

ÉRIKA SOUZA DE MATTOS

**DESCONTAMINAÇÃO ORAL COM TERAPIA
FOTODINÂMICA EM PACIENTES SOB
VENTILAÇÃO MECÂNICA: ESTUDO PILOTO**

ARACAJU

2017

ÉRIKA SOUZA DE MATTOS

**DESCONTAMINAÇÃO ORAL COM TERAPIA
FOTODINÂMICA EM PACIENTES SOB
VENTILAÇÃO MECÂNICA: ESTUDO PILOTO**

Monografia apresentada ao Departamento de Odontologia como requisito parcial à conclusão do Curso de Odontologia da Universidade Federal de Sergipe para obtenção do grau de Cirurgiã-Dentista.

Área de concentração: Estágio em Clínica Odontológica Integrada

Orientadora: Profa. Dra. Maria Amália Gonzaga Ribeiro

Aracaju

2017

“Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades, lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram conquistadas do que parecia impossível.”

(Charles Spencer Chaplin século XX, 1936).

M672 Mattos, Érika Souza
Descontaminação oral com terapia fotodinâmica em pacientes sob ventilação mecânica: Estudo piloto/ Érika Souza de Mattos; orientador: Maria Amália Gonzaga Ribeiro. – Aracaju, 2017.
60 f.

Monografia (graduação em Odontologia) – Universidade Federal de Sergipe, 2017.

1. Odontologia. 2. Terapia Fotodinâmica. 3. Ventilação Mecânica. I. Ribeiro, Maria Amália. Título: Descontaminação oral com terapia fotodinâmica em pacientes sob ventilação mecânica: Estudo piloto.

CDU 61

Curcumina. Terapia Fotodinâmica. MATTOS, Érika Souza. **DESCONTAMINAÇÃO ORAL COM TERAPIA FOTODINÂMICA EM PACIENTES SOB VENTILAÇÃO MECÂNICA: ESTUDO PILOTO.** Universidade Federal de Sergipe, 2017.

RESUMO

Em Unidades de Terapia Intensiva (UTI), as infecções respiratórias podem variar entre 20 a 40% de incidência e a mortalidade pode chegar a 80% dos infectados. A Pneumonia Associada à Ventilação Mecânica (PAVM) representa uma das principais infecções do âmbito hospitalar, comum aos pacientes em UTI com o agravante da higiene bucal geralmente deficiente, propiciando destarte a formação de um biofilme bucal com prevalência de microrganismos patogênicos, especialmente os respiratórios. A Terapia Fotodinâmica (TFD) é utilizada como antimicrobiano tópico, a qual consiste no uso de um fotossensibilizador que se liga a uma célula alvo, ativando-se por intermédio de uma luz visível, geralmente do tipo laser de baixa intensidade ou diodo emissor de luz (LED). Sendo assim, o presente trabalho avaliou o efeito antimicrobiano da TFD, utilizando como fotossensibilizador uma solução de Curcumina a 10% e como fonte de luz um LED de cor azul, observando-se a prevalência de microrganismos envolvidos na PAVM, por meio de um estudo piloto. Definiu-se a participação de pacientes internados em UTIs de um hospital em Aracaju-SE, com o período mínimo de utilização da ventilação mecânica (VM) por 48 horas, selecionados por demanda espontânea de outubro a dezembro de 2016 e que atendessem aos critérios determinados, para tal, dois pacientes foram selecionados e tratados com solução de Clorexidina 0,12%, seguindo o protocolo de desinfecção adotado pela instituição realizadora. Um paciente foi adicionalmente tratado com TFD, e, o segundo paciente serviu de controle, sem TFD. Realizaram-se coletas esfoliativas na região posterior do dorso lingual, bem como na superfície externa do tubo endotraqueal. Em relação aos períodos de recolhimento das amostras, determinou-se nove tempos de coleta para o grupo TFD e seis para o grupo CONTROLE. Ressalta-se que os critérios de avaliação foram semelhantes para ambos os grupos. Constatou-se nesse estudo preliminar que a capacidade de descontaminação da cavidade oral com clorexidina a 0,12% associada ao uso da terapia fotodinâmica foi eficiente como antimicrobiano tópico frente às bactérias envolvidas na PAVM.

Descritores: Curcumina. Terapia Fotodinâmica. Ventilação Mecânica.

MATTOS, Érika Souza. **ORAL DECONTAMINATION WITH PHOTODYNAMIC THERAPY IN PATIENTS ON MECHANICAL VENTILATION PILOT STUDY.** Federal University of Sergipe, 2017.

ABSTRACT

In Intensive Care Units (ICUs), respiratory infections can range from 20 to 40% and mortality can reach 80% of those infected. Ventilator-Associated Pneumonia (VAP) is one of the main hospital acquired infection common to patients in the ICU with generally poor oral hygiene, providing the formation of oral biofilm with a prevalence of pathogenic microorganisms, especially respiratory ones. Photodynamic Therapy (PDT) is used as topical antimicrobial, which consists in using a photosensitizer that binds to the target cell and is activated by visible light, generally a low intensity laser or light emitting diode (LED). Therefore, the present study aims to evaluate the antimicrobial effect of PDT, using Curcumin solution of 10% as photosensitizer and a blue LED, observing the prevalence of microorganisms involved in VAP by means of a pilot study. It was established the participation of patients hospitalized in ICUs of a hospital in Aracaju-SE, with the a minimum period of 48 hours in mechanical ventilation, selected by spontaneous demand from October to December of 2016 and meeting the defined criteria, to this end, two patients were selected and treated with a 0.12% Chlorhexidine solution, following the disinfection protocol adopted by the institution. One patient was further treated with PDT, and the second patient served as control, without PDT. Exfoliative collections were made on the posterior region of the lingual dorsum, and on the external surface of the endotracheal tube. Regarding the collection periods for the samples, it was determined nine collection times for the PDT group and six for the CONTROL group. It should be emphasized that the evaluation criteria were similar for both groups. In this preliminary study it was verified the decontamination capacity of the oral cavity with the use of PDT, as well as its antimicrobial action against bacteria involved in VAP.

Keywords:Curcumin. Photodynamic Therapy. Mechanical ventilation.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Estrutura Molecular da Curcumina	19
FIGURA 2 - Esquema ilustrativo metodológico aplicável ao grupo TFD	28
FIGURA 3 - Esquema ilustrativo metodológico aplicável ao grupo CONTROLE	29
FIGURA 4 - Esquema ilustrativo das etapas metodológicas executadas no estudo	32
FIGURA 5 - Esquema ilustrativo metodológico, evidenciando tempos comparativos de coleta para o grupo TFD	37
FIGURA 6 - Esquema ilustrativo metodológico, evidenciando tempos comparativos de coleta para o grupo CONTROLE	37

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 - Avaliação do comportamento microbiano global para o Grupo TFD	35
GRÁFICO 2 - Avaliação do comportamento microbiano global para o Grupo CONTROLE	36
GRÁFICO 3 - Avaliação comparativa da atenuação microbiana global.....	38
GRÁFICO 4 - Percentual de redução comparativa microbiana global	39
GRÁFICO 5 - Avaliação comparativa da redução da <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40
GRÁFICO 6 - Percentual de redução comparativa referente à <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	41
GRÁFICO 7 - Avaliação comparativa da <i>Acinetobacter spp</i>	42
GRÁFICO 8 - Percentual de redução comparativa referente à <i>Acinetobacter spp</i>	42

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 - Especificações técnicas do LED ECEL 450	24
QUADRO 2 - Ilustração metodológica do grupo TFD	27
QUADRO 3 - Ilustração metodológica do grupo CONTROLE.....	29

LISTA DE ABREVIATURAS

AMIB- Associação de Medicina Intensiva Brasileira

ANVISA- Agência Nacional de Vigilância Sanitária

FBHC- Fundação de Beneficência Hospital de Cirurgia

LED - *Light Emitting Diode*, Diodo Emissor de Luz

PAVM- Pneumonia Associada à Ventilação Mecânica

PDT- *Photodynamic Therapy*, Terapia Fotodinâmica

PN- Pneumonia Nosocomial

RDC- Resolução Delegada Colegiada

TFD- Terapia Fotodinâmica

UFC- Unidade Formadora de Colônia

UTI- Unidade de Terapia Intensiva

VM- Ventilação Mecânica

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 PNEUMONIA ASSOCIADA À VENTILAÇÃO MECÂNICA.	14
2.2 ODONTOLOGIA HOSPITALAR.....	16
2.3 TERAPIA FOTODINÂMICA	17
2.3.1 Curcumina.....	18
2.4 CLOREXIDINA.....	20
2.5 <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i>	21
2.6 <i>ACINETOBACTER SSP</i>	21
3. OBJETIVO	22
4. METODOLOGIA.....	23
4.1 ÁREA DE ESTUDO	23
4.2 DELINEAMENTO DO ESTUDO	23
4.2.1 Critérios de inclusão	25
4.2.2 Critérios de não inclusão.....	25
4.2.3 Critérios de exclusão.....	26
4.2.4 Grupo TFD.....	26
4.2.5 Grupo CONTROLE	28
4.2.6 Coleta das amostras.....	30
4.2.7 Processamento das amostras	31
4.3 ANÁLISE DOS DADOS COLETADOS.....	33
4.4 ASPECTOS ÉTICOS	33
5. RESULTADOS	35
6. DISCUSSÃO.....	44
7. CONCLUSÃO.....	50
8. REFERÊNCIAS	51

1. INTRODUÇÃO

Em unidades de terapia intensiva (UTI), a pneumonia associada à ventilação mecânica (PAVM) é a principal infecção nosocomial, responsável por altas taxas de morbidade, mortalidade, prolongamento do período de internamento e consequentemente aumento expressivo dos custos hospitalares. Seu estabelecimento se dá mais comumente pela aspiração do conteúdo presente na boca e faringe. Uma vez que a microflora oral abriga patógenos envolvidos na PAVM, a aspiração dessas bactérias pode causar infecção respiratória à distância. Considerando-se que cada milímetro cúbico de biofilme dental contém cerca de 100 milhões de microrganismos, a aspiração de uma alíquota deste valor por pacientes submetidos à assistência ventilatória mecânica (AVM) serve como reservatório de patógeno em potencial. (CRUZ et al., 2014; PASETTI, LEÃO e ARAKI, 2013; BARBOSA et al., 2010; ARAÚJO, VINAGRE e SAMPAIO, 2009).

