicans* (COCO *et al.*, 2008). A colonização e infecção por leveduras do gênero *Candida* são mediadas pela formação de um biofilme, que é composto por uma combinação

heterogênea de blastoconídios e hifas incorporados em substâncias poliméricas extracelular, formando os canais e poros. A matriz extracelular, constituída por polissacarídeos, proteínas, hexosaminas, ácido urônico e DNA, promovem a formação e aderência do biofilme, protegendo as células da fagocitose, mantendo a integridade do biofilme e limitando a difusão de substâncias (SENEVIRATNE; JIN; SAMARANAYAKE, 2008). A *Candida dubliniensis* produz um biofilme complexo composto pelas mesmas morfologias fúngicas expressas pela *Candida albicans*, a formação de uma matriz extracelular de múltiplas camadas, que atua como um reservatório para a libertação de células para o ambiente oral. A *C. dubliniensis* parece ser bem adaptada à colonização da cavidade oral, com relevante repercussão clínica (RAMAGE et al, 2001).

A administração de medicamentos de uso tópico pode ser usada nos primeiros episódios de infecções fúngicas do paciente, os quais se mostram efetivos no alívio dos sinais e sintomas clínicos de infecções associadas à *Candida spp.* (BANTING; HILL, 2001). Porém, esses medicamentos mostram resultados efêmeros, pois não eliminam completamente esses microrganismos (KONSBERG; AXELL, 1994). Essa deficiência ocorre devido à diminuição da concentração do agente tópico nos tecidos infectados associada aos efeitos diluentes da saliva e aos movimentos da língua (BANTING; HILL, 2001), causando a recidiva da infecção, necessitando da administração de medicação sistêmica. Porém, a associação de antimicrobianos sistêmicos poderá induzir a formação de microrganismos resistentes na microflora periodontal, suprimir a própria microflora ou provocar o crescimento excessivo de organismos patogênicos, bem como o risco de efeitos secundários adversos (HAFFAJEE; SOCRANSKY; GUNSOLLEY, 2003). O aumento de casos de infecções causadas por cepas de *Candida* e, conseqüentemente, a utilização excessiva de antimicrobianos sistêmicos e locais, favoreceu nas últimas décadas a resistência dessas leveduras aos agentes antifúngicos convencionais (PINTO; WEIKERT-OLIVEIRA, LYON, 2008).

Algumas espécies de *Candida*, como por exemplo a *C. glabrata*, são menos sensíveis a antifúngicos, como o fluconazol. Além desta resistência intrínseca em algumas espécies, evidências clínicas apresentaram tratamento com drogas antifúngicas com resultados diferentes em um único tipo de espécie, variando amplamente na sua susceptibilidade aos agentes antifúngicos. Assim, supõe-se que haja uma seleção de estirpes mais resistentes e a conseqüente persistência da doença (PFALLER et al., 1994). Logo, devido ao aumento de infecções fúngicas provocadas por *C. albicans* e a sua susceptibilidade reduzida aos antifúngicos convencionais, o potencial antifúngico de terapia fotodinâmica (TFD) tem sido avaliado (JUNQUEIRA et al., 2010).

2.2 TERAPIA FOTODINÂMICA

2.2.1 Histórico

A terapia fotodinâmica utiliza luz ativando um agente fotossensibilizador na presença de oxigênio, que resultará na formação de espécies de oxigênio e radicais livres, os quais causarão danos e morte celular (KONOPKA; GOSLINSKI, 2007). Apesar de ser uma terapia relativamente nova, data-se de 4000 anos atrás, em antigas civilizações, como a egípcia, indiana e grega, o hábito de ingerir plantas ou extratos associando com a luz solar para tratar doenças dermatológicas (SIMPLICIO; MAIONCHI; HIOKA, 2002). Foi relatado, em 1900, a primeira demonstração de fotossensibilização letal de células por Raab, ao verificar que, no escuro, as baixas concentrações de acridina não causavam efeito algum ao *Paramecium*; porém, sob exposição à luz normal do dia, poderia inativar os microrganismos (ALFENAS et al., 2011).

Em 1903, Von Tappeiner e Albert Jesionek utilizaram a aplicação tópica do corante eosina e exposição à luz para tratamento de câncer cutâneo (FREEDBERG et al., 2003), determinando, em 1907, este fenômeno como ação fotodinâmica, englobando todas as reações fotobiológicas que envolvesse um fotossensibilizador ocorrendo na presença de oxigênio molecular e levando à destruição de tecidos (TRIESSCHEIJN et al., 2006).

A partir da década de 90, a terapia fotodinâmica começou a ser testada em bactérias orais, apresentando resultados significativos na redução bacteriana, utilizando o laser de He-Ne (Hélio-Neônio), 632,8nm e 7,3mW de potência, associada aos fotossensibilizadores azul de toluidina, azul de metileno, ftalocianina e hematoporfirinas, em bactérias das espécies *Streptococcus sanguis*, *A. actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum* e *Porphyromonas gingivalis*, retiradas do biofilme subgengival de pacientes com periodontite crônica (WILSON; DOBSON; SARKAR, 1993).

2.2.2 Mecanismo de ação

A necessidade de tratamentos alternativos aos convencionais, os quais apresentavam alta taxa de resistência das doenças infecciosas, induziu a evolução dos estudos que buscavam alternativas terapêuticas para a inativação de microrganismos patogênicos. A terapia fotodinâmica surge apresentando vantagens para o tratamento de infecções originadas por

microrganismos, como amplo espectro de ação, inativação dos microrganismos resistentes e baixo potencial mutagênico nas células expostas, sendo capaz de promover atividades citotóxicas contra bactérias, fungos e protozoários (JORI et al., 2006); danifica as membranas plasmáticas e as organelas celulares, alterando a permeabilidade e função de transporte entre os meios intra e extracelular, além de inibir enzimas mitocondriais (MORTON, 2004).

A terapia fotodinâmica é baseada na administração tópica de agente fotossensibilizador não tóxico, o qual é submetido à irradiação com luz visível de comprimento de onda adequado. O corante fotossensibilizador ativado reage com as moléculas de oxigênio presentes nas células, por transferência de elétrons ou hidrogênio, produzindo radicais livres, ou por transferência de energia ao oxigênio, que leva à produção de oxigênio singlete, induzindo a morte celular (LAMBRECHTS; AALDERS; MARLE, 2005). Pode ocorrer, durante as reações, apoptose ou necrose celular, sendo o primeiro o de maior ocorrência. O corante pode estar localizado na mitocôndria, onde irá acontecer a apoptose; ou o corante pode estar localizado nos lisossomos e na membrana celular, onde irá ocorrer a necrose celular (KONOPKA; GOSLINSKI, 2007).

A reação do fotossensibilizador no estado excitado com o meio pode ocorrer de duas formas, os mecanismos do tipo I e II. O mecanismo do tipo I envolve a transferência de elétrons ou captação de átomos de hidrogênio entre o fotossensibilizador em seu estado excitado (tripleto) e moléculas de substrato, formando os radicais livres, que vão reagir com o oxigênio, resultando em espécies de oxigênio altamente reativas, como superóxido, radicais hidroxila e peróxido de hidrogênio (KONOPKA; GOSLINSKI, 2007). Os fotossensibilizadores associados a uma fonte de luz com comprimento de onda compatível para o seu pico de absorção são excitados, promovendo a produção das espécies reativas de oxigênio. As subseqüentes reações nos tecidos resultam em inativação das células-alvo através de reações de óxido-redução com lipídeos da membrana celular, ácidos nucléicos e proteínas (WAINWRIGHT, 1996).

O mecanismo do tipo II, o qual é o principal responsável pelo dano foto-oxidativo à célula microbiana, é baseado na produção de um estado eletronicamente excitado e altamente reativo de oxigênio, o oxigênio singlete (KONOPKA; GOSLINSKI, 2007). O fotossensibilizador, no estado tripleto, transfere energia para a molécula de oxigênio em seu estado fundamental (tripleto), acarretando a produção da espécie altamente reativa de oxigênio, o oxigênio singlete (TAKASAKI et al., 2009). Esse oxigênio singlete reage com os componentes celulares, pois os compostos orgânicos insaturados são suscetíveis à ação de oxigênio (SOUKOS; GOODSON, 2011). Por ter sua meia-vida curta, o oxigênio singlete

possui uma limitada difusão, tendo os locais das lesões celulares da terapia relacionados com o local da aplicação do corante fotossensibilizador, ou seja, há uma resposta localizada, sendo ideal para infecções localizadas (TAKASAKI et al., 2009).

2.2.3 Fotossensibilizadores

Os fotossensibilizadores são moléculas com a propriedade especial de absorver energia luminosa com utilização desta mesma energia em reações químicas nas células e tecidos submetidos à terapia fotodinâmica (CORREA; RETTORE JUNIOR; DE SOUSA, 2012). Como a maioria das células não possui componentes fotossensíveis, é necessário a aplicação de um fotossensibilizador para atrair luz e iniciar a formação de radicais livres. Os agentes fotossensibilizadores devem ter picos de absorção muito próximos ao comprimento de onda de luz laser a ser utilizada no tratamento e não podem apresentar riscos ou danos tóxicos ao paciente (DÖRTBUDAK et al., 2001).

O sítio de ação primário em bactérias gram-negativas é a membrana externa, porém em bactérias gram-positivas e fungos, este sítio é a membrana plasmática. O fotossensibilizador conduz reações que envolvem a modificação de lipídios e/ou polissacarídeos, além de inativar proteínas e enzimas essenciais, presentes na membrana plasmática, provocando a morte celular (HARRIS; CHATFIELD; PHOENIX, 2005).

