



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCS**

CAMILA SANTA ROSA NUNES

**ESTUDO COMPARATIVO DE DUAS TÉCNICAS DE TERAPIA FOTODINÂMICA NA
DESCONTAMINAÇÃO ALVEOLAR PÓS-EXODONTIA:
Ensaio Clínico Randomizado**

Macapá
2018

CAMILA SANTA ROSA NUNES

**ESTUDO COMPARATIVO DE DUAS TÉCNICAS DE TERAPIA FOTODINÂMICA NA
DESCONTAMINAÇÃO ALVEOLAR PÓS-EXODONTIA:
Ensaio Clínico Randomizado**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde, na área de concentração Ensaaios Biológicos, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Ana Rita Pinheiro Barcessat

Macapá
2018

CAMILA SANTA ROSA NUNES

**ESTUDO COMPARATIVO DE DUAS TÉCNICAS DE TERAPIA FOTODINÂMICA NA
DESCONTAMINAÇÃO ALVEOLAR PÓS-EXODONTIA:
Ensaio Clínico Randomizado**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde, na área de concentração Ensaio Biológicos, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Ana Rita Pinheiro Barcessat

DATA DE APROVAÇÃO: ____/____/____

Examinadora: Prof. Dr. José Divino Bezerra Ferreira
Universidade Federal do Amapá

Examinadora: Prof.^a Dr.^a Raquel Rodrigues do Amaral
Universidade Federal do Amapá

Examinadora: Prof. Dr.^a Lilian Grace da Silva Solon
Universidade Federal do Amapá

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Ana Rita Pinheiro Barcessat
Universidade Federal do Amapá

Macapá
2018

*Aos meus pais, Irene e Carlos,
pelo incentivo e apoio.*

*Ao meu companheiro, Jhonatan,
pelo carinho e compreensão*

*E em especial, ao meu filho Vicente,
razão da minha força e empenho*

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Prof. Dr^a Ana Rita Barcessat, por seus ensinamentos, apoio científico e incentivo ao meu crescimento profissional durante a realização deste trabalho, bem como apoio emocional. Você é, sem dúvida, um grande exemplo profissional pra mim.

Ao Prof. Aldo Proietti por ter aberto as portas do seu laboratório e sempre se mostrar muito solícito em me ajudar, me ensinando conceitos que colaboraram para o desenvolvimento e término deste trabalho.

Às colegas Franci e Luciana por me ajudarem nas fases laboratoriais e compartilhar seus conhecimentos de forma simples e objetiva, sempre se mostrando dispostas a me ensinar.

A Ananda que foi uma amiga que dividiu todos os momentos, alegres e tristes, desse mestrado. Muito obrigada por seu apoio emocional.

Ao Adolfo, diretor da minha unidade de trabalho, que sempre se mostrou compreensível as minhas ausências.

Aos meus pacientes por sua confiança na realização deste trabalho.

RESUMO

A terapia fotodinâmica (TFD) é uma técnica que consiste na produção de espécies reativas de oxigênio capazes de inviabilizar células e microorganismos, a partir da combinação de um fotossensibilizador, luz e oxigênio tecidual, possuindo, desta forma, aplicação nas diversas áreas da saúde. O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos de duas técnicas de terapia fotodinâmica na redução da carga bacteriana de alvéolos após exodontias. A primeira técnica associou o fotossensibilizador (FS) de curcumina à fonte de luz LED da cor azul (CUR+LED) e a segunda associou o FS azul de metileno ao Laser vermelho de baixa potência (AM+LASER). O estudo foi realizado em 20 pacientes que possuíam indicação de exodontia, sendo os mesmos divididos em dois grupos (n=10). Para o grupo CUR+LED foi realizada a exodontia, seguida da realização da terapia com gotejamento do FS de curcumina e fotoativação com LED (470nm). Para o grupo AM+LASER após realização da exodontia foi realizada a terapia com gotejamento de azul de metileno seguido da irradiação do Laser vermelho (660nm). Para avaliar o efeito descontaminante de cada técnica foi realizada a análise microbiológica antes e após a realização da terapia. As coletas foram feitas com auxílio de cone de papel que foi inserido no interior do alvéolo. As amostras coletadas foram diluídas em solução salina tamponada, para então serem semeadas em ágar sangue, ficando 24h em estufa bacteriológica a 37°C, para realização da contagem das Unidades Formadoras de Colônias (UFC) com auxílio de lupa em contador sob luz emergente. A redução entre ambos os grupos foi significativa, sendo de 69,00% para o grupo CUR+LED e de 66,99% para o grupo AM+LASER (p<0,05). Tais resultados indicam que as duas técnicas de TFD testadas se mostraram como métodos efetivos para redução microbiana em alvéolos pós – exodontias.

Palavras-chave: Terapia fotodinâmica. Azul de metileno. Curcumina. Exodontia.

ABSTRACT

Photodynamic therapy (PDT) is a technique that consists in the production of reactive oxygen species capable of rendering cells and microorganisms unfeasible, from the combination of a photosensitizer, light and tissue oxygen, thus having application in the various health areas. The objective of the present work was to evaluate the effects of two photodynamic therapy techniques on reducing the bacterial load of alveoli after extraction. The first technique associated the photosensitizer (FS) curcumin to the blue LED light source (CUR + LED) and the second associated the blue methylene FS to the low power Red Laser (AM + LASER). The study was performed in 20 patients who had indication of exodontia, being divided into two groups (n = 10). For the CUR + LED group, the exodontia was performed, followed by drip therapy of curcumin FS and photoactivation with LED (470nm). For the AM + LASER group after the exodontia was carried out the therapy with methylene blue drip followed by irradiation of the Red Laser (660nm). To evaluate the decontaminating effect of each technique, a microbiological analysis was performed before and after the therapy. The collections were made with the aid of paper cone that was inserted inside the alveolus. In the laboratory, the collected samples were diluted in buffered saline solution to be seeded in blood agar and kept in a bacteriological incubator at 37°C for 24 hours, then counting the Colony Forming Units (CFU) with the help of a magnifying glass in a counter under light. The reduction between both groups was significant, being 69.00% for the CUR + LED group and 66.99% for the AM + LASER group ($p < 0.05$). These results indicate that the two PDT techniques tested were shown to be effective methods for microbial reduction.

Keywords: Photodynamic therapy. Methylene blue. Curcumin. Exodontia.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - Tríade da Terapia Fotodinâmica.....	16
FIGURA 2 - Mecanismo de ação da Terapia Fotodinâmica.....	17
FIGURA 3 – Representação esquemática da penetração de frequências de onda luminosa em tecidos.....	19
FIGURA 4 - Estrutura química do Azul de Metileno.....	21
FIGURA 5 - Estrutura química da molécula de curcumina.	22
FIGURA 6 - Gráfico do espectro de absorção da curcumina.....	23
FIGURA 7 - Fluxograma da seleção dos participantes da pesquisa.....	30
FIGURA 8 - Etapas da aplicação TFD AM+LASER	32
FIGURA 9 - Etapas da aplicação da TFD CUR+LED.....,	34
FIGURA 10 - Unidades formadoras de colônias cultivadas em Ágar-sangue do grupo CUR+LED antes a após aplicação da TFD.....	37
FIGURA 11 - Gráfico com Número de UFC por ml, antes e após a realização da técnica associou curcumina com LED.	38
FIGURA 12- Unidades formadoras de colônias cultivadas em Ágar-sangue .	40
FIGURA 13 - Gráfico com número de UFC por ml, antes e após a realização da técnica associou azul de metileno ao Laser.	41

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1	Fotossensibilizadores e suas respectivas faixas de absorção de luz.....	20
QUADRO 2	Critérios de inclusão e exclusão dos participantes da pesquisa	30
QUADRO 3	Distribuição dos pacientes conforme os grupos.....	31

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Parâmetros da fonte de Luz laser.....	33
TABELA 2 - Parâmetros da fonte de luz LED	35
TABELA 3 - Tabela descritiva dos dados coletados antes e após a aplicação da técnica de TFD para o grupo CUR-LED.....	38
TABELA 4 - Tabela descritiva dos dados coletados antes e após a aplicação da técnica de TFD para o grupo AM-LASER.....	41
TABELA 5 - Dados descritivos das médias de redução dos dois grupos...	43

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AM - Azul de metileno

CUR - Curcumina

EROS - Espécies reativas de oxigênio

FS - Fotossensibilizador

LED - Luz Emissora de Diodo

PDT - Photodynamic Therapy

TFD - Terapia Fotodinâmica

UFC - Unidade Formadora de Colônia

LISTA DE SÍMBOLOS

S_n	Estado singleto excitado
S_f	Estado fundamental
T₁	Estado excitado tripleto
O₂⁻	Ânion superóxido
OH⁻	Radical hidroxila
H₂O₂	Peróxido de hidrogênio
nm	Nanômetro
ALA	Ácido aminolevulínico
g/L	grama por litro
µg/L	micrograma por litro
J/cm²	Joule por centímetro quadrado
ml	mililitro
µM	micromolar
UI	Unidades Internacionais
mg/L	miligrama por litro
λ	Comprimento de onda
mW	miliwatt
J/Ponto	Joule por ponto
cm²	centímetros quadrados
seg	segundos
mW/cm²	miliwatt por centímetro quadrado
PBS	Tampão fosfato-salino
°C	Graus Celsius

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	REVISÃO DE LITERATURA	15
1.1.1	Histórico da Terapia Fotodinâmica	15
1.1.2	Mecanismo de Ação da TFD	16
1.1.3	Fontes de Luz	18
1.1.4	Fotossensibilizadores	19
1.1.5	Aplicabilidades da TFD	23
2	OBJETIVOS	28
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
3	MATERIAL E MÉTODOS	29
3.1	PARTICIPANTES DA PESQUISA	29
3.2	REALIZAÇÃO DAS EXODONTIAS	31
3.3	APLICAÇÃO DA TERAPIA FOTODINÂMICA	32
3.4	ANÁLISE MICROBIOLÓGICA	35
3.4.1	Semeadura e Contagem de Bactérias	36
3.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA	36
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
4.1	POTENCIAL ANTIMICROBIANO DA TFD MEDIADA POR CURCUMINA E LED AZUL	37
4.2	POTENCIAL ANTIMICROBIANO DA TFD MEDIADA POR AZUL DE METILENO E LASER VERMELHO	40
4.3	COMPARAÇÃO DO POTENCIAL DE DESCONTAMINAÇÃO DAS DUAS TÉCNICAS	42
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	45
	REFERÊNCIAS	46
	APÊNDICE A: FICHA DE ANAMNESE	52
	APÊNDICE B: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	53
	ANEXO A: TERMO CONSUBSTANCIADO	55

1 INTRODUÇÃO

O processo de cicatrização decorre de uma resposta organizada e complexa do organismo que visa reestabelecer a saúde do tecido recuperando sua integridade. A utilização de tecnologias que visem acelerar o processo de reparo, bem como diminuir a ocorrência de complicações provenientes das suas diversas fases, muitas vezes associado à infecção por patógenos, são sempre muito bem aceitas pela comunidade científica (SILVA et al., 2004).

Dentre estas tecnologias, podemos citar a técnica que associa uma fonte de luz a um agente fotossensibilizador (FS), denominada de Terapia Fotodinâmica (TFD), que tem apresentado bons resultados de redução microbiana (PRAZMO et al., 2016). Tal técnica consiste na ativação luminosa de uma substância fotossensível, conhecida como fotossensibilizador, na presença de oxigênio, que resulta na produção de radicais reativos como hidroxila e superóxidos, substâncias estas que são capazes de agir em múltiplos alvos da célula bacteriana ou de uma células neoplásica, induzindo dessa forma sua morte por apoptose predominantemente, podendo induzir também necrose e autofagia, tornando-se uma importante ferramenta para o combate de espécies bacterianas (CHILAKAMARTHI; GIRIBABU, 2017).

A terapia fotodinâmica já é bastante utilizada em diversas áreas da odontologia, como a endodontia e periodontia, porém estudos *in vivo* que investiguem a ação da TFD após as extrações dentárias são pouco explorados (PASCHOAL et al., 2013; VASCONCELOS, 2014) .

Cabe ressaltar que as exodontias são procedimentos rotineiramente realizados em consultórios odontológicos, podendo ser decorrentes tanto de estágios avançados da doença cárie, que impossibilitam a recuperação do dente, ou ainda da doença periodontal, além dos traumas dentários e indicações ortodônticas (ESTEVES et al., 2013; JOVINO-SILVEIRA et al., 2005).

Devido ao fato da extração ser um tratamento comumente realizado nas clínicas odontológicas, as complicações advindas de tal ato são de suma importância para os cirurgiões dentistas, pois evitá-las favorece uma boa recuperação e melhor pós-operatório ao paciente. Dentre tais complicações, temos a alveolite seca ou osteíte alveolar que acontece com uma prevalência de 3-25% após extrações (NEUGEBAUER; JOZSA; KUBLER, 2004). Sua ocorrência pode ser

proveniente dos altos índices de atividade fibrinolítica presentes em infecções que causam a lise do coágulo pós-cirúrgico, gerando uma inflamação aguda do osso alveolar e que, geralmente, é acompanhada por dor pós-operatória persistente (PETERSON et al., 2008).

Alguns estudos afirmam que os microrganismos mais frequentemente associados à alveolite seca são *Actinomyces viscosus* e *Streptococcus mutans*, tendo sido demonstrado, em modelo animal, que estes microrganismos atrasam o processo de cicatrização (AKINBAMI; GODSPower, 2014; CHEUNG et al., 2001; KAYA et al., 2011; TORRES-LAGARES et al., 2005). Portanto, o uso da TFD após as exodontias pode diminuir a ocorrência dessa complicação contribuindo para o processo de reparo e cicatrização.

Outra possível vantagem da utilização da TFD após as exodontias seria em casos nos quais a instalação de implante dentário imediato é indicada, visto que alvéolos contaminados, decorrentes de doença periodontal ou de lesão periapical, limitam a indicação deste procedimento. A TFD, nestes casos, poderia ser útil na redução de contaminação do sítio da cirurgia, minimizando a necessidade de usar antimicrobianos sistêmicos, contribuindo na descontaminação local desses alvéolos, permitindo assim uma melhor osseointegração (VASCONCELOS, 2014).

Atualmente diversas técnicas de TFD antimicrobiana são empregadas, notando-se uma grande variação no uso fotossensibilizadores e de fontes de ativação. É neste contexto que se pode observar que a associação do fotossensibilizador azul de metileno à luz Laser é bastante empregada, diferentemente da técnica que associa o fotossensibilizador de curcumina à luz emissora de diodo (LED), que tem uma aplicação mais recente. Apesar disso, o número de estudos com aplicação clínica que utilizam alguma das duas técnicas após as exodontias são bem escassos, o que também justifica a realização desse trabalho, além do fato deste também poder contribuir para formulação de um novo protocolo de descontaminação a ser utilizado após estas cirurgias.

