

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

HILLARY CHYSTIE ALVES DE LIMA

**TERAPIA FOTODINÂMICA COM AZUL DE METILENO PARA O
TRATAMENTO DA ESTOMATITE PROTÉTICA: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

**PATOS – PB
2021
HILLARY CHYSTIE ALVES DE LIMA**

**TERAPIA FOTODINÂMICA COM AZUL DE METILENO PARA O
TRATAMENTO DA ESTOMATITE PROTÉTICA: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

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 a obtenção do título de Bacharel em Odontologia.
Orientador(a): Prof. Dr. Cyntia Helena Pereira de Carvalho.

**PATOS – PB
2021**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSRT DA UFCG

L732a

Lima, Hillary Chystie Alves de

Avaliação de protocolos adotados na terapia fotodinâmica com azul de metileno para o tratamento da estomatite protética: uma revisão de literatura / Hillary Chystie Alves de Lima. – Patos, 2021.

48f.: il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Odontologia) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2021.

"Orientação: Profa. Dra. Cyntia Helena Pereira de Carvalho".

Referências.

1. Estomatite protética. 2. Terapia fotodinâmica. 3. Azul de metileno.
I. Título.

CDU 616.314

Aos meus pais, Erdila e Umberto, e aos meus irmãos, Herbert e Junior, por todo o apoio e compreensão durante o período da graduação e por dividirem comigo a “conta” da saudade e do meu sonho.

AGRADECIMENTOS

Estou aqui sentada na minha terceira casa de Patos e pensando em tudo que já passou nesses quase 5 anos. Já me senti muito mais íntima das palavras, mas creio que o momento de expressar gratidão é natural ser mais difícil. Então quero começar agradecendo a cada coisinha que deu errado, as noites mal dormidas, as ânsias, as finais, as reprovações: tudo que é estranho agradecer, mas que de algum modo em algum momento as coisas começam a fazer sentido e se encaixar. Essa semana li um trecho que fala que devemos ser tão resilientes quanto o sertão, e, dessa maneira, espero sempre florescer durante os invernos.

Lógico que jamais chegaria aonde estou sem a proteção de divina, que se manifestou em diversos momentos e pessoas para mim nos últimos anos. A Maria, minha mãezinha do céu, quem sempre me velou e me cuidou e a quem me consagro. E Ao meu anjo da guarda, que merece promoção viu senhor? Sempre fui muito religiosa – vindo de uma família católica tradicional não seria diferente- mas foi quando mais me senti só, deslocada por estar longe dos meus e quando ‘desistir’ era a opção que fazia mais sentido, foi que tive uma experiência verdadeira para além da religiosidade. Ali nascia minha espiritualidade. “Do coração atribulado Ele está perto.” (sl 33). Gratidão!

Aos meus pais, Erdila e Umberto, que se sacrificaram e com certeza se sacrificarão posteriormente. O apoio econômico e emocional a mim dado e a confiança depositada a mim, em meu futuro e em busca do meu sonho são coisas que nunca conseguirei devolver. E se conseguisse, se recusariam. A autenticidade desse amor é única, estou ciente.

Ao meu irmão Herbert, a única pessoa que compartilho o sentimento de não saber como é o mundo sem. Fomos crianças, já moramos sem nossos pais, já moramos com eles de novo, já moramos separados e uma pandemia nos uniu novamente em um cenário que éramos nós por nós. Cão e gato, é verdade. Mas sabemos bem os laços que nos une e eu sei o quanto sua existência foi essencial para a realização desse feito- e não tô falando de ir me buscar na rodoviária as cinco da matina. Ao meu irmão Junior, meu maior aperto no peito. Seu nascimento me atinou para buscar sempre o melhor, a ser melhor. Quando vim pra Patos você só tinha 5 anos, mas com certeza já entendia mais que eu. O amor foi sustento. Você sempre me motivou!

Cabe aqui agradecer também as minhas tias, Aila e Neide, por todo o apoio e motivação me dado. Ser tia é ser mãe duas vezes, e vocês são a concretização desse ditado, principalmente em minha vida. E eu não poderia ter maior exemplo dentro de casa do que vocês duas: mulheres fortes, batalhadoras e acima de tudo, resilientes. Suas vidas sempre serão motivo de graça para mim! Que eu tenha a sorte de me tornar pelo menos metade do que vocês são. Agradecer

também a minha avó Rocilda, que me ensinou a rezar e a ter a fé que hoje eu tenho. Vó, não tenho mais o anel de Nossa Senhora Aparecida que a senhora me deu minutos antes de eu saber que havia passado no vestibular, nem gastei o “dinheirinho do sorvete” com sorvete e o “parano eu me formo” já ter durado um tempo, mas tenho você e seu amor presente em mim todos os dias. Obrigada pelo olhar e colo, pelo coração tranquilo e grande! Por ser meu lar onde estiver!

Na minha jornada Patoense contei com pessoas incríveis! Impossível citar uma por uma, mas quero de maneira simplória dizer obrigada! Que a vida seja tão gentil quanto foram comigo. De maneira especial gostaria de lembrar das minhas companheiras de casa: Amanda, em que dividimos um lar e ela me ensinou tanto! Um trabalho de uma mãe. A Juliana que veio trazer um gostinho de casa mesmo eu estando tão longe. Pelo companheirismo, conversas e contas compartilhadas: muito muito muito obrigada.

A Manu, merecedora de um parágrafo inteiro. Dividimos dois lares e meio (ela era minha vizinha e ainda sim já formava meu lar.) Companheiras de casa, de estudo, dupla de trabalho, de clínica, de vida. As vezes somos até a mesma pessoa (Cris e Greg). Se eu pudesse (se assim já não está) eternizar algo de Patos em mim com certeza seria essa pessoa, uma vez que não existiu tristeza, alegria, raiva, aprendizado sem Manu. Amiga, você me ajudou a fazer um lar e cultivar uma raiz linda e sólida que é a nossa amizade. Obrigada! Te amo muito!

Aos meus companheiros que facilitaram muito minha vida! Em especial a Turma XV que me acolheu como se fosse da formação original. Gostaria de citar o nome dos 36 participantes e de explicar a característica de cada um e como o pedacinho de convívio me marcou para sempre, mas não irei me prolongar: muita da qualidade da minha formação acadêmica devo a vocês. O alto nível imposto pela turma me moldou e sempre me fez buscar o melhor. Peço perdão se algum dia fui falha ou pequei pelo exagero. Amo cada um de vocês e já não vejo a hora do encontro de 10 anos da turma,rs.

Aos meus amigos que fiz ao decorrer da jornada e aos laços estreitados que levarei para sempre. E não há como falar de laços sem falar de Thales e Thais. Ele, presente comigo desde o p1. Na mudança de salas e até mesmo de estado, não me abandonou. A sua lealdade e seu coração são as coisas que mais admiro. Ela, presente de Deus no momento perfeito. Mesmo conhecidas pelos rolês aleatórios, nossa amizade é fortalecida na nossa cumplicidade que independe da situação. Aos dois, minha gratidão, amor e saudade.

Aos meus amigos, que não viveram essa jornada fisicamente, mas sempre demonstraram apoio e presença. Ana Carla, tia e amiga, detentora de minha eterna gratidão e amor. Minha vida não seria a mesma sem você. A Jorge, por partilhar momentos, sonhos e profissão comigo.

Pela paciência e honestidade da nossa amizade surgida ainda em Patos, muito obrigada! Que ela perdure pela eternidade. Ao “janelão”, “go inside” e “somebody love” por nunca deixarem que a distância fosse um problema entre a nossa amizade. Feliz de chegar aqui e saber que tenho vocês desde o comecinho. Ao meu “calcinhas”, que me pegaram no momento mais longo e desesperador da jornada, mas que estão comigo para toda hora e se Deus quiser, para sempre. Agradecendo em conjunto, através dos nomes de grupos, porque até aqui já me emocionei! Levo no coração todos vocês que me viram tentando ser alguém na vida e estão hoje me vendo chegando um pouco mais perto! Obrigada pelas palavras de consolo, os ombros amigos e acima de tudo o apoio. Não chegaria a lugar nenhum sem vocês! Guardo todos no meu coração.

Vai parecer desencaixado e fora de contexto não agradecer a Matheus Olivera na “seção” amigos de Patos, mas tem um porque: Matheus é um irmão para vida, em qualquer lugar. Amigo, muito obrigada pelas noites que nos divertimos, pelas risadas nos momentos difíceis e em todas as situações que você adicionou leveza, pois para quem não conhece, não existe tristeza perto de Matheus. Obrigada por cuidar de jujuba como se fosse sua! E, de maneira MUITO especial, obrigada por idealizar e realizar comigo esse (e tantos outros) projetos. Sabemos das noites mal dormidas e dificuldades enfrentadas, e jamais conseguiria sem você, com sua dedicação, foco e esforço. Espero que jamais nos afastemos e que a nossa amizade só cresça!

Na vida acadêmica contei com os melhores mestres e estes mereciam longas homenagens individuais, mas isso ficaria até maior que o TCC. Então, de maneira muito especial reservei parte das minhas preces. Obrigada pelo dom da sabedoria e do ensino e principalmente obrigada por ir além, por cuidar de nós, nas nossas fraquezas e inseguranças. A profissional que me tornarei é reflexo de toda atenção que recebi. Para representar melhor, gostaria de citar alguns.

Gratidão a Faldryene, professora que me deu abertura ao PROBEX que mudou minha vida e por nunca me dizer um “não” academicamente falando. Por ser acessível, compreensiva e acima de tudo, humana. A Luana Abilio e Angélica Satyro, verdadeiras mães, sempre atentas e dispostas a ajudar, indo até além do seu alcance. Tenho um carinho verdadeiramente genuíno e sincero por vocês. A Julierme, na sua postura de mestre e amigo, ensinando a soberania do dever e compartilhando a paz do lazer. Que oportunidade levar um puxão de orelha de alguém que acredita e incentiva seus alunos, de alguém que exerce com maestria aquilo que se propôs. Muito obrigada pelos momentos, na mesa profissional ou na mesa de barzinho. Tudo foi e é um constante aprendizado.

A Keila Barroso por todo conhecimento ensinado, na graduação e na vida, além de momentos de convívio proporcionado. Por todas as vezes que precisou puxar minha orelha para ver se eu desacelerava. Por todos os “tenha calma, mulher” quase que corriqueiros. E por ser a orientadora mais que perfeita na tão temida propedêutica, formando uma vozinha na cabeça que sempre fala “O que Keila diria?”.

A George Nascimento, pelos conselhos, risadas e fofocas ditas em segredo. Pelos desabafos e ensinamentos. Por transpor com tanto cuidado e zelo a linha tênue do profissional e amigo, sendo excelente desempenhando os dois papéis. Te admiro demais! Que sua vida continue a ter um levar suave, como seus patinhos na banheira!

Ao professor João Nilton, sempre incitando a busca do conhecimento e sendo exemplo de profissional incrível. O seu jeito mais prático e metódico sempre facilitou bastante para que eu aprendesse! Infelizmente, por ser só uma, não é possível “abraçar o mundo com as pernas” e meus caminhos acadêmicos foram se distanciando da periodontia, impedindo o crescimento dessa parceria. Mas gostaria de declarar que eu fui cativada! Uma das minhas primeiras paixões na odontologia – se não a primeira- veio nas aulas imensas que começavam as 07:30 e terminavam as 12:00 e não me trazia exaustão alguma. Foi ali que descobri que a odontologia abraça quem quer ser abraçado por ela e que não foi uma escolha precipitada de uma jovem que só queria entrar na faculdade. A odontologia poderia não ser de início meu sonho, mas com certeza hoje torna-se e é a concretização de um. Gratidão por me inspirar!

E, de maneira muito especial, gratidão a minha orientadora Cyntia Helena. Mãe, amiga, dentista, professora, MULHER. É impossível não admirar a força e sensatez que emana de uma pessoa tão sensível e atenta a necessidade do próximo. Persigo-a desde a monitoria de microbiologia bucal, e agora com a pesquisa, o projeto de extensão e o TCC. E cada vez que eu tenho mais contato, mais me espelho. Sempre tão solicita! Quem não conhece muito Cyntia talvez a ache dura – a mulher que deu aula em uma quinta e no sábado estava em trabalho de parto de gêmeos dá um medinho né? Mas é só conviver um pouco para ser contagiada pela risada que tem o mesmo ritmo do Harmonia do Samba em terras baianas. E, bem, se ela não solicitou meu jubramento depois de aparecer no laboratório com conjuntivite (era final de período, por favor, não me julguem) e depois de quebrar a única alça presente em todo o laboratório de microbiologia da UFCG, eu tenho é que ser grata mesmo né? (haha) Espero um dia ser pelo menos metade da mulher e profissional que és. Muito obrigada por me acolher de braços abertos e por me dar a oportunidade de crescer e de assim me descobrir na odontologia. Sua orientação foi essencial para chegar aonde eu cheguei e pretendo chegar! Mais que para

odontologia, me formaste para vida. Palavras se quer chegam perto de lhe adjetivar e/ou agradecer.