A pneumonia nosocomial (PN) ou hospitalar é uma infecção do trato respiratório baixo, diagnosticada 48 horas após a internação do paciente, representando a primeira maior taxa de infecção em unidades de terapia intensiva, com índices que variam entre 10 a 15%. Observa-se também que 20 a 50% destes pacientes evoluem ao óbito. Nas UTIs estas taxas saltam de 20 a 40% de incidência, com a mortalidade podendo chegar até a 80% dos infectados. O percentual de mortes que poderiam ser evitadas pela ausência da infecção representa cerca de 33% a 50% dos casos. Ademais, o risco de desenvolvimento da PN aumenta significativamente quando o paciente evolue para ventilação mecânica, elevando o tempo de hospitalização, de 7 a 10 dias em média, assim como o risco potencial de instauração da PAVM. Esta representa um incremento significativo nos custos hospitalares, em média R\$ 10 a R\$ 15 mil reais por caso de PAVM, e, por fim, um número expressivo de óbitos. (CRUZ et al., 2014; PASETTI, LEÃO e ARAKI, 2013; BARBOSA et al., 2010; BERALDO e ANDRADE, 2008).

A terapia fotodinâmica (PDT, acrônimo de Photodynamic Therapy) foi primeiramente desenvolvida para tratamento de lesões cancerígenas, todavia atualmente se utiliza a mesma no tratamento de doenças infecciosas de origem bacteriana com exelentes resultados. Segundo Perussi et al. (2007), o mecanismo de ação da TFD consiste em gerar

dano seletivo as células. Esta técnica induz a citotoxicidade celular, associando a luz a substâncias fotossensíveis na presença de oxigênio. Para Henderson e Dougherth (1992), esta ação gera espécies reativas de oxigênio, entre elas o oxigênio singleto, que induz a morte de microrganismos no meio bucal. A curcumina é um fotossensibilizador empregado para realização da TFD antibacteriana, demonstrando excelentes resultados (ARAÚJO et al., 2012; DOVIGO et al., 2011; ANDRADE et al., 2013). De acordo com Araújo et al. (2012), a TFD tem demonstrado eficiência na redução dos microrganismos patogênicos na cavidade bucal, prevenindo e evitando doenças odontológicas até então tratadas de maneira convencional.

Devido ao número limitado de leitos hospitalares no Brasil, atividades que visem à redução do tempo de internamento e consequentemente acelerem a disponibilidade de leitos devem ser consideradas relevantes. Gerando, assim, subsídios para a atenuação desta infecção hospitalar, consequentemente reduzindo a morbi-mortalidade e o tempo de internamento a ela relacionado. O que significa não somente um melhor prognóstico aos pacientes que desses leitos necessitam, como também um menor custo por internamento. Os resultados obtidos, portanto, poderão ser revertidos em benefícios para a população em estudo. Diante disso, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito antimicrobiano da TFD com LED azul e Curcumina a 10% como fotossensibilizador, frente aos microrganismos na cavidade bucal de pacientes sob ventilação mecânica.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PNEUMONIA ASSOCIADA À VENTILAÇÃO MECÂNICA

O ambiente hospitalar é ricamente colonizado por patógenos que podem ser transmitidos por via endógena, causando infecções respiratórias, sobretudo a pneumonia que acomete especialmente pacientes em ventilação mecânica (BARBOSA et al., 2010). A pneumonia associada à ventilação mecânica (PAVM) é a infecção nosocomial pulmonar que ocorre de 48 a 72 horas após a intubação endotraqueal e início da ventilação mecânica invasiva. A ventilação mecânica se dá por intermédio de uma prótese, a qual é introduzida na via aérea, podendo ser um tubo orotraqueal, nasotraqueal, ou ainda uma cânula de traqueostomia. (ARAÚJO et al., 2012).

A aspiração de microrganismos presentes na orofaringe representa o meio mais comum de infecção, ressaltando a relevância da microbiota bucal na etiologia das infecções pulmonares. Quando se refere a indivíduos em unidades de terapia intensiva submetidos à assistência ventilatória mecânica, os mecanismos de defesa do trato respiratório como o reflexo de tosse, a capacidade de expectoração e as barreiras imunológicas estão comprometidas pela condição clínica. (BARBOSA et al., 2010).

A PAVM é descrita como precoce quando ocorre até o quarto dia, já dita tardia quando acontece após o quinto dia de intubação associada à ventilação, figurando como a principal infecção nosocomial em pacientes em assistência ventilatória mecânica (BERALDO e ANDRADE, 2008). A suspeita clínica da presença de PAVM se dá em função do aparecimento de um novo infiltrado pulmonar ou à progressão de um infiltrado prévio na radiografia de tórax, associado à presença de sinais clínicos e alterações laboratoriais, como febre, leucocitose, leucopenia e secreção purulenta (CARVALHO, 2006). Segundo Carvalho (2006) e Carmo et al. (2006), a PAVM é uma infecção grave, que ocorre em função de diferentes fatores. Dentre eles, o mais relevante diz respeito à aspiração de secreções para o

trato respiratório inferior, podendo variar dependendo da população estudada, do hospital e do tipo de unidade de terapia intensiva (UTI).

Quando os pacientes são submetidos à VM, os mecanismos de defesa do pulmão estão alterados e, na maioria das vezes, diminuídos. Há também a perda da proteção das vias aéreas superiores em pacientes intubados, ocasionando distúrbios na fisiologia respiratória normal durante a VM, que incluem desde a hipersecreção pulmonar até um aumento da frequência das infecções respiratórias, levando a um alto índice de morbimortalidade. Contudo, alguns fatores de riscos podem propiciar ambientes mais favoráveis para desenvolvimento da PAVM como a microbiota da própria UTI e a higiene bucal inadequada do acamado, tornando o biofilme um reservatório de patógenos que podem agravar o processo infeccioso, bem como causar infecções à distância pela aspiração do conteúdo da orofaringe. (ROCHA et al., 2008; CARVALHO et al., 2006; BARBOSA et al., 2010).

Algumas condutas visando à redução profilática dessa microbiota têm sido documentadas como a aplicação de antibióticos tópicos não absorvíveis para redução de tal organização bacteriana, não obstante o uso contínuo de antibióticos profiláticos aumenta o risco da indução e seleção de microrganismos resistentes (BERALDO e ANDRADE, 2008). Com o aumento da resistência bacteriana, terapias alternativas para desinfecção oral são de grande interesse (ANDRADE et al., 2013). Sendo esta uma patologia que requer atenção especial em ambiente hospitalar, o conhecimento dos agentes microbianos mais frequentes nas UTIs favorece a prescrição específica e rápida das medicações antimicrobianas, assim que há a suspeita da PAVM, o que garante uma maior possibilidade de sobrevida ao paciente. (CARMO et al., 2006; MORAIS et al., 2006).

2.2 ODONTOLOGIA HOSPITALAR

A odontologia hospitalar consiste na atuação profissional que visa à realização de cuidados e procedimentos clínicos em âmbito hospitalar, quer seja no paciente internado, em ambulatório ou *home care*. A odontologia hospitalar tem por objetivo proporcionar a tais pacientes, a melhora do quadro sistêmico, através da avaliação, diagnóstico, promoção e prevenção de agravos da saúde bucal. (PASETTI, LEÃO e ARAKI, 2013; SANTOS, et al. 2009).

A integração da Odontologia no universo hospitalar visa à atenção multiprofissional do paciente, favorecendo melhores prognósticos, diminuindo o tempo de recuperação e de permanência no leito. Além do projeto de lei nº 2.776\2008, em tramitação no senado federal, o trabalho desenvolvido pela Associação de Medicina Intensiva Brasileira (AMIB) fortaleceu a odontologia para que fosse inserida na Resolução Delegada Colegiada (RDC) nº 7, de 2010, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) no que diz respeito aos requisitos mínimos para o adequado funcionamento da UTI. A partir de então, a Odontologia foi devidamente incorporada aos cuidados intensivos, tendo esta resolução sua efetividade plena em 2013. (MORAIS; SILVA, 2015).

Os pacientes portadores de afecções sistêmicas e hospitalizados se encontram por vezes dependentes de cuidados, impedindo que mantenham uma higienização bucal adequada. Estes pacientes necessitam de profissionais para fazer essa higiene. A condição de higiene bucal deficiente desencadeia uma série de doenças orais, tais como: a xerostomia, periodontite e gengivite, potencializando focos de infecções que propiciam maior risco de complicações locais e sistêmicas. Nessa circunstância faz-se imprescindível a intervenção de um cirurgião dentista para a eficaz higienização bucal e contenção focal de infecções. Entretanto, mesmo com estudos comprovando que os cuidados com a higiene bucal em pacientes em UTI são imprescindíveis, a prática ainda é escassa nestas unidades. (CRUZ, MORAIS, TREVISANI, 2014; MORAIS et al., 2006).

2.3 TERAPIA FOTODINÂMICA

O conceito da Terapia Fotodinâmica foi introduzido por Oscar Raab em 1900, mas a era moderna da TFD iniciou-se na década de 60 com os estudos de Lipson, Baldes e Olsen (1964), que observaram fluorescência em lesões neoplásicas induzida por injeção de hematoporfirina em estado natural, com consequente melhor observação das lesões durante as cirurgias. Desde então, muitos estudos têm sido realizados para entender a eficácia e os mecanismos desses processos. (KURACHI, MORIYAMA e BAGNATO, 2010).

A TFD é considerada um método minimamente invasivo para o tratamento de doenças infecciosas sem apresentar efeitos colaterais (CARMELLO et.al, 2015; LEITE, et. Al, 2014). De acordo com INADA, (2012), a terapia fotodinâmica (TFD) é uma modalidade terapêutica que combina o uso de luz, oxigênio (O₂) e compostos fotossensíveis para causar morte às células alvo. Esta pode ser considerada uma importante alternativa aos métodos tradicionais de terapia antimicrobiana. A luz azul (405-470 nm) tem efeito antimicrobiano intrínseco, sugerindo, mesmo na ausência de substância fotossensível, desinfecção em meio bucal. Contudo, quando acrescido do fotossensibilizador, por exemplo, a Curcumina, a atividade antimicrobiana é potencializada pelos efeitos antioxidante, anti-inflamatório, antibacteriano, e antifúngico da mesma. Sendo esta associação, portanto, bastante significativa com objetivo de desinfecção. (LEITE et al., 2014; FONTANA et al. 2015).

A técnica empreendida consiste no uso de um fotossensibilizador que se liga a uma célula alvo e é ativado por uma luz visível, geralmente do tipo laser de baixa intensidade ou diodo emissor de luz (LED). As moléculas do fotossensibilizador excitadas pela luz transferem energia para o oxigênio, criando uma forma de oxigênio hiper-reativa e tóxica, denominada de oxigênio singleto, capaz de reagir com sistemas vivos, destruindo-os. O processo fotodinâmico requer o uso de um agente fotossensibilizante e fonte de luz com espectro de absorvância adequado. (CARMELLO et.al, 2015; LEITE, et. al, 2014).