O sucesso da terapia fotodinâmica depende de fatores relevantes do corante, como a concentração, a qual varia de um material para outro, por haver uma variação das características químicas de cada composto e da toxicidade. Além da concentração do corante, pode mencionar, como fator relevante, a interação do fotossensibilizador com o alvo, em que se espera que o corante se una ao microrganismo, ou ultrapasse a membrana citoplasmática. Para que isto seja possível, é fundamental que haja um espaço de tempo entre a aplicação do fotossensibilizador no alvo e a ativação pela fonte de luz escolhida, geralmente, variando de um a dez minutos (RIBEIRO et al., 2005).

Foi amplamente observado que a *Candida albicans*, assim como outras leveduras, é ligeiramente mais difícil de matar pela terapia fotodinâmica que células bacterianas gram-positivas, necessitando, assim, de doses maiores de corante fotossensibilizador (ZEINA et al., 2002). Isto pode ser explicado pela presença de uma membrana nuclear nas leveduras, além de um maior tamanho da célula e menor número de alvos para o oxigênio singlete por unidade de volume da célula (DEMIDOVA; HAMBLIN, 2005a). Porém, apesar de necessitar de uma dose maior de fotossensibilizador, foi demonstrado que não ocorre número

considerável de morte celular humana, além de não causar efeitos genotóxicos e mutagênicos detectáveis (ZEINA et al., 2003).

Dentre as propriedades desejadas para a escolha de um fotossensibilizador, pode-se citar, de importância para a periodontia: pureza química, intervalo pequeno entre a administração da droga e o acúmulo máximo no local aplicado, ativação por comprimentos de onda com ótima penetração no tecido (ISSA; MANELA-AZULAY, 2010), além de uma formulação simples e estável (tempo mínimo de dois anos) e baixa toxicidade no escuro (BONNET, 1995).

Existem vários agentes fotossensibilizadores utilizados, podendo citar os fenotiazínicos, rosa bengala, cristal violeta, ftalocianina, tionina, protoporfirina (PELOI, 2007). O azul de toluidina e o azul de metileno, pertencentes ao grupo fenotiazínicos, são os fotossensibilizantes mais utilizados em pesquisas na área odontológica (FELDMAN, 2009). Apesar destes pertencerem ao mesmo grupo e possuírem estrutura química e propriedades físico-químicas semelhantes, a eficiência destas substâncias fotossensibilizadoras variam entre diferentes microrganismos (DEMIDOVA; HAMBLIN, 2005b). Os fotossensibilizadores da família dos fenotiazínicos se destacam na área odontológica pelo comprimento de onda necessário para ativá-los (620-700nm), dando-lhes um maior poder de penetração (ALMEIDA *et al.*, 2008); em contrapartida, os fotossensibilizadores ativados com 400-500nm apresentam pouca penetração nos tecidos (PROFIO, 1987).

O azul de metileno tem se destacado por absorver na região de luz vermelha e produzir oxigênio singleto, possuir um máximo de absorção na região de 600 a 660nm, além de exibir um bom valor de atividade fotodinâmica e de ser compatível com o uso de LED (PELOI; DOIRON, 2007); além disso, tem sido utilizado em pesquisas com ação antifúngica e antibacteriana (CAVALCANTI, 2011). É comum este corante acumular-se na mitocôndria das células, pois estas apresentam uma diversidade maior de proteínas em sua membrana (GABRIELLI et al., 2003). O azul de toluidina tem sido muito usado, há vários anos, por ser eficiente na produção de oxigênio singleto sob o comprimento de onda máximo de absorção de 630nm, além de se classificar como eficiente na inativação de leveduras, bactérias gram-positivas e gram-negativas com a irradiação do laser (DONELLY; MCCARRON; TUNNEY, 2008).

2.2.4 Fontes de luz

Considera-se como uma fonte de luz ideal aquela que, por um baixo custo, fornece uma maior quantidade de luz possível no máximo de absorção do fotossensibilizador, sem causar efeitos térmicos significativos (MACHADO, 2000). Deve-se considerar as bandas de absorção dos fotossensibilizadores e a profundidade de penetração da luz nos tecidos biológicos na escolha da região do espectro eletromagnético de emissão da fonte de luz (NOWIS et al., 2005).

O laser, forma de radiação não ionizante, altamente concentrada, com efeitos térmicos e fotoquímicos nos diferentes tecidos, tem sido eleito como fonte de luz por não ser invasiva e ser bem tolerada pelos tecidos (HENRIQUES et al., 2008), além de permitir um melhor controle de energia específica em estudos experimentais e apresentarem maior definição na penetração em tecidos biológicos (CARVALHO, 2012). O laser, geralmente, possui um comprimento de onda correspondente ao pico de absorção do fotossensibilizante, com capacidade de emissão de luz monocromática de alta fluência, associada à precisão do foco (ISSA; MANELA-AZULAY, 2010). Além disso, pode ser aplicada em regiões de difícil acesso, por meio de fibras ópticas (DOVIGO, 2007).

O laser pode ser classificado em duas categorias, baseando-se no nível de excitabilidade que possivelmente causará no tecido alvo biológico. Na primeira categoria, denominada de alta intensidade, a energia depositada no tecido é ampla, a ponto de romper as ligações químicas dessas moléculas ou remover elétrons, rompendo ou modificando de forma permanente o tecido alvo, através de corte, coagulação e ablação. Na segunda categoria, denominada de baixa intensidade, ocorre uma menor excitabilidade, ocorrendo bioestimulação ou bioinibição das reações químicas e fisiológicas naturais do tecido, regulando as funções fisiológicas celulares. Os lasers de baixa intensidade apresentam um efeito analgésico, anti-inflamatório e biomodulador (LIZARELLI, 2005).

Apesar de, convencionalmente, os lasers de baixa potência serem utilizados como fonte de irradiação na terapia fotodinâmica, o uso de Diodo Emissor de Luz (Light Emitting Diode – LED) tem se fortalecido (GIUSTI et al., 2008). O LED é considerado uma fonte de luz contínua de alta eficiência, baseado nas propriedades de um semicondutor dopado com duas impurezas diferentes, formando um diodo (GENOVESE, 2000). Possui propriedades que resultam em bandas de emissão mais largas, beneficiando a agregação com o fotossensibilizador e a absorção de energia luminosa (LIMA, 2009). Além disso, apresenta vantagens como: portáteis, fácil manejo e um menor custo (PATTERSON; WILSON, 1999).

2.3 INATIVAÇÃO DA CÂNDIDA PELA TFD

Kato et al. (2013), em seu estudo, avaliaram características da *Candida albicans* em condições subletais da terapia fotodinâmica, além de avaliarem se as alterações foram mantidas nas células filhas. Como fotossensibilizador, o azul de metileno (0,05mM) foi eleito, associado a um laser diodo (660nm), como fonte de luz eleita. In vitro, foram avaliadas características como crescimento da espécie, formação de tubo germinativo, sensibilidade para o estresse oxidativo e osmótico, integridade da parede celular, além da susceptibilidade ao fluconazol. In vivo, utilizando ratos com infecção fúngica sistêmica, foi avaliada a patogenicidade da *C. albicans*. As sessões subletais da terapia fotodinâmica reduziram a taxa de crescimento e a capacidade da *C. albicans* de formar tubos germinativos, quando comparadas com células não tratadas. Além disso, a resistência ao fluconazol foi reduzida após a terapia fotodinâmica. Embora, tenha ocorrido alterações, nenhum dos parâmetros patogênicos foi alterado nas células filhas de *C. albicans*. In vivo, foi observado que houve um aumento na sobrevivência dos ratos pré-tratados com terapia fotodinâmica, comparados com ratos não tratados. Segundo os dados sugerem, a terapia fotodinâmica, em doses subletais, podem inibir fatores de virulência e reduzir *in vivo* a patogenicidade da espécie. Porém, a ausência de alterações nas células filhas indica que os efeitos, nestas condições, são transitórios.

Paz-Cristobal et al. (2014) investigaram o efeito fungicida da terapia fotodinâmica contra cepas de *Candida albicans* resistentes a antifúngicos. Dois tipos de fotossensibilizadores com mecanismos de ação diferentes foram utilizados, hipericina e 1,9-dimetil-azul de metileno, comparando sua eficácia e comparando as espécies reativas de oxigênio envolvidas na citotoxicidade do corante. As leveduras foram irradiadas por diodos emissores de luz (LED); para o 1,9-dimetil-azul de metileno comprimento de onda 639,8nm; para a hipericina comprimento de onda de 602nm. Os dados indicaram que a terapia fotodinâmica foi eficaz na eliminação *in vitro* de cepas de *Candida albicans*, independente de seu nível de resistência e independente do fotossensibilizador utilizado no estudo. Porém, a hipericina foi mais eficiente em baixas concentrações, enquanto que o 1,9-dimetil-azul de metileno foi eficiente em concentrações maiores. Em relação às espécies de oxigênio reativas, o peróxido de hidrogênio foi a principal espécie fototóxica, enquanto o dióxigênio singlete foi a espécie mais importante no tratamento a base de 1,9-dimetil-azul de metileno.