Este estudo justifica sua relevância por se tratar de um ensaio clínico randomizado, com a finalidade de estudar uma terapia pouco avaliada, a partir de um procedimento odontológico frequente, podendo impactar significativamente na prática clínica odontológica.

1.1 REVISÃO DE LITERATURA

1.1.1 Histórico da Terapia Fotodinâmica

A primeira publicação considerada oficial sobre Terapia fotodinâmica ocorreu por volta de 1900, quando Oscar Rab observou que os protozoários *Paramecium caudatum*, na presença de luz e do corante acridina, sofriam uma rápida morte. Subsequentemente, seu professor Von Tappeiner ampliou as descobertas com outros experimentos e descobriu a necessidade da presença do oxigênio para tal reação. Ele então utilizou um termo para definir essas reações fotobiológicas relacionadas a um fotoabsorvedor, que na presença de oxigênio molecular, levavam à destruição celular, o efeito fotodinâmico que posteriormente evoluiria para Terapia Fotodinâmica - TFD (ISSA; MANELA-AZULAY, 2010; ALVES, 2011).

Jodlbauer e Von Tappeiner estudaram a aplicabilidade da TFD no tratamento de tumor cutâneo e na destruição de partículas infecciosas. Utilizaram para tal a eosina tópica a 5% associada à luz artificial para tratamento de câncer cutâneo não melanoma e de outras dermatoses, como lúpus vulgar e condiloma plano. Apesar da grande descoberta, tais trabalhos não tiveram na época grande repercussão, uma vez que a TFD para o tratamento de câncer somente veio ser reconhecida 70 anos depois, com o trabalho de Dougherty e colaboradores reportando a erradicação completa de tumor mamário em ratos a partir da combinação do derivado da hematoporfirina com luz vermelha (ALVES, 2011; ISSA; MANELA-AZULAY, 2010; MALIK, MANOCHA; SURESH, 2010; TAUB, 2004; TRIESSCHEIJN et al., 2006).

A TFD, portanto, se apresenta em duas modalidades, uma oncológica e uma antimicrobiana que somente veio a ter sua importância reconhecida e seu uso difundido, a partir das últimas décadas do século XX, apresentando-se como um método alternativo de desinfecção (SEGUNDO, 2007).

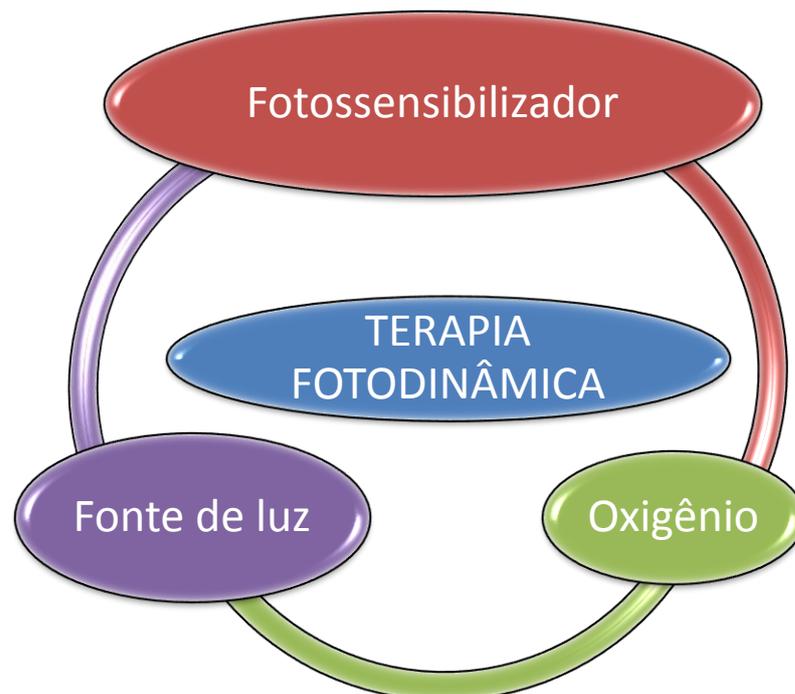
A linha da TFD antimicrobiana apenas no início do século XXI vem sendo utilizada como alternativa para patógenos orais. Esse uso mais recente se justifica pelo fato de não ocasionar a resistência bacteriana, a qual tem sido responsável pelo aumento na incidência de superinfecções, muitas vezes ocasionadas por prescrições inadequadas ou até mesmo o uso indiscriminado de antibióticos (TAVARES et al., 2017; THEODORO et al., 2015).

Estudos nessa área têm crescido bastante, sempre buscando testar diferentes fotossensibilizadores com variadas concentrações, além de diferentes fontes de luz com variados parâmetros, contribuindo desta forma para que a TFD seja cada vez mais reconhecida como uma alternativa terapêutica.

1.1.2 Mecanismo de Ação da TFD

A base da terapia fotodinâmica consiste da interação de três fatores: presença de uma fonte de luz no comprimento de onda adequado e compatível com um fotossensibilizador não tóxico e presença de oxigênio (PRAZMO et al., 2016; MIRANDA, 2011) (Figura 1).

Figura 1 - Tríade da Terapia Fotodinâmica.



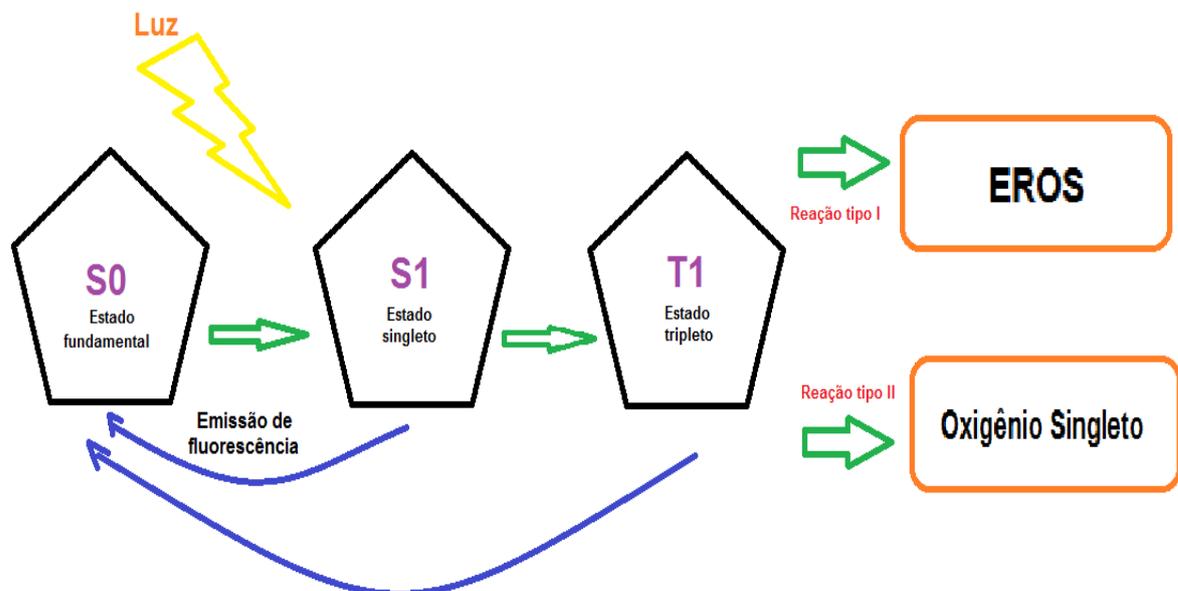
Fonte: Autoria própria.

Ao ser irradiado pela fonte de luz num comprimento de onda adequado, os FSs absorvem os fótons, então seus elétrons passam a um nível de maior energia, o chamado estado singleto excitado (S_n), que é muito instável, apresentando um tempo de vida curto, e, devido a este fato, pode retornar ao seu estado fundamental (S_0) emitindo fluorescência, ou, por inversão de spin, alcançar um estado de menor energia, chamado estado excitado tripleto (T_1). A partir deste estado, a partícula

fotosensibilizadora poderá passar por dois tipos de reação química, que levarão à produção de radicais reativos e tóxicos. Na reação tipo I, as moléculas do FS ativadas pela luz ficam num modo excitado, reagindo assim com os componentes do sistema, como por exemplo, membrana celular ou molécula orgânica, por meio da transferência de elétrons ou de hidrogênio, que ocasionará a formação de radicais catiônico ou aniônicos, que reagirão instantaneamente com o oxigênio, gerando as espécies reativas de oxigênio (EROS) que são citotóxicos, tais como ânion superóxido (O_2^-), radical de hidroxila (OH^-) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Na reação tipo II, o FS já reagirá diretamente com a molécula de oxigênio no estado fundamental tripleto, transformando-o em oxigênio singlete uma espécie reativa e altamente oxidante (ALASMARI; MEREDDY; SULTANBAWA, 2017; ALVES 2011; ROSIN, 2017; CORRÊA, 2013; MIRANDA, 2011) (Figura 2).

As reações do Tipo I e II podem ocorrer simultaneamente e em razão das reações de transferência de energia serem mais rápidas do que as reações de transferência de elétrons, o mecanismo tipo II é geralmente favorecido nas reações de fotoxidação. A extensão de cada uma depende do tipo de FS usado, das concentrações de substrato e de oxigênio local (ALVES, 2011; CASTANO; DEMIDOVA; HAMBLIN, 2004).

Figura 2 - Mecanismo de ação da Terapia Fotodinâmica.



Fonte: Adaptado de Corrêa, 2013.

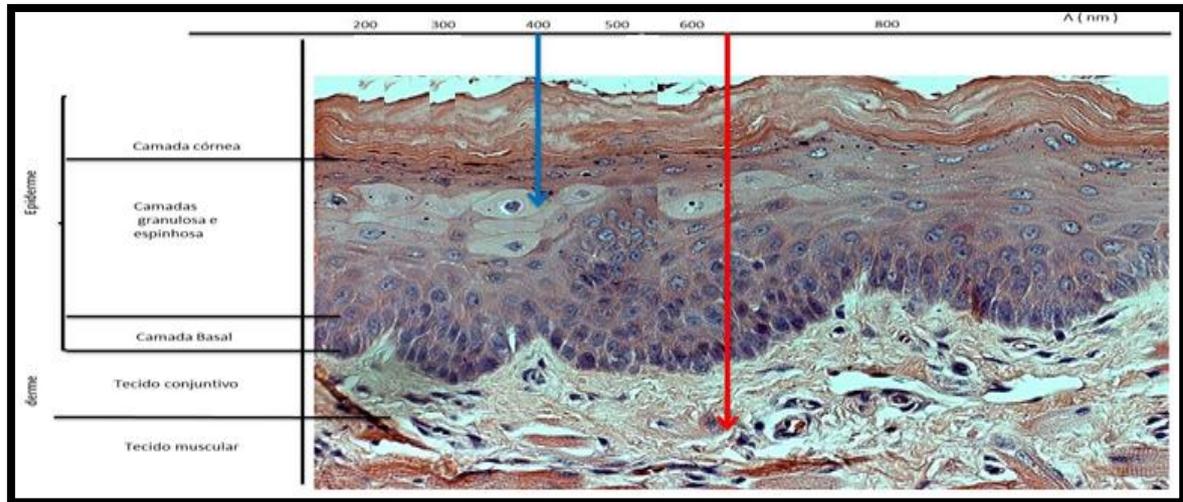
1.1.3 Fontes de Luz

A fonte de luz da terapia fotodinâmica é de grande relevância para a ocorrência da técnica, visto que, para que a mesma ocorra, necessita-se que a luz emitida tenha um comprimento de onda específico para cada fotossensibilizador. A luz utilizada também necessita possuir uma boa penetração ao tecido, o que possibilitará a transferência de energia para as células sem aumento de temperatura, evitando o comprometimento da saúde do tecido e evitando a formação de lesões (TAVARES et al., 2017).

Um grupo muito importante utilizado para a TFD são os lasers com diferentes meios ativos como o de argônio, de corantes, de vapores de metais, hélio-neônio. Mais recentemente, as fontes de Luz emissoras de Diodo (LEDs) também despontaram como uma alternativa de fonte de ativação viável (AMORIM, 2007; PRAZMO et al., 2016). O laser se tornou uma opção de fonte de luz, em função de produzir uma luz monocromática, coerente e colimada, o que o torna altamente seletivo aos corantes, permitindo que a dose de radiação seja facilmente calculada, bem como a área da radiação pode ser bem controlada (ALVES, 2011).

Os LEDs são compostos por dois materiais semicondutores nos quais, em sua junção, por diferença de cargas, ocorre a emissão de luz, com pouco aumento de temperatura, destacam-se por não apresentarem a necessidade de sistemas de filtro, a possibilidade de fabricação de dispositivos menores, consumo baixo de energia, vida útil longa, além de serem de fácil manuseio, portáteis e de baixo custo (ALVES, 2011; MIRANDA, 2011; PRAZMO et al., 2016). Apresenta como desvantagem a faixa de emissão de onda restrita, devendo sempre se atentar para este intervalo optando por um FS que seja ativado na frequência da fonte de luz escolhida, melhorando a eficácia desta terapia (TAVARES et al., 2017) (Figura 3).

Figura 3 - Representação esquemática da penetração de comprimentos de onda na Faixa de 400nm (luz azul) e 650nm (luz vermelha) em tecido biológico.



Fonte: Adaptado de Rosin et al. 2017.

1.1.4 Fotossensibilizadores

A eficácia da TFD está relacionada a alguns fatores, dentre eles está o tipo de FS utilizado, tal influência se deve às diferentes propriedades físico-químicas desses reagentes. A eficácia fototerapêutica se deve ao alto coeficiente de absorção da substância fotossensível, que também é conhecida como corante, o tempo de pré-irradiação, a concentração do corante no alvo e o fluxo de energia da luz incidente (AMORIM, 2007).

O FS precisa ser inócuo às células do hospedeiro, bem como permanecer ativado o tempo necessário para interagir com as moléculas vizinhas. Ele também precisa apresentar uma ótima relação entre o poder de absorção de luz e a conversão da mesma, além de ser capaz de produzir espécies reativas de oxigênio. Outra importante característica está no grau de solubilidade que necessita ser elevado para facilitar rapidamente sua eliminação (MIRANDA, 2011; SANTEZI et al., 2016; SANTIN et al., 2014).

O FS pode ser administrado por via endovenosa, especialmente nas aplicações oncológicas da TFD, ou ainda ter administração tópica cujo uso tem sido crescente, por tratar-se de uma terapia não invasiva, sem complicações sistêmicas.