A TFD torna-se, portanto, um método viável de destruição bacteriana sem, todavia, causar resistência microbiana, pois diferentemente dos antibióticos que agem em um alvo específico, o oxigênio singleto possui características de natureza multifuncional e pode

interagir com diversas estruturas celulares, reduzindo significativamente as chances de desenvolver resistência frente aos protocolos de TFD. Nesses casos usualmente substâncias antibióticas profiláticas são utilizadas, porém estes fármacos podem apresentar resultado indesejado, considerando os possíveis efeitos colaterais e o risco de resistência bacteriana. Diversos estudos em animais e em humanos têm mostrado resultados promissores quanto ao uso da TFD na eliminação de bactérias do biofilme supra e subgengival. Estudos avaliando a ação bactericida desta técnica, tendo a Curcumina como fotossensibilizador, têm apresentado bons indícios. (CARVALHO et al., 2011, CARMELLO et.al, 2015; LEITE, et. al, 2014; NAJAFI, et. al, 2016; SREEEDHA, et al, 2017).

2.3.1 Curcumina

A curcumina, principal corante isolado da *Curcuma longa*, há muito é motivo de estudo devido as suas propriedades medicinais relevantes como sua ação antimicrobiana. Estudos demonstram que a curcumina auxilia a imunomodulação da resposta inflamatória do hospedeiro, podendo atuar tanto na resposta celular quanto humoral do mesmo, auxiliando assim o processo cicatricial. (ANDRADE et al., 2013; ARAÚJO et al., 2012; DOVIGO et al., 2011; PIZZO et al., 2010).

A maioria dos estudos avaliando a eficácia da TFD em bactérias orais utilizam como substância fotossensível o azul de toluidina ou azul de metileno, irradiados por laser no espectro eletromagnético na cor vermelha. Todavia, nem um dos dois apresenta qualquer efeito antimicrobiano significativo isoladamente, dependendo sempre da conjugação imprescindível da fonte de luz para assegurar eficácia bactericida. O gel de curcumina, apesar de menos usual, apresenta efeito antimicrobiano, o qual é potencializado quando associado à TFD. (CARMELLO et.al, 2015; DOVIGO et al., 2011; SREEEDHA, et al, 2017;).

O trabalho de Andrade et al. (2013) que avaliou a ação antimicrobiana da terapia fotodinâmica com Curcumina, em diferentes períodos de irradiação e de contato do fotossensibilizador com a microbiota bucal demonstrou que o tempo de pré-irradiação

equivalente a 5 minutos da Curcumina em contato com os tecidos, permite uma ação efetiva para a TFD. Sendo este intervalo de tempo suficiente para interação satisfatória do fotossensibilizador com os tecidos da cavidade bucal. As propriedades químicas e biológicas de suas moléculas na presença de luz são alteradas e potencializadas. Deve-se ressaltar ainda que sua máxima absorção ocorre em comprimentos de onda relativamente baixos (300–500nm). Sendo assim, a curcumina apresenta pico de absorção amplo com uma banda de absorção máxima no comprimento de onda 430 nm. (ANDRADE et al. 2013; ARAÚJO et al., 2012; CARMELLO et.al.,DOVIGO et al. 2015; LEITE, et. al, 2014).

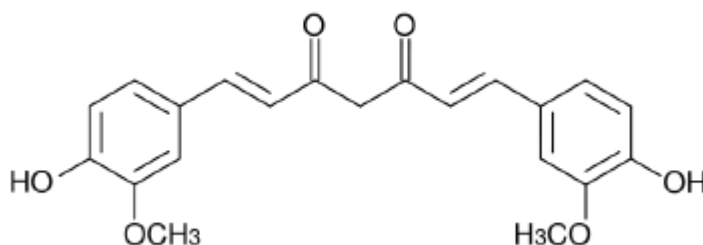


FIGURA 1: Estrutura Molecular da Curcumina (TOLEDO, 2013)

A utilização da Curcumina como fotossensibilizador deve ser restrita à aplicação tópica, sendo de uso ideal em feridas infectadas superficialmente ou em infecções orais. Isso se deve ao fato do comprimento de onda correspondente a sua fotoativação ser também o mesmo absorvido por biomoléculas, comprometendo, assim, sua penetração nos tecidos adjacentes. Além disso, a Curcumina possui baixa toxicidade no escuro, o que é uma característica esperada de um fotossensibilizador. (CAMPOS, SALLUM e MARQUES, 2013; HEGGE et al., 2011; LEITE et al., 2014). Carmello et al. (2015) observou que a TFD provoca danos extensos ao DNA bacteriano e fúngico que não foi reparado eficientemente devido à inibição causada pelo Curcumina. Este pode ser o mecanismo principal da atividade antimicrobiana e antifúngica mediada pela TFD com Curcumina.

O mecanismo de ação antimicrobiano multifuncional da Curcumina associada à terapia fotodinâmica, em contraponto aos antibióticos convencionais que agem em células-alvo específicas, ocorre através da síntese de tipos hiper-reativos de oxigênio que permitiram a adequada interação com a fonte de luz. Dessa forma, tal fotossensibilizador é passível de causar danos a diversas estruturas celulares e não somente aos sítios específicos como as terapêuticas antimicrobianas convencionais, evitando a resistência bacteriana. (CAMPOS, 2013).

2.4 CLOREXIDINA

A clorexidina é um antimicrobiano corriqueiramente utilizado na prática clínica odontológica com intuito de descontaminação, bem como profilaxia antimicrobiana. Esta foi sintetizada nos anos 40 e introduzida no mercado em 1954. Ela se caracteriza por ser um detergente catiônico da classe das bisbiguanidas. Atua contra microorganismos gram positivos e gram negativos. Seu mecanismo de ação segue o raciocínio aplicado aos agentes antimicrobianos específicos, visto que atua através da ligação aos sítios celulares característicos a fim de apresentar ação antimicrobiana satisfatória. Assim, em dosagens elevadas, ela causa precipitação e coagulação das proteínas citoplasmáticas e morte bacteriana e, em doses mais baixas, a integridade da membrana celular é alterada, resultando num extravasamento dos componentes bacterianos de baixo peso molecular. A clorexidina apresenta um tempo de permanência ativa na cavidade bucal, de aproximadamente 12 horas, o que é explicado pela sua natureza dicatiônica. (CAMACHO et al., 2016; ZANATA e ROSING, 2007).

2.5 *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

A *Pseudomonas aeruginosa* é um patógeno humano recalcitrante presente no biofilme, associado a altas taxas de resistência a múltiplos fármacos antibacterianos. Esta bactéria pode ser encontrada nos mais variados meios, devido à sua versatilidade catabólica e plasticidade genética. Ela é ainda conhecida como oportunista, já que apresenta grande potencial de virulência em pacientes com infecções nosocomiais, podendo agravar o quadro clínico. Nesse sentido a TFD se apresenta como uma abordagem antimicrobiana alternativa que explora a capacidade de desinfecção através do estresse oxidativo induzido por fotossensibilizadores exógenos mediante uma fonte de luz visível. Esse mecanismo produz oxigênio reativo por transferência de energia capaz de causar dano às células bacterianas. (ORLANDI et., al 2015; SETHUPATHY et al., 2016)

2.6 *ACINETOBACTER SPP*

Acinobacter spp é uma bactéria patogênica gram-negativa que apresenta resistência microbiana a determinadas drogas. Isso, porque possui mecanismo de resistência sinérgica, o qual possibilita que esse agente microbiano seja correlacionado com infecções muito persistentes. A resistência generalizada aos antibióticos tem levado a uma escassez de escolhas medicamentosas no tratamento de infecções por este patógeno, levando a busca de novas modalidades terapêuticas. Ademais, a *Acinobacter spp* figura entre as principais bactérias envolvidas na pneumonia associada à ventilação mecânica. Existem na literatura atual poucos relatos a respeito do comportamento antimicrobiano da teoria fotodinâmica frente a este microrganismo. Todavia, o mecanismo de indução da morte celular parece seguir o mesmo raciocínio aplicado às demais bactérias. (ARAÚJO et al., 2012; RAGÁS, et al., 2010)

3. OBJETIVO

A proposta deste estudo foi avaliar o efeito antimicrobiano da TFD com LED azul e Curcumina a 10% como fotossensibilizador, no número global de microrganismos na cavidade bucal de pacientes sob ventilação mecânica, em diferentes tempos de coleta.

4. METODOLOGIA

Trata-se de um ensaio clínico realizado pelo núcleo de pós-graduação em Odontologia da Universidade Federal de Sergipe (UFS) em parceria com a Fundação de Beneficência Hospital de Cirurgia (FBHC) sob autorização da diretoria de ensino e pesquisa da referida instituição. O presente estudo foi inserido na linha de pesquisa sobre terapia fotodinâmica coordenada pela Prof^a Dr^a Maria Amália Gonzaga Ribeiro, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Sergipe sob CAE 60933316.9.00005546 (Apêndice A). Desta forma, todos os responsáveis pelo internamento assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) concordando em participar voluntariamente desta pesquisa.

4.1. ÁREA DE ESTUDO

O estudo foi desenvolvido em Unidade de Terapia Intensiva (UTI) pertencente à Fundação de Beneficência Hospital de Cirurgia (FBHC), localizado na Avenida Desembargador Maynard, 174, Bairro Cirurgia, Aracaju-SE. Todos os dados obtidos para a execução da pesquisa foram coletados a partir da UTI Geral - FBHC, visando à obtenção de microrganismos provenientes e submetidos às mesmas condições físicas, químicas e biológicas.

4.2 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Foi realizado um estudo randomizado e controlado em pacientes internados sob ventilação mecânica nas unidades de terapia intensiva da Fundação de Beneficência Hospital de Cirurgia. Quanto ao fotossensibilizador, optou-se pela solução de Curcumina (Glucaminato de Curcumina) a 10%, (PDT Pharma, Cravinhos, SP, Brasil). No que se refere à fonte de luz, aplicou-se uma peça de mão de alumínio anodizado de 90g com LED de uso odontológico modelo ECEL 450 – São Carlos, SP, Brasil, (Registro ANVISA: 80366400006), aparelho que emite luz azul na faixa de 465-485 nm (± 20 nm).

Sendo a energia a quantidade de luz depositada no tecido a ser tratado em J (Joule), a potência, a quantidade de energia por unidade de tempo que é transmitida para o tecido durante a aplicação (J/s) e a irradiância a relação da potência pela área de aplicação em W/cm², os valores observados para o aparelho citado são os seguintes:

Especificações técnicas	Valores
Frequência LED ECEL 450	50/60 Hz
Intensidade	67 mW/cm ²
Fluência estimada	20,1 J/cm ²

QUADRO 1- Especificações técnicas do LED ECEL 450

FONTE: Manual de instruções fotopolimerizador EC450 (LED). Cap2. Ficha técnica.