E ainda no meio acadêmico, gostaria de agradecer por ter participado de projetos tão incríveis! Meu eterno xodó, “Adote um sorriso”, que me foi dado em forma de benção ainda no terceiro período, desopilando minhas sextas e trazendo paz para o meu coração. Foram duas vigências incríveis que levarei para sempre comigo cada conselho e cada sorriso que ali foi me dado gratuitamente. Com tristeza, me despedi de alguns idosos durante os anos e outros me pesavam o coração de não poder ir além, mas escutar um “próxima sexta você vem né, minha filha?” me dava significado. E a LADO, meu sonho acadêmico. O programa que abriu meu coração e mente para a tão sonhada residência hospitalar e que me permitiu viver experiências únicas, não somente clinicas. O contato com a comunidade só me mostrou qual o meu lugar no mundo e com certeza qual o meu papel. Espero está preparada e atender todas as demandas a mim propostas tendo como diferencial o olhar humano, feito que não seria possível sem passar pela experiência do PROBEX.

No mais, agradecer a Damião, Diana, Vânia, Neuma, Laninha e Pollyana, talvez os maiores acompanhadores- e até orientadores- das lutas dos alunos. Obrigada por serem sempre dispostos a ajudar e a informar. A vitória dessa formação com certeza também é de vocês.

Gratidão ao universo e as forças maiores por essa linha temporal tão linda e marcante que começou quando eu tinha apenas 17 anos, com mais dúvidas do que certezas. Pelas cicatrizes, mas também pela voz que me foi dada. E por todas as oportunidades e as responsabilidades a partir de agora criadas.

“Nada te perturbe, nada te amedrontes:
tudo passa. A paciência tudo alcança. A quem tem
Deus nada falta, só Deus Basta. (Santa Teresa
D’Avilla)

RESUMO

A candida é um fungo comensal da microbiota bucal e pode se tornar patogênico quando ocorre um desequilíbrio nesta microbiota. A infecção é comum e de alta incidência principalmente em usuários de próteses dentárias, recebendo o nome de estomatite protética. Dentre o público mais acometido, destacam-se os idosos, devido às alterações imunológicas, doenças sistêmicas subclínicas, uso de agentes farmacológicos, deficiências nutricionais e a doenças oportunistas. O tratamento tradicional com antifúngicos tópicos é extremamente dependente da colaboração do paciente, seu tempo de tratamento por vezes é longo e tende a recidivar. Nesse contexto, a terapia fotodinâmica (PDT) para o tratamento dessas lesões tem sido sugerida pelo seu conhecido efeito antimicrobiano. O objetivo desse trabalho foi fazer uma revisão sistemática de literatura para avaliar os protocolos da PDT com azul de metileno como alternativa ao tratamento da estomatite protética e desta forma, mostrar mais um protocolo de tratamento para a candidíase oral em pacientes usuários de próteses dentárias. A metodologia adotada foi a realização de uma análise estruturada de publicações no período de 2005 a março de 2021 em periódicos indexados nas bases PUBMED, BVS e CAPES, utilizando como palavras-chaves: “photodynamic inactivation”, “lasertherapy”, “methylene blue” e “denture stomatitis”. Os resultados encontrados que atenderam todos os critérios de elegibilidade da pesquisa foram de três artigos, mostrando resultados justificáveis o seu uso. Dessa maneira, podemos concluir que a PDT em associação com o azul de metileno é eficaz para o tratamento de estomatite protética, no entanto, não existe ainda um protocolo definido para seu uso, cabendo a realização de novos ensaios clínicos para a padronização.

Palavras-chave: Estomatite Protética, Terapia fotodinâmica, Azul de Metileno.

ABSTRACT

Candida is a commensal fungus of the oral microbiota and can become pathogenic when an imbalance occurs in this microbiota. Infection is ordinary and has a high incidence, especially in users of dental prostheses, receiving the name of stomatitis prosthetics. Among the most affected public, the elderly stand out, due to immunological changes, subclinical systemic diseases, use of pharmacological agents, nutritional deficiencies and exposure to opportunistic diseases. Traditional treatment with topical antifungals is extremely dependent on the patient's collaboration, his treatment time is sometimes long and tends to relapse. In this context, photodynamic therapy (PDT) for the treatment of these lesions has been suggested for its known antimicrobial effect. The objective of this work was to carry out a systematic literature review to evaluate the PDT protocols with methylene blue as an alternative to the treatment of prosthetic stomatitis and, thus, to show yet another treatment protocol for oral candidiasis in patients using dental prostheses. The methodology adopted was to carry out a structured analysis of publications from 2005 to March 2021 in journals indexed in the PUBMED, BVS and CAPES databases, using as keywords: "photodynamic inactivation", "lasertherapy", "methylene blue" and "denture stomatitis". The results found that met all the eligibility criteria of the research were from three articles, showing justifiable results for their use. Thus, we can conclude that PDT in combination with methylene blue is effective for the treatment of prosthetic stomatitis, however, there is still no defined protocol for its use, and new clinical trials are required for standardization.

Keywords: Prosthetic Stomatitis, Photodynamic Therapy, Methylene Blue.

LISTA DE QUADROS E FIGURAS

QUADRO 1- RAZÕES PARA EXCLUSÃO DE ARTIGO

FIGURA 1 - REPRESENTA UM FLUXOGRAMA DA PRESENTE REVISÃO SISTEMÁTICA DE ACORDO COM OS ITENS DE RELATÓRIOS PREFERIDOS E DIRETRIZES DE META-ANÁLISE (PRISMA).

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - AUTOR SELECIONADO, TIPO DE ESTUDO, AMOSTRA, POTÊNCIA E TIPO DE LASER, CONCENTRAÇÃO DE AZUL DE METILENO, TEMPO DE PRÉ IRRADIAÇÃO, TEMPO DE EXPOSIÇÃO AO LASER, EFICIÊNCIA DE ELIMINAÇÃO DAS UFCS E OS RESULTADOS OBTIDOS PELOS AUTORES.

TABELA 2– AUTOR SELECIONADO, TIPO DE ESTUDO, AMOSTRA, POTÊNCIA E TIPO DE LASER, RELAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE AZUL DE METILENO, RELAÇÃO ENTRE O TEMPO DE PRÉ IRRADIAÇÃO, TEMPO DE EXPOSIÇÃO AO LASER, EFICIÊNCIA DE ELIMINAÇÃO DAS UFCS E OS RESULTADOS OBTIDOS PELOS AUTORES.

TABELA 3– AUTOR SELECIONADO, TIPO DE ESTUDO, AMOSTRA, POTÊNCIA E TIPO DE LASER, CONCENTRAÇÃO DE AZUL DE METILENO, TEMPO DE PRÉ IRRADIAÇÃO, TEMPO DE EXPOSIÇÃO AO LASER, EFICIÊNCIA DE ELIMINAÇÃO DAS UFCS E OS RESULTADOS OBTIDOS PELOS AUTORES.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

PDT: do inglês, *Photodynamic Theraphy*, Terapia Fotodinâmica

AM: Azul de Metileno

FS: Fotossensibilizante

LISTA DE SIMBOLOS

%: Porcentagem

D = P x t/a: Formula da densidade

nM: Nanometros (unidade de medida)

mW: miliwatts (unidade de medida)

μG/ml: micrograma por mililitro (unidade de medida)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	ESTADO DA ARTE/REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1	Aspectos gerais sobre a cândida e a estomatite protética.....	17
2.2	Tratamento convencional.....	20
2.3	Terapia fotodinâmica com azul de metileno.....	21
	REFERÊNCIAS	24
	INTRODUÇÃO	29
	METODOLOGIA.....	30
2.4	Identificação	30
2.5	Rastreamento	30
2.6	Critérios de elegibilidade.....	30
2.6.1	Inclusão	30
2.6.2	Exclusão	31
2.7	Seleção dos artigos e revisão	31
2.8	Análise de dados.....	31
	RESULTADOS	32
3	DISCUSSÃO.....	37
	CONCLUSÃO	41
	REFERÊNCIAS	41
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	45
	ANEXO A.....	46

1 INTRODUÇÃO

As afecções fúngicas com cepas mais infectantes e invasivas com resistência a terapias convencionais, incentivaram a busca de terapêuticas alternativas para o tratamento das patologias. Isto posto, a terapia fotodinâmica (PDT) tem se mostrado positiva pela sua ação antimicrobiana, sendo utilizada amplamente na medicina. Além disso, foi observado que a PDT fomenta a inibição do crescimento celular patógeno em qualquer fase, promovendo o efeito fungistático. O que a torna um tratamento promissor é a geração de oxigênio reativo a partir do emprego da luz, com ação em um comprimento de onda específico, sob um composto fotossensível (PS) excitando-o, que causa a apoptose celular. (KATO et al, 2012; EDUARDO et al., 2015.)

O uso do azul de metileno (AM) é estudado desde o século 19 e é o corante mais utilizado na PDT. Desde então, vem sendo buscado o protocolo ideal para seu uso. O comprimento de onda oscilando entre a luz vermelha permite maior penetrância nos tecidos, garantindo eficácia no tratamento. Além disso, é relatado influência na concentração de corante utilizada na terapia (HARRIS; CHATFIELD; PHOENIX, 2005., MACIEL et al, 2015., CIEPLIK et al., 2018.).

O fungo do gênero *Cândida* é encontrado em comensalismo na microbiota normal do homem. O desequilíbrio por fatores locais ou ambientais causa uma das infecções mais comuns na cavidade oral: a candidíase. Entre as diversas formas de manifestações da doença está a estomatite protética, representada pela infecção da mucosa palatal em usuários de prótese. (JANUS; WILLEMS; KROM, 2016., PREISSNER et al., 2016.). Várias espécies do gênero podem ser apontadas como causadoras da candidíase, no entanto, a mais frequente associada é a espécie *Candida Albicans* no estágio de hifa, a mais associada com invasão de tecido (JACOBSON et al, 2012., ATAI et al., 2017).

A terapia convencional consiste no uso de drogas antifúngicas- locais e sistêmicas- que agem na membrana celular do fungo, modificando-a e provocando a morte celular (JONHSON; PERFECT 2010., MACIEL et al., 2015., ATAI et al, 2017.) Devido à alta frequência que a doença ocorre e o tempo estabelecido de tratamento, geralmente longo, vêm observando-se seleção de espécies resistentes a terapia convencional. Dessa maneira, justifica-se a busca de tratamentos coadjuvantes para contornar os desafios presentes. (MACIEL et al., 2015., RIBEIRO et al., 2011., MIMA et al., 2012.).

O diagnóstico precoce e o tratamento adequado são cruciais para melhorar a qualidade de vida dos pacientes. Nesse contexto, graças a seu efeito antimicrobiano, a PDT emergiu como alternativa terapêutica. Por consequência, é relevante realizar uma revisão a partir de estudos clínicos randomizados e não randomizados e casos controle para avaliar a eficácia e seguridade do uso da Terapia fotodinâmica em associação do azul de metileno, avaliando os atuais protocolos estabelecidos.

Assim, o objetivo geral do presente estudo foi realizar uma avaliação sistemática de protocolos utilizados da Terapia fotodinâmica com azul de metileno para o tratamento de estomatite protética. Observar a eficiência nos pacientes com estomatite protética e comparar os diferentes protocolos adotados pelos autores, acerca da dosagem do fotossensibilizante, a potência do laser e o tempo de uso.

2 ESTADO DA ARTE/REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Aspectos gerais sobre a cândida e a estomatite protética

A ecologia oral encontra-se em constante transição e convive comensalmente com fungos e bactérias em dinamicidade. Mais de 100 espécies de fungos podem ser encontradas na cavidade oral, de maneira transitória ou residente. Os mecanismos físicos, químicos e citológicos dos fungos trazem benefícios orais sendo verdadeiramente importantes para a manutenção da saúde e equilíbrio do corpo. Por exemplo, a adesão do fungo a bactéria *S. Aureas* é benéfica a ela, uma vez que desenvolve tolerância a antibióticos. Além disso, a interação química com outras bactérias pode reduzir sua virulência. Além disso, estudos apontam que a presença de fungos na boca auxilia na recolonização saudável da microbiota oral. (GENDREAU; LOWEWY, 2011; LEWIS; WILLIAMS,2017; JANUS, WILLEMS; KROM, 2016.)

A cândida está presente na microbiota de vários sistemas do corpo humano e o seu desequilíbrio pode vir a causar infecções na mucosa. Apesar da grande maioria das infecções por *Candida* serem do gênero *albicans*, as espécies não- *albicans*, como *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis* e *Candida dubliniensis*, também estão presentes encontradas e podem vir a causar doenças (SILVA et al 2011; FREITAS et al., 2017; LEWIS; WILLIAMS,2017).