Questionando o efeito da terapia fotodinâmica no crescimento, aderência e fatores de virulência da *Candida albicans*, Costa et al. (2012) avaliaram a ação desta terapia, mediada por eritrosina e diodo emissor de luz verde (532nm), no tratamento de candidíase bucal em

ratos imunossuprimidos. Além disso, foi avaliada, *in vitro*, a adesão de leveduras às células epiteliais bucais. Após os ratos imunossuprimidos infectados com candidíase bucal serem submetidos à terapia fotodinâmica, as leveduras recuperadas a partir destes foram quantificadas e analisadas para os efeitos da terapia sobre a sua adesão às células epiteliais bucais. Macroscopicamente, foi revelado que não houve diferença significativa nas lesões de candidíase. Porém, microscopicamente, os resultados demonstraram que a terapia fotodinâmica, mediada por eritrosina e LED, exibiu atividade antifúngica na candidíase, sem danificar o tecido adjacente; além disso, reduziu significativamente a adesão de *Candida albicans* às células epiteliais bucais.

No seu ensaio clínico, Mima et al. (2012) compararam a eficácia clínica e micológica da terapia fotodinâmica com a do tratamento antifúngico tópico para o tratamento de estomatite protética, além da prevalência de espécies de *Candida*. Foi utilizado o azul de toluidina, iluminado pela luz de diodo emissor de luz (455nm) três vezes por semana durante 15 dias, no grupo designado à inativação fotodinâmica; o grupo designado ao tratamento antifúngico recebeu tratamento tópico com nistatina quatro vezes ao dia por 15 dias. Os resultados demonstraram que a terapia fotodinâmica foi semelhante à nistatina tópica quanto à eficácia na redução da quantidade de unidades formadoras de colônias; porém, um número maior de pacientes apresentou uma menor inflamação palatal após a nistatina. É relevante, ainda, observar que foi necessário um menor número de sessões de terapia fotodinâmica para atingir o mesmo resultado clínico. Os resultados mostraram que a *Candida albicans* foi a espécie prevalente.

O estudo de Carmello (2011) objetivou analisar *in vivo* a capacidade de inativação da terapia fotodinâmica da *Candida albicans*. Para tal, foi empregado o Photodithazine[®], como fotossensibilizador, em diferentes concentrações, associado à luz do tipo LED (660nm). Foram utilizados camundongos imunossuprimidos infectados de candidose no dorso da língua. Os resultados demonstraram que a terapia fotodinâmica promoveu redução da viabilidade celular da *Candida albicans* presentes nas lesões bucais dos camundongos com candidose oral, sem haver diferença significativa entre os grupos de concentrações diferentes. Além disso, foi verificado que a terapia fotodinâmica não causou qualquer efeito adverso no tecido das línguas dos animais.

Considerando a *Candida albicans* como uma espécie fúngica oportunista, formadora de biofilme, o qual compromete a ação dos agentes antifúngicos, Freire et al. (2013) desenvolveram um estudo com o objetivo de comparar o efeito da inativação fotodinâmica mediada por rosa bengala e mediada por eosina Y sobre células planctônicas e biofilme de *C.*

albicans. Os fotossensibilizadores foram associados a um diodo emissor de luz verde (532nm). Os exames mostraram uma diminuição significativa no número de unidades formadoras de colônias. Em relação à formação de biofilme, a inativação fotodinâmica mediada pelo rosa bengala e pelo eosina Y promoveu uma diminuição de estruturas fúngicas. Os dados sugerem que a terapia fotodinâmica mediada por ambos fotossensibilizadores reduziram significativamente *C. albicans*. Porém, esta redução foi mais significativa em células planctônicas que biofilmes.

A hipericina, que possui propriedades desejadas, como um alto rendimento quântico de oxigênio singlete e toxicidade relativamente baixa no escuro, teve sua capacidade de fotoinativação de espécies de *Candida* questionada por Bernal et al. (2011). O estudo teve como objetivo obter parâmetros experimentais para conseguir uma fotoinativação seletiva aceitável pela hipericina. Associada ao corante fotossensibilizador, a fonte de luz eleita foi o diodo emissor de luz amarela (590nm). Além disso, as espécies *Candida albicans* e *Candida dubliniensis* foram eleitas para serem analisadas neste estudo. Os resultados apresentaram uma fotoinativação relevante de ambas as espécies com tempo de incubação curto e baixa concentração do corante fotossensibilizador. Os autores, então, sugerem que a terapia fotodinâmica mediada pela hipericina pode ser potencialmente utilizada para o tratamento de candidíase oral, a qual pode ser colonizada por mais de uma estirpe de *Candida*.

Rezusta et al. (2012) também avaliaram o efeito *in vitro* fungicida da terapia fotodinâmica mediada pela hipericina, além de avaliar sua fototoxicidade aos queratinócitos e fibroblastos dérmicos, afim de indicar possíveis efeitos colaterais. O corante fotossensibilizador, aplicado em diferentes concentrações (0,625, 1,25, 2,5 e 4 μ M), foi associado a uma lâmpada de diodo emissor de luz (602nm); *Candida parapsilosis*, *Candida krusei* e *Candida albicans* foram as espécies eleitas para a análise. O estudo mostrou que a terapia fotodinâmica mediada pela hipericina apresentou potencial antifúngico contra todas as espécies de *Candida* analisadas, embora tenha havido uma divergência na susceptibilidade para cada espécie. Além disso, de acordo com os experimentos *in vitro*, somente as condições de tratamento necessários para fotoinativar as células de *Candida albicans* não apresentaram danos significativos para os queratinócitos e fibroblastos.

Costa et al. (2011) avaliaram o efeito da terapia fotodinâmica mediada por eritrosina em culturas planctônicas e biofilmes de *Candida albicans* e *Candida dubliniensis*. As culturas planctônicas foram tratadas com concentrações de eritrosina de 0,39-200 μ M; os biofilmes formados foram tratados com 400 μ M de eritrosina. O corante fotossensibilizador foi associado a um diodo emissor de luz verde (532nm). O efeito antimicrobiano da terapia foi

analisado através da contagem de unidades formadoras de colônia. As espécies de *C. albicans* e *C. dubliniensis* não foram detectadas em culturas planctônicas, após a terapia utilizando eritrosina em concentrações de 3,12 μ M ou mais; para a *C. albicans* uma concentração de, pelo menos, 0,39 μ M foi necessário para haver uma redução estatisticamente significativa; para a *C. dubliniensis* foi necessário concentração maior ou igual a 1,56 μ M para haver esta redução. Os biofilmes expostos mostraram uma diminuição nas estruturas fúngicas. Os autores expuseram que ambas as espécies foram susceptíveis à terapia fotodinâmica mediada pela eritrosina, porém as estruturas de biofilmes foram consideradas mais resistentes do que as culturas planctônicas.

REFERÊNCIAS

- ALFENAS, C. F. et al. Terapia fotodinâmica na redução de micro-organismos no sistema de canais radiculares. **Revista Brasileira de Odontologia**, Rio de Janeiro, v. 68, n. 1, p. 68-71, Jan./Jun. 2011
- AVILA, M.; OJCIUS, D.; YILMAS, O. The oral microbiota: living with a permanent guest. **DNA and Cell Biology**, Nova York, v.28, n. 8, p. 405-411, Ago. 2009.
- BANTING, D.W.; HILL, S.A. Microwave disinfection of dentures for the treatment of oral candidiasis. **Special Care in Dentistry**, Londres, v. 21, n.1, p.4-8, 2001.
- BERNAL, C. et al. Selective Photoinactivation of *C. albicans* and *C. dubliniensis* with Hypericin. **Lasers Physics**, São Carlos, v. 21, n. 1, p. 245-249, Jan. 2011.
- BONNET, R. Photosensitizers of the Porphyrin and Phthalocyanine Series for Photodynamic Therapy. **Chemical Society Reviews**, Londres, v. 24, n. 1, p. 19-33, Jan.1995.
- CARMELLO, J. C. **Efetividade da terapia fotodinâmica mediada pelo fotossensibilizador Photodiazine na inativação de *Candida albicans* in vivo**. 2011. 141f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia, Araraquara, 2011.
- CARVALHO, D. P. L. **Terapia Fotodinâmica no controle de micro-organismos isolados de feridas infectadas: estudo in vitro**. 2012. 65 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade do Vale do Paraíba, Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica, São José dos Campos, 2012.
- CAVALCANTI, T. M. **Avaliação do efeito antibacteriano da terapia fotodinâmica a laser: estudo in vitro**. 2011. 71 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Universidade Estadual da Paraíba, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Campina Grande, 2011.
- COCO, B.J. et al. Mixed *Candida albicans* and *Candida glabrata* populations associated with the pathogenesis of denture stomatitis. **Oral Microbiology and Immunology**, v. 23, n.5, p.377-383, Oct. 2008.
- CORREA, R. O.; RETTORE JUNIOR, R.; DE SOUSA, G. R. A terapia fotodinâmica antimicrobiana como opção de tratamento não invasivo da Peri-implantite – Revisão de Literatura. **Brazilian Journal of Periodontology**, Belo Horizonte, v. 22, n. 2, p. 11-16, Jun. 2012.
- COSTA, A. C. et al. Susceptibility of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* to erythrosine- and LED-mediated photodynamic therapy. **Archives of Oral Biology**, São José dos Campos, v. 56, n. 11, p. 1299-1305, Jun. 2011.
- COSTA, A. C. *et al.* Effect of erythrosine- and LED-mediated photodynamic therapy on buccal candidiasis infection of immunosuppressed mice and *Candida albicans* adherence to buccal epithelial cells. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology**, São José dos Campos, v. 114, n. 1, p. 67-74, Jul. 2012.

DEMIDOVA, T. N.; HAMBLIN, M.R. Effect of cell-photosensitizer binding and cell density on microbial photoinactivation. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Boston, v. 49, n. 6, p. 2329-2335, Jun. 2005a.