Para a seleção das amostras referentes ao estudo piloto, não houve determinação específica da quantidade de pacientes a ser alcançada por se tratar de uma análise preliminar referente a um perfil de paciente muito restrito. No presente trabalho, portanto, realizaram-se coletas das amostras através de demanda espontânea no período de outubro a dezembro de 2016. Estas foram divididas igualmente em dois grupos, grupo TFD e grupo CONTROLE, análogo ao que ocorrerá com o estudo científico propriamente dito a posteriori.

4.2.1 Critérios de inclusão

Pacientes internados nas UTIs Adulto e Cardíaca da FBHC, que estejam sob ventilação mecânica por mais de 48h.

Autorização do responsável pelo internamento do paciente, por meio da assinatura do TCLE para a participação no estudo.

4.2.2 Critérios de não inclusão

Quando o responsável pelo internamento não autorizar a participação no estudo;

Pacientes internados nas UTIs que não estiverem sob ventilação mecânica;

Pacientes que derem entrada na UTI já em uso da ventilação mecânica;

Pacientes em uso de ventilação mecânica com restrições médicas, a exemplo do pós-operatório de algumas cirurgias neurológicas e os pacientes em isolamento de contato.

4.2.3 Critérios de exclusão

Pacientes incluídos na pesquisa que vierem a óbito durante as fases de aplicação e coleta do material biológico;

Quando mudança na decisão da participação na pesquisa pelo responsável ou o próprio paciente, após melhora do quadro clínico e retorno da consciência.

4.2.4 Grupo TFD

No grupo Terapia Fotodinâmica, atendendo aos critérios de inclusão no estudo, realizou-se pela manhã, às 7 horas, uma primeira coleta de material biológico por meio da técnica esfoliativa utilizando um swab estéril (Swab para Coleta e Transporte com Meio Amies – Estéril, modelo K41-0101 – OLEN, Brasil.) para recolhimento e armazenamento das amostras biológicas a cada coleta. Imediatamente após a mesma executou-se uma única aplicação tópica de 3ml da solução de Curcumina a 10%, aspirada do recipiente contendo o fotossensibilizador por meio de uma seringa de 3ml graduada descartável (LUER LOCK estéril Registro ANVISA: 8002610002), sobre dorso da língua e superfície externa do tubo endotraqueal na cavidade bucal, introduzidas na cavidade bucal com auxílio de uma espátula de madeira, envolvida por uma gaze estéril.

O tempo de esfregaço nas superfícies citadas foi de 30 segundos. A solução citada permaneceu em contato com as superfícies da cavidade bucal e superfície do tubo endotraqueal por mais 5 minutos, aferidos por meio de um cronômetro para o efetivo contato do fotossensibilizador com a flora destas regiões. Então, a cavidade bucal foi irradiada com luz azul, 02 cm da extremidade do aparelho de LED, previamente delimitada através de um stop acrílico de polimerização, acessório este que acompanha o aparelho.

Tanto o LED quanto o stop foram, portanto, envolvidos por uma camada de filme de PVC (Easy Pack 30m), o qual foi adequadamente removido, segundo os princípios de biossegurança biológica, a cada aplicação e troca de pacientes. Realizou-se também a desinfecção da caneta, ponta e cursor do aparelho a cada troca com Clorexidina 2% aquosa (Maquira Registro da ANVISA: 80322400005).

Inseriu-se o aparelho em cavidade bucal na região de linha média, apoiando-se sobre dentes ou rebordo gengival inferior em caso de participantes parcial ou totalmente edêntulos. Ativado, portanto, por aproximadamente 5 minutos em um único ponto de aplicação, o que levou a uma densidade de energia-dose de 20,1 J/cm².

As coletas e intervenções seguintes aplicadas ao grupo TFD serão descritas abaixo no quadro 2.

TEMPO	COLETA	INTERVENÇÃO
7h	1	Coleta seguida da TFD
7h	2	Coleta seguida da aplicação de Clorexidina 0,12%
7h	3	Coleta
10h	4	Coleta
13h	5	Coleta seguida da TFD
13h	6	Coleta
16h	7	Coleta
19h	8	Coleta seguida da aplicação de Clorexidina 0,12%
19h	9	Coleta

QUADRO 2 – Ilustração metodológica do grupo TFD.

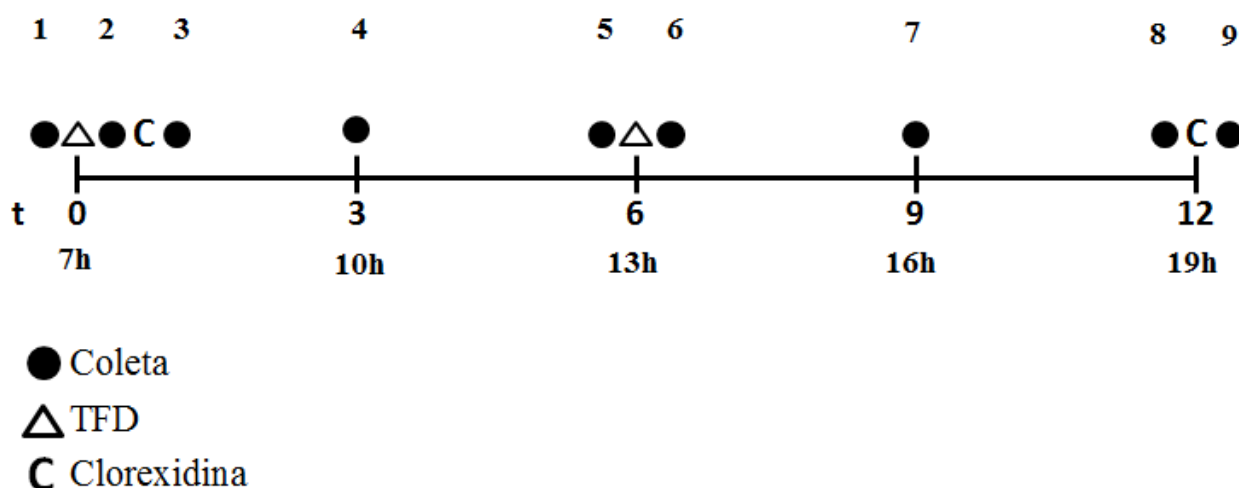


FIGURA 2: Esquema ilustrativo metodológico aplicável ao grupo TFD

4.2.5 Grupo CONTROLE

Neste grupo manteve-se o protocolo de higiene bucal com solução de clorexidina a 0,12% a cada 12 horas, rotina previamente adotada pela instituição seguindo as recomendações da AMIB, sem TFD. Realizou-se nesse grupo, coletas do material biológico sobre dorso de língua e superfície externa do tubo endotraqueal com intervalos de três horas entre as mesmas, perfazendo um total de 6 coletas.

Sendo a primeira coleta logo antes da desinfecção com clorexidina a 0,12% e a segunda imediatamente após a mesma. As coletas e intervenções aplicadas ao grupo TFD serão descritas abaixo no quadro 3.

TEMPO	COLETA	INTERVENÇÃO
7h	1	Coleta seguida de aplicação de Clorexidina 0,12%
7h	2	Coleta
10h	3	Coleta
13h	4	Coleta
16h	5	Coleta
19h	6	Coleta

QUADRO 3 – Ilustração metodológica do grupo CONTROLE

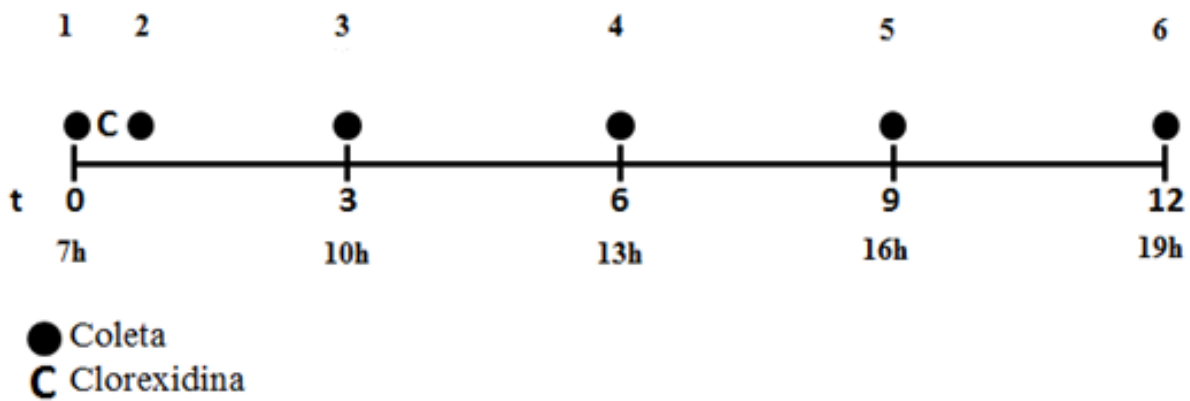


FIGURA 3: Esquema ilustrativo metodológico aplicável ao grupo CONTROLE

4.2.6 Coleta das amostras

No período de outubro a dezembro de 2016, foram selecionados dois pacientes para o projeto, sendo um do sexo feminino e outro do sexo masculino. Ambos estavam internados na UTI geral pertencentes à FBHC. Além de preencher os requisitos fundamentais para inserção no estudo, os mesmos estavam submetidos à terapêutica antibiótica sistêmica semelhante quanto à dosagem e posologia. Estes foram distribuídos aleatoriamente entre os grupos avaliados.

As amostras foram coletadas pela técnica esfoliativa por dois examinadores previamente calibrados. As áreas de coleta se restringiram ao dorso posterior da língua e superfície externa do tubo orotraqueal em contato com a língua, utilizando escovas citológicas (SWAB- para Coleta e Transporte com Meio Amies – Estéril, modelo K41-0101 – OLEN, Brasil- Registro ANVISA: 80884880003).

O material coletado foi imediatamente semeado e armazenado em placas de petri para cultivo de 90mm. As amostras permaneceram incubadas sob condições microaerofílicas em estufa a 36° C pelo intervalo de 18 a 24 horas.

Após o intervalo citado, as amostras foram destinadas ao laboratório Saúde Clínicas e Laboratório localizado na Avenida Ayrton Senna, número 751, bairro Rosa Elze, São Cristóvão-SE, CEP: 49.100-000, para o processamento até o tempo limite máximo de 24 horas após a coleta. Durante o transporte, o material foi mantido em temperatura controlada de 20 a 30° C por intermédio de uma caixa térmica. Neste mesmo laboratório foram realizadas as identificações e análises microbiológicas.