Dessa maneira, Silva et al, 2011 e Serefko; Poleszak; Malm, 2012 relatam que as espécies do gênero *Candida* podem sofrer disbiose e aumentar de número consideravelmente e causar patologias. Isso pode ocorrer por fatores que alteram as condições fisiológicas do hospedeiro, seja patologias, tratamentos medicamentosos ou a senilidade. Além disso, agentes externos interferem no equilíbrio da microbiota local, alterando-a.

A colonização das espécies infectantes ocorre a partir da maturação do biofilme de leveduras, por meio da produção de substrato extracelular a partir de açúcares, conferindo-lhes resistência e proteção as agressões externas. A transição da forma levedura para formas filamentosas (hifas e pseudohifas) agregam o biofilme ação infectante. Contudo, o dimorfismo característico do fungo em constante transição entre levedura e hifas não permite definir qual a morfologia exata no estado de colonização. Acredita-se que os genes ligados ao estado de hifa podem influenciar na reprodução e crescimento da microbiota disbiótica, A invasão epitelial de duas maneiras: por endocitose induzida pela proteína invasiva do fungo e a proteína e-caderina presente nas células do hospedeiro; ou a invasão por meio da ação de proteases produzidas pelas células fúngicas, que penetram nas células epiteliais do hospedeiro. Em ambos os casos, foi percebido que a morfologia infectante são as hifas (JACOBSON et al, 2012; KATO et al., 2012; RODRIGUES et al., 2019)

As *Candidas albicans* e *não albicans* possuem a capacidade de destruição dos eritrócitos visando a capacitação de ferro. Assim, a saliva possui em sua composição a lactoferrina e a cavidade oral, no interior das suas células, possui a ferritina, facilitando a invasão pelas hifas. Logo, a proliferação com associações ou não de outros componentes da cavidade oral permitem a colonização do ambiente em poucas horas (SEREFKO; POLESZAK; MALM, 2012; ALRABIAH et al., 2019; SILVA et al., 2019)

As células epiteliais, ao serem infectadas pela *Candida ssp.*, emitem citocinas pró inflamatórias que sinalizam a ação do sistema imunológico. Células fagocitárias do corpo agem sobre os fungos nos dois estados morfológicos, leveduras e hifas, obtendo melhor resultado no combate as últimas, inibindo o crescimento em sua fase contagiosa. Entretanto, a levedura parece haver mais resistência aos ataques das células de defesa e sofrem rapidamente dimorfismo para forma de hifa e infectam as células epiteliais, neutralizando a reação da imunidade inata e causando a infecção (MOYSES; NAGLICK, 2011; JACOBSON et al, 2012.)

Por conseguinte, a prótese dentária como agente externo é comumente ligada a uma variante da doença candidíase bucal, a estomatite protética. Isso se deve a capacidade de aderência na peça protética, em que se reproduzem e causam infecção na mucosa adjacente. A peça protética é o arcabouço do nincho ecológico dos fungos, devido a porosidade do seu material, a resina, que facilita a aderência e proliferação de microrganismos. Além disso, o uso constante da peça aumenta na região de tecido coberta o aumento da umidade e temperatura, bem como priva o tecido de receber as defesas biológicas da saliva como ação limpante. Assim, o ambiente torna-se propício a colonização (SEREFKO; POLESZAK; MALM, 2012; FREITAS et al., 2017).

Clinicamente, a estomatite protética é uma lesão descrita pelo seu aspecto inflamatório na região do palato que possui contato com a dentadura, que oferece um ambiente propício para a colonização microbiana. Com a instalação do nincho ecológico sob a peça protética, as hifas dos microrganismos presentes infiltram o tecido subjacente presente, promovendo a infecção (GENDREAU; LOWEWY, 2011; MIMA et al., 2012; PREISSNER et al., 2016.).

Sua causa é multifatorial, estando relacionado principalmente a falta de adaptação correta da peça protética, a sua má higienização e o estado imunológico do hospedeiro em combater a infecção. A questão da diminuição do fluxo salivar, das doenças endócrinas, das deficiências nutricionais e do tabagismo também se apresentam como fatores predisponentes a doença (GENDREAU; LOWEWY, 2011; ALRABIAH et al., 2019). Pacientes imunocomprometidos, com uso constante de corticosteroide e/ou com patologias debilitantes, como leucemia e HIV, podem manifestar a forma mais grave da doença, tornando o tratamento um desafio (PUPO et al., 2011; LEWIS; WILLIAMS, 2017; NEVILLE et al. 2019.).

É possível observar três graus de eritema na estomatite protética: o grau I é descrito clinicamente como eritemas puntiformes, petéquias com inflamação em pequenas áreas determinadas limitadas as glândulas salivares menores geralmente no limite do palato mole.; O grau II é classificado como hiperemia difusa, em que a mucosa se encontra com eritemas difusos cobertos totalmente ou parcialmente por exsudado esbranquiçado, exibindo-se atrófica com a superfície lisa; E o grau III, evidencia-se com aspecto granuloso sob toda a mucosa. Os três tipos podem ser encontrados concomitantemente na mucosa oral (TERRY, 2005; HADJIEVA; DIMOVA; TODOROV, 2006.,).

Arnaud et al. (2012) mostraram em um estudo sobre prevalência de estomatite protética, no qual 174 pacientes eram usuários de próteses dentárias que um total de 61 (35%) tiveram diagnóstico de estomatite protética. A lesão se mostrou mais frequente em mulheres com 77% e em 23% em homens. O estudo contou com pacientes de 25 a 87 anos, onde a faixa etária mais acometida foi de 51 a 60 anos, demonstrando a considerável prevalência de estomatite protética em pacientes usuários de próteses dentárias, assim como a influência do sexo e idade.

A principal questão da estomatite protética é o alto grau de recidiva da doença, uma vez que o biofilme disbiótico possui a capacidade de recolonização bastante expressiva e virulenta. Dessa maneira, o constante tratamento medicamentoso pode vir a causar resistência das cepas aos antifúngicos, justificando a busca de tratamentos alternativos para a causa. A afecção é tratada com antifúngicos tópicos e sistêmicos para as mucosas e higienização para a prótese. A limpeza da peça é feita de forma mecânica, com escova de cerdas duras e de forma química, podendo contar com produtos alcalinos, enzimáticos e soluções hipocloradas (SEREFKO; POLESZAK; MALM, 2012; KATO et al, 2014; ALI; HARBI, 2015.)

2.2 Tratamento convencional

A terapêutica atual preconiza o uso de antifúngicos tradicionais locais e sistêmicos. Os azóis e polienos são os grupos de fármacos de escolha há duas décadas para o tratamento de afecções fúngicas, agindo nos inibidores da biossíntese de ergostero (SHAPHIRO et al, 2011., MACIEL et al., 2015).

A terapia é feita com drogas antifúngicas tópicas e sistêmicas. O miconazol a 2% devido seu veículo terapêutica em gel é uma das medicações tópicas de eleição para o tratamento da estomatite protética associada a *Candida* e que vem obtendo maior êxito na eliminação dos fungos. Associada a ela é utilizado, quando necessário, medicação sistêmica derivado dos grupos dos agentes triazólicos, agentes poliênicos e agentes imidazólicos (SHAPIRO et al, 2011; SEREFKO; POLESZAK; MALM, 2012).

A resistência adquirida aos antifúngicos azólicos emergiu nos últimos anos e certas espécies de *Candida* também são inerentemente resistentes a esses agentes. Existem vários mecanismos de resistência ao azol relatados e incluem: uma alteração na estrutura química da enzima desmetilase; remoção do azol da célula por bombas transportadoras multidroga e compensação por outras enzimas de síntese de esterol na biossíntese de membranas (JOHNSON; PERFECT, 2010.; LEWIS; WILLIAMS,2017). Neste contexto, surgem novas

terapias coadjuvantes que auxiliem no tratamento da candidíase oral, em particular a estomatite protética. Dentre as terapias, a terapia fotodinâmica tem ganhado espaço para inativação fúngica a partir do uso do laser de baixa potência e de um agente fotossensibilizante (LEITE, 2015.)

2.3 Terapia fotodinâmica com azul de metileno

Apesar de a muito tempo em uso, os estudos acerca da terapia fotodinâmica ainda não foram completamente esclarecidos. A PDT é realizada com lasers de baixa potência em associação com um composto fotossensibilizante (FS), e parte da interação químico-física dos fótons com os tecidos biológicos, difundindo-se em energia através dos princípios da luz. Logo, a emergência da PDT como tratamento coadjuvante é viável uma vez que é relatado na literatura que o laser de baixa potência possui propriedades, analgésicas, antiinflamatórias e biomodeladoras de tecido. Além disso, é descrito como principais vantagens a não seletividade quanto a microrganismos, atingido vários alvos moleculares e não causando resistência ao patógeno. A resposta ao tratamento está ligada ao estado do tecido a ser tratado e a fluência de energia que este é exposto patógeno (KHARKWAL et al, 2011; FREIRE, 2013; JAVED, 2014; CIEPLK et al., 2018)

A ativação pela luz de um composto fotossensível promove a destruição celular sem causar dano tecidual. O efeito antimicrobiano se dá pela fototoxicidade através de uma equação química exotérmica de transferência de elétrons que formam radicais livres e moléculas de oxigênio altamente reativas, que causa danos oxidativo a parede celular do microorganismo (GIROLDO et al., 2009; EDUARDO et al., 2015; SENNA et al., 2018.). A eficácia da inativação microbiana é proporcional a quantidade de moléculas reativas geradas conexo a partir da quantidade de droga e frequência de onda utilizada para sua ativação (MIMA et al, 2012; RIBEIRO et al., 2011).

Em concordância com os autores, Torres et al. 2019, relatam em seu estudo a existência de duas reações químicas para a formação de singletes de oxigênio, a forma reativa do elemento. O primeiro mecanismo é através da transferência de elétrons no estado tripleto excitado e componentes do sistema, que na presença do oxigênio no estado fundamental, forma radicais livres, íons radicais e produtos oxidados. A segunda maneira se dá pela transferência de energia do fotossensibilizador no estado de tripleto de oxigênio, com a produção de singleto de oxigênio, altamente tóxico, o principal agente citotóxico causador da morte celular na PDT.

Existem três tipos de emissão de luz na fototerapia: Os lasers emitidos pela mistura de elementos químicos, como o Gálio, Alumínio e Arsênio. Os lasers de diodo (LEDs); e os de descarga de gases halogêneos. Estes apresentam características únicas a depender do espectro de emissão, intensidade e modo de recepção da luz. O sucesso terapêutico está ligado a esse parâmetro em associação com a fisiopatologia o tecido alvo e a sua capacidade de absorção de fótons. Os Laser de LEDs são os de escolha para os estudos aqui apontados. Estes trabalham em um feixe monocromático de alto comprimento de onda de 600-900nm, com área focada e são fontes promissoras na PDT pois são econômicos, de fácil manuseio e transladável (CIEPLIK et al., 2018; TAMIOZZO, 2020.).

Os fotossensibilizantes devem possuir algumas características para serem considerados ideais: devem ser escolhidos a partir da absorção do espectro de luz incidente e reagentes apenas na presença de luz, sendo compatível com os tecidos a serem aplicados. Devem ser seletivos e absorver o maior número de fótons emitidos e de fácil eliminação. Os fotossensibilizantes naturais são a escolha mais segura, com menos riscos de efeitos colaterais e de interações com outros medicamentos. Seu uso é empregado na medicina desde as civilizações antigas, na Ásia. Na década de 60 foram relatados os primeiros estudos acerca das propriedades antimicrobianas da fototerapia, sensíveis a bactérias, leveduras, fungos e protozoários, utilizada nos diversos segmentos da medicina. Os componentes naturais produzem mais oxigênio reativos e atravessam com mais facilidade a membrana citoplasmática, eliminando os microrganismos em um menor tempo (HARRIS; CHATFIELD; PHOENIX, 2005; JAVED et al., 2014)

O azul de metileno (AM) foi o primeiro corante fotossensibilizante estudado na década de 60. Formado por três anéis aromáticos, que liberam elétrons positivos, é ativado no comprimento de onda médio 600-680, uma qualidade positiva, pois quanto maior o comprimento de onda maior a penetrância nos tecidos (CERNAKOVA et al, 2016.; CIEPLIK et al., 2018). Com isso, o AM, corante sintético pioneiro na medicina, ao longo dos anos foi objeto de vários estudos, tornando o corante mais utilizado para fins terapêuticos. Além disso, foi utilizado para coloração de lâminas histopatológica. O AM possui as características viáveis de fotossensibilizante, desempenhando papel fungicida satisfatório, com a absorção de luz suficiente para penetrar nas células alvo de maneira eficaz, sem, no entanto, agredir os tecidos. Além disso, possui características físicas ideais para o trabalho com peças protéticas, uma vez que é facilmente retirado ao lavar (LOPES, 2013; WAINWRIGH e et al., 2016.; SAHA; BURNS, 2020)

O AM age por meio de ligação eletrostática com a membrana externa das células alvo. Para que este processo ocorra de forma efetiva, o clínico deve aguardar alguns minutos para realizar a irradiação após a inserção do FS. Esse tempo é chamado “tempo pré-irradiação”. Ele garantirá que o FS alcance seu alvo e que as espécies reativas de oxigênio serão liberadas no sítio desejado. O tempo pré-irradiação pode variar. Em casos em que não haja fluidos ou exsudatos, três minutos são suficientes. Infecções periodontais ou fúngicas necessitam de tempo pré-irradiação de 5 e 30 minutos, respectivamente. Outro fator importante com relação ao FS é a sua concentração. O mercado odontológico comercializa duas concentrações de azul de metileno (AM), 0,005% e 0,01%. A primeira é indicada em casos em que não haja exsudato, sangue, fluido gengival, saliva ou qualquer outro tipo de diluente ou conteúdo proteico, como canais radiculares e superfície dental (após o preparo protético ou cavitário). Na presença destas substâncias, opta-se pelo AM a 0,01%, mais concentrado (RIBEIRO et al., 2007; JAVED et al., 2014).