DEMIDOVA, T. N.; HAMBLIN, M.R. Photodynamic inactivation of *Bacillus* spores, mediated by phenothiazinium dyes. **Applied and environmental microbiology**, Boston, v. 71, n. 11, p. 6918-6925, Nov. 2005b.

DONNELLY, R. F.; MCCARRON, P.A.; TUNNEY, M.M. Antifungal photodynamic therapy. **Microbiological Research**, Belfast, v. 163, n. 1, p. 1-12, Nov. 2008.

DÖRTBUDAK, O. et al. Lethal photosensitization for decontamination of implant surfaces in the treatment of peri-implantitis. **Clinical Oral Implants Research**, Belo Horizonte, v. 12, n. 2, p. 104-108, Abr. 2001.

DOVIGO, L. N. **Efetividade da terapia fotodinâmica na inativação de *Candida spp.*** 2007, 149f. Dissertação (Mestrado em Reabilitação Oral) – Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2007.

FELDMAN, B. C. **Avaliação clínica dos efeitos da terapia fotodinâmica antimicrobiana no tratamento não-cirúrgico da periodontite crônica.** 2009, 94 f. Dissertação (Mestrado em Periodontia) – Universidade do Grande Rio, Escola de Ciências da Saúde, Duque de Caxias, 2009.

FREEDBERG I. M. et al. **Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine**, Vol. 1. New York: McGraw-Hill Professional, 2003.

FREIRE, F. et al. Comparison of the effect of rose bengal- and eosin Y-mediated photodynamic inactivation on planktonic cells and biofilms of *Candida albicans*. **Lasers in Medical Science**, v.8, Set. 2013.

GABRIELLI, D. et al. Systemic anti-infective periodontal therapy. A systematic review. **Annals of Periodontology**, Boston, v. 8, n. 1, p. 115-181, Dez, 2003.

GENOVESE, W. J. **Laser de baixa intensidade: aplicações terapêuticas em Odontologia.** São Paulo: Lovise, 175 p, 2000.

GIUSTI, J. S. M. et al. Antimicrobial photodynamic action on dentin using a light-emitting diode light source. **Photomedicine and Laser Surgery**, Araraquara, v. 26, n. 4, p. 281-287, Ago. 2008.

HAFFAJEE, A. D.; SOCRANSKY, S. S.; GUNSOLLEY, J. C. Systemic anti-infective periodontal therapy. A systematic review. **Annals of Periodontology**, Boston, v. 8, n. 1, p. 115-181, Dez. 2003.

HARRIS, F.; CHATFIELD, L. K.; PHOENIX, D. A. Phenothiazinium based photosensitizers photodynamic agentes with a multiplicity of cellular targets and clinical applications. **Current Drug Targets**, Preston, v. 6, n. 5, p. 615-627, Ago. 2005.

HENRIQUES, A. C. G. et al. A laserterapia na odontologia: propriedades, indicações e aspectos atuais. **Odontologia Clínico Científica**, Recife, v. 7, n. 3, p. 197-200, Jul./Set. 2008.

HOWELL, S.A.; HAZEN, K.C. Candida, Cryptococcus, and other yeasts of medical importance. In: MURRAY PR, BARON EJ, JORGENSEN J, PFALLER MA, LANDRY ML (EDS). **Manual of Clinical Microbiology**. Washington DC: American Society for Microbiology, p. 1762–1788, 2011.

ISSA, M. C. A.; MANELA-AZULAY, M. Terapia fotodinâmica: revisão da literatura e documentação iconográfica. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 85, n. 4, p. 501-11, Jul/Ago. 2010.

JORI, G. Photodynamic therapy of microbial infections: state of the art and perspectives. **Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology**, Padova, v. 25, n. 1-2, p. 505-519, 2006.

JUNQUEIRA, J.C., et al. Antimicrobial photodynamic therapy: photodynamic antimicrobial effects of malachite green on Staphylococcus, Enterobacteriaceae, and Candida. **Photomedicine and Laser Surgery**, São José dos Campos, v.28, n. 1, p. S67–72, Ago. 2010.

KATO, I. T. *et al.* Antimicrobial photodynamic inactivation inhibits Candida albicans virulence factors and reduces in vivo pathogenicity. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, São Paulo, v. 57, n. 1, p. 445-451, Jan. 2013.

KLIS, F. M. *et al.* Covalently linked cell wall proteins of Candida albicans and their role in fitness and virulence. **FEMS Yeast Research**, Amsterdam, v. 9, n. 7, p. 1013-1028, Out. 2009.

KONSBERG, R.; AXELL, T. Treatment of *Candida* infected denture stomatitis with a miconazole lacquer. **Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology**, v. 78, n.3, p.306-311, Sept.1994.

KONOPKA, K.; GOSLINSKI, T. Photodynamic therapy in dentistry. **Journal of Dental Research**, San Francisco, v. 86, n. 8, p. 694-707, Ago. 2007.

LAMBRECHTS, S. A. G.; AALDERS, M. C. G.; MARLE, J. V. Mechanistic study of the Photodynamic Inactivation of *Candida albicans* by a Cationic Porphyrin. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Amsterdam, v. 49, n. 5, p. 2026-3034, Maio 2005.

LEUNG, W. K. *et al.* Oral colonization, phenotypic, and genotypic profiles of *Candida* species in irradiated, dentate, xerostomic nasopharyngeal carcinoma survivors. **Journal of Clinical Microbiology**, Hong Kong, v.38, n.6, p. 2219-2226, Jun. 2000.

LIMA, J. P. M. **Estudo in situ do efeito antimicrobiano da terapia fotodinâmica em lesões de cárie dentinária**. 2009. 53 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.

LIZARELLI, R. F. Z. **Protocolos clínicos odontológicos**. 2 edição. São Paulo: Bons Negócios Editora, 2005.

- MACHADO, A. E. H. Terapia fotodinâmica: princípios, potencial de aplicação e perspectivas. **Química Nova**, São Paulo, v. 23, n. 2, p. 237-243, Mar./Abr. 2000.
- MARTINS, C. A. P. *et al.* Presence of *Candida* spp. in chronic periodontitis patients. **Ciência Odontológica Brasileira**, São José dos Campos, v. 5, n. 3, p. 75-83, Set./Dez. 2002.
- MEISEL, P; KOCHER, T. Photodynamic therapy for periodontal diseases: state of the art. **Journal of Photochemistry and Photobiology B**, Alemanha, v. 79, n. 2, p 159-170, Maio 2005.
- MIMA, E. G. *et al.* Comparison of Photodynamic Therapy versus conventional antifungal therapy for the treatment of denture stomatitis: a randomized clinical trial. **Clinical Microbiology and Infection**, Ponta Grossa, n. 18, v. 10, p. 380-388, Out. 2012.
- MORTON, C. A. Photodynamic therapy for nonmelanoma skin cancer - and more? **Arch Dermatol**, Reino Unido, v. 140, p. 116-120, Jan. 2004.
- NOWIS, D. et al. Direct tumor damage mechanisms of photodynamic therapy. **Acta biochimica polonica**, Polônia, v. 52, n. 2, p. 339-352, Jun. 2005.
- OLIVEIRA, C.E. **Candida albicans e estomatite por dentadura: avaliação da presença do fungo na lesão, na prótese total superior e no sangue**. 2009. 92f. Dissertação (Mestrado em Odontologia, Área de concentração: Patologia Bucal) – Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, Bauru, 2009.
- PATTERSON, M. S.; WILSON, B. Photodynamic therapy. In: J.V. Dyh (Ed.). **The Technology of Radiation Oncology**. Madison: Medical Physics Publishing, 1999. Photodynamic therapy, p. 941-980.
- PAZ-CRISTOBAL, M. P. *et al.* Photodynamic fungicidal efficacy of hypericin and dimethyl methylene blue against azole-resistant *Candida albicans* strains. **Mycoses**, Espanha, v. 57, n. 1, p. 35-42, Jan. 2014.
- PELOI, L. S. **Estudos da aplicação do corante azul de metileno em terapia fotodinâmica**. 2007. 67 f. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Maringá, Programa de Pós-Graduação em Química, Maringá, 2007.
- PEREIRA, M. S. *et al.* **Plantas medicinais na Odontologia: Potencial antimicrobiano**. João Pessoa: Editora Universitária – UFPB, p. 23, 2010.
- PFALLER, M. A. et al. Variations in fluconazole susceptibility and electrophoretic karyotype among oral isolates of *Candida albicans* from patients with AIDS and oral candidiasis. **Journal of Clinical Microbiology**, Portland, v. 32, n.1, p. 59–64, Janeiro, 1994.
- PINTO, P. M.; WEIKERT-OLIVEIRA, R. C. B.; LYON, J. P. In vitro antifungal susceptibility of clinical isolates of *Candida* spp. Obtained from patients with different predisposing factors to candidosis. **Microbiological Research**, Belo Horizonte, v. 163, n. 5, p. 579-585, Set. 2008.

POMARICO L. et al. Associations among the use of highly active antiretroviral therapy, oral candidiasis, oral *Candida* species and salivary immunoglobulin A in HIV-infected children. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**, Rio de Janeiro, v. 108, n. 2, p. 203–210, Ago. 2009.

PROFIO, A. E.; DOIRON, D. R. Transport of light in tissue in photodynamic therapy. **Photochemistry and Photobiology**, California, v. 46, n. 5, p. 591-599, Nov. 1987.