Considerando os tipos de aplicações, os FSs também devem ter como característica a estabilidade durante a ativação pela fonte de luz, bem como penetrar

na pele e mucosa de maneira eficiente, sem causar o manchamento das superfícies (AMORIM, 2007).

Atualmente há um grande número de fotossensibilizadores utilizados, que podem ser divididos em grandes grupos, diferenciando-se por sua estrutura química. Como exemplo: os fotossensibilizadores de fenotiazina (azul de metileno e azul de toluidina); os fotossensibilizadores de ftalocianina (alumínio ftalocianina dissulfonada, zinco catiônico ftalocianina, naftalocianina); as porfirinas (Photofrin®) e seus precursores (ALA - ácido 5-aminolevulínico), clorinas (Foscan®); xantenos (eritrosina), monoterpênos (azuleno). Mais recentemente a curcumina, que pertence à classe dos polifenóis (CORRÊA, 2013; PRAZMO et al., 2016; WAINWRIGHT; CROSSLEY, 2002). A faixa de absorção de luz, por comprimento de onda, dos principais grupos de FSs encontram-se no Quadro 1.

Quadro 1- Fotossensibilizadores e suas respectivas faixas de absorção de luz.

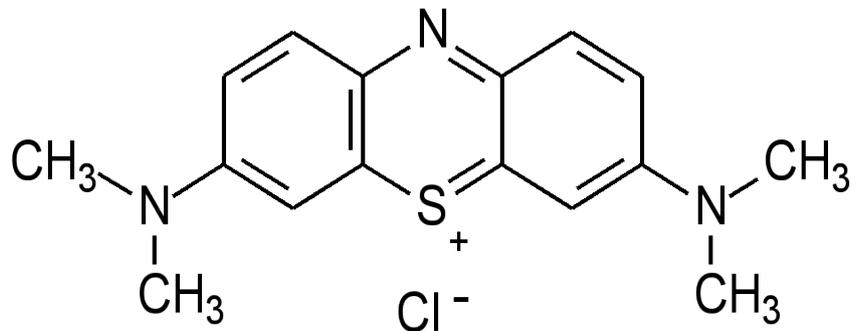
Fotossensibilizador	Banda de Absorção
Derivados da Hematoporfirina	620 – 650 nm
Ftalocianinas	660 – 700 nm
Fenotiazinas(Azul de metileno)	620 – 700 nm
Azuleno	550 – 700 nm
Verde Malaquita	400 – 700 nm
Clorina	660 – 690 nm
Curcumina	300 – 500 nm

Fonte: Adaptado de Alves, 2011.

O corante azul de metileno (Figura 4) é um dos fotossensibilizadores mais utilizados para TFD na modalidade antimicrobiana. Ele possui uma elevada faixa de absorção de luz, é bastante hidrofílico, apresentando baixo peso molecular e carga positiva, o que facilita a sua penetração em bactérias gram-positivas, possuindo mínima atividade antibacteriana e antifúngica natural. Não é tóxico, o que permite sua administração de forma tópica, oral ou endovenosa (DIOGO et al., 2015; WAINWRIGHT; CROSSLEY, 2002). Sua desvantagem para o uso oral consiste na pigmentação transitória de dentes e restaurações bem como sua menor eficácia contra vírus intracelulares (WAINWRIGHT; CROSSLEY, 2002). O fator que determina a seletividade deste corante às células microbianas é a interação

eletroestática entre a sua carga positiva e às cargas negativas da superfície externa da célula (HARRIS; CHATFIELD; PHOENIX, 2005).

Figura 4 - Estrutura química do Azul de Metileno.

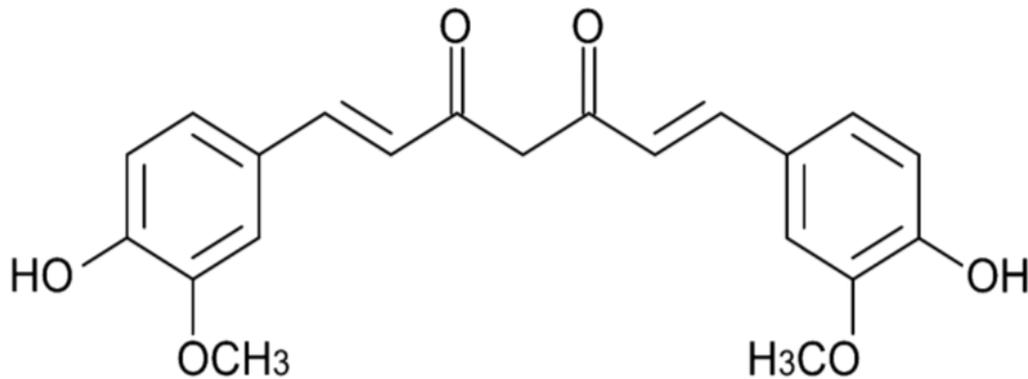


Fonte: Ferreira-Leitão; Carvalho; Bom, 2007.

Há diversos estudos publicados que avaliam o efeito da associação do azul de metileno e Laser vermelho em diversos tratamentos. Entre eles está a pesquisa publicada por Theodoro et al. (2017a), que compararam o efeito clínico da TFD com dois antibióticos (amoxicilina e metronidazol) utilizados no tratamento adicional à periodontite crônica. Foi constatado que a TFD apresentou um resultado equivalente aos da terapia medicamentosa, visto que ambas se mostraram efetivas no ganho de inserção clínica, controle de inflamação e eliminação de bolsas residuais, com o adicional de que a TFD, na modalidade utilizada, não ocasiona resistência antimicrobiana ou efeitos sistêmicos indesejáveis. Garcez et al. (2015) também avaliaram esta associação em cirurgias periapicais, onde se observou uma redução de 5 log nos casos em que foi realizada a TFD, enquanto que o tratamento cirúrgico convencional observou uma redução média de apenas 3,5 log.

Outro FS que vem sendo utilizado na TFD é a curcumina (Figura 5), um composto fenólico, membro da família curcuminóide, encontrado no rizoma da cúrcuma (*Cúrcuma longa* L). O FS de curcumina tem pigmentação amarela intensa e, isoladamente, já teve demonstradas suas atividades biológicas tais quais, anticancerígena, antioxidante e anti-inflamatória, além de possuir efeito antiviral contra hepatite B e H1N1 (CHEN et al., 2010; KIM et al., 2009; SANTEZI et al., 2016; SORIA-LOZANO et al., 2015; TONON et al., 2015).

Figura 5 - Estrutura química da molécula de curcumina.



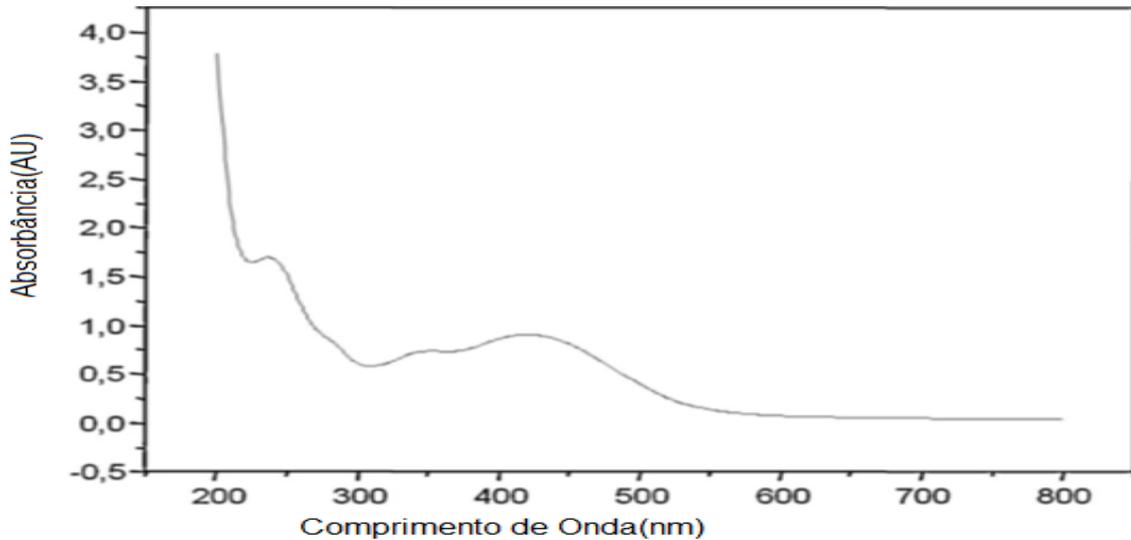
Fonte: Péret-Almeida, 2005.

O uso da curcumina em TFD com intuito anticarcinogênico é bastante comum. Esta atividade advém da capacidade da curcumina suprimir a proliferação de uma variedade de células tumorais, por meio da regulação de fatores de transcrição, dos receptores do fator de crescimento e das moléculas de adesão na superfície celular (AGGARWAL et al., 2003).

Já o seu uso como FS da TFD antimicrobiana é mais recente, porém já se encontram trabalhos publicados que investigam essa atividade, como o realizado por Araújo et al. (2012a), que analisaram o efeito do fotossensibilizador de cúrcuma associado ao LED, mas neste caso sobre culturas planctônicas de *Streptococcus mutans*, nas quais foi possível observar uma redução de quase 100%.

Esta nova aplicação da curcumina na área antimicrobiana se deve à sua capacidade de absorver a luz, especialmente na região espectral azul (Figura 6). Sua baixa profundidade de penetração com o comprimento de onda azul nos tecidos, também aponta que a curcumina pode se apresentar como um potencial FS para a descontaminação superficial oral, com a vantagem frente aos FSs de fenotiazinas de não provocar manchas, ainda que transitórias, em dentes, restaurações e nem mucosa oral (SANTEZI et al., 2016). A curcumina, sem a exposição à fonte de luz, também não apresenta uma toxicidade, mostrando que seu efeito de redução microbiana não é significativo sem fotoativação (ALVES, 2011; TONON et al., 2015).

Figura 6 - Gráfico do espectro de UV visível de absorção da curcumina.



Fonte: Paschoal et al. 2013.

A ação fungicida da TFD mediada por curcumina também já foi estudada, chegando a inibir ou reduzir significativamente o crescimento de sete espécies de fungo (*Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium griseofulvum*, *Penicillium chrysogenum*, *Fusarium oxysporum*, *Candida albicans* e *Zygosaccharomyces bailii*), sendo que fungos da espécie *F. oxysporum* e *C. albicans* foram inibidos totalmente em todas as doses, e espécies como *A. niger*, *A. flavus*, *P. griseofulvum*, *P. chrysogenum* e *Z. bailii*, reduziram 99%, 88,9%, 78%, 99,7% e 99,2%, respectivamente (ALASMARI; MEREDDY; SULTANBAWA, 2017).

Santezi et al. (2016) avaliaram a susceptibilidade de agentes patogênicos presentes na saliva de voluntários à inativação pela TFD mediada por curcumina e luz LED. Neste estudo, foram testados diferentes concentrações (1,5 g/L e 3,0 g/L) e diferentes tempos de irradiação (1 min e 5 min). A TFD com curcumina no tempo de 5 min e concentração de 3,0g/L apresentou resultados estatisticamente semelhantes à aplicação da clorexidina por 1 min, sendo que a terapia que apresentou maior potencial de redução microbiana no referido estudo, foi a clorexidina por 5 min.

1.1.5 Aplicabilidades da TFD

O uso da TFD é preconizado para diversos tratamentos médicos, dentre eles o tratamento de câncer. Tal tecnologia é capaz de produzir substâncias tóxicas às células tumorais, quando utilizadas doses letais de luz e FS, ocasionando a sua

morte e possibilitando, posteriormente, a sua substituição por tecido saudável (MORDON et al., 2015).

A TFD também tem sido considerada uma importante terapia adicional para o tratamento da cárie dentária, principalmente para lesões que apresentam grande profundidade, pois permite um tratamento menos invasivo, preservando desta forma o tecido dentário o que favorecerá sua reparação sem implicar danos às células da polpa dentária (DINIZ et al., 2015). Tonon et al. (2015), avaliaram o efeito da TFD sobre estirpes laboratoriais e clínicas de *Streptococcus mutans*, um dos principais agentes cariogênicos e constatou que as estirpes padrão de *Streptococcus mutans* apresentam maior sensibilidade a TFD, quando comparadas a bactérias isoladas clinicamente.

Pérez-laguna et al. (2017) avaliaram o efeito da TFD utilizando como fotossensibilizador o azul de metileno e o rosa bengala, sobre cepas do *Streptococcus mutans* e o *Streptococcus sanguinis*. Tais suspensões foram irradiadas com fonte de luz no comprimento máximo do pico de absorção de cada fotossensibilizador. Concentrações de 0,16-0,62 µg/mL de rosa bengala, e 0,62-1,25 µg/mL de azul de metileno foram suficientes para inibir o crescimento de *Streptococcus mutans*, e concentrações de 0,16-0,31 µg/mL de rosa bengala e 0,31-1,25 µg/mL foram suficientes para apresentar um efeito bactericida, inibindo também o crescimento de *Streptococcus sanguinis*, sendo que o fotossensibilizador rosa bengala necessitou de uma concentração menor para atingir o mesmo efeito de redução, que foi de 6 log₁₀.

Paschoal et al. (2013) avaliou, *in vitro*, a eficácia da curcumina associada ao LED azul sobre *Streptococcus mutans* na forma planctônica utilizando concentrações e densidades de energia diferentes. Foi observado que elevadas concentrações do fotossensibilizador não aumentavam a eficiência de descontaminação. Foram utilizadas as concentrações de 2000; 4000 e 8000 µM, e irradiação de 24, 48 e 72 J/cm². Ambos os grupos apresentaram uma redução no número de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) por mL, sendo que os grupos que apresentaram uma redução superior a 50% foram os que utilizaram uma irradiação de 72 J/cm² e concentração de 2000 µM e 4000 µM, e irradiação de 48 J/cm² com concentração de 4000 µM, apresentando reduções de 55.98%, 60,66% e 71.07%, respectivamente.

Atualmente outras aplicações da TFD têm sido utilizadas na prática clínica como, por exemplo, sua utilização no tratamento de condições como líquen plano, feridas crônicas e periodontite, tornando-se dessa forma uma importante alternativa para o tratamento dessas patologias (REINHARD et al., 2015).

O uso da TFD em feridas crônicas acelera o processo de cicatrização, com redução da dimensão das feridas e melhora o aspecto clínico, além de ser eficaz para o alívio da dor (MOURA; BRANDÃO; BARCESSAT, 2018).