A eficácia quanto a eliminação de microrganismos é uma variável dependente da concentração do corante. Na literatura é registrado diversos estudos comprovando a legibilidade do uso do azul de metileno em associação com PDT (AZIZI et al., 2016). Ademais, Syvatchenko et al. 2020, realizaram um estudo com a SAR-CoV 2, utilizando a PDT como uma alternativa viável e como solução imediata e efetiva na pandemia do novo coronavírus, marcada pela ausência de um tratamento específico e a associação de desenvolvimento de outras patologias, visto o conhecimento prévio da sua ação de inativação frente a outros retrovírus causadores de doenças. Com isso, a eficácia da PDT é reconhecida em toda a medicina, sendo indicado para uso clínico como uma opção viável e acessível. Os autores ressaltam ainda que a associação com substâncias fotossensibilizantes é crucial para a inativação dos microrganismos, posto que quando exposto a luz do laser há transferência de energia desencadeadora de reações químicas oxidativas que danificam o patógeno e conseqüente reprodução

Outrossim, em sua pesquisa, Torres et al, 2019. relataram que a maior concentração de corante não significa maior eficiência na eliminação dos microrganismos. Foi observado que a elevada concentração de AM impedia a penetração da luz e conseqüentemente o seu desempenho na inativação do crescimento das colônias. Além disso, poderia causar hipertemia aos tecidos na presença de luz. Isso ocorre pois em meio aquoso o AM poderá formar um conjunto de moléculas coesas, afetando negativamente a produção de espécies reativas de oxigênios.

Giroldo et al. (2009) realizaram um estudo com o AM no aumento da permeabilidade da membrana em *Candida Albicans in vitro*. Neste trabalho, cepas de *C. albicans* foram atacadas com azul de metileno em concentrações que variavam de 0,01mg/mL a 0,05mg/mL com uma dose de 28J/cm². Os resultados mostraram que a combinação do AM e a ação do laser promoveram o decréscimo no crescimento da *Candida*, e este decréscimo foi associado ao dano na membrana plasmática das células.

Pupo et al., 2011 utilizaram em seu estudo uma suspensão padrão de *C. Albicans* dois tipos de corantes, entre eles o AM. A autora dividiu o estudo em dois grupos com o composto em questão: um apenas em contato com o FS e outro em contato com FS e fotoativado com o laser de diodo. Foi observado maior redução do número de CFUs (unidade formadora de colônias) o grupo que foi fotoativado. Dessa maneira, concluíram que os resultados obtidos na pesquisa sugerem a possibilidade do AM, combinado com uma fonte de luz de comprimento de onda específico, pode ser usado como promissor agente antifúngico.

REFERÊNCIAS

- ALI, AIMAN & AL-HARBI, FAHAD. The Minimum Inhibitory Concentration of Different Candidal Disinfecting Agents. **Saudi Journal of Medicine and Medical Sciences**. v. 3, p. 26-32, 2015.
- ALMEIDA, Adelaide. Photodynamic Therapy in the Inactivation of Microorganisms. 2020.
- ALRABIAH, M; ALSAHHAF, A; ALOFI, RS; AL-AALI, KA; ABDULJABBAR, T; VOHRA, F. Efficacy of photodynamic therapy versus local nystatin in the treatment of denture stomatitis: A randomized clinical study. **Photodiagnosis Photodyn Ther**, v. 28, p. 98-101, 2019.
- ARNAUD, RR; SOARES, MS; DOS SANTOS, MG; DOS SANTOS, R. Denture stomatitis: prevalence and correlation with age and gender. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 16, n. 1, p. 59-62, 2012.
- ATAI, Z; ATOI, M; JAVID, A; SALEHI, N. In vivo study of antifungal effects of low-molecular-weight chitosan against *Candida albicans*. **J Oral Sci**, v.59, n. 3, p.425-430, 2017.
- AZIZI, A; AMIRZADEH, Z; REZAI, M; LAWAF, S; RAHIMI, A. Effect of photodynamic therapy with two photosensitizers on *Candida albicans*. **J Photochem Photobiol B**, v. 158, p. 73-267, 2016.
- CERNÁKOVÁ L; DIŽOVÁ S; BUJDÁKOVÁ H. Employment of methylene blue irradiated with laser light source in photodynamic inactivation of biofilm formed by *Candida albicans* strain resistant to fluconazole. **Med Mycol**, v. 55, n.7, p. 748-753, 2017.

CIEPLIK, F; DOGMAN, D; CRIELAARD, W; WOLFGANG, B; HELLWIG, E; AL-AHMAD, A; MAISCH, T. Antimicrobial photodynamic therapy - what we know and what we don't. **Crit Rev Microbiol**, v. 44, n. 5, p.571-589, 2018.

DE FIGUEIREDO FREITAS, LS; ROSSONI, RD; JORGE, AOC; JUNQUEIRA, JC. Repeated applications of photodynamic therapy on *Candida glabrata* biofilms formed in acrylic resin polymerized. **Lasers in medical science**, v. 32, n. 3, p. 549-555, 2017.

DE SENNA AM, VIEIRA MMF, MACHADO-DE-SENA RM, BERTOLIN AO, NÚÑEZ SC, RIBEIRO MS. "Photodynamic inactivation of *Candida* ssp. on denture stomatitis. A clinical trial involving palatal mucosa and prosthesis disinfection." **Photodiagnosis and photodynamic therapy** vol. 22, p. 212-216, 2018.

EDUARDO, C.P; BELLO-SILVA, ML; RAMALHO; RYOUNG LEE, EM; ARANHA ACC. Terapia fotodinâmica como benefício complementar na clínica odontológica. **Revista da Associação Paulista de Cirurgios Dentistas**. v. 69, n. 3, p. 226-235, 2015.

FREIRE, M. D. R. S. Avaliação da fotobiomodulação a lasers e leds na prevenção e tratamento da mucosite quimioinduzida-estudo experimental em hamsters.

GENDREAU, L; LOEWY, ZG. Epidemiology and etiology of denture stomatitis. **Journal of Prosthodontics: Implant, Esthetic and Reconstructive Dentistry**, v. 20, n. 4, p. 251-260, 2011.

GIROLDO LM, FELIPE MP, DE OLIVEIRA MA, MUNIN E, ALVES LP, COSTA MS. Photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT) with methylene blue increases membrane permeability in *Candida albicans*. **Lasers Med Sci**, v. 24 n. 1, p. 109-12, 2009.

HADJIEVA, H; DIMOVA, M; TODOROV, S. Stomatitis prosthetica-a polyetiologic disorder. **Journal of IMAB**, v. 12, n. 2, p. 38-4, 2006.

HARRIS F, CHATFIELD LK, PHOENIX DA. Phenothiazinium based photosensitisers-- photodynamic agents with a multiplicity of cellular targets and clinical applications. **Curr Drug Targets**, v. 6, n. 5, p. 615-27, 2005.

JACOBSEN, ID; WILSON, D; WATCHLER, B; BRUNKE S; NAGLIK JR; HUBE, B. "Candida albicans dimorphism as a therapeutic target." **Expert review of anti-infective therapy** vol. 10, n. 1, p. 85-93, 2012.

JANUS, MARLEEN M.; WILLEMS, HUBERTINE ME; KROM, BASTIAAN P. *Candida albicans* in multispecies oral communities; a keystone commensal?. **Fungal Biofilms and related infections**, p. 13-20, 2016.

JAVED, S.; BUKHARI, SA; ASHRAF, MY; MAHMOOD, S; IFTIKHAR, T. Effect of salinity on growth, biochemical parameters and fatty acid composition in safflower (*Carthamus tinctorius L.*). **Pak. J. Bot**, v. 46, n. 4, p. 1153-158, 2014.

JOHNSON, MELISSA D; JOHN R PERFECT. "Use of Antifungal Combination Therapy: Agents, Order, and Timing." **Current fungal infection reports** vol. 4, n.2, p. 87-95, 2010.

KATO IT, PRATES RA, SABINO CP, FUCHS BB, TEGOS GP, MYLONAKIS E, HAMBLIN MR, RIBEIRO MS. "Antimicrobial photodynamic inactivation inhibits *Candida*

albicans virulence factors and reduces in vivo pathogenicity.” **Antimicrobial agents and chemotherapy** vol. 57, v.1, p. 445-51,2013.

KHARKWAL GB, SHARMA SK, HUANG YY, DAI T, HAMBLIN MR. Photodynamic therapy for infections: clinical applications. **Lasers in surgery and medicine**, v. 43, n. 7, p. 755-767, 2011.

LEITE, D.P.; PIVA, M.R.; MARTINS-FILHO, P.R.S. Identificação das espécies de *Candida* em portadores de estomatite protética e avaliação da susceptibilidade ao miconazol e à terapia fotodinâmica. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 44, n. 1, p. 12-17, 2015.

LEWIS, M.A.O; WILLIAMS D.W. Diagnosis and management of oral candidosis. **British Dental Journal**, v.223, n. 9, p.675-81, 2017.

LOPES, D.M. Efeito da terapia fotodinâmica no tratamento de estomatite sobre prótese em usuários de próteses totais. 2011. 76 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas. Área de concentração: Prótese Dentária) - **Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo**. São Paulo, 2013.

MACIEL CM, PIVA MR, RIBEIRO MA, DE SANTANA SANTOS T, RIBEIRO CF, MARTINS-FILHO PR. Methylene Blue-Mediated Photodynamic Inactivation Followed by Low-Laser Therapy versus Miconazole Gel in the Treatment of Denture Stomatitis. **J Prosthodont**, v. 25, n. 1, p.28-32, 2016.

MIMA EG, VERGANI CE, MACHADO AL, MASSUCATO EM, COLOMBO AL, BAGNATO VS, PAVARINA AC. Comparison of Photodynamic Therapy versus conventional antifungal therapy for the treatment of denture stomatitis: a randomized clinical trial. **Clin Microbiol Infect**, v. 18, n. 10, p. 8-380, 2012.

MOYES, David L.; NAGLIK, Julian R. Mucosal immunity and *Candida albicans* infection. **Clinical and Developmental Immunology**, v. 2011, 2011.

NEVILLE, W.B. et al. Patologia oral & maxilofacial, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 4ª ed, 2019.

PREISSNER S, KASTNER I, SCHÜTTE E, HARTWIG S, SCHMIDT-WESTHAUSEN AM, PARIS S, PREISSNER R, HERTEL M. Adjuvant antifungal therapy using tissue tolerable plasma on oral mucosa and removable dentures in oral candidiasis patients: a randomised double-blinded split-mouth pilot study. **Mycoses**, v. 59, n. 7, p.467-475, 2016.

PUPO YM, GOMES GM, SANTOS EB, CHAVES L, MICHEL MD, KOZLOWSKI VA JR, GOMES OM, GOMES JC. Susceptibility of *Candida albicans* to photodynamic therapy using methylene blue and toluidine blue as photosensitizing dyes. **Acta Odontol Latinoam**, v. 24, n. 2, p.188-192, 2011.

RIBEIRO DG, PAVARINA AC, DOVIGO LN, MIMA EG, MACHADO AL, BAGNATO VS, VERGANI CE. Photodynamic inactivation of microorganisms present on complete dentures. A clinical investigation. Photodynamic disinfection of complete dentures. **Lasers Med Sci**, v. 27, n. 1, p. 8-161, 2012.