RAMAGE, G. et al. Biofilm formation by *Candida dubliniensis*. **Journal of Clinical Microbiology**, San Antonio, v. 39, n. 9, p. 3234–3240, 2001.

REZUSTA, A. et al. In vitro fungicidal photodynamic effect of hypericin on *Candida* species. **Photochemistry and Photobiology**, Zaragoza, v. 88, n. 3, p. 613-619, Maio/Jun. 2012.

RIBEIRO, M. S. et al. **Terapia fotodinâmica antimicrobiana. Aplicações na odontologia.** 23° CIOSP, São Paulo, 2005.

SAMARANAYAKE, L. **Essential microbiology for dentistry.** London, 3 ed, 2006.

SARDI, J. C. *et al.* *Candida* spp. in periodontal disease: a brief review. **Journal of Oral Science**, Piracicaba, v. 52, n. 2, p. 177-185, Jun. 2010.

SENEVIRATNE CJ, JIN L, SAMARANAYAKE LP. Biofilm lifestyle of *Candida*: a mini review. **Oral Diseases**, Hong Kong, v. 14, n. 7, p. 582–590, Out. 2008.

SIMPLICIO, F. I.; MAIONCHI, F.; HIOKA, N. Terapia Fotodinâmica: Aspectos Farmacológicos, Aplicações e Avanços Recentes no Desenvolvimento de Medicamentos. **Química Nova**, Maringá, v. 25, n. 5, p. 801-807, Set. 2002.

SCULLY, C.; EL-KABIR, M. *Candida* and oral candidosis: a review. **Critical Reviews in Oral Biology & Medicine**, Londres, v. 5, n. 2, p. 125–57, 1994.

SOUKOS, N. S.; GOODSON, J. M. Photodynamic therapy in the control of oral biofilms. **Periodontology 2000**, Singapore, v. 55, n. 1, p. 143-166, Fev. 2011.

TAKASAKI, A. A. et al. Application antimicrobial photodynamic therapy in periodontal and Peri-implant diseases. **Periodontology 2000**, Singapore, v. 51, n. 1, p. 109-140, Out./Dez. 2009.

THULER, L.C. et al. Mortality descriptors in HIV inpatients. **Revista de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.32, n.6, p. 572-578, Dec. 1998.

TRIESSCHEIJN, M. et al. Photodynamic Therapy in Oncology. **The Oncologist**, Amsterdam, v. 11, n. 4, p. 1034-1044, Out. 2006.

WAINWRGHT, M. Non-porphyrin photosensitizers in biomedicine. **Chemical Society Reviews**, Preston, v. 25, n. 5, p.351-359, 1996.

WILSON, M.; DOBSON, J.; SARKAR, S. Sensitization of Periodontopathogenic Bacteria to Killing by Light from a Low-Power Laser. **Oral Microbiology and Immunology**, Londres, v. 8, n. 3, p. 182-187, Jun. 1993.

YAGIELA, J. A.; NEIDLE, E. A.; DOWD, F. K. **Farmacologia e Terapêutica para Dentistas**. 4 ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 2000.

ZANIN, I. C. J.; GONÇALVES, R. B. **Novas perspectivas do uso do laser terapêutico**. In: BRUGNERA JÚNIOR, A. *et al.* **Laserterapia aplicada à clínica odontológica**, Santos, p. 99-102, 2003.

ZEINA, B. et al. Cytotoxic effects of antimicrobial photodynamic therapy on keratinocytes in vitro. **British Journal of Dermatology**, Syria, v. 146, n. 4, p. 568-573, Abr. 2002.

ZEINA, B. et al. Antimicrobial photodynamic therapy: assessment of genotoxic effects on keratinocytes in vitro. **British Journal of Dermatology**, Syria, v. 148, n. 2, p. 229-232, Fev. 2003.

3 ARTIGO

Terapia fotodinâmica na redução fúngica.

Maria Isabel Serpa Simões de Farias², Rachel de Queiroz Ferreira Rodrigues², Naiara de Oliveira Farias³

RESUMO: Espécies de *Candida* são fungos comuns de serem encontrados na microbiota oral, sendo a *Candida albicans* a espécie mais prevalente e patogênica. A *Candida albicans* possui fatores de patogenicidade, os quais se sobressaem quando há um comprometimento imunológico do paciente, podendo causar desde infecções localizadas até infecções disseminadas. O tratamento convencional, composto pela administração tópica ou sistêmica de medicamentos antifúngicos, pode causar recorrência da infecção fúngica, sendo necessário um tratamento coadjuvante. A terapia fotodinâmica é, então, proposta como um tratamento coadjuvante à terapia convencional, surgindo como um método eficaz de redução microbiana, por meio da associação de uma fonte de luz e um agente fotossensibilizador. Apesar dos benefícios desta terapia, ainda não há um protocolo estabelecido da terapia fotodinâmica, que seja comprovadamente efetivo, seguro e que proporcione benefícios significativos. O presente trabalho tem o propósito de apresentar uma revisão de literatura sobre o efeito da terapia fotodinâmica nas espécies fúngicas, que podem causar infecções oportunistas.

Palavras-chave: Terapia fotodinâmica; Fungos; *Candida*

ABSTRACT: *Candida* species are common fungi are usually found in the oral microflora and *Candida albicans* is the most prevalent and pathogenic species. *Candida albicans* has pathogenicity factors, which are evident when there is an immune compromised of the patient and this situation may cause localized infections and spread infections. Conventional treatment consists of the administration of topical or systemic antifungal medications, can cause recurrence of the fungal infection, then a supportive treatment is needed. Photodynamic therapy is proposed as a treatment adjunct to conventional therapy due to their efficiency of microbial reduction by combining a light source and a photosensitizing agent. Despite the

¹Graduanda do Curso de Bacharelado em Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) – Patos/PB

²Especialista em Periodontia pelo SINDODONTO – COESP; Mestre em Odontologia pela UNP. Professora de Periodontia da Universidade Federal de Campina Grande – Patos/PB

³ Graduanda do Curso de Bacharelado em Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) – Patos/PB

Endereço para correspondência: Maria Isabel Serpa Simões de Farias. Rua Professor José Araújo, 815, Jardim Guanabara, Patos. Email: serpasimoes@gmail.com

benefits of this therapy, there is no photodynamic therapy protocol that is proven effective, safe and indicating significant benefits. This article aims to show a review of literature on the effect of photodynamic therapy in fungal species that can cause opportunistic infections.

Key words: Photodynamic therapy; Fungi; *Candida*

1 INTRODUÇÃO

A cavidade oral é amplamente colonizada por espécies microbianas, abrangendo bacterianas (AVILA; OJCIUS; YILMAS, 2009) e fúngicas, como espécies de *Candida* (LEUNG et al., 2000), as quais estão presentes no biofilme dental. Boa parte da população adulta saudável possui *Candida spp.* na cavidade bucal, a qual pode colonizar bolsas periodontais, com conseqüente participação do biofilme subgengival, podendo intensificar a inflamação tecidual (JÄRVENSIVU et al., 2004).

A *Candida albicans* é considerada a espécie isolada a partir da cavidade oral mais prevalente e patogênica, mas, outras espécies do mesmo gênero também tem sido isoladas e são frequentemente associadas ao desenvolvimento de infecções, tais como a *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei* e *Candida guilliermondi*, devido a uma crescente população de pacientes imunodeprimidos e a utilização de antimicrobianos de largo espectro (POMARICO et al., 2009).

Alterações do estado imunológico e o uso de prótese dentária são os principais fatores predisponentes para infecções fúngicas oportunistas (SCULLY; EL-KABIR, 1994). A infecção da cavidade bucal por *Candida spp.*, denominada de candidose, pode ser considerada uma das infecções oportunistas mais comumente observadas em pacientes portadores de AIDS e, quando não corretamente tratada e prevenida, pode contribuir consideravelmente para a mortalidade desses pacientes (THULER et al., 1998).

O tratamento de escolha para estas infecções é o uso de antifúngicos sistêmicos, porém a recorrência de candidíase é comum, além do risco de resistência ao medicamento e interações com outros fármacos (PAZ-CRISTOBAL et al., 2014). Além disso, os antifúngicos sistêmicos podem causar efeitos adversos, como náuseas, vômito, cefaléia, além do risco de desenvolver anormalidades hepáticas (YAGIELA; NEIDLE; DOWD, 2000), surgindo assim a necessidade de um tratamento coadjuvante ao convencional.

A terapia fotodinâmica é, então, proposta como um tratamento coadjuvante, a qual envolve a associação de luz de baixa potência a um corante fotoativo, o qual é aplicado sobre

o biofilme subgengival, penetrando nas células microbianas, e, quando irradiado pelo laser, torna-se excitado, liberando espécies reativas de oxigênio, capazes de destruir sistemas biológicos, que leva à morte celular (MEISEL; KOCHER, 2005).