O líquen plano é uma doença cujo tratamento é apenas paliativo, buscando reduzir a duração e gravidade das lesões. Mostafa, Moussa e Alnouaem (2017) fizeram um estudo no qual compararam o uso de corticosteroides tópico, medicamento de primeira escolha pra tratamento de líquen oral plano, com a aplicação de TFD. O estudo englobou 20 pacientes, divididos em dois grupos: o primeiro usou a terapia convencional, com uso de corticoides, o segundo recebeu a TFD associando azul de metileno e laser. Ambos os grupos apresentaram redução estatisticamente significativa da lesão, porém o tratamento com TFD apresentou redução mais notável na dor e na regressão da lesão.

A doença periodontal apresenta como principal tratamento a remoção mecânica das bactérias através de raspagem e alisamento radicular, porém nem sempre esse procedimento remove todos os microrganismos presentes, e é neste cenário que a TFD se apresenta como uma terapia adicional a esse tratamento, sendo já realizados diversos estudos que avaliam sua aplicação (TONON et al., 2015).

Tonon et al. (2015) avaliaram o efeito da TFD em alvéolos de ratos que tiveram periodontite induzida e constatou que a associação da TFD ao tratamento convencional ocasionou a redução de níveis expressivos da carga bacteriana.

Martins et al. (2017) realizaram um estudo clínico que avaliou os efeitos de uma única aplicação da terapia fotodinâmica como tratamento adicional ao desbridamento e raspagem radicular de pacientes com periodontia crônica grave. Participaram da pesquisa 20 pacientes, que sofreram dois tipos de intervenções: a primeira, o grupo controle, o tratamento convencional; à segunda foi adicionada a terapia fotodinâmica, que associou a luz LED a um fotossensibilizador de fenotiazina. Foi observado que, no grupo TFD, a profundidade de sondagem, após 90 dias, foi menor que no grupo controle, apresentando também menor quantidade de patógenos periodontais, dentre eles o *Treponema denticola*.

Uma outra aplicabilidade da TFD está na área de implantodontia, em casos de perimplantite, que é uma inflamação dos tecidos de suporte e circunjacentes ao implante. Mang et al. (2016), avaliaram *in vitro* a eficácia da TFD sobre patógenos de *Fusobacterium nucleatum* incubados em placas de titânio e prismas de germânio e constatou uma redução significativa dependente da dose de energia utilizada, bem como alterações morfológicas na estrutura de tais bactérias como mudanças na integridade das células decorrentes dos efeitos do estresse oxidativo ocasionado pela técnica.

A terapia fotodinâmica também tem sido estudada como método alternativo para desinfecção de próteses removíveis, visto que as soluções utilizadas atualmente podem causar complicações como manchamento de superfície, irritação da mucosa além de poder comprometer as propriedades mecânicas da prótese (KELLESARIAN et al., 2017).

Num estudo realizado por Mima et al. (2012), foi realizado ensaio clínico para comparar a terapia empregada no tratamento de estomatite protética, que é o emprego de pomada antifúngica comparada ao uso da TFD. Neste ensaio clínico randomizado, a eficácia clínica e micológica da terapia fotodinâmica foi avaliada. Os pacientes foram distribuídos em dois grupos. Em um grupo foi realizado tratamento tópico com nistatina (100.000 UI) quatro vezes ao dia durante 15 dias e no grupo TFD, a prótese e o palato dos pacientes foram pulverizados com 500 mg / L de Photogem® e após 30 min foram irradiados com luz LED, três vezes por semana durante 15 dias. As culturas micológicas foram tomadas no início do estudo (dia 0) e no final do tratamento (dia 15) e nos intervalos de tempo de seguimento (dias 30, 60 e 90). As colônias foram quantificadas e os grupos Nistatina e TFD apresentaram taxas de sucesso clínico de 53% e 45%, respectivamente, mostrando resultados estatisticamente semelhantes.

O uso da TFD na área endodôntica também é bastante crescente. Santos (2014) isolou e identificou em canais radiculares bactérias da espécie *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium*, microrganismos que têm sido frequentemente associados a infecções endodônticas recorrentes, e testaram, *in vitro*, a sensibilidade desses microrganismos à terapia fotodinâmica, obtendo um resultado de redução microbiana que variou de 95 a 99%, sendo que o fotossensibilizador utilizado foi o azul de metileno associado ao laser de baixa intensidade.

No pós-operatório cirúrgico das exodontias, poucos estudos avaliam a aplicabilidade da TFD, tendo sido estudada, neste contexto, somente a associação do azul de metileno ao laser. Dentre esses estudos, podemos identificar o de Vasconcelos (2014) que encontrou uma redução no número de bactérias em alvéolos pós exodontias com a aplicação da TFD que associou o azul de metileno ao laser, porém essa diferença não foi significativa em relação ao grupo controle. E temos também o trabalho de Neugebauer, Jozsa e Kubler (2004), que encontrou uma incidência 13 vezes menor de alveolite em pacientes que fizeram a utilização da TFD pós exodontia.

2 OBJETIVOS

Avaliar a ação antibacteriana da terapia fotodinâmica por meio de duas técnicas: a primeira que associa o azul de metileno ao Laser vermelho, e a segunda que associa a curcumina ao LED azul, em alvéolos dentários após exodontias, através de um ensaio clínico randomizado.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o potencial antibacteriano da técnica que associa o azul de metileno ao laser vermelho, sobre bactérias presentes em alvéolos dentários pós exodontias.
- Avaliar o potencial antimicrobiano da técnica que associa a curcumina ao LED azul, sobre bactérias presentes em alvéolos pós exodontias.
- Comparar o potencial de descontaminação das duas técnicas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 PARTICIPANTES DA PESQUISA

Trata-se de uma pesquisa de ensaio clínico paralelo com alocação randômica, que se realizou em parte no consultório odontológico da Unidade Básica de Saúde da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP), e, em parte, no Laboratório Especial de Microbiologia Aplicada (LEMA) daquela instituição. O estudo foi realizado no período de agosto de 2017 a janeiro de 2018.

O presente trabalho seguiu as diretrizes do enunciado CONSORT para a realização de ensaios clínicos (MOHER; SCHULZ; ALTMAN, 2001). Teve aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Amapá, sob o parecer de número 2.073.502 (Anexo A) e aprovação no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos sob o número RBR- 33dfy2. A seleção dos participantes da pesquisa deu-se por meio da avaliação dos pacientes através de uma ficha de anamnese (Apêndice A) com foco no histórico dental e médico, com perguntas sobre a saúde sistêmica e bucal, além do preenchimento de um questionário com informações gerais.

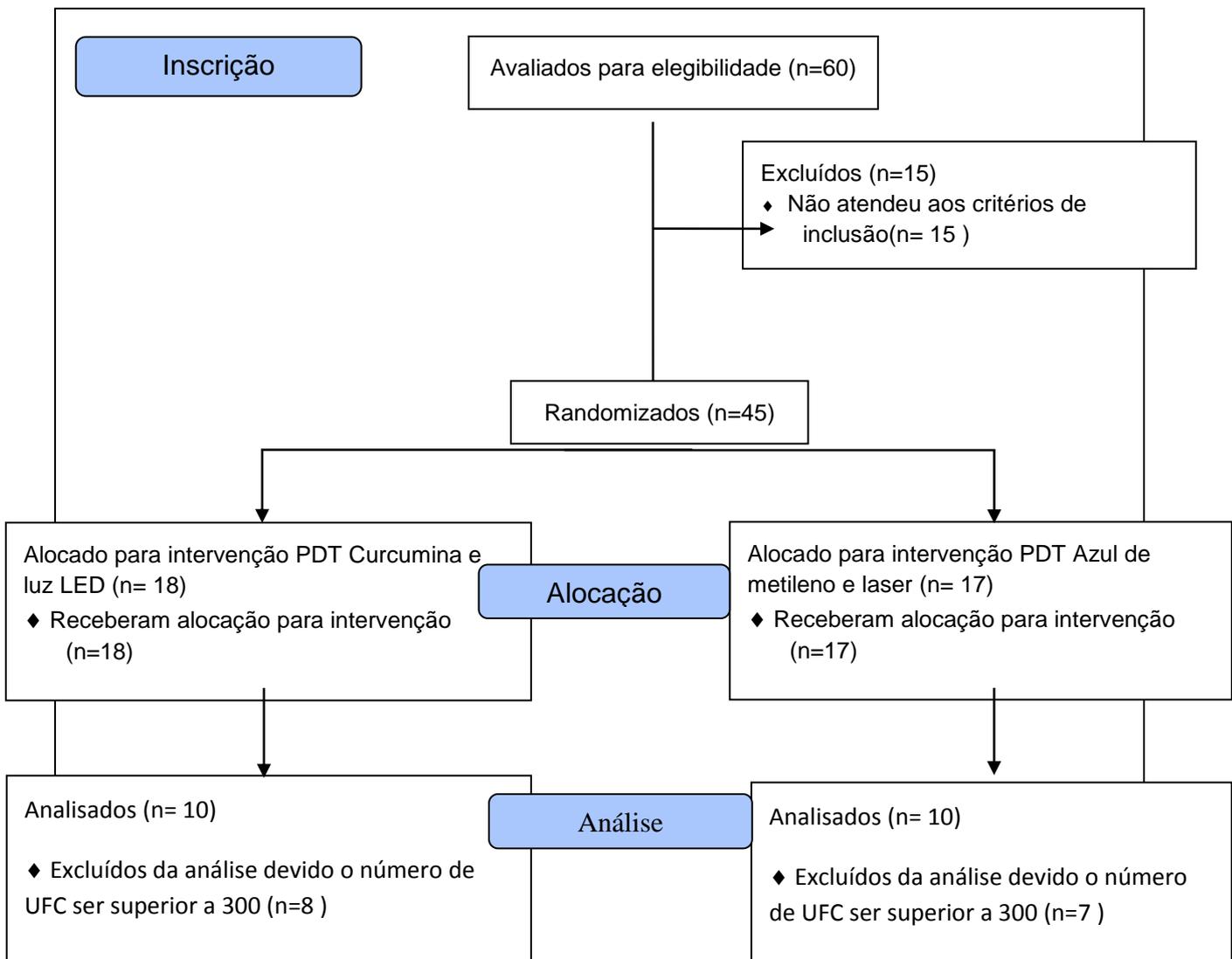
Todos os pacientes selecionados foram informados sobre a terapia fotodinâmica, sua aplicação, indicações e da inexistência de efeitos colaterais. Aos pacientes que concordaram em participar da pesquisa foi apresentado o “Termo de Consentimento Livre e Esclarecido” (Apêndice B) para que assinassem.

Participaram da pesquisa 20 pacientes cujos critérios de inclusão e exclusão estão discriminados abaixo (Quadro 2). Todos os participantes foram examinados e tratados no consultório odontológico da Unidade Básica de Saúde da UNIFAP, passando previamente por uma consulta para realização de profilaxia e raspagem supragengival, antes da realização da exodontia (Figura 7). Após esta etapa os participantes foram distribuídos de forma randômica, através de sorteio em software de estatística (BioEstat 5.0), em dois grupos, conforme Quadro 3.

Quadro 2 - Critérios de inclusão e exclusão dos participantes da pesquisa

Fatores de Inclusão	Fatores de Exclusão
Independente do gênero	Pacientes diabéticos
Pacientes maiores de 18 anos	Pacientes imunodeprimidos
Necessidade de realização de 1 exodontia cuja indicação fosse decorrente de doença periodontal ou remoção de raízes residuais	Doenças sistêmicas com desenvolvimento de infecções locais
Assinar o termo de livre consentimento	Mulheres grávidas ou lactantes ou que utilizem anticoncepcional
Amostras de paciente, cuja contagem de UFC esteja entre 30-300	Pacientes que realizaram antibioticoterapia nos últimos 2 meses

Fonte: Autoria própria.

Figura 7- Fluxograma da seleção dos participantes da pesquisa.

Fonte: Adaptado de: <http://www.consort-statement.org/flowdiagram.doc>, acessado em 20 de fevereiro de 2018.

Quadro 3 - Distribuição dos pacientes conforme os grupos.

Grupo	Técnica de TFD	Amostra(n)
CUR+ LED	Curcumina associada ao LED	10
AM+ LASER	Azul de metileno associado ao Laser	10

Fonte: Autoria própria.

O cálculo do tamanho amostral foi realizado baseado na fórmula proposta por STURGES (1926), que é dada por:

$$k = 1 + 3,322 \times \log n$$

Onde: k = número de classes (estratos ou grupos); n = tamanho da amostra; log = logaritmo de base 10.

A partir desta fórmula, decorre que:

$$\log n = \frac{k - 1}{3,322} \Rightarrow n = 10^{\frac{k-1}{3,322}}$$

Nesse estudo a constante (k) é 4, pois a amostra é dividida em dois grupos que possuem dois momentos de observação diferentes (antes e depois da aplicação da TFD). A partir deste cálculo inferimos que o número de elementos amostrais mínimos para o grupo e momento de observação deve ser 8.

3.2 REALIZAÇÃO DAS EXODONTIAS

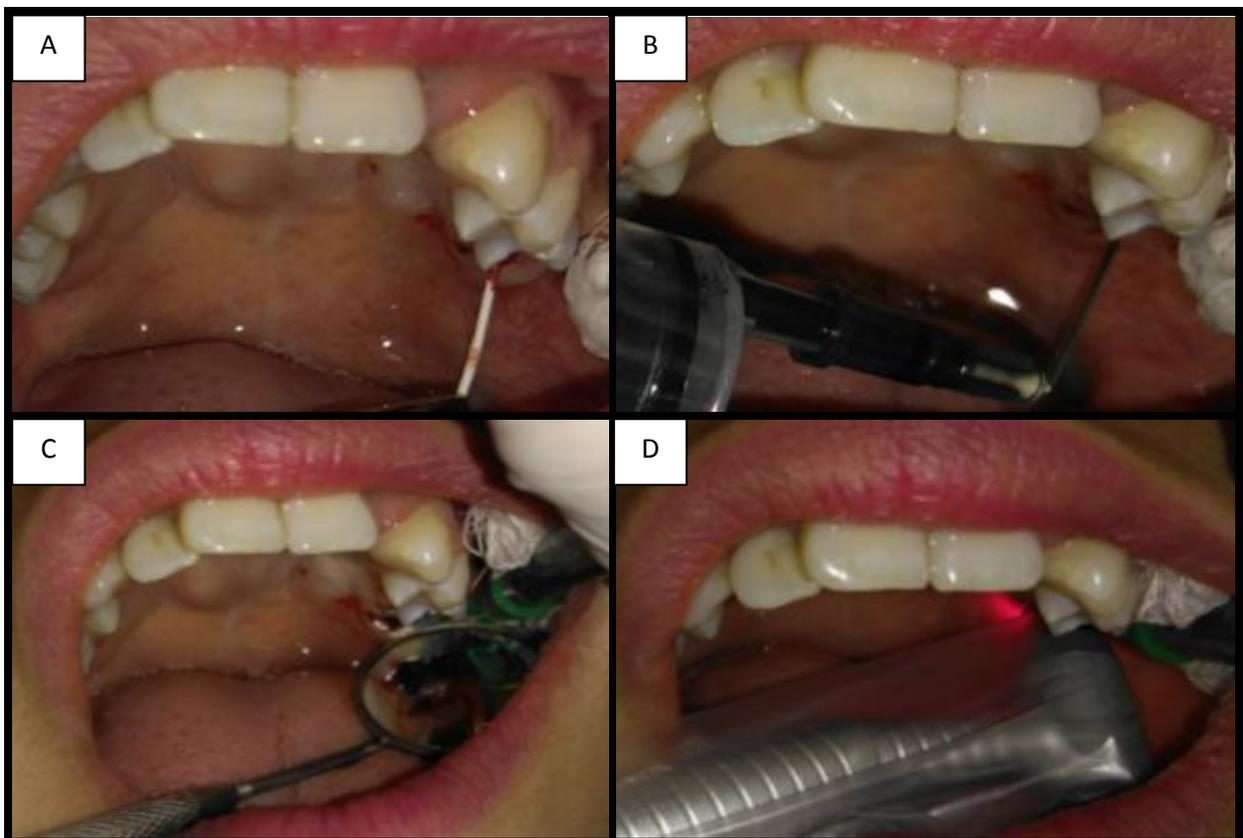
Todos os procedimentos cirúrgicos foram realizados de forma padronizada sob anestesia local de lidocaína 2% com epinefrina 1:100 000 e usando as técnicas cirúrgicas odontológicas convencionais, com descolamento de tecido mole auxiliado por um descolador de Molt, seguido de luxação do dente realizada com alavancas e sua remoção com auxílio de fórceps (MILORO et al., 2016). Após a remoção do dente, em cada alvéolo, foi realizada uma técnica de TFD.