RIBEIRO L, BAGGIO C.M.L., SCHREINER F., SANTOS E.B. Sensibilidade de espécies de *Candida Albicans* e não albicans à ação antifúngica de agentes medicinais. **Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Odontologia**, 2007.

RODRIGUES, C.F.; RODRIGUES, M.E.; HENRIQUES, M.C.R. Promising Alternative Therapeutics for Oral Candidiasis. *Curr Med Chem*, v.26, n.114, p. 2515-2528, 2019.

ROSSONI, RD; BARBOSA, JO; OLIVEIRA, FE; OLIVEIRA, LD; CARDOSO, AO; SIQUEIRA, JC. Biofilms of *Candida albicans* serotypes A and B differ in their sensitivity to photodynamic therapy. **Lasers in medical science**, v. 29, n. 5, p. 1679-1684, 2014.

SAHA, BK; BURNS SL. “The Story of Nitric Oxide, Sepsis and Methylene Blue: A Comprehensive Pathophysiologic Review.” *The American journal of the medical sciences* vol. 360, n.4, p. 329-337, 2020.

SEREFKO, AD.; POLESZAK, EJ.; MALM, A. *Candida albicans* denture biofilm and its clinical significance. **Pol J Microbiol**, v. 61, n. 3, p. 161-7, 2012.

SHAPIRO, R & R; LEAH, N & C. “Regulatory circuitry governing fungal development, drug resistance, and disease.” **Microbiology and molecular biology reviews : MMBR** vol. 75, v. 2, p. 213-67, 2011.

SILVA, DM; SOUZA, TC; ALENCAR, CFC; SOUZA, IS; BANDEIRA, MFCL. Virulence factors of *Candida* species from the oral mucosa and prostheses of elderly people from a riverside community in the Amazon state, Brazil. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 48, 2019.

SILVA S, NEGRI M, HENRIQUES M, OLIVEIRA R, WILLIAMS DW, AZEREDO J. Adherence and biofilm formation of non-*Candida albicans* *Candida* species. **Trends in microbiology**, v. 19, n. 5, p. 241-247, 2011.

SVYATCHENKO, NIKONOV, SD; MAYOROV, AP GELFOND, ML; LOKTEV, VB. “Antiviral photodynamic therapy: Inactivation and inhibition of SARS-CoV-2 in vitro using methylene blue and Radachlorin.” **Photodiagnosis and photodynamic therapy** vol. 33, 2021

TAMIOZZO, Maria Eduarda. Uso de laserterapia de baixa potência para tratamento de lesões bucais: Revisão de literatura. 23f. 2020. Unicesumar - Universidade Cesumar: Maringá, 2020.

TORRES-HURTADO AS; RAMÍREZ-RAMÍREZ J; LARIOS-MORALES AC; RAMÍREZ-SAN-JUAN JC; RAMOS-GARCÍA R; ESPINOSA-TEXIS AP; SPEZZIA-MAZZOCCO T. Efficient in vitro photodynamic inactivation using repetitive light energy density on *Candida albicans* and *Trichophyton mentagrophytes*. **Photodiagnosis and photodynamic therapy**, v. 26, p. 203-209, 2019.

WAINWRIGHT, M; MAISCH, T; NONELL, N; PLAETZER, K; ALMEIDA, A; TEGOS, GP; HAMBLIN, MR. Photoantimicrobials—are we afraid of the light?. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 17, n. 2, p. e49-e55, 2017

**ARTIGO****TERAPIA FOTODINÂMICA COM AZUL DE METILENO PARA O TRATAMENTO DE ESTOMATITE PROTÉTICA: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA****RESUMO**

A cândida é um fungo comensal da microbiota bucal e pode se tornar patogênico quando ocorre um desequilíbrio nesta microbiota. A infecção é comum e de alta incidência principalmente em usuários de próteses dentárias, recebendo o nome de estomatite protética. O tratamento tradicional com antifúngicos tópicos é extremamente dependente da colaboração do paciente, seu tempo de tratamento por vezes é longo e tende a recidivar. Nesse contexto, a terapia fotodinâmica (PDT) para o tratamento dessas lesões tem sido sugerida pelo seu conhecido efeito antimicrobiano. O objetivo desse trabalho foi fazer uma revisão sistematizada da literatura para avaliar os protocolos da PDT com azul de metileno como alternativa ao tratamento da estomatite protética e desta forma, mostrar uma opção de tratamento para a estomatite protética. A metodologia adotada foi a realização de uma análise estruturada de publicações no período de 2005 a março de 20221 nas bases PUBMED, BVS e CAPES, utilizando como palavras-chaves: “photodynamic inactivation”, “lasertherapy”, “methylene blue” e “denture stomatitis”. Os resultados encontrados foram de três artigos, mostrando resultados justificáveis ao seu uso. Logo, podemos concluir que a PDT em associação com o azul de metileno é eficaz para o tratamento de estomatite protética, no entanto, não existe ainda um protocolo definido para seu uso, cabendo a realização de novos ensaios clínicos para a padronização.

Palavras-chave: Estomatite Protética, Terapia fotodinâmica, Azul de Metileno.

PHOTODYNAMIC THERAPY WITH METHYLENE BLUE FOR THE TREATMENT OF PROSTHETIC STOMATITIS: A SYSTEMATIC REVIEW**ABSTRACT**

Candida is a commensal fungus of the oral microbiota and can become pathogenic when an imbalance occurs in this microbiota. Infection is common and has a high incidence, especially in users of dental prostheses, receiving the name of prosthetic stomatitis. Traditional treatment with topical antifungals is extremely dependent on the patient's collaboration, his treatment time is sometimes long and tends to relapse. In this context, photodynamic therapy (PDT) for the treatment of these lesions has been suggested for its known antimicrobial effect. The objective of this work was to carry out a systematic review of the literature to evaluate the PDT protocols with methylene blue as an alternative to the treatment of prosthetic stomatitis and, thus, to show a treatment option for prosthetic stomatitis. The methodology adopted was to carry out a structured analysis of publications from 2005 to March 20221 on the PUBMED, BVS and CAPES databases, using as keywords: “photodynamic inactivation”, “lasertherapy”, “methylene blue” and “denture stomatitis”. The results found were from three articles, showing justifiable results for its use. Therefore, we can conclude that PDT in combination with

LIMA HCA, CARVALHO CHP. Terapia fotodinâmica com azul de metileno para estomatite protética: uma revisão sistemática.

Revista Saúde & Ciência online, v. , n. , (). p.



methylene blue is effective for the treatment of prosthetic stomatitis, however, there is still no defined protocol for its use, and new clinical trials are required for standardization.

Keywords: Prosthetic stomatitis, photodynamic therapy, methylene blue.

INTRODUÇÃO

As afecções fúngicas com cepas mais infectantes e invasivas com resistência a terapias convencionais, incentivaram a busca de terapêuticas alternativas para o tratamento das patologias. Isto posto, a terapia fotodinâmica (PDT) tem se mostrado positiva pela sua ação antimicrobiana, sendo utilizada amplamente na medicina. Além disso, foi observado que a PDT fomenta a inibição do crescimento celular patógeno em qualquer fase, promovendo o efeito fungistático. O que a torna um tratamento promissor é a geração de oxigênio reativo a partir do emprego da luz, com ação em um comprimento de onda específico, sob um composto fotossensível (PS) excitando-o, que causa a apoptose celular ^{1,2}.

O uso do azul de metileno (AM) é estudado desde o século 19 e é o corante mais utilizado na PDT. Desde então, vem sendo buscado o protocolo ideal para seu uso. O comprimento de onda oscilando entre a luz vermelha permite maior penetrância nos tecidos, garantindo eficácia no tratamento. Além disso, é relatado influência na concentração de corante utilizada na terapia ^{3,4,5}.

O fungo do gênero *Cândida* é encontrado em comensalismo na microbiota normal do homem. O desequilíbrio por fatores locais ou ambientais causa uma das infecções mais comuns na cavidade oral: a candidíase. Entre as diversas formas de manifestações da doença está a estomatite protética, representada pela infecção da mucosa palatal em usuários de prótese ^{6,7}. Várias espécies do gênero podem ser apontadas como causadoras da candidíase, no entanto, a mais frequente associada é a espécie *Candida Albicans* no estágio de hifa, a mais associada com invasão de tecido ^{8,9}.

A terapia convencional consiste no uso de drogas antifúngicas- locais e sistêmicas- que agem na membrana celular do fungo, modificando-a e provocando a morte celular ^{4,9,10}. Devido à alta frequência que a doença ocorre e o tempo estabelecido de tratamento, geralmente longo, vêm observando-se seleção de espécies resistentes a terapia convencional. Dessa maneira, justifica-se a busca de tratamentos coadjuvantes para contornar os desafios presentes ^{4, 11, 12}.



O diagnóstico precoce e o tratamento adequado são cruciais para melhorar a qualidade de vida dos pacientes. Nesse contexto, graças a seu efeito antimicrobiano, a PDT emergiu como alternativa terapêutica. Por consequência, é relevante realizar uma revisão a partir de estudos clínicos randomizados e não randomizados e casos controle para avaliar a eficácia e segurança do uso da Terapia fotodinâmica em associação do azul de metileno, avaliando os atuais protocolos estabelecidos.

Assim, o objetivo geral do presente estudo foi realizar uma avaliação sistemática de protocolos utilizados da Terapia fotodinâmica com azul de metileno para o tratamento de estomatite protética. Observar a eficiência nos pacientes com estomatite protética e comparar os diferentes protocolos adotados pelos autores, acerca da dosagem do fotossensibilizante, a potência do laser e o tempo de uso.

METODOLOGIA

2.4 Identificação

A presente revisão sistemática refere-se a avaliação dos protocolos utilizados na terapia fotodinâmica com o azul de metileno para o tratamento de estomatite protética.

2.5 Rastreamento

Foi feita uma busca para localizar artigos com estudos publicados em inglês no período de 2005 até março de 2021, relacionados ao uso da terapia fotodinâmica em associação com o azul de metileno. Os descritores utilizados para pesquisa foram: “photodynamic inactivation” OU “lasertherapy” OU “methylene blue” E “denture stomatitis”. A pesquisa foi realizada nas bases de dados PUBMED, BVS (Biblioteca Virtual em Saúde) e PERIÓDICOS CAPES. Foram utilizados os “meshs” de pesquisa “AND”, “OR” e “NOT”.

2.6 Critérios de elegibilidade

2.6.1 Inclusão

- Estudos clínicos randomizados;

LIMA HCA, CARVALHO CHP. Terapia fotodinâmica com azul de metileno para estomatite protética: uma revisão sistemática.

Revista Saúde & Ciência online, v. , n. , (). p.



- Estudos clínicos duplos cego;
- Caso controle ou não. Os critérios de elegibilidade foram considerados: estudos in vivo que empregava a PDT como forma de tratamento.

2.6.2 Exclusão

- Estudos duplicados
- Relatos de caso
- Estudo in vitro
- Estudo ex vitro
- Resenhas, cartas ao Editor, opiniões pessoais, conferências, resumos, pôsteres e patentes.

2.7 Seleção dos artigos e revisão

A pesquisa trata-se de um estudo observacional retrospectivo, que teve como questionamento chave: “Qual o protocolo mais adequado utilizado para estomatite protética com Terapia fotodinâmica com azul de metileno?”. O desenvolvimento da pergunta foi baseado no formato PICO (Patient, Intervention, Comparison, Outcome and Study). Os participantes são pacientes com estomatite protética. A intervenção é o tratamento fotodinâmico com azul de metileno. A comparação é realizada entre os protocolos adotados de variação da concentração de azul de metileno, a potência do laser e o tempo de exposição. O objetivo foi observar a eficácia dos protocolos adotados, quais os mais utilizados e quais obtiveram melhor resultado.

2.8 Análise de dados

Com o término das buscas nas bases de dados através dos descritores anteriormente mencionados, conforme a aplicação dos critérios de elegibilidade para a inclusão e exclusão dos estudos, os selecionados foram revisados do texto completo e passaram por uma verificação de duplicidade e relevância com o auxílio do Rayyan QCRI (<https://rayyan.qcri.org/>) uma web gratuita e um aplicativo móvel para revisões sistemáticas (Qatar Computing Research Institute, Doha, Qatar).

LIMA HCA, CARVALHO CHP. Terapia fotodinâmica com azul de metileno para estomatite protética: uma revisão sistemática.

Revista Saúde & Ciência online, v. , n. , (). p.