4.2.7 Processamento das amostras

As amostras coletadas de cada paciente, armazenadas anteriormente em tubos estéreis com 1 ml de solução salina, foram encaminhadas ao laboratório da instituição realizadora para processamento imediatamente após a coleta. Neste, com auxílio de uma alça calibradora de 0,1ml, correspondente a 10% da alíquota coletada, semeou-se o percentual colhido em placas de petri contendo meios de cultura.

Os meios utilizados correspondem ao ágar nutriente e ágar Mac Conkey. Utilizaram-se placas contendo ágar nutriente para análise não seletiva dos componentes bacterianos encontrados em cavidade oral, avaliando de forma generalista a esporulação de bacilos Gram-positivos e permitindo a contagem global destes. O meio ágar Mac Conkey possui cristal violeta que inibe o crescimento de microrganismos Gram positivos especialmente *Enterococos* e *Estafilococos*. Logo, utilizou-se tal meio para avaliação da presença dos microrganismos específicos como os bacilos Gram negativos *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinobacter spp.*

Treze diluições sucessivas e seriadas foram realizadas e alíquotas de 25µl de cada diluição semeadas em placas de petri 90 mm x 15 mm descartáveis, estéreis e lisas, material em poliestireno. Os números de unidades formadoras de colônias (UFC) foram obtidos através de contagem manual e multiplicados pelo fator de diluição 10^3 .

Aplicou-se técnica de repique para identificação adequada das colônias, bem como testes bioquímicos de identificação para análise fenotípica das bactérias, tais como prova da lisina, meio citrato, teste da fenilalanina, TSI e RUGAI.

Após essas considerações e operações matemáticas, foi possível, então, relacionar os resultados.

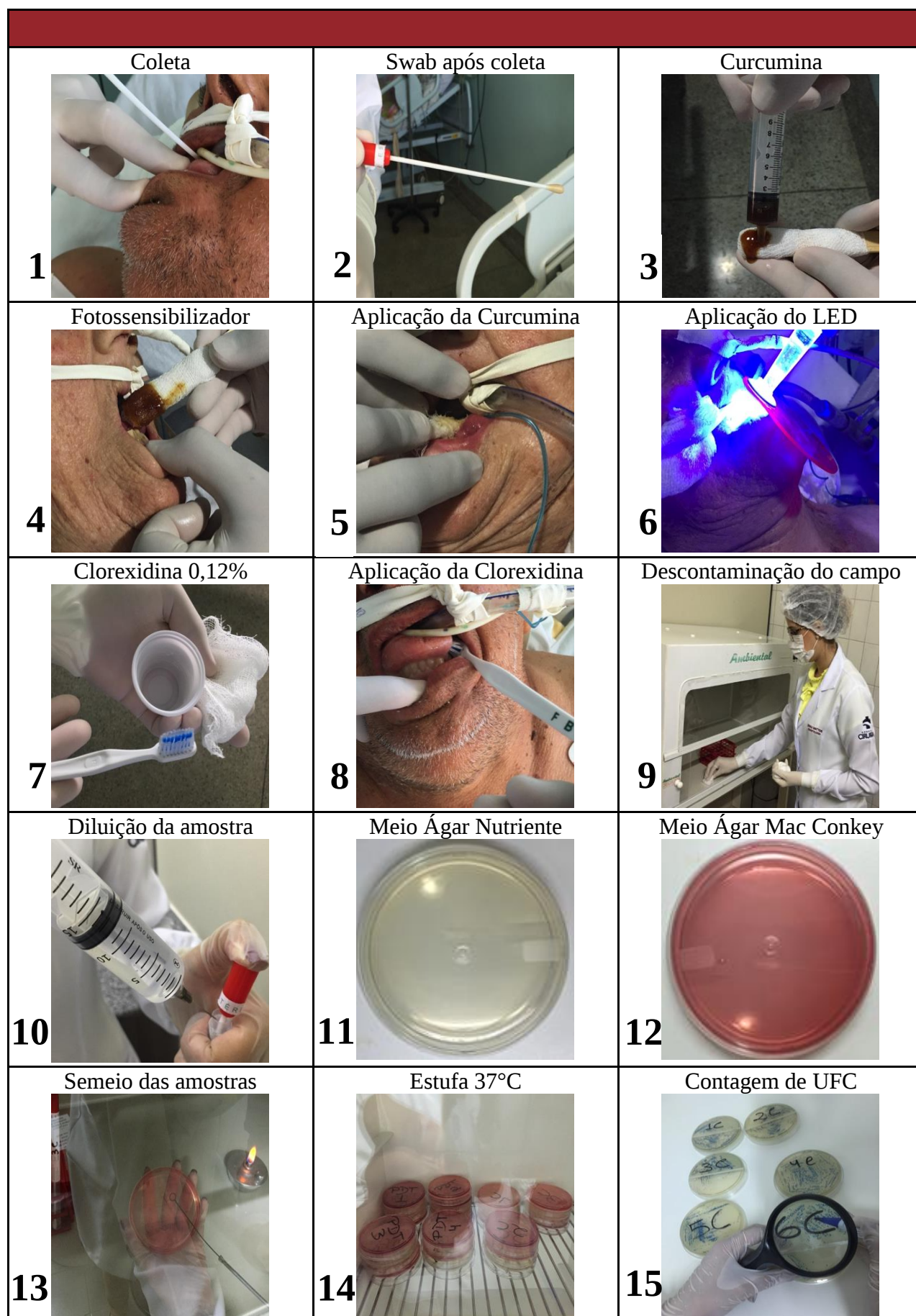


FIGURA 4 – Esquema ilustrativo das etapas metodológicas executadas no estudo

4.3 ANÁLISE DOS DADOS COLETADOS

Os dados obtidos com o ensaio clínico foram submetidos à análise descritiva por se tratar de um estudo piloto contemplando apenas um paciente por grupo no período de outubro a dezembro de 2016. Inviabilizando uma possível análise estatística das informações colhidas. Os valores verificados foram organizados em tabelas e ilustrados em gráficos.

4.4 ASPECTOS ÉTICOS

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Plataforma Brasil, atendendo aos princípios éticos segundo a atual Resolução 466, de 12 de outubro de 2012 do Conselho Nacional de Saúde (Anexo A).

O presente trabalho foi ainda sujeito à apreciação da Diretoria de Ensino e Pesquisa da Fundação de Beneficência Hospital de Cirurgia, a qual deferiu como pertinente a sua realização, assim como autorizou o desempenho das atividades referentes à pesquisa em suas dependências. Esta instituição esteve ciente também das suas corresponsabilidades como entidade coparticipante do projeto de pesquisa, bem como do seu compromisso no resguardo da segurança e bem-estar dos sujeitos de pesquisa nela recrutados, dispondo de infraestrutura necessária para a garantia de tal resguardo.

A pesquisa se desenvolveu mediante concordância do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (Apêndice B), assinado em duas vias por um familiar de primeiro grau do paciente ou responsável pelo internamento, permanecendo uma cópia com o responsável pela autorização e outra cópia com os pesquisadores. Neste termo constam os esclarecimentos sobre a pesquisa, solicitação para o fornecimento das informações necessárias

e autorização para a participação no estudo. O participante, familiar ou responsável pôde desistir a qualquer momento da participação, retirando seu consentimento sem que houvesse nenhuma alteração na conduta terapêutica definida pela equipe que compunha a UTI, prejuízo ou penalidade ao voluntário.

Todas as informações obtidas são sigilosas e os nomes não foram identificados em nenhum momento. Dessa maneira, tanto as informações, quanto as amostras permanecerão armazenadas em local seguro e somente divulgadas com fins científicos, preservando o anonimato dos voluntários. Após a elaboração do banco de dados, os documentos foram arquivados em local de acesso exclusivo dos pesquisadores, e os mesmos serão destruídos após cinco anos. Cabe ressaltar ainda que a concordância em participar da pesquisa não retirou nenhum dos direitos legais, no caso de negligência ou má prática de qualquer pessoa ou instituição envolvida.

5 RESULTADOS

Os resultados foram expostos por meio de análise descritiva, de acordo com as variáveis testadas: procedimento experimental, tempo e microrganismos testados.

A análise descritiva dos resultados se baseou inicialmente na avaliação do comportamento microbiano por grupo ao longo das 12 horas do estudo. Dessa maneira, contemplando a investigação de todos os tempos de coleta por grupo a princípio. Os valores absolutos encontrados em relação ao comportamento microbiano global do Grupo TFD estão demonstrados no gráfico 1.

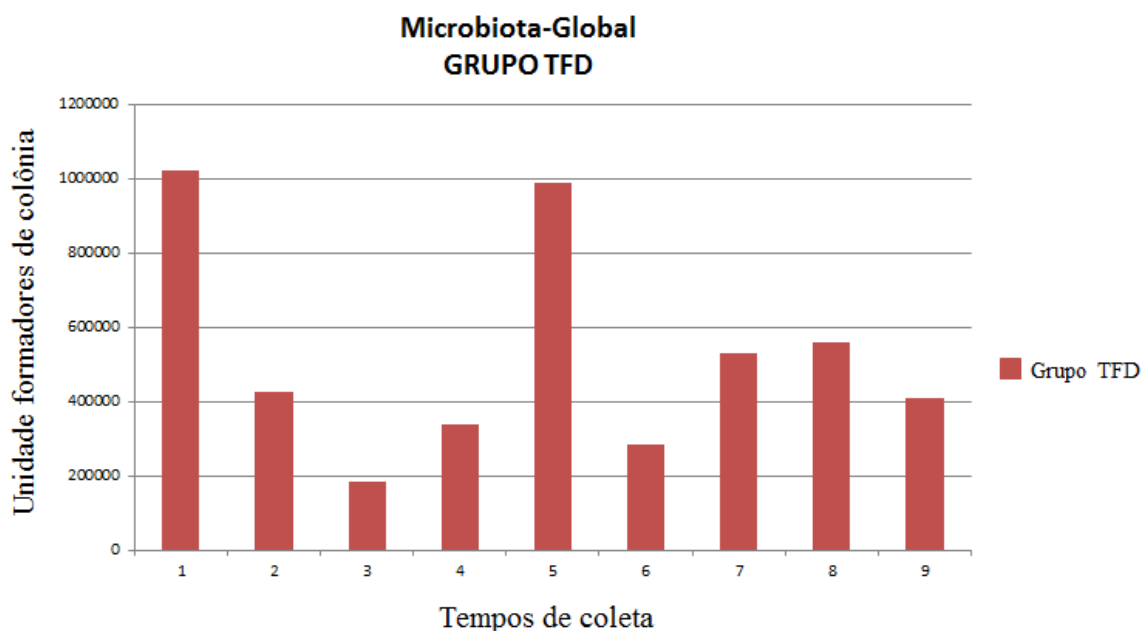


GRÁFICO 1- Avaliação do comportamento microbiana global para o Grupo TFD.