3.3 APLICAÇÃO DA TERAPIA FOTODINÂMICA

Após a remoção do dente do interior do alvéolo, foi realizada a 1ª coleta microbiológica com auxílio de um cone de papel estéril de taper 60 (Cone de papel Meta Biomed Co Ltda, Cheongju City, Córéia), que foi pesado previamente, a fim de determinar o volume de sangue médio absorvido pelo mesmo. O mesmo foi inserido no alvéolo durante 10 segundos, seguido da realização da terapia fotodinâmica.

Para o grupo AM+Laser, sob isolamento relativo, foi gotejado no alvéolo azul de metileno (Chimiolux 5 - 0,005% - 5mg/L), que permaneceu por 5 minutos, o chamado tempo de pré-irradiação, tempo necessário para que o FS penetre no alvo. Em seguida, foi retirado o excesso para então proceder a irradiação com laser vermelho (MM Optics - São Carlos, Brasil), cujos parâmetros encontram-se na demonstrados na Tabela 1 e que foram experimentados previamente com a finalidade de ativação da cascata de morte celular (BARCESSAT et al., 2013) (Figura 8).

Figura 8 - Etapas da aplicação TFD AM+LASER



A) Realização da 1ª coleta B) Gotejamento do azul de metileno C) Alvéolo preenchido com o corante D) Irradiação do LED. Fonte: Autoria própria.

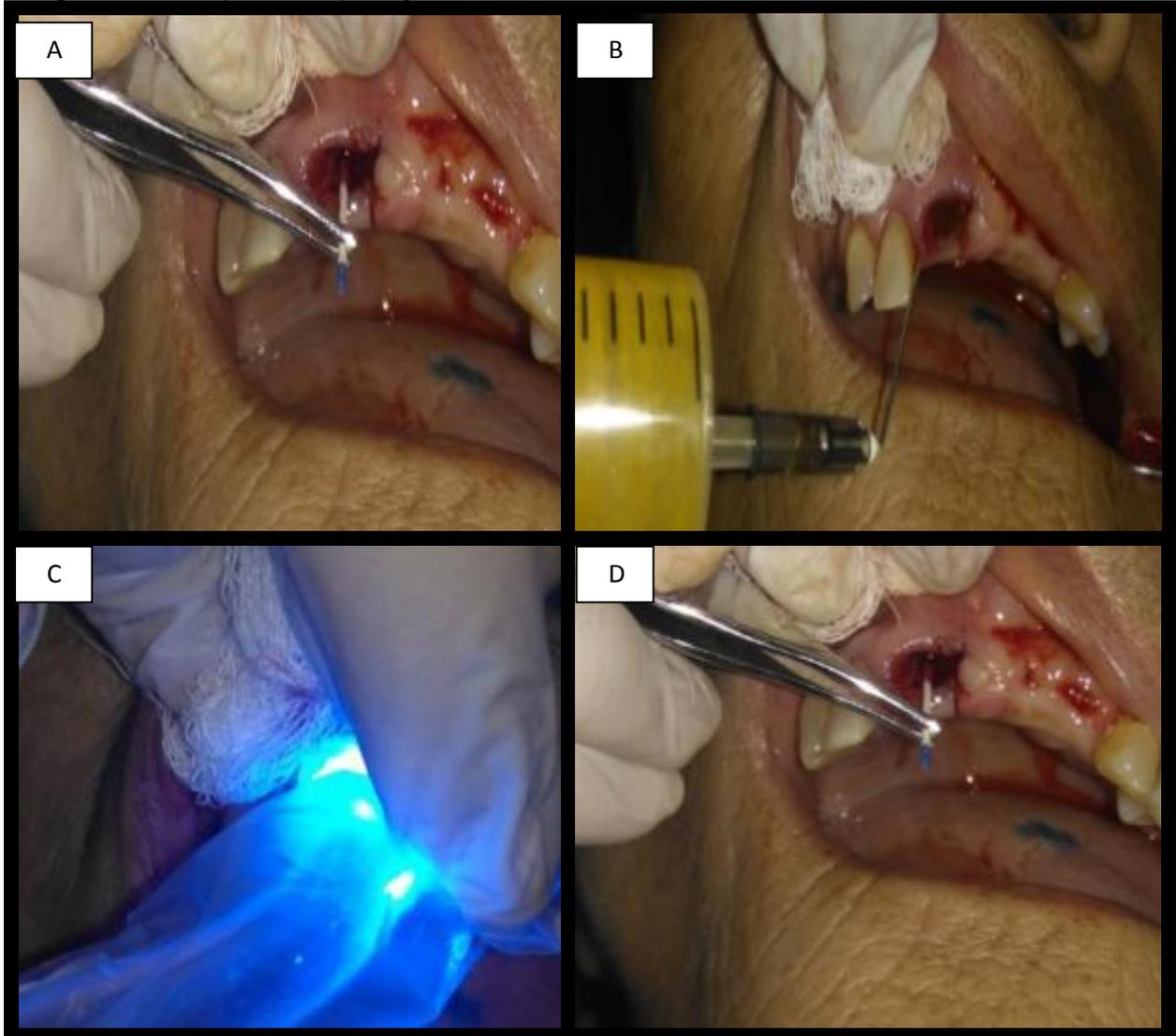
Tabela 1 - Parâmetros da fonte de Luz laser

Comprimento de onda– λ - (nm)	660
Potência (mW)	40
Energia (J/ponto)	3,6
Densidade de energia (J/cm²)	90
Área do ponto (cm²)	0,04
Tempo por ponto (seg)	90
Nº de irradiações	1
Nº de pontos irradiados	1
Densidade de potência mW/cm²	1000

Fonte: Adaptado de Barcessat et al. 2013.

Para o grupo CUR+LED, a curcumina (PDT-Pharma) foi diluída em água destilada a uma concentração de 1,5 g/L, conforme padronização do fabricante. Para então ser colocada sob a região por 5 min, sendo removido o excesso, seguido da aplicação de LED da cor azul (Figura 9), cujos parâmetros estão descritos abaixo (Tabela 2) (SANTEZI et al., 2016).

Figura 9 - Etapas da aplicação da TFD CUR+LED.



A) Realização da 1ª coleta B) Gotejamento da curcumina C) Irradiação do LED D) Realização da 2ª coleta. Fonte: Autoria própria.

Durante a realização da terapia, tanto os profissionais quanto os pacientes usaram óculos de proteção específicos.

Tabela 2 - Parâmetros da fonte de luz LED

Comprimento de onda – λ (nm)	470 +/- 25
Potência(mW)	250
Meio ativo semicondutor	InGaN
Densidade de energia (J/cm²)	45
Área do ponto (cm²)	0,5
Tempo por ponto (seg)	90
Nº de irradiações	1
Nº de pontos irradiados	1
Densidade de potência mW/cm²	1000

Fonte: Resultados da pesquisa

3.4 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

Em cada paciente foram realizadas duas coletas microbiológicas, a primeira ocorreu logo após a remoção do dente do alvéolo e a segunda após a realização da TFD. Ambas foram realizadas com o auxílio de um cone de papel que foi inserido no alvéolo por 10 segundos. Assim que removidos, os cones de papel foram inseridos em microtubos cônicos plásticos esterilizados que continham 500 μ L de solução salina tamponada (PBS, pH 7,2), ambos previamente pesados, depois colocados no gelo, para então serem encaminhados ao laboratório, num período máximo de 2 horas.

Cada um dos tubos foi identificado com números, referenciados pelo pesquisador responsável pela exodontia, que indicavam o paciente, a técnica utilizada e o momento da coleta. Tal procedimento foi adotado com o intuito de permitir o cegamento ao analista de dados. Os pesos de cada amostra também foram aferidos antes e depois das coletas. Para todas as amostras foram adotados os mesmos princípios metodológicos, antes e depois do tratamento, servindo a amostra inicial (1ª coleta microbiológica de cada técnica) como grupo controle. O volume médio de sangue das amostras foi de 0,02 mL.

3.4.1 Semeadura e Contagem de Bactérias

No laboratório, os tubos contendo os cones embebidos em sangue alveolar foram pesados novamente, e homogeneizados em agitador tipo Vortex para facilitar a dispersão dos microrganismos. Imediatamente após essa homogeneização, foi realizada uma diluição de 50 μL em 450 μL de solução salina esterilizada agitados posteriormente por 30 segundos. Essa diluição foi escolhida baseada em um estudo piloto que demonstrou que nesta diluição a maioria das placas conteriam menos de 300 UFC. Tal limite foi estipulado devido à dificuldade de contagem das placas contendo muitas UFC.

Com auxílio de uma pipeta calibrada, foram semeados 50 μL da solução em meio ágar sangue para permitir o crescimento dos mais variados tipos de microrganismos. Todos esses procedimentos foram realizados em uma cabine sob fluxo laminar.

Subsequentemente, as placas foram codificadas e incubadas a 37°C em estufa bacteriológica, por 24 horas, para então ocorrer a contagem total de bactérias de cada placa, com auxílio de lupa em contador sob luz emergente.

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

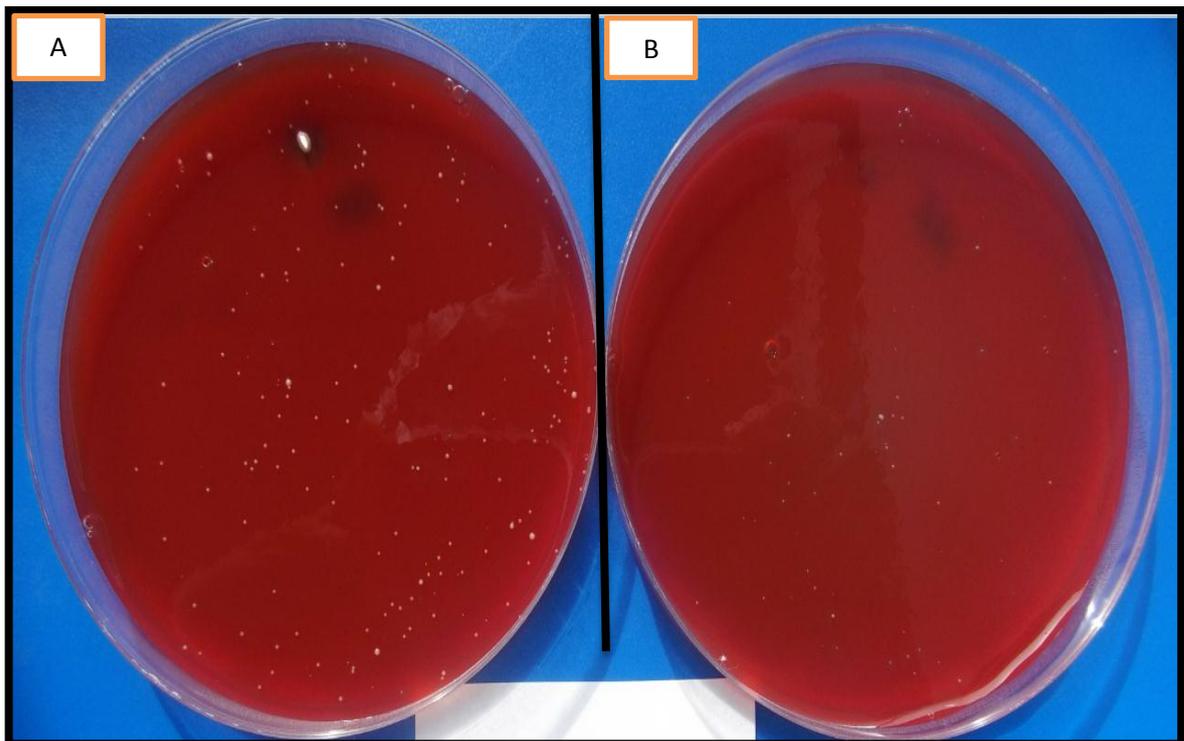
Foi utilizado a planilha eletrônica MS-Excel, em sua versão do MS-Office 2013, para a organização dos dados, e o pacote estatístico IBM SPSS (Statistical Package for Social Sciences), em sua versão 23.0, para a obtenção dos resultados. Verificou-se que os dados não eram paramétricos, por isso foi utilizado o Teste dos Postos Sinalizados de Wilcoxon, para a verificação de diferenças entre os diferentes momentos de observação de cada técnica. E o teste de Mann-Whitney para analisar a ocorrência de diferentes médias de redução, sendo adotado o nível de significância de 5%.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 POTENCIAL ANTIMICROBIANO DA TFD MEDIADA POR CURCUMINA E LED AZUL