Foi analisado os títulos dos artigos resultantes da busca nas plataformas de dados utilizadas nesse estudo e consideraram os critérios de elegibilidade e exclusão para incluí-los ou não no estudo. A segunda avaliação foi feita a partir da leitura dos resumos (abstracts) dos artigos pré-selecionados e considerando os critérios de elegibilidade e exclusão para incluí-los ou não no estudo. Os artigos que se enquadraram em todos os quesitos, foram lidos e analisados para discussão do tema proposto. Os artigos selecionados classificados segundo o nome do primeiro autor, o ano de publicação, o protocolo adotado e os resultados obtidos. Após todo o processo de seleção, os artigos incluídos nesta revisão sistemática foram demonstrados em uma tabela. Estes foram comparados e cumpriram os objetivos da revisão sistemática de avaliar os protocolos adotados para o tratamento da estomatite protética utilizando a terapia fotodinâmica.

RESULTADOS

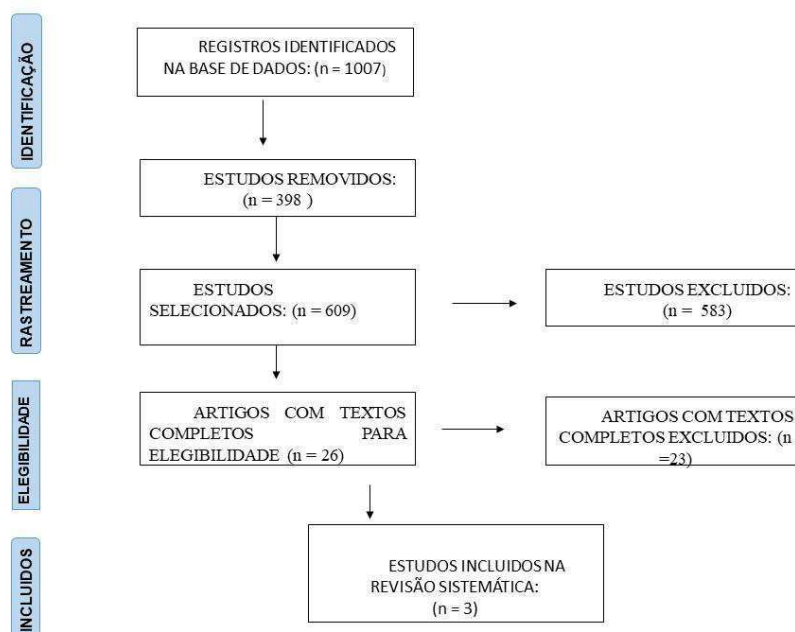


Figura 1 representa um fluxograma da presente revisão sistemática de acordo com os itens de relatórios preferidos e diretrizes de meta-análise (PRISMA). Fonte: Autor.

Originalmente foram encontrados 1007 artigos, identificados e sujeitos a análise. Com a triagem dos títulos foram excluídos 398 estudos. Com a análise dos abstracts foram excluídos mais 583 estudos, chegando 26 artigos com textos completos para elegibilidade, dos quais 22 não atenderam os critérios de inclusão pré-estabelecidos. (Figura 1.)

LIMA HCA, CARVALHO CHP. Terapia fotodinâmica com azul de metileno para estomatite protética: uma revisão sistemática.

Revista Saúde & Ciência online, v. , n. , (). p.



A maioria dos estudos eliminados possuíam mais de um critério de ilegibilidade, os principais motivos estão elencados no Quadro 1.

RAZÃO PARA EXCLUSÃO	NÚMERO DE ARTIGOS EXCLUIDOS
PDT SEM O AZUL DE METILENO COMO FS PRINCIPAL	213
CASOS DIFERENTES DE ESTOMATITE PROTÉTICA	914
ENSAIOS CLÍNICOS IN VITRO/ EX VIVO/ RELATO DE CASO	595
REVISÕES	55

Quadro 1 – Razões para exclusão de artigos

Considerando os critérios de inclusão adotados, foram encontrados um total de três (3) estudos nas bases de dados consultadas, em que dois se tratavam de ensaios clínicos randomizados (66,66%) e um ensaio clínicos não randomizados (33,33%). Os estudos utilizaram o laser de diodo do tipo Gálio, Alumínio e Arsênio e operavam em um comprimento de onda de 600nm (nanômetro) (33,33%) e de 660nm (66,66%); os três artigos selecionados utilizavam a $P = 100$ mW. A concentração utilizada em um artigo foi de $100\mu\text{G/ml}$ (33,33%) e em dois artigos foram de $450\mu\text{G/ml}$, (66,66%). O tempo de pré irradiação foi de 5min em um artigo (33,33%) e 10 min nos outros dois artigos (66,66%). Para um estudo, o tempo de irradiação foi apenas de 20 segundos (33,33%) e para os demais foi utilizado um tempo de 4,6 minutos. Todos os estudos não obtiveram taxa de sucesso maior que 50% na eliminação das UFCs.



Autor	Desenho do estudo	Metodologia	Tipo de laser	Potência/Energia /Comprimento de onda	Concentração do AM	Tempo de Pre Irradiação	Tempo de Irradiação	Eliminação de UFC de Candida	Resultado
MACIEL et al, 2015	ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO	Aplicou o fotossensibilizante apenas na primeira sessão e realizou mais quatro sessões, duas vezes na semana por um período de 15 dias sem adição de produtos, apenas com a exposição a luz.	Laser de diodo GaAlAs	P: 100mW; E: 2 J; λ : 600nm	1000 μ G/ml (0,01%)	5MIN	20 SEG	A resolução da estomatite dentária foi alcançada em 80% dos casos no final do tratamento com o Miconazol, enquanto o protocolo combinado de terapia PDT mediada por azul de metileno foi apenas sucesso em 40% dos casos ($p < 0,05$).	O estudo foi realizado com 40 pacientes, 20 destinados a cada grupo. Encontrou resultado positivo utilizando a PDT com azul de metileno, contudo, os resultados do grupo controle, o Miconazol, foram melhores. A resolução da sintomatologia da doença foi positiva em 70% dos pacientes tratados com o protocolo combinado de PDT e azul de metileno e 85% daqueles tratados com miconazol. Quinze dias após o final de tratamento, a recorrência foi encontrada em 25% dos pacientes no grupo experimental e 12,5% dos pacientes no grupo miconazol.

TABELA1 – Autor selecionado, tipo de estudo, amostra, potência e tipo de laser, relação da concentração de azul de metileno, relação entre o tempo de incubação e tempo de exposição ao laser, relação entre a eficiência de eliminação das UFCs e os resultados obtidos pelos autores.



Autor	Desenho do estudo	Metodologia	Tipo de laser	Potência/Energia /Comprimento de onda	Concentração do AM	Tempo de Pre Irradiação	Tempo de Irradiação	Eliminação UFC de Candida	Resultado
SENNA et al, 2018	ENSAIO CLÍNICO	Realizou oito sessões, duas vezes por semana, com intervalo de 48 horas, por 28 dias	Laser de diodo GaAlAs	P: 100mW; E: 28J; λ: 600nm	450µG /ml ou 0,5%	0MIN	,6 min	Os grupos MIC e PDI mostraram uma redução significativa de Candida spp na mucosa (91% e 43%, respectivamente) e na prótese (76% e 54%, respectivamente) (p <0,01). . O grupo PDI mostrou uma significativa redução de cerca de 62% (pontuação média do valor 2,6 → 1) em comparação com o grupo MIC, no qual o grau de eritema caiu cerca de 33% (valor médio da pontuação 2,4 → 1,6).	O estudo foi realizado com 36 pacientes, 18 destinados a cada grupo. O trabalho realizou experimentos tanto em mucosa como em prótese. Encontrou resultado com a PDT mais eficiente que o grupo controle, o Micanazol, melhorando a inflamação em até 15 dias Após 30 dias não houve resultados diferentes significativos entre os dois em relação a inflamação das mucosas.

TABELA2 – Autor selecionado, tipo de estudo, amostra, potência e tipo de laser, relação da concentração de azul de metileno, relação entre o tempo de incubação e tempo de exposição ao laser, relação entre a eficiência de eliminação das UFCs e os resultados obtidos pelos autores.



Autor	Desenho do estudo	Metodologia	Tipo de laser	Potência/Energia/Comprimento de onda	Concentração do AM	Tempo de Pre Irradiação	Tempo de Irradiação	Eliminação de UFC de Candida	Resultado
ALRABAIH et al, 2019	ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO	Realizou oito sessões, duas vezes por semana, com intervalo de 48 horas, por 28 dias	Laser de diodo GaAIs	P:100mW; E: 28J; λ: 600nm	450µG/ml ou 0,5%	10MIN	4,6 min	Uma redução estatisticament e significativa na média de UFC / mL foi anotado no dia 15 em comparação com a linha de base em ambos os grupos de NST e PDI em mucosa e dentaduras. No s dias 30 e 60, uma significativa redução de Candida sp p foi observada em ambos os grupos. Para a mucosa dos pacientes do grupo NST (1,79) e média para a PDI (0,63). Para as dentaduras, NST= 3,01;PDI = 1,58; (p <0,05).	O estudo foi realizado com 40 pacientes, 20 destinados a cada grupo. Os resultados obtidos não encontraram diferenças significativas entre a PDT e o grupo de controle, a Nistatina.

TABELA 3 – Autor selecionado, tipo de estudo, amostra, potência e tipo de laser, relação da concentração de azul de metileno, relação entre o tempo de incubação e tempo de exposição ao laser, relação entre a eficiência de eliminação das UFCs e os resultados obtidos pelos autores.



3 DISCUSSÃO

O uso disseminado, massivo e, por vezes, inadequado de medicamentos associados a propagação dos microrganismos nos ambientes são apontados como os principais fatores para a resistência frente aos tratamentos convencionais preconizados. A resistência dos microrganismos é cada vez mais crescente, estimando ser a causa da morte de 10 milhões de pessoas por ano, a partir de 2050, sendo superior ao número de mortes causadas pelo câncer, por exemplo. Por conseguinte, o atual protocolo para o combate de doenças torna-se obsoleto, urgindo a necessidade de terapias alternativas de caráter urgente ¹³.

Isto posto, Atai et al. ⁹, relatam os pontos negativos do uso do fármaco no tratamento da estomatite protética e seus efeitos adversos: o mal gosto, alergias no local da aplicação e os associados ao sistema gastrointestinal, responsável pela sua absorção. Os autores reforçam que a longa duração da doença e sua recorrência é relacionada com a resistência a essas drogas. Mima et al.¹², retificam que a eficácia terapêutica dos agentes tópicos, como Nistatina e Miconazol, sofrem confluência do sistema de limpeza da musculatura oral e da ação solvente da saliva, o principal fator complicador na cavidade oral. Já os agentes sistêmicos, o flucanazol e anfotericina B, não combatem os fungos presentes na dentadura de maneira direta, incitando a resistência dos microrganismos. Dessa maneira, é de grande relevância a busca de terapias que ofereçam possibilidades de auxílio no tratamento da estomatite protética.

Dessa maneira, a PDT realizada com lasers de baixa potência mostra-se um método eficaz, apontando estudos positivos a mais de um século. É empregada em hospitais e consultórios mundialmente, atuando em bactérias GRAM negativas, GRAM positivas, fungos, vírus e protozoários ^{2,14}. O laser mais utilizado nos estudos é o de diodo. Para Azzi, et al¹⁵, a facilidade de manuseio e o baixo custo, aliado à sua ação terapêutica sem efeitos colaterais nos tecidos justifica sua escolha.

O azul de metileno, fotosensibilizante de escolha para esta revisão, é um corante fotossensibilizante fenotiazinico, não tóxico, cationico e de eficácia comprovada em outros estudos para a estomatite protética e amplamente empregado na área médica e odontológica. Ele trabalha em um espectro de foto ativação entre 500 a 700nm¹⁶. Nos estudos presentes, o ápice de trabalho encontra-se em 660nm.

LIMA HCA, CARVALHO CHP. Terapia fotodinâmica com azul de metileno para estomatite protética: uma revisão sistemática.

Revista Saúde & Ciência online, v. , n. , (). p.



Por conseguinte, partir da análise entre os artigos selecionados pode-se observar que ainda não existe protocolo definido para a PDT em associação com o azul de metileno. O desempenho clínico ainda vem sendo estudado, contudo já apresenta resultados positivos, eliminando as colônias fúngicas e possuindo ação sob cepas mais resistentes.

Observamos que mesmo o AM sejam o corante mais antigo já estudado, ainda não foi definido a dosagem certa para o uso. Os autores são de acordo da influência da concentração de AM no resultado da final na diminuição das contagens de colônias das cepas, ou seja, no resultado final do tratamento. Esses buscaram respaldo em outras pesquisas já presentes na literatura. A concentração trabalhada pelos autores está entre 100 a 450 $\mu\text{g/ml}$. É de consenso concordar que a concentração adotada para os tratamentos varia de acordo com os microrganismos que se deseja combater, uma vez que cada organismo vivo reage de uma forma diferente.