Os resultados obtidos em relação ao comportamento microbiano global do Grupo CONTROLE estão demonstrados no gráfico 2.

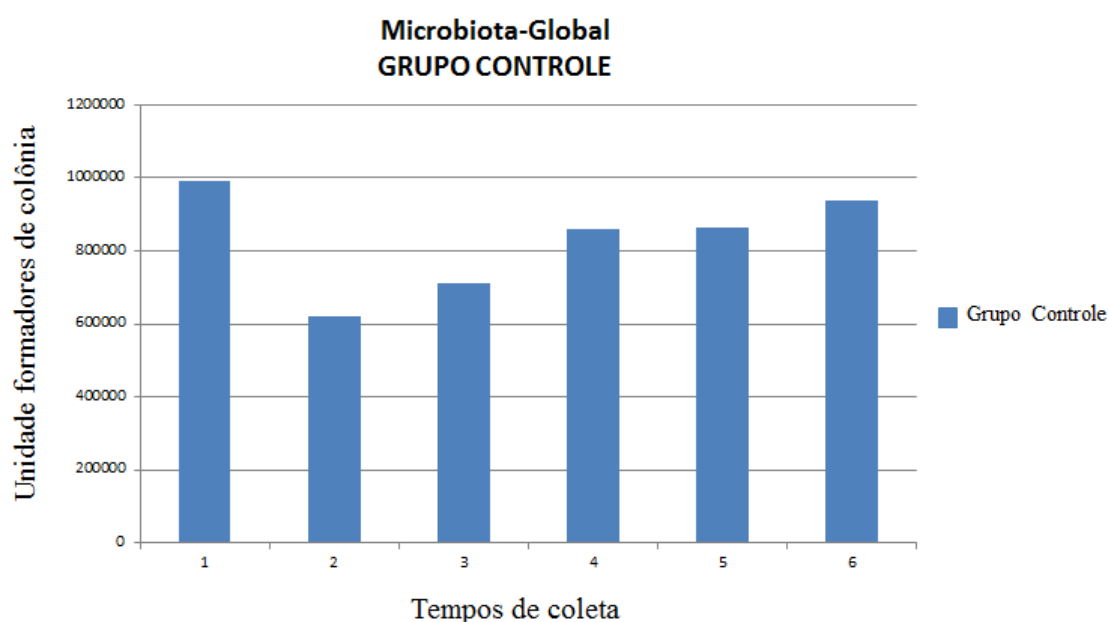


GRÁFICO 2 - Avaliação do comportamento microbiana global para o Grupo CONTROLE.

A colonização bacteriana apresentou uma atenuação proliferativa após a intervenção fotodinâmica, demonstrando uma redução dos agentes microbianos nos tempos 2 e 6 correspondente à 58,17% e 71,39% respectivamente no Grupo TFD. A clorexidina 0,12% também revelou uma diminuição da população microbiana, apesar de menos expressiva, evidenciável nos tempos 3, associada ao TFD, e 9 de 56,58% e 38,1% nesta ordem em relação ao mesmo grupo. Ademais, a associação da TFD com a Clorexidina 0,12% demonstrou redução dos microrganismos gerais, quando esta foi aplicada prontamente à terapia fotodinâmica, no tempo 3 equivalente à 81,82% para o referido grupo.

A redução de bactérias após aplicação tópica da Clorexidina 0,12% também é observável no tempo 2 correspondente ao grupo CONTROLE de 37,5% . Embora neste grupo

posteriormente haja uma crescente contínua de proliferação microbiológica evidenciável nos demais períodos de coleta para este grupo.

A análise descritiva dos resultados seguintes se baseou na comparação entre os grupos de acordo com os tempos de coleta e momentos de intervenção equivalentes. Nesse sentido, confrontaram-se os dados a saber:

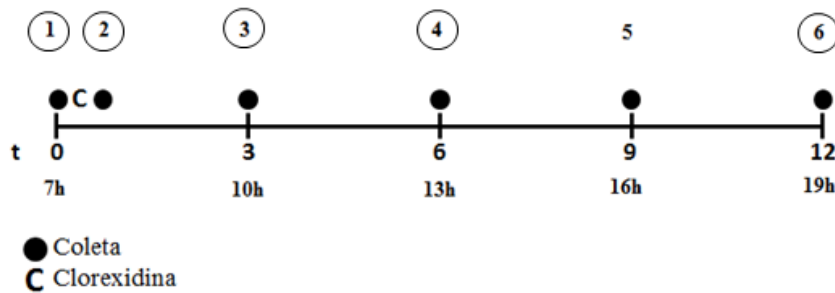


FIGURA 5 - Esquema ilustrativo metodológico, evidenciando tempos comparativos de coleta para o grupo TFD.

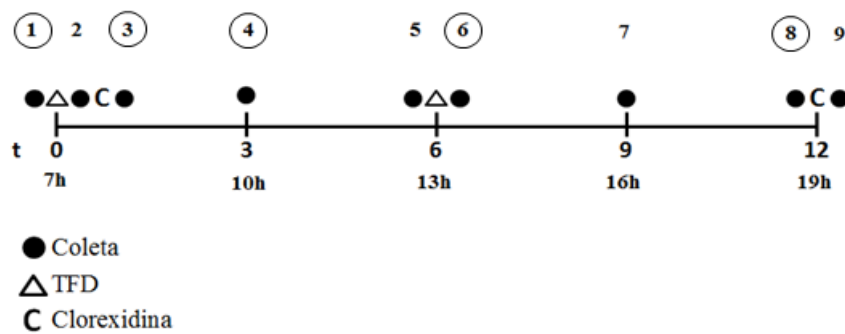


FIGURA 6 - Esquema ilustrativo metodológico, evidenciando tempos comparativos de coleta para o grupo CONTROLE.

Os Valores absolutos da avaliação descritiva e comparativa referente à redução global dos microrganismos estão demonstrados no gráfico 3.

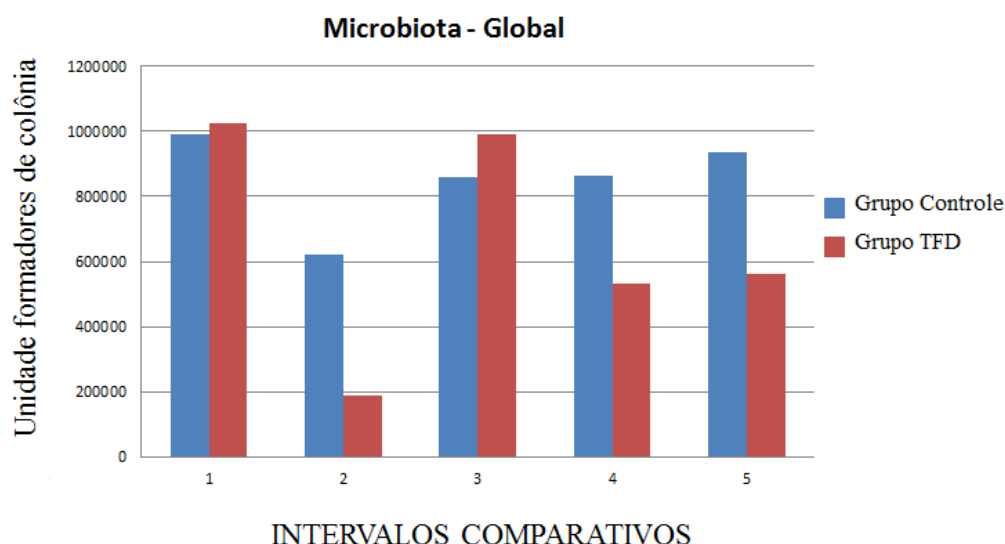


GRÁFICO 3- Avaliação comparativa da atenuação microbiana global.

Ressalta-se que o primeiro momento citado representa a colonização microbiana anterior à intervenção. O segundo intervalo compara os dois grupos imediatamente após as intervenções. No grupo TFD representa o resultado da associação entre a TFD e Clorexidina 0,12%. Já no grupo CONTROLE, o segundo momento diz respeito à coleta logo após a aplicação da Clorexidina 0,12%. O terceiro intervalo demonstra a colonização microbiana 3 horas após as intervenções. O quarto, por sua vez, representa a coleta imediatamente após a nova aplicação da terapia fotodinâmica para o grupo TFD, 6 horas depois do início das coletas, todavia demonstra exclusivamente a colonização de microrganismos após 6 horas para o grupo CONTROLE. O último intervalo avalia ambos os grupos 12 horas após o início do estudo.

O gráfico 4 mostra o percentual de atenuação da microbiota global entre os grupos para os mesmos intervalos, desconsiderando o primeiro momento em razão deste representar o início da análise e, portanto, não apresentar redução possível.

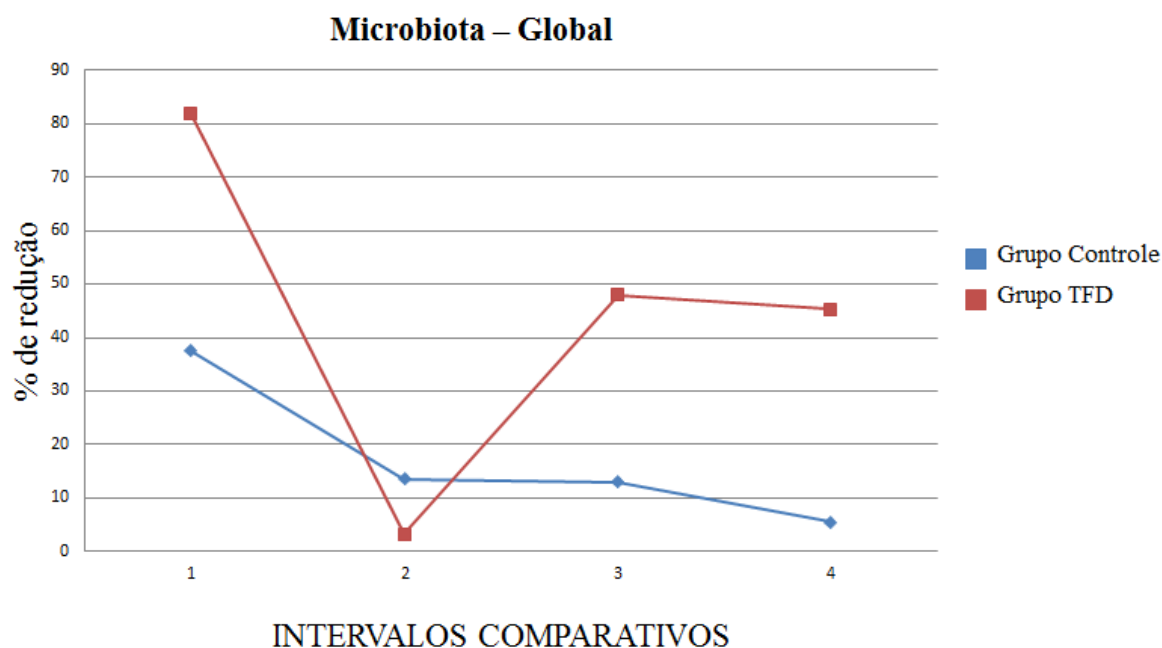


GRÁFICO 4- Percentual de redução comparativa microbiana global.