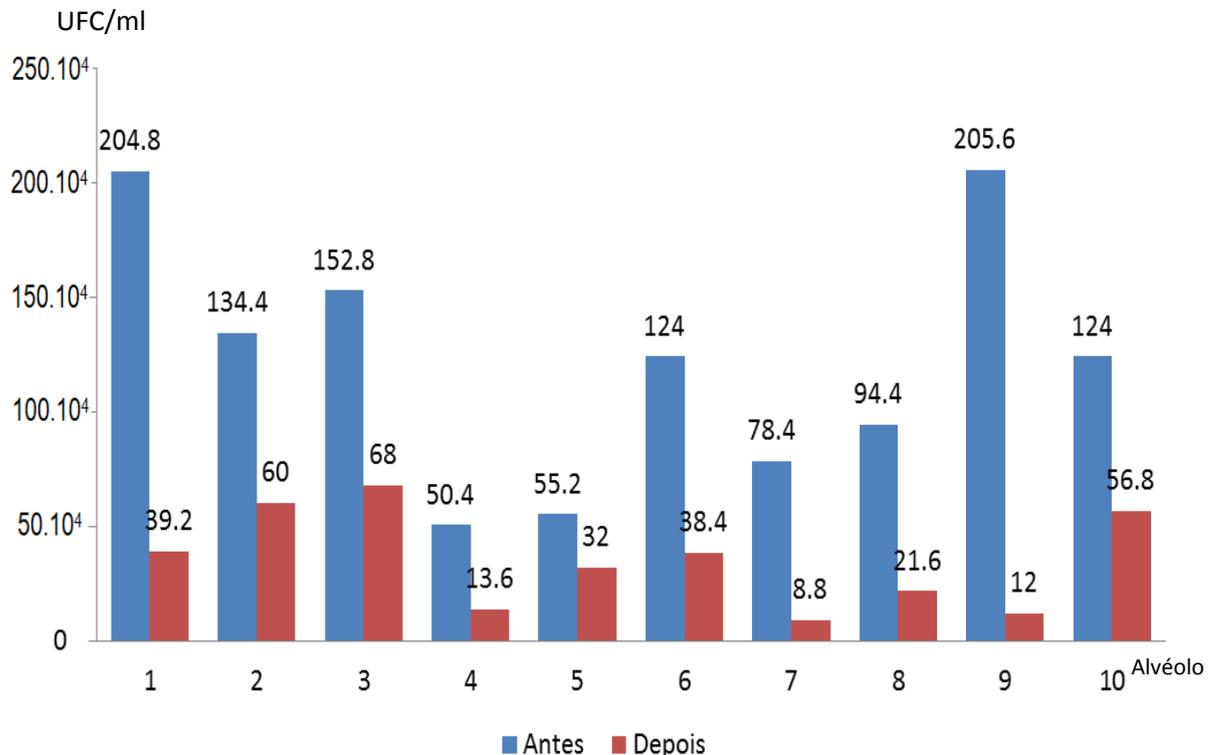
Os resultados mostram diferenças significativas entre as amostras antes e após a aplicação da TFD que associou a curcumina ao LED (Figura 10). Na Figura 11, podemos observar a redução efetiva no número de UFC de cada alvéolo. Na Tabela 04, encontramos a análise descritiva dos dados, bem como o valor de p (0,005) que demonstra haver diferença estatisticamente significante entre o número de UFC nos dois momentos de observação.

Figura 10 - Unidades formadoras de colônias cultivadas em Ágar-sangue do grupo CUR+LED antes a após aplicação da TFD.



A) Amostra de placa com UFC antes da realização da TFD (CUR+LED) B) Amostra de placa com UFC após realização da TFD (CUR+LED) de um mesmo paciente. Fonte: Resultados da pesquisa.

Figura 11 - Gráfico com Número de UFC por ml, antes e após a realização da técnica que associou curcumina com LED.



Fonte: Resultados da pesquisa.

Tabela 3 - Tabela descritiva dos dados coletados antes e após a aplicação da Técnica de TFD para o grupo CUR-LED.

Momento de Observação	Antes	Depois
N	10	10
Média(UFC/ml)	153,00	43,80
Desvio- padrão(UFC/ml)	68,73	26,62
Mínimo(UFC/ml)	63,00	11,00
Máximo(UFC/ml)	257,00	85,00
Percentil 25(UFC/ml)	90,75	16,50
Mediana(UFC/ml)	155,00	44,00
Percentil 75(UFC/ml)	207,25	72,00
% Médio de Redução		69,00
Teste de Wilcoxon-Sig. (p)		0,005

Fonte: Resultados da pesquisa.

A terapia fotodinâmica que associa a curcumina ao LED foi eficaz na redução do número de bactérias totais. Seus percentuais de redução se assemelham ao estudo realizado por Araújo et al. (2012b), que encontraram uma redução média de 68,3% de bactérias totais em um estudo que avaliou a utilização da curcumina

associada ao LED na redução de patógenos orais presentes na saliva. Na concentração de 1,5g/L de curcumina ativada por LED azul (5,7 J/cm²) utilizada no seu estudo, foi observada uma redução de 99,99% em cepas padrão isoladas de *Streptococcus mutans* e apenas 37,6% para *Lactobacillus acidophilus*,

Paschoal et al. (2013) também demonstraram uma redução microbiana moderada (60,66% e 71,07%) associando a curcumina ao LED, utilizando doses de 48 J/cm² e 72J/cm². Tonon et al. (2015) encontrou valores acima de 70% na redução de estirpes utilizando como fotossensibilizador a curcumina. No estudo referido, foram utilizadas variadas fluências, sendo a mais eficaz a de 48J/cm², a mesma escolhida para esta pesquisa.

Essa superioridade no efeito de redução, quando comparada aos percentuais encontrados no presente ensaio, pode ter ocorrido em função das cepas serem laboratoriais, que, conforme estudos anteriores, apresentam maior eficácia de descontaminação quando comparadas a bactérias isoladas clinicamente ou presentes em biofilmes orais (ARAÚJO et al., 2012a).

É importante ressaltar que a concentração de curcumina utilizada neste estudo foi baixa (1,5 g/L), mas ainda assim, quando ativada, foi capaz de exercer efeitos fototóxicos, sem causar danos aos tecidos orais, corroborando com os estudos de Araújo et al. (2012b) e Theodoro et al. (2017b). Santezi et al., 2016, numa concentração mais elevada de curcumina (3,0g/L) associada a luz LED azul, observaram uma redução significativa no número de bactérias presentes na saliva, obtendo resultados de redução semelhante estatisticamente ao uso do enxaguatório de clorexidina por 1 minuto.

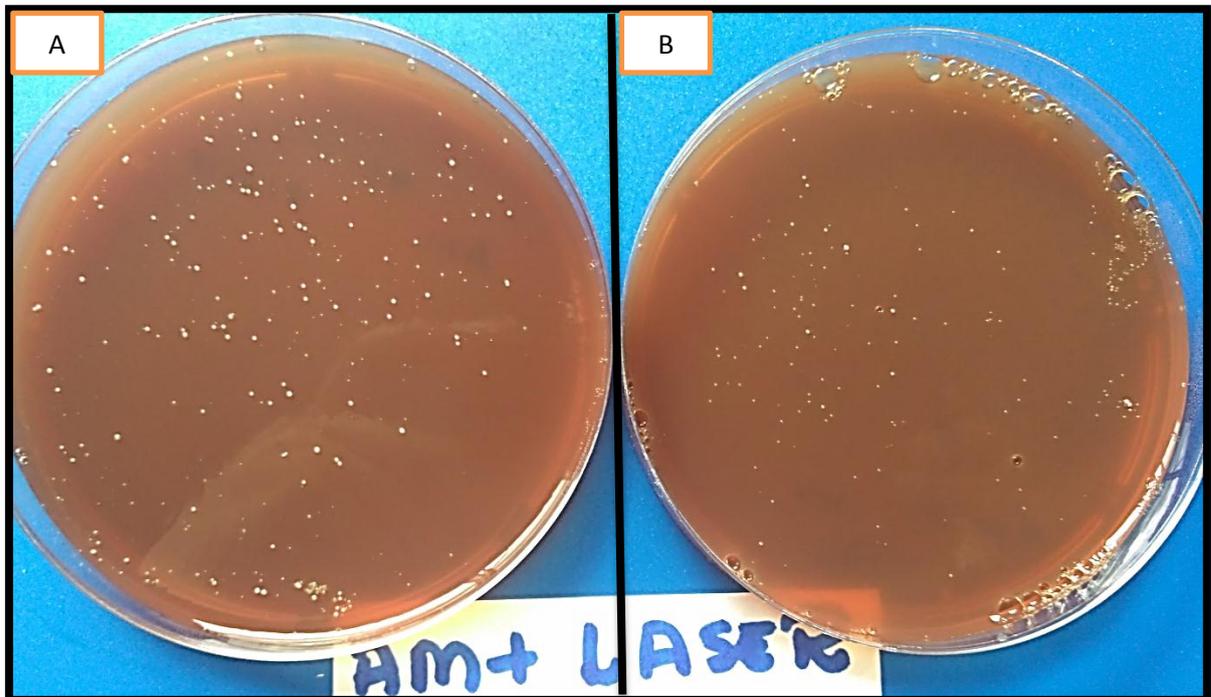
A escolha do LED azul para ativar este FS se deu tanto pelo fato dele possuir uma banda de emissão que abrange o pico de absorção da curcumina, quanto ao fato de facilmente encontrarmos este aparelho nos consultórios odontológicos, fator este que pode contribuir para uma maior adesão dos cirurgiões dentistas para aplicação dessa terapia adicional de desinfecção (ALVES, 2011).

A luz LED azul possui menor profundidade de penetração, se comparada ao Laser vermelho, apresentando maior dispersão e absorção por biomoléculas. Essa questão, entretanto, não caracteriza desvantagem no contexto de alvéolos cirúrgicos: a baixa penetração, com atuação apenas local, contribui para que a técnica de TFD possua apenas uma ação superficial, indicando seu uso tópico em lesões cutâneas e orais, como é o caso das exodontias (HEGGE et al., 2012).

4.2 POTENCIAL ANTIMICROBIANO DA TFD MEDIADA POR AZUL DE METILENO E LASER VERMELHO

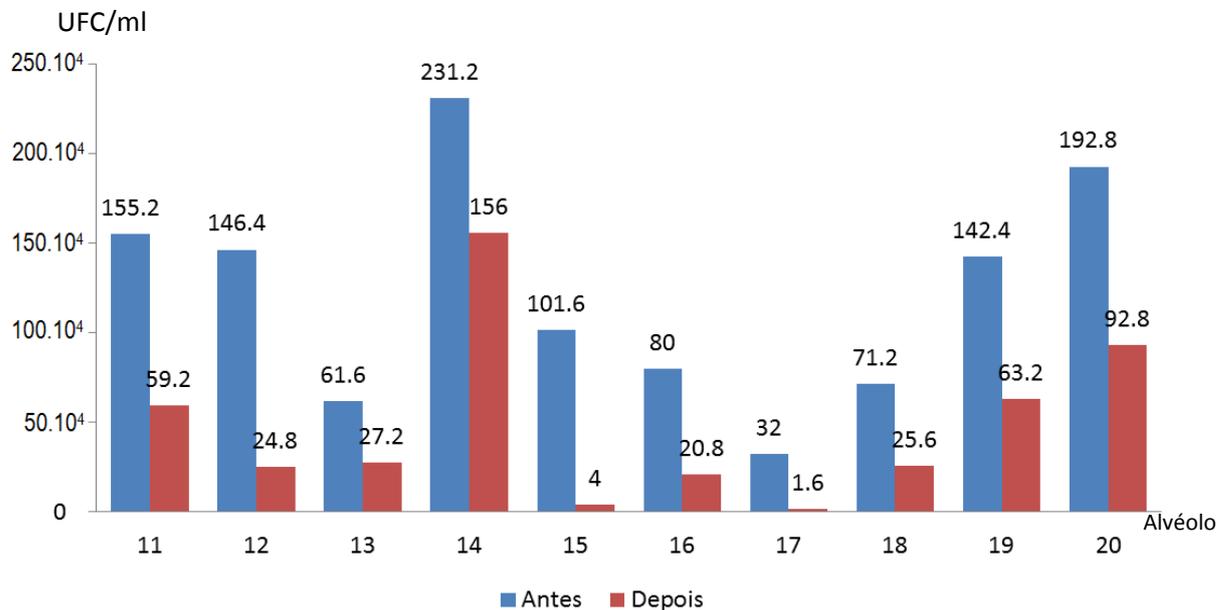
No grupo que associou o azul de metileno ao Laser vermelho, também se notou uma redução significativa no número de UFC por ml (Figura 12), onde na Figura 13 notamos a diferença entre o antes e depois de cada alvéolo e na Tabela 4 encontramos a análise descritiva dos dados deste grupo.

Figura 12 - Unidades formadoras de colônias cultivadas em Ágar-sangue do grupo AM+LASER antes a após aplicação da TFD.



A) Amostra de placa com UFC antes da realização da TFD (AM+LASER) B) Amostra de placa com UFC após realização da TFD (AM+LASER) de um mesmo paciente. Fonte: Resultados da pesquisa

Figura 13 - Gráfico com número de UFC por ml, antes e após a realização da técnica que associou azul de metileno ao Laser.



Fonte: Resultados da pesquisa.

Tabela 4 - Tabela descritiva dos dados coletados antes e após a aplicação da Técnica de TFD para o grupo AM-LASER.

Momento de Observação	Antes	Depois
n	10	10
Média(UFC/ml)	151,80	59,40
Desvio- padrão(UFC/ml)	78,57	59,41
Mínimo(UFC/ml)	40,00	2,00
Máximo(UFC/ml)	289,00	195,00
Percentil 25(UFC/ml)	86,00	20,75
Mediana(UFC/ml)	152,50	33,00
Percentil 75(UFC/ml)	205,75	88,25
% Médio de Redução		66,99
Teste de Wilcoxon-Sig. (p)		0,005

Fonte: Resultados da pesquisa.

Usacheva, Teichert e Biel (2001), por exemplo, avaliaram o efeito do azul de metileno na redução bacteriana de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Hemophilus influenzae*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. As concentrações do FS (0,32 a 64 g/mL), juntamente com a irradiação no comprimento de onda 630 nm nas doses de luz de 10 a 60 J/cm², mostraram que o azul de metileno foi eficiente na redução destas espécies, sendo mínima a sua toxicidade no escuro.

Fontana et al. (2009), com o mesmo tipo de associação, encontraram uma redução de 63% das bactérias em suspensão planctônica, e apenas 32% de redução de bactérias nos biofilmes, o que denota mais uma vez a superioridade da TFD em cepas laboratoriais quando comparada a bactérias oriundas de amostras clínicas.