Acredita-se que a terapia fotodinâmica apresenta algumas vantagens em relação à terapia antimicrobiana tradicional, como o fato de que a morte celular bacteriana pode ser mais veloz, não sendo necessária a manutenção do agente químico em altas concentrações sobre as lesões por um período de tempo maior, como ocorre com os agentes antissépticos e antimicrobianos. Além disso, a morte celular mediada pela liberação de radicais livres torna improvável o desenvolvimento da resistência pelos microrganismos (CAVALCANTI, 2011). O objetivo desta revisão foi abordar a eficácia da terapia fotodinâmica na redução fúngica.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 INFECÇÕES FÚNGICAS

As espécies de *Candida* fazem parte da microbiota comensal da cavidade oral da maioria dos indivíduos saudáveis. Entretanto, na presença de fatores predisponentes podem se tornar patogênicas, produzindo infecções que vão desde lesões mucosas superficiais até disseminações sistêmicas graves e invasivas (KLIS *et al.*, 2009). A *Candida albicans* possui fatores de patogenicidade que possibilitam o agravamento da doença periodontal, como a capacidade de invadir o epitélio do sulco, inibição da função dos polimorfonucleares, lisar monócitos e produção de enzimas (MARTINS *et al.*, 2002), além de ser responsável pela liberação, na superfície celular, de proteinases com capacidade de degradar matriz extracelular e componentes da membrana basal do epitélio, como o colágeno e a fibronectina. Pode-se citar as fosfolipases e aspartil proteinases secretadas como sendo enzimas relevantes, secretadas por *Candida*, responsáveis pela degradação de tecido (SAMARANAYAKE, 2006).

A candidose, infecção causada por espécies de *Candida*, pode comprometer a cavidade oral, o trato gastrointestinal, região perianal, unhas, endocárdio, pulmões, trato urinário, pele e vagina. Estas infecções podem permanecer localizadas ou podem disseminar-se. Das lesões localizadas, os microrganismos podem ser disseminados por via hemática ou diretamente. A partir da infecção inicial, em geral localizada no revestimento cutâneo da pele e na mucosa oral de um hospedeiro imunocomprometido, os fungos podem invadir vasos sanguíneos e disseminar-se por quase todas as áreas do organismo. A candidose superficial

está entre as infecções mais comuns da pele e mucosas, e tanto a candidose superficial como a profunda são problemas de saúde pública (OLIVEIRA, 2009).

Uma das formas de candidose orofaríngea frequente na prática clínica do cirurgião-dentista é a estomatite protética que é definida como um processo inflamatório na mucosa subjacente a uma prótese total ou parcial removível, geralmente associada a presença do fungo *C. albicans* (COCO et al., 2008). A colonização e infecção por leveduras do gênero *Candida* são mediadas pela formação de um biofilme, que é composto por uma combinação heterogênea de blastoconídios e hifas incorporados em substâncias poliméricas extracelular, formando os canais e poros. A matriz extracelular, constituída por polissacarídeos, proteínas, hexosaminas, ácido urônico e DNA, promovem a formação e aderência do biofilme, protegendo as células da fagocitose, mantendo a integridade do biofilme e limitando a difusão de substâncias (SENEVIRATNE; JIN; SAMARANAYAKE, 2008). A *Candida dubliniensis* produz um biofilme complexo composto pelas mesmas morfologias fúngicas expressas pela *Candida albicans*, a formação de uma matriz extracelular de múltiplas camadas, que atua como um reservatório para a libertação de células para o ambiente oral. A *C. dubliniensis* parece ser bem adaptada à colonização da cavidade oral, com relevante repercussão clínica (RAMAGE et al, 2001).

A administração de medicamentos de uso tópico pode ser usada nos primeiros episódios de infecções fúngicas do paciente, os quais se mostram efetivos no alívio dos sinais e sintomas clínicos de infecções associadas à *Candida spp.* (BANTING; HILL, 2001). Porém, esses medicamentos mostram resultados efêmeros, pois não eliminam completamente esses microrganismos (KONSBERG; AXELL, 1994). Essa deficiência ocorre devido à diminuição da concentração do agente tópico nos tecidos infectados associada aos efeitos diluentes da saliva e aos movimentos da língua (BANTING; HILL, 2001), causando a recidiva da infecção, necessitando da administração de medicação sistêmica.

A associação de antimicrobianos sistêmicos poderá induzir a formação de microrganismos resistentes na microflora periodontal, suprimir a própria microflora ou provocar o crescimento excessivo de organismos patogênicos ou oportunistas periodontais, bem como o risco de efeitos secundários adversos (HAFFAJEE; SOCRANSKY; GUNSOLLEY, 2003). O aumento de casos de infecções causadas por cepas de *Candida* e, conseqüentemente, a utilização excessiva de antimicrobianos sistêmicos e locais, favoreceu nas últimas décadas a resistência dessas leveduras aos agentes antifúngicos convencionais

(PINTO; WEIKERT-OLIVEIRA; LYON, 2008). A terapia fotodinâmica é, então, proposta como coadjuvante no tratamento periodontal convencional (BERAKDAR et al., 2012).

2.2 TERAPIA FOTODINÂMICA

2.2.1 Mecanismo de ação

A terapia fotodinâmica é baseada na administração tópica de agente fotossensibilizador não tóxico, o qual é submetido à irradiação com luz visível de comprimento de onda adequado. O corante fotossensibilizador ativado reage com as moléculas de oxigênio presentes nas células, por transferência de elétrons ou hidrogênio, produzindo radicais livres, ou por transferência de energia ao oxigênio, que leva à produção de oxigênio singleto, induzindo a morte celular (LAMBRECHTS; AALDERS; MARLE, 2005). Esse tratamento surge apresentando vantagens para o tratamento de infecções originadas por microrganismos, como amplo espectro de ação, inativação dos microrganismos resistentes e baixo potencial mutagênico nas células expostas, sendo capaz de promover atividades citotóxicas contra bactérias, fungos e protozoários (JORI, 2006); danifica as membranas plasmáticas e as organelas celulares, alterando a permeabilidade e função de transporte entre os meios intra e extracelular, além de inibir enzimas mitocondriais (MORTON, 2004).

A reação do fotossensibilizador no estado excitado com o meio pode ocorrer de duas formas, os mecanismos do tipos I e II. O mecanismo do tipo I envolve a transferência de elétrons ou captação de átomos de hidrogênio entre o fotossensibilizador em seu estado excitado (tripleto) e moléculas de substrato, formando os radicais livres, que vão reagir com o oxigênio, resultando em espécies de oxigênio altamente reativas, como superóxido, radicais hidroxila e peróxido de hidrogênio. O mecanismo do tipo II, o qual é o principal responsável pelo dano foto-oxidativo à célula microbiana, é baseado na produção de um estado eletronicamente excitado e altamente reativo de oxigênio, o oxigênio singleto (KONOPKA; GOSLINSKI, 2007). Esse oxigênio singleto reage com os componentes celulares, pois os compostos orgânicos insaturados são suscetíveis à ação de O_2 (SOUKOS; GOODSON, 2011).

2.2.2 Fotossensibilizadores

Os fotossensibilizadores são moléculas com a propriedade especial de absorver energia luminosa com utilização desta mesma energia em reações químicas nas células e tecidos submetidos à terapia fotodinâmica (CORREA; RETTORE JUNIOR; DE SOUSA, 2012). Os agentes fotossensibilizadores devem ter picos de absorção muito próximos ao comprimento de onda de luz laser a ser utilizada no tratamento e não podem apresentar riscos ou danos tóxicos ao paciente (DÖRTBUDAK et al., 2001).

Dentre as propriedades desejadas para a escolha de um fotossensibilizador, pode-se citar, de importância para a periodontia: pureza química, intervalo pequeno entre a administração da droga e o acúmulo máximo no local aplicado, ativação por comprimentos de onda com ótima penetração no tecido (ISSA; MANELA-AZULAY, 2010), além de uma formulação simples e estável (tempo mínimo de dois anos) e baixa toxicidade no escuro (BONNET, 1995). Existem vários agentes fotossensibilizadores utilizados, podendo citar os fenotiazínicos, rosa bengala, cristal violeta, ftalocianina, tionina, protoporfirina (PELOI, 2007), sendo os fenotiazínicos os mais utilizados em pesquisas odontológicas (FELDMAN, 2009), por terem um comprimento de onda que lhes dá um maior poder de penetração (620-700nm) (ALMEIDA et al., 2008).

A *Candida albicans*, assim como outras leveduras, necessitam de doses maiores de corante fotossensibilizador por apresentarem uma membrana nuclear, maior tamanho celular e menor número de alvos para o oxigênio singleto por unidade de volume da célula (DEMIDOVA; HAMBLIN, 2005).

2.2.3 Fontes de Luz

Considera-se como uma fonte de luz ideal aquela que, por um baixo custo, fornece uma maior quantidade de luz possível no máximo de absorção do fotossensibilizador, sem causar efeitos térmicos significativos (MACHADO, 2000), considerando as bandas de absorção dos fotossensibilizadores e a profundidade de penetração da luz nos tecidos biológicos na escolha da região do espectro eletromagnético de emissão da fonte de luz (NOWIS et al., 2005).

O laser, forma de radiação não ionizante, tem sido eleito como fonte de luz por não ser invasiva e ser bem tolerada pelos tecidos (HENRIQUES et al., 2008), apresentando maior definição na penetração em tecidos biológicos (CARVALHO, 2012). O laser, geralmente, possui um comprimento de onda correspondente ao pico de absorção do fotossensibilizante,

com capacidade de emissão de luz monocromática de alta fluência, associada à precisão do foco (ISSA; MANELA-AZULAY, 2010).

Apesar de, convencionalmente, os lasers de baixa potência serem utilizados como fonte de irradiação na terapia fotodinâmica, o uso de Diodo Emissor de Luz (Light Emitting Diode – LED) tem se fortalecido (GIUSTI et al., 2008). O LED é considerado uma fonte de luz contínua de alta eficiência, baseado nas propriedades de um semicondutor dopado com duas impurezas diferentes, formando um diodo (GENOVESE, 2000). Possui propriedades que resultam em bandas de emissão mais largas, beneficiando a agregação com o fotossensibilizador e a absorção de energia luminosa (LIMA, 2009).