O grupo TFD demonstrou uma atenuação significativa dos microrganismos gerais de aproximadamente 81,82% no intervalo de redução 1, após a intervenção associada entre TFD e Clorexidina 0,12%, quando confrontado com o grupo CONTROLE, no qual houve apenas ação exclusiva da Clorexidina 0,12%, apresentando 37,5% de diminuição. Contudo, passadas 3 horas das terapias associadas, o grupo TFD apresentou um aumento microbiano mais expressivo de aproximadamente 7% em relação ao outro grupo. O percentual de redução do grupo TFD, após a nova intervenção da terapia fotodinâmica no intervalo de redução 3, revela um decréscimo significativo de 32,9% comparado ao grupo CONTROLE, no qual houve a manutenção aproximada da contaminação microbiana generalista. No quinto momento de confronto entre os grupos, 12 horas após o início da análise, observar-se uma redução ainda mais relevante para o grupo TFD cerca de 37,2% em relação ao outro grupo que apresentou crescimento estimado de 4% .

A análise comparativa do comportamento referente à *Pseudomonas aeruginosa* ao longo do estudo, tal qual o percentual de redução desse agente microbiano são demonstrados nos gráficos 5 e 6 respectivamente.

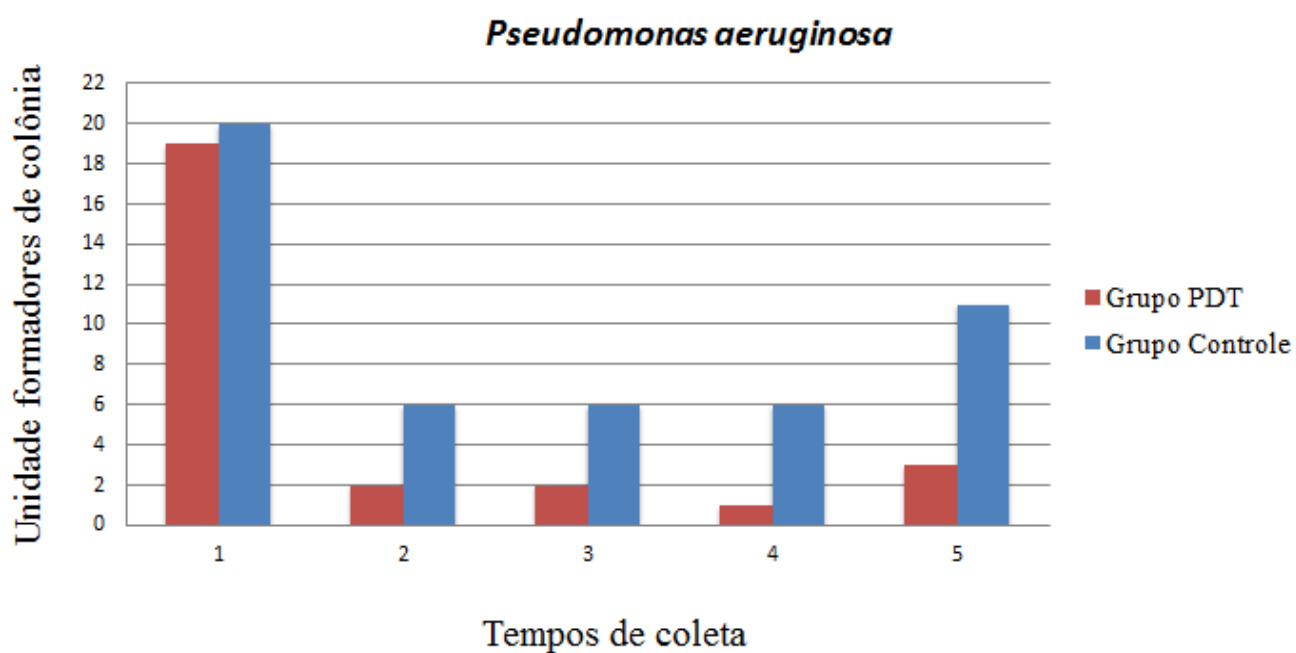


GRÁFICO 5- Avaliação comparativa da redução da *Pseudomonas aeruginosa*.

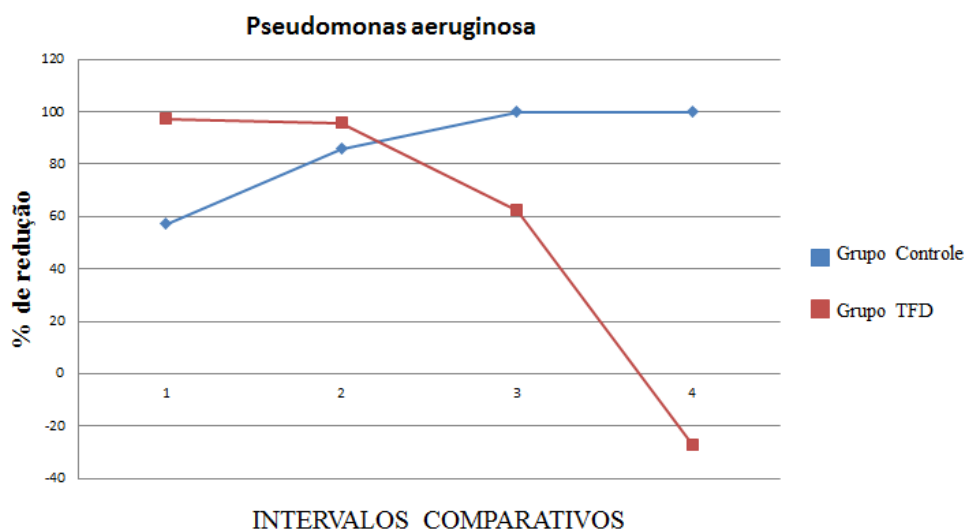


GRÁFICO 6 - Avaliação comparativa da redução da *Pseudomonas aeruginosa*.

O comportamento microbiano em relação à *Pseudomonas aeruginosa* demonstra que houve um importante decréscimo da proliferação microbiana no primeiro intervalo comparativo de 89,5% no grupo TFD, frente à associação terapêutica, equivalendo a uma atenuação do crescimento microbiológico de aproximadamente 18% em relação ao grupo CONTROLE neste intervalo e mantendo esse percentual nas 3 horas seguintes. O grupo CONTROLE apresentou uma redução de 30% no intervalo comparativo 1, referente a aplicação tópica da Clorexidina 0,12%, permanecendo com tal porcentagem nas próximas 9 horas. Após a nova aplicação da TFD, houve uma redução de 50% do referido agente microbiano presente para o grupo TFD. Todavia, tanto o grupo TFD quanto o grupo CONTROLE exprimiram aumento no intervalo comparativo 4 de 66,7% e 45,6% respectivamente, após 12 horas da avaliação inicial.

Os gráficos 7 e 8 exibem a avaliação comparativa do comportamento microbiano da *Acinetobacter spp* ao longo do estudo.