Em relação a estomatite protética, as espécies de *C. albicans*, *C. Tropicalis* e *C. Galbarta* são respectivamente, em ordem decrescente, as mais prevalentes. Ela possui resistência aos azóis, antifúngicos de escolha para o tratamento convencional^{4,17,18}.

Todos os artigos selecionados relatam a presença de múltiplas espécies de cândidas e a relação de recolonização constate e expressivas em superfícies duras, como o acrílico da prótese. Ainda assim, observou eficiência da PDT em todos as espécies. Senna et al. 2018, relatam em seu estudo que o PDT é eficiente tanto para o tratamento da afecção na mucosa quanto para a peça acrílica da dentadura, não havendo diferenças comparativas significativas para a redução das colônias.

Maciel et al⁴., Senna et al.¹⁹ e Alrabaiah et al.¹⁸ fazem referência em seus estudos ao sucesso da PDT com AM para o tratamento de outros sintomas da afecção da mucosa, reforçando a sua ação analgésica, antiinflamatória e biomodeladora do uso do laser, como relatado em outros estudos relevantes da literatura.

A eficiência da técnica está relacionada a fatores influenciáveis: a escolha do fotossensibilizante, a concentração utilizada, o período de pré irradiação e o tempo de exposição ao laser¹².



É pertinente frisar que os trabalhos foram executados em doses repetitivas de exposição a luz, com intervalos de pelo menos 48 horas entre as sessões. Para Torres et al.,²⁰ esse protocolo melhora a eficiência do tratamento, uma vez que mais fótons são gerados. A inibição do crescimento das colônias aumenta de acordo com cada aplicação, pois o efeito torna-se cumulativo. Dessa forma, autor analisa o PDT com AM em dois momentos: com a dosimetria de luz fracionada em dois tempos (2R) e em dose única (1R). Logo, percebemos que a dosimetria da luz com intervalos gera uma porcentagem maior de fótons do que uma dose única de luz, sendo mais eficiente. Além disso, o autor frisa a influência da concentração na eliminação dos microrganismos ao utilizar duas doses diferente. A primeira dose usando a concentração de 5 μ obtêm-se cerca de 17% de inibição de crescimento em um tempo (1R). Essa mesma concentração aplicando 2R o número aumenta para cerca de 20%. Já utilizando o dobro da concentração, 10 μ , aplicando 1R, a taxa de inibição de microrganismos é de 32% e ao aplicar 2R, essa taxa quase dobra (60%). Ou seja, o fracionamento das doses e a concentração aumenta a eficiência dos fótons.

Ainda citando o estudo de Torres et al.,²⁰ foi ratificado a importância do intervalo entre as aplicações, principalmente para as menores concentrações. Em seu estudo foi atribuído menor eficiência conforme os intervalos entre as irradiações eram curtos, justificando a pausa de 48 horas entre as sessões. Isso ocorre devido ao esgotamento de oxigênio singleto e a difusão no meio deste. Além disso, acredita-se que cada sessão de laser, ao ser exposta a luz em outro momento, as células sofreram danos incrementais ao ativar o PS ainda presente.

Os autores Pupo et al.²¹, e Azizi et al.¹⁵, concordam em seus estudos que a inativação se deve ao uso da luz do laser. Ambos relatam que apenas o uso do fotossensibilizante o uso não é suficiente para eliminar as colônias de *C. Albicans*. Giroldo et al.,²². mostram que a alteração das concentrações do PS na ausência de luz não é suficiente para surtir efeito no crescimento das colônias. Além disso, Sylvatchenko et al.,²³ em seu estudo afirmou que a luz sozinha não possui efeito satisfatório. A associação com um composto foto ativado garante eficácia da inativação.

Os autores dos artigos selecionados emergiram as colônias cultivadas no corante AM por um tempo de irradiação, para que houvesse a penetrância nas



estruturas celulares. Um estudo por 5 minutos (33,33%), dois estudos por 10 minutos (66,66%).

Genakorv et al.²⁴, e outros autores relevantes para o estudo da terapia da luz, enfatizam que a foto inativação é proporcional a produção de energia gerada. O tempo de exposição ao laser é proporcional a densidade de energia, a partir do princípio físico $D = P \times t/a$, em que 'D' corresponde a dose ou fluência. 'P', corresponde a e o 't' ao tempo, a '/' simboliza a equação de divisão e 'a' a área. Entre os estudos não há consenso entre o tempo. Além disso, observou em seu estudo a influência do tempo de exposição ao laser em uma mesma concentração de corante AM. Foi relatado que, ao aumentar o tempo de exposição, a contagem de colônias de uma cepa mais resistente a azóis, medicação de primeira escolha para o tratamento, se altera. A energia produzida nos estudos está relacionada a potência do laser utilizado e ao tempo de exposição ao mesmo. Logo, é possível concluir que a maior exposição, maior a produção de energia gera a maior a ação antimicrobiana da PDT.

Senna et al.¹⁹, e Alrabaiah et al.¹⁸, obtiveram o mesmo resultado produzindo a mesma quantidade de energia (28J). Ao relacionar com as demais tabelas, nota-se que as concentrações de corante não se diferem entre os dois autores. Ademais, o tempo de pré irradiação também estão em concordância, acreditando-se ser o suficiente para a penetrância das estruturas celulares. As colônias também foram expostas à luz por um tempo igual, o resultado obtido teve influência devido ao aumento da permeabilidade da membrana, estando em congruência com o estudo de Freitas et al.,¹⁷, que mesmo com a metodologia diferente, ressalta a influência da exposição a luz no sucesso terapêutico. Ainda justificando a importância do tempo de exposição a luz na PDT, Maciel et al,⁴ corroboram os outros autores em seus estudos ao obter resultados inferiores em relação a eliminação das colônias de fungos. Apesar dos autores utilizarem um laser de diodo com uma potência razoável de P: 100mW, o tempo de exposição de apenas 20 segundos parece justificar o insucesso da inativação das *C. Albicans*.

Segundo os estudos analisados, a E= 28J é suficiente para o controle da CFUs mas não para sua eliminação completa. Logo, em concordância com outros autores e seguindo as leis fotofísicas e fotoquímicas, os tratamentos com maiores doses de energia obterão maior sucesso. Isso se deve a correlação com a área irradiada: se

LIMA HCA, CARVALHO CHP. Terapia fotodinâmica com azul de metileno para estomatite protética: uma revisão sistemática.

Revista Saúde & Ciência online, v. , n. , (). p.



houver um período de pré irradiação e exposição a luz maior, a redução das unidades formadoras de colônia também será maior. Isto se deve a produção de densidade de energia produzida. Acredita-se que a principal variante seja o tempo uma vez que grandes concentrações de FS altera a passagem da luz e a consequente fotoinativação²⁰. Contudo, carece na literatura inglesa ensaios clínicos que comprovem isso.

Dessa maneira, pode-se resumir pelos três estudos avaliados que os protocolos adotados pelos autores obtiveram o sucesso terapêutico esperado e se assemelham, o padrão mais adotado é a concentração de AM equivalente a 450µG/ml, em um período de irradiação de pelo menos 10 minutos, período de exposição de pelo menos 4,6 minutos, utilizando laser de diodo operando uma potência de 100mW em um comprimento de onda de 660 nm. Além disso, observa-se que mesmo a doença seja bastante prevalente, ainda não possui na literatura estudos o suficiente na literatura para comprovar o melhor resultado da terapia alternativa. Logo, justifica-se a realização de novos estudos acerca da Terapia Fotodinâmica com azul de metileno para estomatite protética.

CONCLUSÃO

A presente revisão permitiu a identificação dos principais estudos clínicos sobre a PDT com azul de metileno e o tratamento da estomatite protética. Os resultados confirmam que a PDT foi eficaz no controle da infecção por *Candida*. Por outro lado, foi possível observar que os estudos variam nos protocolos para a terapia e que existe uma quantidade muito pequena de estudos clínicos, confirmando mais uma vez a necessidade de mais ensaios clínicos que estabeleçam protocolos padronizados. Além disso, também é necessário elucidar conhecimentos em relação às suas desvantagens e contra-indicações, ponto não abordado pelos estudos.

REFERÊNCIAS

1 KATO IT, PRATES RA, SABINO CP, FUCHS BB, TEGOS GP, MYLONAKIS E, et al. "Antimicrobial photodynamic inactivation inhibits *Candida albicans* virulence factors and reduces in vivo pathogenicity." *Antimicrobial agents and chemotherapy*. Jan 2013; 57(1); 445-51. Disponível em: doi: 10.1128/AAC.01451-12.

LIMA HCA, CARVALHO CHP. Terapia fotodinâmica com azul de metileno para estomatite protética: uma revisão sistemática.

Revista Saúde & Ciência online, v. , n. , (). p.



2 EDUARDO, C.P; BELLO-SILVA, ML; RAMALHO; RYOUNG LEE, EM; ARANHA ACC. Terapia fotodinâmica como benefício complementar na clínica odontológica. Rev Assoc Pauli Cir Dent. Set 2015; 69(3); 226-235.

3 HARRIS F, CHATFIELD LK, PHOENIX DA. Phenothiazinium based photosensitisers-photodynamic agents with a multiplicity of cellular targets and clinical applications. Curr Drug Targets. Ago 2005; 6(5); 615-27. Disponível em doi: [10.2174/1389450054545962](https://doi.org/10.2174/1389450054545962).

4 MACIEL CM, PIVA MR, RIBEIRO MA, DE SANTANA SANTOS T, RIBEIRO CF, MARTINS-FILHO PR. Methylene Blue-Mediated Photodynamic Inactivation Followed by Low-Laser Therapy versus Miconazole Gel in the Treatment of Denture Stomatitis. J Prosthodont. Jan 2016; 25(1); 28-32. Disponível em doi: [10.1111/jopr.12284](https://doi.org/10.1111/jopr.12284).

5 CIEPLIK, F; DOGMAN, D; CRIELAARD, W; WOLFGANG, B; HELLWIG, E; AL-AHMAD, A; et al. Antimicrobial photodynamic therapy - what we know and what we don't. Crit Rev Microbiol. Mai 2018; 44(5); 571-589. Disponível em DOI: [10.1080/1040841X.2018.1467876](https://doi.org/10.1080/1040841X.2018.1467876)

6 JANUS, MARLEEN M.; WILLEMS, HUBERTINE ME; KROM, BASTIAAN P. Candida albicans in multispecies oral communities; a keystone commensal?. Fungal Biofilms and related infections, 2016; 13-20. Disponível em DOI: [10.1007/5584_2016_5](https://doi.org/10.1007/5584_2016_5).

7 PREISSNER S, KASTNER I, SCHÜTTE E, HARTWIG S, SCHMIDT-WESTHAUSEN AM, PARIS S, et al. Adjuvant antifungal therapy using tissue tolerable plasma on oral mucosa and removable dentures in oral candidiasis patients: a randomised double-blinded split-mouth pilot study. Mycoses. Mar 2016; 59(7); 467-475. Disponível em DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/1980-5373-mr-2020-0115>

JACOBSEN, ID; WILSON, D; WATCHLER, B; BRUNKE S; NAGLIK JR; HUBE, B. "Candida albicans dimorphism as a therapeutic target." Expert review of anti-infective therapy. Jan 2012; 10(1); 85-93. Disponível em DOI: [10.1586/eri.11.152](https://doi.org/10.1586/eri.11.152)

9 ATAI, Z; ATAI, M; JAVID, A; SALEHI, N. In vivo study of antifungal effects of low-molecular-weight chitosan against Candida albicans. J Oral Sci. 2017; 59(3); 425-430. Disponível em DOI: [10.2334/josnusd.16-0295](https://doi.org/10.2334/josnusd.16-0295)

10 JOHNSON, MELISSA D; JOHN R PERFECT. "Use of Antifungal Combination Therapy: Agents, Order, and Timing." Current fungal infection reports. Mai 2010; 4(2); 87-95. Disponível em DOI: [10.1007/s12281-010-0018-6](https://doi.org/10.1007/s12281-010-0018-6)

11 RIBEIRO DG, PAVARINA AC, DOVIGO LN, MIMA EG, MACHADO AL, BAGNATO VS, et al. Photodynamic inactivation of microorganisms present on complete dentures. A clinical investigation. Photodynamic disinfection of complete dentures. Lasers Med Sci. Abril 2012; 27(1); 8-161. Disponível em DOI: [10.1007/s10103-011-0912-3](https://doi.org/10.1007/s10103-011-0912-3)

12 MIMA EG, VERGANI CE, MACHADO AL, MASSUCATO EM, COLOMBO AL, BAGNATO VS, et al. Comparison of Photodynamic Therapy versus conventional antifungal therapy for the treatment of denture stomatitis: a randomized clinical trial. Clin Microbiol Infect. Out 2012; 18(10); 8-380. Disponível em DOI: [10.1111/j.1469-0691.2012.03933.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2012.03933.x). Epub 2012 Jun 25.