2.3 DISCUSSÃO

A necessidade de procedimentos coadjuvantes na terapia periodontal convencional tem estimulado uma busca científica por uma alternativa eficaz. Apesar de a terapia fotodinâmica ter um papel relevante, mostrando bons resultados, ainda não existe um consenso a respeito de um protocolo eficaz na redução dos microrganismos. Estudos comprovam a utilização de luz associada a fotossensibilizantes como procedimento efetivo para inativação microbiológica. Porém, pode haver parâmetros que influenciam essa terapia, como o tipo e a concentração do corante fotossensibilizador, a fonte de luz e a dose empregada (JORI, 2006).

O efeito da terapia fotodinâmica frente a espécies fúngicas tem sido descrito na literatura, oferecendo resultados promissores (PAZ-CRISTOBAL et al., 2014; FREIRE et al., 2013; COSTA et al., 2012; CARMELLO, 2011). Este tratamento apresenta a vantagem de apresentar um amplo espectro de ação, porém, oferece um baixo potencial mutagênico às células expostas (JORI, 2006). Isto pode ser corroborado pelo estudo de Rezusta et al. (2012), onde pode ser visto que, apesar de ter havido uma eficaz inativação das espécies de *Candida*, não houve danos a queratinócitos e fibroblastos.

Dentre a variedade de corantes fotossensibilizadores, os compostos fenotiazínicos tem sido, ainda, os mais frequentemente utilizados na área odontológica. Kato et al.(2013), Paz-Cristobal et al. (2014) e Mima et al.(2012), utilizando derivados de fenotiazínicos, mostraram resultados semelhantes, com um eficaz decréscimo na formação de colônias de espécies de *Candida*. Bernal et al. (2011) e Rezusta et al. (2012) também, em seus estudos, apresentaram eficácia na redução dos microrganismos, entretanto, utilizando a hipericina como fotossensibilizador. Além disso, eles puderam perceber que, para conseguir estes resultados,

foi necessária uma concentração mais baixa da hipericina, entrando em acordo com Paz-Cristobal et al. (2014), que também utilizou a hipericina como uma das substâncias fotossensibilizadoras em seu estudo.

Os microrganismos organizados em biofilmes podem apresentar características de resistência, principalmente devido a penetração deficiente de antimicrobianos (STEWART; COSTERTON, 2001). Isto pode ser analisado nos estudos de Costa et al.(2011) e Freire et al. (2013), onde, apesar de ter havido redução significativa das espécies de *Candida*, pode ser percebido que os biofilmes apresentaram-se mais resistentes à terapia do que as espécies planctônicas.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após a revisão de literatura, viu-se que a terapia fotodinâmica surge como uma terapia coadjuvante na redução de leveduras em Odontologia, viabilizando a eliminação de microrganismos, mesmo que tenham um grau de resistência à drogas antifúngicas. Porém, pode-se notar que ainda não há um protocolo estabelecido em relação aos parâmetros de luz, concentrações dos fotossensibilizadores e tempo de exposição, sendo necessário, ainda, atentar-se a futuros estudos nessa área.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, J. M. et al. Treatment of experimental periodontal disease by photodynamic therapy in rats with diabetes. **Journal of Periodontology**, Araçatuba, v. 79, n. 11, p. 2156-2165, Nov. 2008.
- AVILA, M.; OJCIUS, D.; YILMAS, O. The oral microbiota: living with a permanent guest. **DNA and Cell Biology**, Nova York, v.28, n. 8, p. 405-411, Ago. 2009.
- BANTING, D.W.; HILL, S.A. Microwave disinfection of dentures for the treatment of oral candidiasis. **Special Care in Dentistry**, Londres, v. 21, n.1, p.4-8, 2001.
- BERAKDAR, M. et al. Comparison between scaling-root-planing (SRP) and SRP/photodynamic therapy: six-month study. **Head & Face Medicine**, Alemanha, v. 8, n. 1, p. 12-17, Abr. 2012.
- BERNAL, C. et al. Selective Photoinactivation of *C. albicans* and *C. dubliniensis* with Hypericin. **Lasers Physics**, São Carlos, v. 21, n. 1, p. 245-249, Jan. 2011.
- BONNET, R. Photosensitizers of the Porphyrin and Phthalocyanine Series for Photodynamic Therapy. **Chemical Society Reviews**, Londres, v. 24, n. 1, p. 19-33, Jan.1995.

CARMELLO, J. C. **Efetividade da terapia fotodinâmica mediada pelo fotossensibilizador Photodiazine na inativação de *Candida albicans in vivo***. 2011. 141f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia, Araraquara, 2011.

CARVALHO, D. P. L. **Terapia Fotodinâmica no controle de micro-organismos isolados de feridas infectadas: estudo *in vitro***. 2012. 65 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade do Vale do Paraíba, Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica, São José dos Campos, 2012.

CAVALCANTI, T. M. **Avaliação do efeito antibacteriano da terapia fotodinâmica a laser: estudo *in vitro***. 2011. 71 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Universidade Estadual da Paraíba, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Campina Grande, 2011.

COCO, B.J. et al. Mixed *Candida albicans* and *Candida glabrata* populations associated with the pathogenesis of denture stomatitis. **Oral Microbiology and Immunology**, v. 23, n.5, p.377-383, Out. 2008.

CORREA, R. O.; RETTORE JUNIOR, R.; DE SOUSA, G. R. A terapia fotodinâmica antimicrobiana como opção de tratamento não invasivo da Peri-implantite – Revisão de Literatura. **Brazilian Journal of Periodontology**, Belo Horizonte, v. 22, n. 2, p. 11-16, Jun. 2012.

COSTA, A. C. et al. Susceptibility of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* to erythrosine- and LED-mediated photodynamic therapy. **Archives of Oral Biology**, São José dos Campos, v. 56, n. 11, p. 1299-1305, Jun. 2011.

COSTA, A. C. et al. Effect of erythrosine- and LED-mediated photodynamic therapy on buccal candidiasis infection of immunosuppressed mice and *Candida albicans* adherence to buccal epithelial cells. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology**, São José dos Campos, v. 114, n. 1, p. 67-74, Jul. 2012.

DEMIDOVA, T. N.; HAMBLIN, M. R. Effect of cell-photosensitizer binding and cell density on microbial photoinactivation. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Boston, v. 49, n. 6, p. 2329-2335, Jun. 2005.

DÖRTBUDAK, O. et al. Lethal photosensitization for decontamination of implant surfaces in the treatment of peri-implantitis. **Clinical Oral Implants Research**, Belo Horizonte, v. 12, n. 2, p. 104-108, Abr. 2001.

FELDMAN, B. C. **Avaliação clínica dos efeitos da terapia fotodinâmica antimicrobiana no tratamento não-cirúrgico da periodontite crônica**. 2009. 94 f. Dissertação (Mestrado em Periodontia) – Universidade do Grande Rio, Escola de Ciências da Saúde, Duque de Caxias, 2009.

FREIRE, F. *et al.* Comparison of the effect of rose bengal- and eosin Y-mediated photodynamic inactivation on planktonic cells and biofilms of *Candida albicans*. **Lasers in Medical Science**, v.8, Set. 2013.

GENOVESE, W. J. **Laser de baixa intensidade: aplicações terapêuticas em Odontologia**. São Paulo: Lovise, 175 p, 2000.

GIUSTI, J. S. M. et al. Antimicrobial photodynamic action on dentin using a light-emitting diode light source. **Photomedicine and Laser Surgery**, Araraquara, v. 26, n. 4, p. 281-287, Ago. 2008.

HAFFAJEE, A. D.; SOCRANSKY, S. S.; GUNSOLLEY, J. C. Systemic anti-infective periodontal therapy. A systematic review. **Annals of Periodontology**, Boston, v. 8, n. 1, p. 115-181, Dez. 2003.

HENRIQUES, A. C. G. et al. A laserterapia na odontologia: propriedades, indicações e aspectos atuais. **Odontologia Clínico Científica**, Recife, v. 7, n. 3, p. 197-200, Jul./Set. 2008.

ISSA, M. C. A.; MANELA-AZULAY, M. Terapia fotodinâmica: revisão da literatura e documentação iconográfica. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 85, n. 4, p. 501-11, Jul./Ago. 2010.

JÄRVENSIVU, A. et al. Candida yeasts in chronic periodontitis tissues and subgingival microbial biofilms in vivo. **Oral Diseases**, Finlândia, v. 10, n. 2, p. 106-12, Mar. 2004.

JORI, G. Photodynamic therapy of microbial infections: state of the art and perspectives. **Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology**, Padova, v. 25, n. 1-2, p. 505-519, 2006.

KATO, I. T. et al. Antimicrobial photodynamic inactivation inhibits *Candida albicans* virulence factors and reduces in vivo pathogenicity. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, São Paulo, v. 57, n. 1, p. 445-451, Jan. 2013.

KLIS, F. M. et al. Covalently linked cell wall proteins of *Candida albicans* and their role in fitness and virulence. **FEMS Yeast Research**, Amsterdam, v. 9, n. 7, p. 1013-1028, Out. 2009.

KONOPKA, K.; GOSLINSKI, T. Photodynamic therapy in dentistry. **Journal of Dental Research**, San Francisco, v. 86, n. 8, p. 694-707, Ago. 2007.

KONSBERG, R.; AXELL, T. Treatment of *Candida* infected denture stomatitis with a miconazole lacquer. **Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology**, v. 78, n.3, p.306-311, Sept.1994.