Araújo et al. (2009), encontraram percentuais de redução de 73% de bactérias da espécie *Streptococcus mutans*, em suspensão, na associação do azul de metileno com uma concentração de 25 mg/L com o laser vermelho, numa densidade de potência de 60J/cm², e ao utilizar uma concentração de FS de 5 mg/L, a mesma utilizada no nosso estudo, a redução foi de apenas 48%. Já Chan e Lai (2003) encontraram uma redução de 95% das suspensões de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* e *Fusobacterium nucleatum* e de 99-100% nas culturas de *Streptococcus sanguinis*, porém a técnica de TFD aplicada associou o azul de metileno ao laser de diodo com uma densidade de energia de 21 J/cm², uma dose 3 vezes menor do que a utilizada neste ensaio, demonstrando que a padronização de parâmetros de fonte de ativação e de FS continua sendo um dos maiores desafios deste tipo de estudo. Contudo apresenta-se aqui o teste de duas propostas paramétricas eficazes na descontaminação alveolar.

A escolha pelo fotossensibilizador azul de metileno se deu pelo fato de já ser utilizado há mais de um século, sendo bastante utilizado em diversos estudos clínicos, além de apresentar toxicidade, em seres humanos, relativamente baixa (FELDMAN, 2009).

4.3 COMPARAÇÃO DO POTENCIAL DE DESCONTAMINAÇÃO DAS DUAS TÉCNICAS.

A média do percentual de redução de ambos os grupos foi semelhante estatisticamente, como pode ser observado na Tabela 5, o que demonstra que as duas técnicas apresentaram a mesma eficiência de descontaminação.

Tabela 5 - Dados descritivos das médias de redução dos dois grupos.

Grupo	REDUÇÃO		
	CUR-LED	AM-LASER	TOTAL
N	10	10	20
Média	69,00%	66,99%	68,00%
Desvio-padrão	16,87%	20,12%	18,10%
Mínimo	42,03%	32,53%	32,53%
Máximo	94,16%	96,06%	96,06%
Percentil 25	55,07%	54,68%	55,39%
Percentil 50 (Mediana)	71,02%	62,95%	66,54%
Percentil 75	82,84%	86,05%	82,51%
teste de Mann-Whitney – p=0,05		0,940	

Fonte: Resultados da pesquisa.

A variabilidade no percentual de redução entre os vários estudos mencionados pode ser justificada pelo tipo de ensaio realizado. Estudos que utilizam cepas laboratoriais tendem ser mais sensíveis a TFD do que cepas oriundas de amostras clínicas, pois quanto maior a quantidade de espécies, maior é a possibilidade de intercâmbio entre os microrganismos (PANHÓCA et al., 2016, TONON et al., 2015; FONTANA et al., 2009).

Outra justificativa para a diferença desses percentuais de redução está na concentração do fotossensibilizador, tempo de pré-irradiação, nas espécies de microrganismos avaliados, bem como a fonte de luz e densidade de potência utilizados, pois, como já foi mencionado em outros estudos, a alteração desses parâmetros pode aumentar ou diminuir a eficiência da TFD (ARAÚJO et al., 2012a; PANHÓCA et al., 2016; VASCONCELOS, 2014).

Observou-se também que o percentual de redução entre cada paciente variou bastante. Isso pode ser justificado pelo fato de que a composição bacteriana pode variar consideravelmente entre regiões anatômicas e entre indivíduos (PANHÓCA et al., 2016). Outra justificativa para a variabilidade no percentual de redução entre os pacientes pode ter ocorrido devido a essa microbiota variável presente em cada alvéolo, pois como já se sabe, a TFD apresenta diferentes resultados sobre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Essa diferença se dá devido à estrutura

química das paredes celulares, que nas bactérias Gram-positivas são mais permeáveis a moléculas pequenas e hidrofóbicas, enquanto que as bactérias Gram-negativas apresentam uma membrana externa com duas camadas lipídicas que funcionam com uma barreira a mais para penetração do FS (TONON et al., 2015; TAVARES et al., 2017).

O uso do FS de curcumina apresenta como vantagem aos FSs de fenotiazina não possuir a capacidade de corar mucosa, superfícies dentárias ou resina (SANTEZI et al., 2016). Apresenta uma faixa de absorção bastante ampla (300-500nm) com pico entre 430-435nm, a faixa de luz emitida pelo LED azul conforme Sharma et al. (2010).

É importante ressaltar que não existe um protocolo definido em cirurgia oral para ser realizado no alvéolo pós exodontia, sendo o uso de solução fisiológica e curetagem o mais realizado clinicamente. Porém, lembramos que tal solução não possui efeito bactericida, logo, o estudo de tecnologias para descontaminação da loja alveolar são muito importantes, pois podem viabilizar a instalação de implantes imediatos em alvéolos antes contra indicados, bem como contribuir para uma menor ocorrência de alveolite cuja origem seja bacteriana.

Novos estudos devem ser realizados alterando-se os parâmetros, em especial o tempo de pré-irradiação e a densidade de energia, além da concentração do FS, buscando uma maior eficiência. Ressaltando que altas concentrações de FS podem levar ao fenômeno chamado de extinção óptica, no qual o excesso de corante bloquearia a luz que atingiria as bactérias (PASCHOAL et al., 2013).

A TFD se dispõe como uma técnica de fácil aplicação, que apresenta baixo custo, pois são equipamentos que estão presentes no consultório odontológico, bem como possibilita a utilização de FSs de baixo custo. Tem a vantagem de possuir uma ação restrita ao seu local de aplicação, não promovendo efeitos citotóxicos ou térmicos na loja cirúrgica, e sem efeitos sistêmicos, ao contrário dos antibióticos, com o benefício de não ocasionar resistência bacteriana. Todas essas características, além do alto potencial descontaminante in vivo demonstrado neste ensaio, tornam a terapia fotodinâmica uma ferramenta terapêutica complementar viável e eficaz para descontaminação de alvéolos pós exodontias (ALVES, 2011; THEODORO et al., 2015).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através deste ensaio clínico randomizado, pode se concluir que técnica de TFD que associou o azul de metileno ao Laser vermelho apresentou uma redução média no número de UFC de 66,99%. Já a técnica de TFD que associou a curcumina ao LED azul apresentou uma redução média no número de UFC de 69,00%.

Ambas as técnicas apresentaram percentual de redução semelhante estatisticamente, apresentando o mesmo potencial descontaminante em alvéolos pós exodontia.

Seria de grande importância a realização de trabalhos futuros verificando novos parâmetros de uso para a exodontia, buscando, dessa forma, uma maior eficiência, bem como realizar uma análise da aplicação da TFD sobre o processo de reparo e cicatrização, além da identificação de quais cepas foram resistentes à TFD.

REFERÊNCIAS

AGGARWAL, B. B. et al. Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies. **Anticancer research**, v. 23, n. 1/A, p. 363-398, 2003.

AKINBAMI, B. O.; GODSPOWER, T. Dry socket: incidence, clinical features, and predisposing factors. **International journal of dentistry**, v. 2014, 2014.

ALASMARI, F; MEREDDY, R; SULTANBAWA, Y. A novel photosensitization treatment for the inactivation of fungal spores and cells mediated by curcumin. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, 2017.

ALVES, O. A. **Avaliação da eficiência do diodo emissor de luz (LED) emitindo em 460 nm associado à curcumina na fotossensibilização letal de Candida albicans e de Aggregatibacter actinomycetemcomitans**. 2011. 93 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Mecânica, Departamento de Engenharia Mecânica, Universidade Federal de Minas Gerais,, Belo Horizonte, 2011.

AMORIM, J. C. F. **AÇÃO FOTOTÓXICA DO LASER EM BAIXA INTENSIDADE E DIODO DE EMISSÃO DE LUZ (LED) NA VIABILIDADE DO FUNGO Trichophyton rubrum: ESTUDO “IN VITRO**. 2007. 85 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Mecânica, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

ARAÚJO, N. C. et al. Photodynamic effects of curcumin against cariogenic pathogens. **Photomedicine and laser surgery**, v. 30, n. 7, p. 393-399, 2012a.

ARAÚJO, N. C. et al. Overall-mouth disinfection by photodynamic therapy using curcumin. **Photomedicine and laser surgery**, v. 30, n. 2, p. 96-101, 2012b.

ARAÚJO, P. V. et al. In vitro lethal photosensitization of S. mutans using methylene blue and toluidine blue O as photosensitizers. **Acta odontologica latinoamericana: AOL**, v. 22, n. 2, p. 93-97, 2009.

BARCESSAT, A. R. et al. Effect of topical 5-ALA mediated photodynamic therapy on proliferation index of keratinocytes in 4-NQO-induced potentially malignant oral lesions. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 126, p. 33-41, 2013.

CASTANO, A. P.; DEMIDOVA, T. N.; HAMBLIN, M. R. Mechanisms in photodynamic therapy: part one—photosensitizers, photochemistry and cellular localization. **Photodiagnosis and photodynamic therapy**, v. 1, n. 4, p. 279-293, 2004.

CHAN, Y; LAI, C-H. Bactericidal effects of different laser wavelengths on periodontopathic germs in photodynamic therapy. **Lasers in medical science**, v. 18, n. 1, p. 51-55, 2003.

CHEN, D-Y. et al. Curcumin inhibits influenza virus infection and haemagglutination activity. **Food Chemistry**, v. 119, n. 4, p. 1346-1351, 2010.

CHEUNG, L. K. et al. An evaluation of complications following dental extractions using either sterile or clean gloves. **International journal of oral and maxillofacial surgery**, v. 30, n. 6, p. 550-554, 2001.

CHILAKAMARTHI, U; GIRIBABU, L. Photodynamic Therapy: Past, Present and Future. **The Chemical Record**, 2017.

CORRÊA, T. Q. **Efeito de diferentes fotossensibilizadores no controle de Acanthamoeba polyphaga in vitro.** 2013. 71 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biotecnologia, Universidade Federal de SÃO Carlos, SÃO Carlos, 2013.

DINIZ, I. M. A. et al. Antimicrobial photodynamic therapy: a promise candidate for caries lesions treatment. **Photodiagnosis and photodynamic therapy**, v. 12, n. 3, p. 511-518, 2015.

DIOGO, P. et al. Photodynamic antimicrobial chemotherapy for root canal system asepsis: a narrative literature review. **International journal of dentistry**, v. 2015.

ESTEVES, R. S. S. et al. Performance of primary dental care services: an ecological study in a large Brazilian city. **The Scientific World Journal**, v. 2013, 2013.

FELDMAN, B. C. **AVALIAÇÃO CLÍNICA DOS EFEITOS DA TERAPIA FOTODINÂMICA. ANTIMICROBIANA NO TRATAMENTO NÃO-CIRURGICO DA. PERIODONTITE CRÔNICA.** 2009. 94 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Odontologia, Universidade do Grande Rio, Duque de Caxias, 2009.

FERREIRA-LEITÃO, V. S; CARVALHO, M. E. A; BON, E.P.S. Lignin peroxidase efficiency for methylene blue decolouration: Comparison to reported methods. **Dyes and Pigments**, v. 74, n. 1, p. 230-236, 2007.

FONTANA, C. R. et al. The antibacterial effect of photodynamic therapy in dental plaque-derived biofilms. **Journal of periodontal research**, v. 44, n. 6, p. 751-759, 2009.

GARCEZ, A. S. et al. Effects of antimicrobial photodynamic therapy and surgical endodontic treatment on the bacterial load reduction and periapical lesion healing. Three years follow up. **Photodiagnosis and photodynamic therapy**, v. 12, n. 4, p. 575-580, 2015.

HARRIS, F.; CHATFIELD, L. K.; PHOENIX, D. A. Phenothiazinium based photosensitisers-photodynamic agents with a multiplicity of cellular targets and clinical applications. **Current drug targets**, v. 6, n. 5, p. 615-627, 2005.

HEGGE, A. B. et al. Impact of curcumin supersaturation in antibacterial photodynamic therapy—effect of cyclodextrin type and amount: studies on curcumin and curcuminoides XLV. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 101, n. 4, p. 1524-1537, 2012.

ISSA, M. C. A; MANELA-AZULAY, M. Terapia fotodinâmica: revisão da literatura e documentação iconográfica. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 85, n. 4, p. 501-511, 2010.

JOVINO-SILVEIRA, R. C. et al. Primary reason for tooth extraction in a Brazilian adult population. **Oral health & preventive dentistry**, v. 3, n. 3, 2005.

KAYA, G. Ş. et al. Comparison of alvogyl, SaliCept patch, and low-level laser therapy in the management of alveolar osteitis. **Journal of oral and maxillofacial surgery**, v. 69, n. 6, p. 1571-1577, 2011.

KIM, H. J. et al. Antiviral effect of Curcuma longa Linn extract against hepatitis B virus replication. **Journal of ethnopharmacology**, v. 124, n. 2, p. 189-196, 2009.

KELLESARIAN, S. V. et al. Efficacy of antimicrobial photodynamic therapy in the disinfection of acrylic denture surfaces: A systematic review. **Photodiagnosis and photodynamic therapy**, v. 17, p. 103-110, 2017.

MALIK, R; MANOCHA, A; SURESH, D. K. Photodynamic therapy-A strategic review. **Indian Journal of Dental Research**, v. 21, n. 2, p. 285, 2010.

MANG, T. et al. Antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) induction of biofilm matrix architectural and bioadhesive modifications. **Photodiagnosis and photodynamic therapy**, v. 13, p. 22-28, 2016.

MARTINS, S. H. L. et al. Effect of Surgical Periodontal Treatment Associated to Antimicrobial Photodynamic Therapy on Chronic Periodontitis: A Randomized Controlled Clinical Trial. **Journal of Clinical Periodontology**, 2017.

MILORO, M. et al. **Princípios de Cirurgia Bucomaxilofacial de Peterson**. 3. ed. São Paulo: Santos, 2016.

MIMA, E. G. et al. Comparison of Photodynamic Therapy versus conventional antifungal therapy for the treatment of denture stomatitis: a randomized clinical trial. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 18, n. 10, 2012.

MIRANDA, G. L. P. **Atividade antimicrobiana da terapia fotodinâmica sobre streptococcus mutans in vitro**. 2011. 28 f. Monografia (Especialização) - Curso de Odontologia, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

MOHER, D; SCHULZ, K. F.; ALTMAN, D. G. The CONSORT statement: revised recommendations for improving the quality of reports of parallel group randomized trials. **BMC medical research methodology**, v. 1, n. 1, p. 2, 2001.

MORDON, S. et al. Light emitting fabric technologies for photodynamic therapy. **Photodiagnosis and photodynamic therapy**, v. 12, n. 1, p. 1-8, 2015.

MOSTAFA, D; MOUSSA, E; ALNOUAEM, M. Evaluation of photodynamic therapy in treatment of oral erosive lichen planus in comparison with topically applied

corticosteroids. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 19, p. 56-66, 2017.