13 ALMEIDA, Adelaide. Photodynamic Therapy in the Inactivation of Microorganisms. *Antibiotics*. Mar 2020, 9(4), 138; Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antibiotics9040138>

14 WAINWRIGHT, M; MAISCH, T; NONELL, N; PLAETZER, K; ALMEIDA, A; TEGOS, GP, et al. Photoantimicrobials—are we afraid of the light?. *The Lancet Infectious Diseases*. Nov 2017; 17(2)49-55. Disponível em DOI: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)30268-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30268-7)

15 AZIZI, A; AMIRZADEH, Z; REZAI, M; LAWAF, S; RAHIMI, A. Effect of photodynamic therapy with two photosensitizers on *Candida albicans*. *J Photochem Photobiol B*. Mai 2016; 158; 73-267. Disponível em DOI: [10.1016/j.jphotobiol.2016.02.027](https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.02.027)

16 ROSSONI, RD; BARBOSA, JO; OLIVEIRA, FE; OLIVEIRA, LD; CARDOSO, AO; SIQUEIRA, JC. Biofilms of *Candida albicans* serotypes A and B differ in their sensitivity to photodynamic therapy. *Lasers in medical science*. Set 2014; 29(5); 1679-1684. Disponível em: DOI: [10.1007/s10103-014-1570-z](https://doi.org/10.1007/s10103-014-1570-z)

17 DE FIGUEIREDO FREITAS, LS; ROSSONI, RD; JORGE, AOC; JUNQUEIRA, JC. Repeated applications of photodynamic therapy on *Candida glabrata* biofilms formed in acrylic resin polymerized. *Lasers in medical science*. Jan 2017; 32(3); 549-555. Disponível em DOI: <https://doi.org/10.1007/s10103-017-2147-4>

18 ALRABIAH, M; ALSAHHAF, A; ALOFI, RS; AL-AALI, KA; ABDULJABBAR, T; VOHRA, F. Efficacy of photodynamic therapy versus local nystatin in the treatment of denture stomatitis: A randomized clinical study. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. Ago 2019; 28; 98-101. Disponível em DOI: doi: 10.1016/j.pdpdt.2019.08.028.

19 DE SENNA AM, VIEIRA MMF, MACHADO-DE-SENA RM, BERTOLIN AO, NÚÑEZ SC, RIBEIRO MS. "Photodynamic inactivation of *Candida* ssp. on denture stomatitis. A clinical trial involving palatal mucosa and prosthesis disinfection." *Photodiagnosis and photodynamic therapy*. Abr 2018; 22; 212-216. Disponível em DOI: 10.1016/j.pdpdt.2018.04.008

20 TORRES-HURTADO AS; RAMÍREZ-RAMÍREZ J; LARIOS-MORALES AC; RAMÍREZ-SAN-JUAN JC; RAMOS-GARCÍA R; ESPINOSA-TEXIS AP; et al. Efficient in vitro photodynamic inactivation using repetitive light energy density on *Candida albicans* and *Trichophyton mentagrophytes*. *Photodiagnosis and photodynamic therapy*. Jun 2019; 26; 203-209. Disponível em DOI: 10.1016/j.pdpdt.2019.03.015.

21 PUPO YM, GOMES GM, SANTOS EB, CHAVES L, MICHEL MD, KOZLOWSKI VA JR, et al. Susceptibility of *Candida albicans* to photodynamic therapy using methylene blue and toluidine blue as photosensitizing dyes. *Acta Odontol Latinoam*, 2011; 24(2); 188-192.

22 GIROLDO LM, FELIPE MP, DE OLIVEIRA MA, MUNIN E, ALVES LP, COSTA MS. Photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT) with methylene blue increases membrane permeability in *Candida albicans*. *Lasers Med Sci*. Jan 2009; 24(1); 109-12. Disponível em DOI:10.1007/s10103-007-0530-2



23 SVYATCHENKO, NIKONOV, SD; [MAYOROV](#), AP GELFOND, ML; LOKTEV, VB. "Antiviral photodynamic therapy: Inactivation and inhibition of SARS-CoV-2 in vitro using methylene blue and Radachlorin." Photodiagnosis and photodynamic therapy. Mar 2021; 33. Disponível em DOI: [10.1016/j.pdpdt.2020.102112](https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2020.102112).

24 CERNÁKOVÁ L; DIŽOVÁ S; BUJDÁKOVÁ H. Employment of methylene blue irradiated with laser light source in photodynamic inactivation of biofilm formed by *Candida albicans* strain resistant to fluconazole. Med Mycol. Out 2017; 55(7); 748-753. Disponível em DOI: [10.1093/mmy/myw137](https://doi.org/10.1093/mmy/myw137)

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente revisão permitiu a identificação dos principais estudos clínicos sobre a PDT com azul de metileno e o tratamento da estomatite protética. Os resultados confirmam que a PDT foi eficaz no controle da infecção por *Candida*. Por outro lado, foi possível observar que os estudos variam nos protocolos para a terapia e que existe uma quantidade muito pequena de estudos clínicos, confirmando mais uma vez a necessidade de mais ensaios clínicos que estabeleçam protocolos padronizados. Além disso, também é necessário elucidar conhecimentos em relação às suas desvantagens e contra-indicações, ponto não abordado pelos estudos.

ANEXO A – Normas de submissão a revista.

Diretrizes para Autores

APRESENTAÇÃO GERAL:

Os textos devem ser apresentados como arquivo elaborado no programa *Word for Windows*, escritos em língua portuguesa, em fonte Arial, tamanho 11, espaçamento de 1,5 entre linhas, inclusive entre os parágrafos, recuo de 1,0 cm em primeira linha de parágrafo, margens de 2,0 cm (superior, inferior, esquerda e direita). Os textos devem ter no máximo 20 laudas, incluindo os anexos. Os trabalhos devem conter as seguintes partes:

Título

Deve vir em negrito, centralizado, fonte 12 e em caixa alta. Os trabalhos devem conter a versão em inglês do título (*title*), logo abaixo do resumo.

Autores e Vínculo Institucional

A Revista receberá artigos apenas de autoria de pesquisadores doutores. Profissionais com outras titulações, pós-graduandos e graduandos, poderão figurar como coautores, em um máximo de 8 nomes por artigo.

Todos os autores devem estar, obrigatoriamente, cadastrados no sistema da revista.

IMPORTANTE!

Para que seja garantido o sistema de *Blind Review*, os nomes dos autores não devem ser incluídos no corpo do texto. Qualquer informação que seja capaz de identificar a autoria inviabilizará a avaliação do artigo e deve ser retirada, inclusive nas propriedades do arquivo eletrônico.

O nome completo de todos os autores devem ser, obrigatoriamente, incluídos no ato de preenchimento dos metadados da submissão e com indicação de titulação e instituição a que pertencem. Também, junto com essas informações, deve constar o endereço completo (inclusive eletrônico) do autor responsável pela correspondência.

Resumo e Descritores

O resumo, posicionado logo abaixo do nome do (s) autor (es), com espaçamento simples, deve conter, em no máximo 250 palavras, as informações mais relevantes sobre objetivos, métodos, resultados e conclusões do trabalho. Logo após o resumo podem ser listados até 4 descritores, conforme os Descritores em Ciências da Saúde (<http://decs.bvs.br/>).

Abstract e Keywords

Correspondem à versão para a língua inglesa do resumo e dos descritores, respectivamente, posicionados logo abaixo desses.

Os descritores e as *keywords* devem, obrigatoriamente, ser extraídos entre os disponíveis em <http://decs.bvs.br>.

Além disso, os artigos originais de natureza clínica ou experimental devem conter também: Introdução, material e métodos, resultados e discussão, conclusões, agradecimentos (opcional) e referências bibliográficas. Na metodologia de trabalhos experimentais com animais e de trabalhos envolvendo seres humanos, deve ser citado o número do processo de aprovação do projeto de pesquisa na comissão de ética no uso de animais (CEUA) ou no comitê de ética em pesquisa (CEP) da respectiva instituição, sendo que um documento comprobatório pode ser solicitado pelo Comitê Editorial como requisito para a publicação.

As ilustrações (desenhos, gráficos, fotografias, plantas, mapas, entre outras) são consideradas figuras e devem ser limitadas a um máximo de quatro por artigo. As figuras serão apresentadas no corpo do texto, com legendas acima, numeradas em sequência mediante algarismos arábicos precedidos do nome "Figura". Logo abaixo da figura deve constar a fonte desta, todos em fonte Arial, tamanho 10, espaçamento simples entre linhas.

Os quadros e tabelas deverão ser apresentados no corpo do texto, com legendas acima, numeradas em sequência mediante algarismos arábicos precedidos do nome "Quadro" ou "Tabela", conforme o caso. Logo abaixo do quadro/tabela deve constar a fonte deste/a, todos em fonte Arial, tamanho 10, espaçamento simples entre linhas.

OBSERVAÇÃO: Todas as Figuras, Quadros e Tabelas devem estar dispostos no texto, de modo que não ultrapassem os limites de uma única página (incluindo a legenda e a fonte), bem como não devem estar com a metade numa página e a outra metade na seguinte.

Template:

[Clique aqui](#) para obter o *layout* do arquivo de texto a ser utilizado como modelo para a submissão.

Os artigos que não obedecerem rigorosamente as normas de formatação não serão encaminhados para avaliação.

NORMAS BIBLIOGRÁFICAS:

Citações no Texto:

A revista adota a citação numérica. NÃO É PERMITIDA A CITAÇÃO DO NOME DO AUTOR NO TEXTO. As referências devem ser numeradas por ordem de aparecimento no texto e citadas entre parênteses. Números sequenciais devem ser separados por hífen (1-4); números aleatórios devem ser separados por vírgula (1,3,4,8).

Referências Bibliográficas:

Devem ser numeradas e normalizadas de acordo com o estilo *Vancouver*, conforme orientações fornecidas pelo *International Committee of Medical Journal Editors no Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals*. A lista de referências deve ser escrita em espaço simples, em sequência numérica. A referência deverá ser completa, incluindo o nome de todos os autores (até seis), seguido de "et al.". Os sobrenomes dos autores devem ser seguidos pelos seus prenomes abreviados sem ponto ou vírgula. Usar a vírgula somente entre os nomes dos diferentes autores. As abreviaturas dos títulos dos periódicos internacionais citados deverão estar de acordo com o *Index Medicus / MEDLINE* e para os títulos nacionais, com LILACS e BBO. Referências a comunicação pessoal e artigos submetidos à publicação não devem constar da listagem de Referências.

ALGUNS EXEMPLOS:

Artigo de Periódico:

Ahrar K, Madoff DC, Gupta S, Wallace MJ, Price RE, Wright KC. Development of a large animal model for lung tumors. *J Vasc Interv Radiol*. 2002; 13(9 Pt 1):923-8.

Banit DM, Kaufer H, Hartford JM. Intraoperative frozen section analysis in revision total joint arthroplasty. *Clin. Orthop*. 2002;(401):230-8.

Artigo em periódicos em meio eletrônico:

Kaeriyama E, Imai S, Usui Y, Hanada N, Takagi Y. Effect of bovine lactoferrin on enamel demineralization and acid fermentation by *Streptococcus mutans*. *Ped Dent J* [serial on the Internet]. 2007 Dec [cited 2008 Jan 15 12]; 17:2:118-26; Available from: http://www.jstg.ejstg.jp/browse/pdj/17/2/_contents.

Livro:

Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. *Medical microbiology*. 4ª ed. St. Louis: Mosby; 2002.

Capítulo de Livro:

Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations in human solid tumors. In: Vogelstein B, Kinzler KW, editores. *The genetic basis of human cancer*. New York: McGraw-Hill; 2002. p. 93-113.

Dissertações e Teses:

Rubira CMF. Estudo longitudinal sobre similaridade, transmissão e estabilidade de colonização de *Streptococcus mutans* em famílias brasileiras. [Tese]. Bauru: Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo; 2007.

Os Editores

CONDIÇÕES PARA SUBMISSÃO

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

1. A contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista; caso contrário, deve-se justificar em "Comentários ao editor".
2. O arquivo da submissão está em formato Microsoft Word.
3. URLs para as referências foram informadas quando possível.
4. O texto está com espaçamento 1,5 (exceto o resumo e *abstract*, que devem ser com espaçamento simples); usa uma fonte Arial tamanho 11 (exceto no título, que deve ser no tamanho 12); emprega itálico em vez de sublinhado (exceto em endereços URL); as figuras e tabelas estão inseridas no texto, não no final do documento na forma de anexos.

5. O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos descritos em [Diretrizes para Autores](#), na página Sobre a Revista.
6. Em caso de submissão a uma seção com avaliação pelos pares (ex.: artigos), as instruções disponíveis em Assegurando a avaliação pelos pares cega foram seguidas.