LAMBRECHTS, S. A. G.; AALDERS, M. C. G.; MARLE, J. V. Mechanistic study of the Photodynamic Inactivation of *Candida albicans* by a Cationic Porphyrin. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Amsterdam, v. 49, n. 5, p. 2026-3034, Maio 2005.

LEUNG, W. K. et al. Oral colonization, phenotypic, and genotypic profiles of *Candida* species in irradiated, dentate, xerostomic nasopharyngeal carcinoma survivors. **Journal of Clinical Microbiology**, Hong Kong, v.38, n.6, p. 2219-2226, Jun. 2000.

LIMA, J. P. M. **Estudo in situ do efeito antimicrobiano da terapia fotodinâmica em lesões de cárie dentinária**. 2009. 53 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.

- MACHADO, A. E. H. Terapia fotodinâmica: princípios, potencial de aplicação e perspectivas. **Química Nova**, São Paulo, v. 23, n. 2, p. 237-243, Mar./Abr. 2000.
- MARTINS, C. A. P. et al. Presence of *Candida* spp. in chronic periodontitis patients. **Ciência Odontológica Brasileira**, São José dos Campos, v. 5, n. 3, p. 75-83, Set./Dez. 2002.
- MEISEL, P; KOCHER, T. Photodynamic therapy for periodontal diseases: state of the art. **Journal of Photochemistry and Photobiology B**, Alemanha, v. 79, n. 2, p 159-170, Maio 2005.
- MIMA, E. G. et al. Comparison of Photodynamic Therapy versus conventional antifungal therapy for the treatment of denture stomatitis: a randomized clinical trial. **Clinical Microbiology and Infection**, Ponta Grossa, n. 18, v. 10, p. 380-388, Out. 2012.
- MORTON, C. A. Photodynamic therapy for nonmelanoma skin cancer - and more? **Archives of Dermatology**, Reino Unido, v. 140, p. 116-120, Jan. 2004.
- NOWIS, D. et al. Direct tumor damage mechanisms of photodynamic therapy. **Acta biochimica polonica**, Polônia, v. 52, n. 2, p. 339-352, Jun. 2005.
- OLIVEIRA, C.E. **Candida albicans e estomatite por dentadura: avaliação da presença do fungo na lesão, na prótese total superior e no sangue**. 2009. 92f. Dissertação (Mestrado em Odontologia, Área de concentração: Patologia Bucal) – Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, Bauru, 2009.
- PAZ-CRISTOBAL, M. P. et al. Photodynamic fungicidal efficacy of hypericin and dimethyl methylene blue against azole-resistant *Candida albicans* strains. **Mycoses**, Espanha, v. 57, n. 1, p. 35-42, Jan. 2014.
- PELOI, L. S. **Estudos da aplicação do corante azul de metileno em terapia fotodinâmica**. 2007. 67 f. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Maringá, Programa de Pós-Graduação em Química, Maringá, 2007.
- PINTO, P. M.; WEIKERT-OLIVEIRA, R. C. B.; LYON, J. P. In vitro antifungal susceptibility of clinical isolates of *Candida* spp. Obtained from patients with different predisposing factors to candidosis. **Microbiological Research**, v. 163, n. 5, p. 579-585, Set. 2008.
- POMARICO L. et al. Associations among the use of highly active antiretroviral therapy, oral candidiasis, oral *Candida* species and salivary immunoglobulin A in HIV-infected children. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**, Rio de Janeiro, v. 108, n. 2, p. 203–210, Ago. 2009.
- RAMAGE, G. et al. Biofilm formation by *Candida dubliniensis*. **Journal of Clinical Microbiology**, San Antonio, v. 39, n. 9, p. 3234–3240, 2001.
- REZUSTA, A. et al. In vitro fungicidal photodynamic effect of hypericin on *Candida* species. **Photochemistry and Photobiology**, Zaragoza, v. 88, n. 3, p. 613-619, Maio/Jun. 2012.
- SAMARANAYAKE, L. **Essential microbiology for dentistry**. London, 3 ed, 2006.

SCULLY, C.; EL-KABIR, M. Candida and oral candidosis: a review. **Critical Reviews in Oral Biology & Medicine**, Londres, v. 5, n. 2, p. 125–57, 1994.

SOUKOS, N. S.; GOODSON, J. M. Photodynamic therapy in the control of oral biofilms. **Periodontology 2000**, Singapore, v. 55, n. 1, p. 143-166, Fev. 2011.

STEWART, P. S.; COSTERTON, J. W. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. **The Lancet**, Bozeman, v. 358, n. 9276, p.135-138, Jul. 2001.

YAGIELA, J. A.; NEIDLE, E. A.; DOWD, F. K. **Farmacologia e Terapêutica para Dentistas**. 4 ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 2000.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após a revisão de literatura, viu-se que a terapia fotodinâmica surge como uma terapia coadjuvante na redução de leveduras na Odontologia, viabilizando a eliminação de microrganismos, mesmo que tenham um grau de resistência à drogas antifúngicas. Porém, pode-se notar que ainda não há um protocolo estabelecido em relação aos parâmetros de luz, concentrações dos fotossensibilizadores e tempo de exposição, sendo necessário, ainda, atentar-se a futuros estudos nessa área.

ANEXO - Revista Integr@ção das Faculdades Integradas de Patos - Normas para publicação

- 1.** A Revista Científica Integr@ção das Faculdades Integradas de Patos publica trabalhos científicos inéditos em português nas áreas de conhecimento relacionados com os cursos de Biomedicina, Direito, Economia, Educação Física, Enfermagem, Fisioterapia, Geografia, História, Informática, Jornalismo, Letras, Odontologia, Pedagogia e Psicologia, todos oferecidos por esta instituição. Os artigos científicos, revisões bibliográficas, relatos de caso(s) e resenhas deverão ser destinados com exclusividade.
- 2.** Todos os trabalhos deverão seguir a seguinte formatação geral: Usar processador: Word para windows, versão 6.0 ou posterior em folha com tamanho A4 210 x 297mm, espaço 1,5, fonte Times New Roman, tamanho 12. O número de laudas será entre 10 e 15 para artigos científicos e revisões bibliográficas, entre 5 e 8 para relatos de casos e 3 a 5 para resenhas. As tabelas, quadros, gráficos e figuras deverão estar inseridas no texto logo após a primeira chamada (tabela 1, Gráfico 1, Figura 1 etc.). As margens superior e esquerda deverão ter 3 cm e direita e inferior 2 cm. A paginação deverá ser no lado superior direito, com a página capitular sem numeração. Título abreviado para cabeçalho com cinco palavras no máximo.
- 3.** Os artigos científicos deverão conter: Título: (máximo 5 palavras, centralizado, caixa alta) Resumo: parágrafo único (100-150 palavras); espaço simples e justificado. Palavras-chave (três, a cinco); Abstract: Keywords; Introdução, Revisão de Literatura; Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusão ou Considerações Finais; e Referências.
- 4.** As Revisões Bibliográficas e Resenhas deverão conter os seguintes tópicos: Título, Resumo, Abstract (semelhantes ao do artigo científico), Introdução, Desenvolvimento, Considerações Finais e Referências.
- 5.** Os relatos de caso(s) deverão conter: Título, Resumo, Abstract (semelhante ao do artigo científico), Introdução (contendo a Revisão de Literatura); Relato do caso; Resultados e Discussão; Conclusão ou Considerações Finais; e Referências.
- 6.** Todas as citações dos trabalhos seguirão as Normas da ABNT NBR's 6023, 14724/2006. O comitê dispõe de um manual de orientações disponíveis nas coordenações de cada curso.
- 7.** Os nomes dos autores deverão ser colocados por extenso (fonte 12), centralizados logo abaixo do título, seguidos de números sobrescritos que serão repetidos no rodapé (fonte 10), para especificação (profissão, titulação e instituição) e indicação de autor para correspondência (com endereço eletrônico e e-mail).

A APRESENTAÇÃO DOS MANUSCRITOS DEVERÁ SEGUIR A SEGUINTE ORDEM:

1. Todos os manuscritos deverão ser encaminhados (duas vias) seguindo as normas gerais estabelecidas pelo Comitê Editorial da Revista, acompanhados de uma cópia em CD.
2. Todos os manuscritos deverão vir acompanhados de uma carta de encaminhamento, assinada pelo autor responsável do trabalho, atestando que o artigo não fere as normas éticas da profissão.
3. Os conceitos e afirmações contidos nos artigos serão de inteira responsabilidade do(s) autor(es). No máximo 03 (três) autores por artigo.
4. O (s) Autor(es) só poderá(ão) publicar(em) 02 (dois) artigos no máximo, independente de ser o primeiro, segundo ou terceiro autor.
5. Os autores serão comunicados imediatamente sobre o recebimento do manuscrito pelo Comitê Editorial.
6. Os manuscritos recebidos pelo Comitê Editorial serão submetidos à apreciação de membros do Conselho Editorial de acordo com a afinidade da área. É importante ressaltar que será preservada a identidade dos autores dos trabalhos e dos conselheiros em todas as fases do processo de avaliação.
7. O autor receberá 02 (dois) exemplares de cada número da revista no qual seu artigo foi publicado.
8. Os artigos não aprovados serão comunicado(s) ao(s) autor (s) e devolvidos.
9. O Comitê Editorial da Revista Científica Integr@ção encoraja docentes e discentes de todos os cursos das Faculdades Integradas de Patos (Graduação e Pós-Graduação) a submeterem artigos redigidos com base em seus trabalhos desenvolvidos, desde que ainda não tenham sido publicados em outras revistas, periódicos ou jornais.