MOURA, J. P. G; BRANDÃO, L. B; BARCESSAT, A. R. P. Estudo da Terapia Fotodinâmica (PDT) no reparo de lesões teciduais: estudo de casos clínicos. **Estação Científica (UNIFAP)**, v. 8, n. 1, 2018.

NEUGEBAUER, J.; JOZSA, M.; KÜBLER, A. Antimicrobial photodynamic therapy for prevention of alveolar osteitis and post-extraction pain. **Mund-, Kiefer-und Gesichtschirurgie: MKG**, v. 8, n. 6, p. 350-355, 2004.

PANHÓCA, V. H. et al. Oral Decontamination of Orthodontic Patients Using Photodynamic Therapy Mediated by Blue-Light Irradiation and Curcumin Associated with Sodium Dodecyl Sulfate. **Photomedicine and laser surgery**, v. 34, n. 9, p. 411-417, 2016.

PASCHOAL, M. A. et al. Photodynamic potential of curcumin and blue LED against *Streptococcus mutans* in a planktonic culture. **Photodiagnosis and photodynamic therapy**, v. 10, n. 3, p. 313-319, 2013.

PÉRET-ALMEIDA, L. et al. Separation and determination of the physico-chemical characteristics of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin. **Food Research International**, v. 38, n. 8, p. 1039-1044, 2005.

PÉREZ-LAGUNA, V. et al. Comparative effect of photodynamic therapy on separated or mixed cultures of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis*. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, 2017.

PETERSON LJ, ELLIS E, HUPP JR, TUCKER MR. **Cirurgia oral e maxilofacial contemporânea**. 5ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2008.

PRAŽMO, E. J. et al. Photodynamic Therapy As a Promising Method Used in the Treatment of Oral Diseases. **Advances in clinical and experimental medicine: official organ Wroclaw Medical University**, v. 25, n. 4, p. 799-807, 2016.

REINHARD, A. et al. Photodynamic therapy as a new treatment modality for inflammatory and infectious conditions. **Expert review of clinical immunology**, v. 11, n. 5, p. 637-657, 2015.

ROSIN, F. C. P. et al. Vascular alterations after photodynamic therapy mediated by 5-aminolevulinic acid in oral leukoplakia. **Lasers in medical science**, v. 32, n. 2, p. 379-387, 2017.

SANTEZI, C. et al. Potential of curcumin-mediated photodynamic inactivation to reduce oral colonization. **Photodiagnosis and photodynamic therapy**, v. 15, p. 46-52, 2016.

SANTIN, G. C. et al. Antimicrobial photodynamic therapy and dental plaque: a systematic review of the literature. **The Scientific World Journal**, v. 2014, 2014.

SANTOS, A. C. C. **PREVALÊNCIA, VIRULÊNCIA E SENSIBILIDADE ÀS TERAPIAS ANTIMICROBIANAS DAS CEPAS DE *Enterococcus faecalis* E *Enterococcus faecium* ISOLADAS DE INFECÇÕES ENDODÔNTICAS**. 2014. 92 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biopatologia Bucal, Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos, São José dos Campos, 2014.

SEGUNDO, A. S. G. **Mecanismos da terapia fotodinâmica em presença de peróxido de hidrogênio**. 2007. 96 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências e Tecnologia Nuclear, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

SILVA, J. C. E. et al. Evaluation of the use of low level laser and photosensitizer drugs in healing. **Lasers in surgery and medicine**, v. 34, n. 5, p. 451-457, 2004.

SORIA-LOZANO, P. et al. *In vitro* effect photodynamic therapy with different photosensitizers on cariogenic microorganisms. **BMC microbiology**, v. 15, n. 1, p. 1, 2015.

STURGES, H. A. The Choice of a Class Interval. **Journal of the American Statistical Association**. v.21, n.153, p. 65-6, 1926.

TAUB, A. F. Photodynamic therapy in dermatology: history and horizons. **Journal of drugs in dermatology: JDD**, v. 3, n. 1 Suppl, p. S8-25, 2004.

TAVARES, L. J. et al. The impact of antimicrobial photodynamic therapy on peri-implant disease: What mechanisms are involved in this novel treatment?. **Photodiagnosis and photodynamic therapy**, v. 17, p. 236-244, 2017.

THEODORO, L. H. et al. Effect of antimicrobial photodynamic therapy on periodontally infected tooth sockets in rats. **Lasers in medical science**, v. 30, n. 2, p. 677-683, 2015.

THEODORO, L. H. et al. Comparison of repeated applications of aPDT with amoxicillin and metronidazole in the treatment of chronic periodontitis: A short-term study. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 174, p. 364-369, 2017a.

THEODORO, L. H. et al. Curcumin photodynamic effect in the treatment of the induced periodontitis in rats. **Lasers in medical science**, v. 32, n. 8, p. 1783-1791, 2017b.

TONON, C. C. et al. Comparative effects of photodynamic therapy mediated by curcumin on standard and clinical isolate of *Streptococcus mutans*. **The journal of contemporary dental practice**, v. 16, n. 1, p. 1-6, 2015.

TORRES-LAGARES, D. et al. Update on dry socket: a review of the literature. **Medicina Oral, Patologia Oral y Cirugia Bucal**, v. 10, n. 1, p. 81-5; 77-81, 2005.

TRIESSCHEIJN, M. et al. Photodynamic therapy in oncology. **The oncologist**, v. 11, n. 9, p. 1034-1044, 2006.

USACHEVA, M. N.; TEICHERT, M. C.; BIEL, M. A. Comparison of the methylene blue and toluidine blue photobactericidal efficacy against gram-positive and gram-negative microorganisms. **Lasers in surgery and medicine**, v. 29, n. 2, p. 165-173, 2001.

VASCONCELOS, X. T. P. **Efeitos da terapia fotodinâmica antimicrobiana na descontaminação de alvéolos com lesão periapical imediatamente pós-exodontia**. 2014. 64 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Clínica Odontológica, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2014.

WAINWRIGHT, M.; CROSSLEY, K. B. Methylene Blue-a therapeutic dye for all seasons?. **Journal of Chemotherapy**, v. 14, n. 5, p. 431-443, 2002.

APÊNDICE-A
FICHA DE ANAMNESE

Data ___/___/_____

Dados Pessoais	
Nome:	
Data de nascimento:	Sexo : F (<input type="checkbox"/>) M (<input type="checkbox"/>)
Endereço:	n°:
Bairro:	Estado:
Telefone:	
Profissão :	
Histórico Médico	
Sofre de alguma doença?	(<input type="checkbox"/>) Não (<input type="checkbox"/>) Sim. Se sim, qual?
É diabético?	(<input type="checkbox"/>) Não (<input type="checkbox"/>) Sim. Se sim, a quanto tempo?
Demora para cicatrizar?	(<input type="checkbox"/>) Não (<input type="checkbox"/>) Sim
Toma algum medicamento regularmente?	(<input type="checkbox"/>) Não (<input type="checkbox"/>) Sim. Se sim, qual?
Apresenta alguma alergia?	(<input type="checkbox"/>) Não (<input type="checkbox"/>) Sim. Se sim, qual?
É fumante?	(<input type="checkbox"/>) Não (<input type="checkbox"/>) Sim. Tempo e quantidade por dia:
Gengiva sangra com facilidade?	(<input type="checkbox"/>) Não (<input type="checkbox"/>) Sim.
Histórico Dental	
Qual o motivo para a realização de exodontia?	(<input type="checkbox"/>) Indicação Ortodôntica (<input type="checkbox"/>) Doença periodontal (<input type="checkbox"/>) Impossibilidade de recuperação do dente (<input type="checkbox"/>) Outros
Já realizou tratamento periodontal?	(<input type="checkbox"/>) Não (<input type="checkbox"/>) Sim
Já teve orientação de higiene bucal?	(<input type="checkbox"/>) Não (<input type="checkbox"/>) Sim
Quantas vezes escova por dia?	(<input type="checkbox"/>) Não (<input type="checkbox"/>) Sim
Realiza bochechos?	(<input type="checkbox"/>) Não (<input type="checkbox"/>) Sim

Declaro que os itens acima foram explicados e que não tenho nenhuma dúvida sobre estes e assino minha concordância.

APÊNDICE-B

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

As informações contidas neste, foram fornecidas pelos Profa. Dra. Ana Rita Pinheiro Barcessat e pela mestrandia Camila Santa Rosa Nunes, objetivando firmar acordo por escrito, mediante o qual, o paciente voluntário autoriza a participação, com pleno conhecimento da natureza dos procedimentos e riscos a que se submeterá, com capacidade de livre arbítrio e sem qualquer coação.

1. Título da pesquisa

‘Avaliação da efetividade da terapia fotodinâmica utilizando diferentes técnicas no processo de reparo pós-exodontias’.

2. Objetivo Principal

Comparar e verificar o efeito da TFD mediada pelo azul de metileno e pela cúrcuma após a realização de exodontias.

3. Justificativa

Promover uma melhor condição de cicatrização que irá favorecer o pós-operatório.

4. Procedimento

Inicialmente deve-se responder a uma anamnese, para avaliação clínica, com enfoque quando: histórico dental e médico; saúde sistêmica e bucal; uso de medicação regular ou durante a pesquisa. Como critério de exclusão: doenças sistêmicas com desenvolvimento de infecções locais, pacientes que tomaram antibiótico nos últimos seis meses, pacientes diabéticos ou imunodeprimidos,

Cirurgia de exodontia: A cirurgia será realizada em consultório odontológico com anestesia local. Análise das bactérias: Serão feitas duas coletas na região do alvéolo, uma após a remoção do dente e outra após a aplicação da TFD. Para coletar as bactérias, é utilizado um cone de papel, que será colocado sobre a região durante 10 segundos. Após este tempo, o cone de papel será removido e levado para análise no laboratório para quantificação das bactérias.

Aplicação do TFD: será realizada sem apresentar qualquer desconforto para o paciente no dia da cirurgia. Inicialmente será gotejado o fotossensibilizador sobre a região e permanecerá por 5 minutos, sendo retirado o excesso logo em seguida, para então proceder a irradiação com laser vermelho em um ponto durante 90 segundos cada aplicação. O corante será removido com irrigação de soro fisiológico estéril.

5. Riscos e benefícios

A pesquisa apresenta como risco os pertinentes a uma cirurgia oral menor, que serão devidamente controlados seguindo as recomendações pós-cirúrgicas explicadas pelo profissional responsável.

Como benefício o paciente terá a remoção do dente indicado para a exodontia, além dos benefícios apresentado pela TFD, como a redução do número de bactérias, sem promover resistência bacteriana, e a possível melhora no quadro de dor pós-operatória.

6. Informações adicionais

O voluntário tem a garantia de que receberá resposta a qualquer pergunta e esclarecimento de dúvidas sobre os procedimentos, riscos, benefícios, etc., relacionados à pesquisa. Os pesquisadores anteriormente citados assumem o compromisso de proporcionar informações

atualizadas obtidas durante o estudo, ainda que essas possam afetar a vontade do voluntário em continuar participando do trabalho. A não identificação do voluntário na publicação do trabalho será totalmente respeitada, caso ele assim o deseje.

Se houver dúvidas sobre a ética da pesquisa entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Amapá (Rod. Juscelino Kubitschek, KM-02 Jardim Marco Zero Macapá – AP CEP 68.903-419. Centro Integrado de Pesquisa da Amazônia – Unifap).

7. Obrigações

Cooperação e sinceridade para que os dados obtidos não comprometam os resultados da pesquisa, dentro da proposta de trabalho elaborada. Qualquer tratamento médico/odontológico que o paciente realize ou venha a realizar deverá ser notificado ao pesquisador, para que este possa avaliar uma possível influência nos dados da pesquisa. Os resultados do estudo não são apenas de responsabilidade dos pesquisadores, mas de todos os envolvidos no trabalho.

8. Retirada do Consentimento

Durante qualquer etapa do projeto de pesquisa o participante tem o direito de desistir, não sofrendo nenhuma penalização, nem sendo interrompidos os procedimentos necessários para o término do seu tratamento.

9. Consentimento

Eu, _____, certifico que, tendo lido as informações prévias e tendo sido suficiente esclarecido pela Mestranda Camila Santa Rosa Nunes, sobre todos os itens, estou plenamente de acordo com a realização da pesquisa.

Nome legível

Assinatura

R.G.

Macapá, de de 2017.

ANEXO- A

PARECER DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISAS DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁUNIVERSIDADE FEDERAL DO
AMAPÁ - UNIFAP

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Estudo da Terapia fotodinâmica PDT na cicatrização e reparo de lesões ulcerativas: revisão de literatura e estudo de caso clínico.

Pesquisador: Ana Rita Pinheiro Barcessat

Área Temática:

Versão: 6

CAAE: 45137515.0.0000.0003

Instituição Proponente: FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.073.502

Apresentação do Projeto:

Atendeu as recomendações que o colegiado do CEP solicitou.

Objetivo da Pesquisa:

Atendeu as recomendações que o colegiado do CEP solicitou.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Atendeu as recomendações que o colegiado do CEP solicitou.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Atendeu as recomendações que o colegiado do CEP solicitou.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Atendeu as recomendações que o colegiado do CEP solicitou.

Recomendações:

Atendeu as recomendações que o colegiado do CEP solicitou.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Atendeu as recomendações que o colegiado do CEP solicitou.

Considerações Finais a critério do CEP:

Endereço: Rodovia Juscelino Kubistcheck de Oliveira - Km.02
Bairro: Bairro Universidade CEP: 68.902-280
UF: AP Município: MACAPÁ
Telefone: (96)4009-2805 Fax: (96)4009-2804 E-mail: cep@unifap.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
AMAPÁ - UNIFAP



Continuação do Parecer: 2.073502

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_661301E1.pdf	04/05/2017 22:36:57		Aceito
Cronograma	no vocronogram 20172018.docx	04/05/2017 22:22:02	Ana Rita Pinheiro Barcessat	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	NOVOTCLE corrigido.docx	11/04/2017 23:44:01	Ana Rita Pinheiro Barcessat	Aceito
Folha de Rosto	FR.pdf	13/01/2017 12:38:44	Ana Rita Pinheiro Barcessat	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	nova_emenda_projeto_PDT_plataforma_Brasil.doc	10/01/2017 01:36:07	Ana Rita Pinheiro Barcessat	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Colares_anuência.jpg	22/04/2015 15:59:04		Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	FE AP_anuência.jpg	22/04/2015 15:58:26		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

MACAPÁ, 19 de Maio de 2017

Assinado por:
Anneli Mercedes Celis de Cárdenas
(Coordenador)

Endereço: Rodovia Juscelino Kubistchek de Oliveira - Km.02
Bairro: Bairro Universidade CEP: 68.902-280
UF: AP Município: MACAPÁ
Telefone: (96)4009-2805 Fax: (96)4009-2804 E-mail: cep@unifap.br