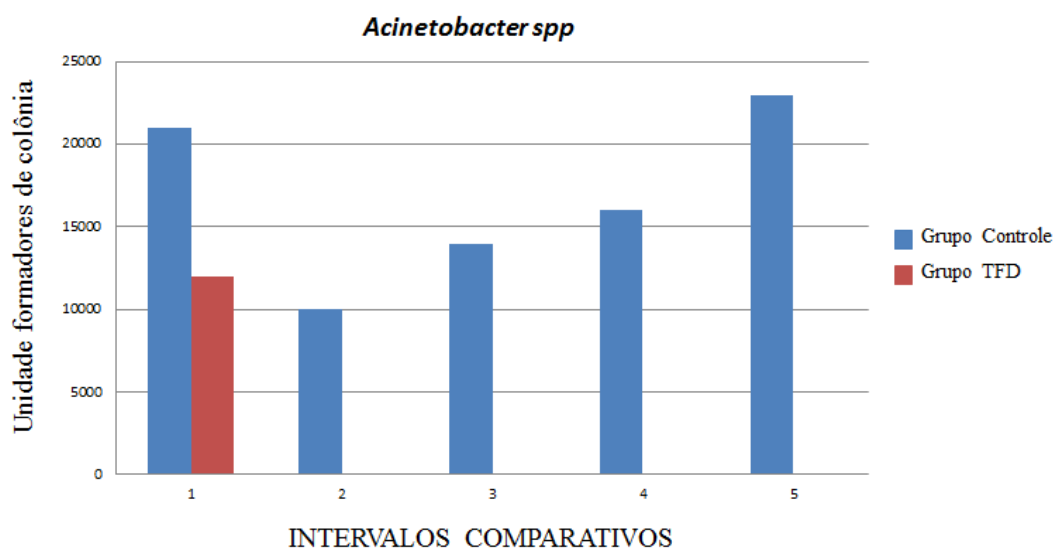


GRÁFICO 7- Avaliação comparativa da redução da *Acinetobacter spp.*

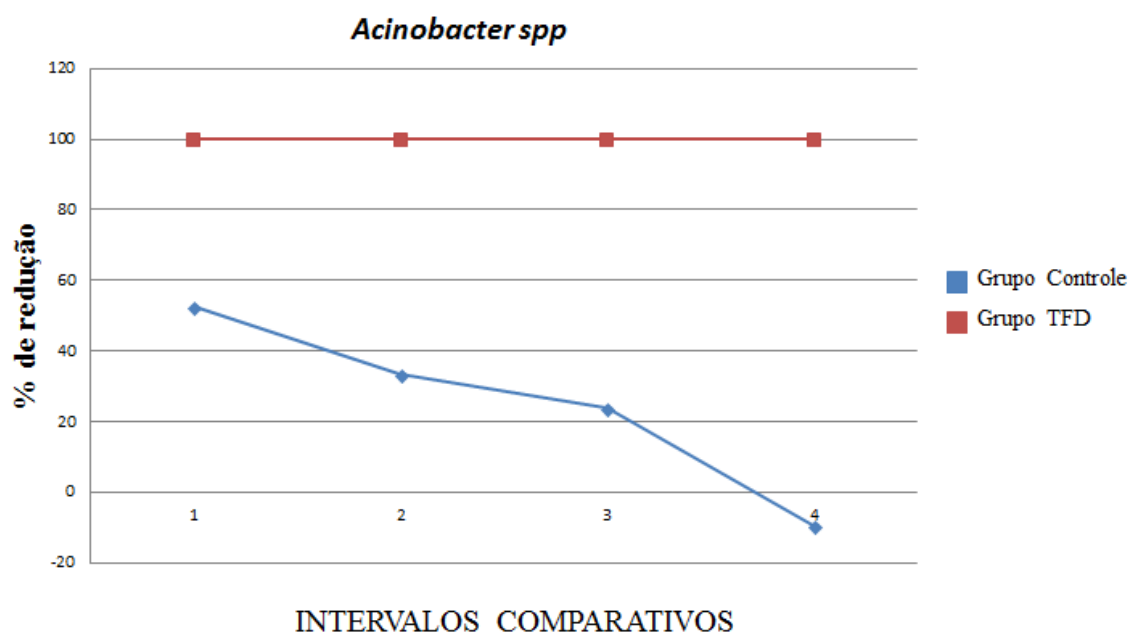


GRÁFICO 8- Percentual de redução comparativa referente à *Acinetobacter spp.*

Os resultados específicos observados para a bactéria *Acinetobacter spp* revelam o desaparecimento da espécie, 100% de atenuação, após a associação terapêutica entre TFD e Clorexidina 0,12% no intervalo comparativo 1, mantendo-se desta forma ao longo de todo o estudo. No grupo CONTROLE, todavia, a mesma apresentou aumento expressivo durante as 12 horas, determinando um percentual ao final das coletas, intervalo comparativo 4, de 94,4% do valor inicialmente encontrado.

6 DISCUSSÃO

No presente ensaio clínico, a descontaminação oral com terapia fotodinâmica, associada à Curcumina 10% como fotossensibilizador e LED como fonte de luz, apresentou efeito antimicrobiano. Observou-se redução expressiva dos microrganismos na contagem geral das bactérias 58,17% e 71,39%, considerando-se os diferentes tempos de coleta. Estes resultados estão de acordo com aqueles encontrados por Najafi (2016) e Sreedha (2017). A atenuação significativa da colonização bacteriana após a intervenção da terapia fotodinâmica quando comparada ao grupo CONTROLE parece está relacionada com o efeito não seletivo imediato da TFD, na qual ocorre síntese de tipos hiper-reativos de oxigênio, permitindo que sua ação possa causar danos a várias estruturas celulares instantaneamente. (CARMELLO et.al, 2015; LEITE, et. al, 2014)

As moléculas do fotossensibilizador excitadas pela luz transferem energia para o oxigênio, criando uma forma de oxigênio hiper-reativa e tóxica, capaz de reagir com sistemas vivos, destruindo a viabilidade bacteriana. Sendo assim, o mecanismo de ação envolve a absorção de fótons pela substância fotossensibilizadora em presença de oxigênio, gerando elétrons em estado excitado. Esse estresse oxidativo leva à transferência de elétrons para o oxigênio. A fotossensibilização resulta em espécies reativas capazes de indução e inativação celular bacteriana, mesmo em agentes microbianos mais resistentes as terapias convencionais. Dessa forma, sugerindo para a TFD uma redução imediata mais significativa quando comparada aos antibióticos utilizados rotineiramente na odontologia. (CARMELLO et.al, 2015; LEITE, et. Al, 2014; SREEDHA et al., 2017; SHAMSOULMOLOUK, et al., 2016).

Nesse estudo pode-se verificar que o efeito antimicrobiano atribuído à terapia fotodinâmica apresentou índices de redução imediata de microrganismos significativos quando comparado ao grupo CONTROLE. Contudo, essa terapia não foi capaz de impedir o crescimento bacteriano, próximo ao inicial, após 6 horas, o que corrobora com os estudos realizados por Najafi (2016), Sreedha (2017) e Leite (2014). Pode-se atribuir esta evidência ao fato do mecanismo de ação da TFD gerar um estresse oxidativo temporário, associado à fotoexcitação de estruturas intracelulares endógenas, o qual pode ser potencializado pela capacidade de determinados microrganismos de captar a luz, induzindo respostas fisiológicas

exacerbadas pelos receptores luminosos. Dessa maneira, demonstrando uma ação de descontaminação expressiva assim que aplicado, porém sem ter efeito muito prolongado. Sugerindo necessidade de nova intervenção após este intervalo (CARMELLO, et al., 2015). Devido a tal consideração, os tempos de coleta para consequente análise dos dados no trabalho foram definidos de três em três horas, a fim de avaliar o comportamento microbiano intermediário, com nova aplicação da TFD após 6 horas do início do protocolo, assim como coletas de três em três horas para o grupo CONTROLE. Segundo Rosing e Zatana (2007) e Camacho et al. (2016), o tempo de permanência da Clorexidina 0,12% na cavidade bucal é 12 horas, por tal o intervalo total do estudo comtemplou esse período com intuito de observar inicialmente o efeito da TFD sem influência da Clorexina 0,12%. Esta foi aplicada de 12 horas em 12 horas, respeitando os princípios de beneficência e não maleficência.

Em relação à associação TFD com Curcumina 10%, observaram-se bons resultados quanto à desinfecção exercida por este protocolo terapêutico. Evidenciados pela atenuação significativa dos agentes microbianos neste estudo, o que também foi comprovado pelos trabalhos de Araújo (2014), Leite (2014) e Sreedha (2017). Sugere-se que a redução dos patógenos bucais quando submetidos à terapia fotodinâmica, realizada com Curcumina 10%, pode ser atribuída à associação bem sucedida entre a Curcumina 10% e o LED azul. O efeito antimicrobiano da Curcumina 10%, mesmo que menos efetivo em pequenas concentrações sem fotoativação, leva à descontaminação de microrganismos presentes na cavidade bucal pré-tratamento (PASCHOAL, 2013; SREEDHAR, 2017). Isso, porque esta substância apresenta ação bactericida isoladamente, que é exacerbada em concentrações micromolares pela ativação do LED. A sua ação antimicrobiana, quanto substância pura, permite que nos primeiros 5 minutos de contato com os tecidos sem luz exerça efeito bactericida, o qual será posteriormente ampliado pela fotoativação na TFD. Dessa forma, justificando a sua pertinente escolha em associação com o LED na cor azul para a descontaminação frente os demais fotossensibilizadores rotineiramente utilizados como o azul de metileno, que isoladamente não apresenta efeito antimicrobiano significativo sem fotoativação. (CARMELLO et.al, 2015; DOVIGO et al.; PASCHOAL, 2013).

Supõe-se ainda que a ação bactericida expressada pela TFD associada à Curcumina 10% fotoativada por 5 minutos ininterruptos nesse estudo seja também explicada pelo comportamento desta substância. O corante funciona como óptico agente de absorção que é ativado por irradiação, resultando na geração de espécies citotóxicas, incluindo oxigênio

singlete e radicais, que exercem um efeito bactericida, mas que não são tóxicas para as células hospedeiras. Este se liga à parede celular bacteriana e destrói o patógeno. Quando há a irradiação, tal efeito é potencializado, levando a efetiva ação bactericida que se prolonga por algumas horas. A comparação entre os tempos de irradiação da Curcumina 10% com LED, realizados por Andrade, et al (2012) e Sreedhar et al. (2017), demonstraram que a ativação por 5 minutos revela excelente potencial de descontaminação, corroborando com os dados evidenciados no presente trabalho. Dessa forma, a Curcumina 10% parece incrementar a ação da TFD para fins de descontaminação bucal. (ANDRADE, 2013; ARAÚJO, et al., 2014; LEITE et al., 2014; SREEDHA, et al., 2017).

Todas as associações de Curcumina e LED foram capazes de diminuir o número de bactérias viáveis em comparação com o grupo controle. Os resultados obtidos demonstraram que a ativação do fotossensibilizador com o diodo emissor de luz (LED), com comprimento de onda 465-485 nm, se mostrou efetiva do ponto de vista de morte bacteriana, visto que apresentou uma redução de 58,17% dos patógenos orais em seu primeiro momento de aplicação. Este achado corrobora com os dados obtidos por Paschoal, et al. (2013) e Nagafi et al. (2016), os quais avaliaram a ação antimicrobiana da terapia fotodinâmica com curcumina utilizando intervalos de comprimento de onda semelhantes. Devido ao comprimento de onda e sua pigmentação, a curcumina é fotoativa pela luz azul visível, em geral, por um diodo emissor de luz que emite luz no comprimento de onda desejado. Segundo Paschoal et al, (2013), o potencial máximo de absorção da Curcumina 10%, e consequente melhor efeito bactericida, ocorre no intervalo entre 300nm e 500nm. Sendo assim, sugere-se que o uso do LED ECEL 450 (465-485nm) permitiu a ação antimicrobiana desejada no presente estudo, justificando sua escolha para esta análise (ANDRADE et al. 2012, ARAÚJO et al., 2012; CARMELLO et.al, 2015; DOVIGO et al., 2011).

Observou-se que o grupo CONTROLE, tratado apenas com Clorexidina 0,12%, também apresentou recolonização bacteriana. O crescimento microbiano ocorreu de forma crescente ao longo do estudo, sendo este em maior proporção inicialmente quando comparado com o grupo TFD. Este resultado está de acordo com Rosing e Zanatta (2007). Esta evidência sugere que a Clorexidina 0,12%, padrão ouro quando se trata de descontaminação oral, apresenta efeito residual também temporário. Ademais, na concentração utilizada essa substância tem ação bactericida imediata, contudo apenas efeito bacteriostático nas próximas

horas. (BERALDO e ANDRADE, 2008; CAMACHO et al. 2016, NAJAFI, et al., 2016; LEITE et al., 2014).

A análise intragrupos revelou redução bacteriana atribuída à Clorexidina 0,12% tanto no grupo TFD quando no grupo CONTROLE de 38,1% e 37,5% respectivamente, o que corrobora com os achados observados por Najafi et al. (2016) e Sreedhar et al. (2017). Essa ação antibacteriana é explicada pelo fato da molécula catiônica da clorexidina ser rapidamente atraída pela carga negativa da superfície bacteriana, sendo adsorvida à membrana celular por interações eletrostáticas, provavelmente por ligações hidrofóbicas ou por pontes de hidrogênio, sendo essa adsorção concentração-dependente. (ROSING e ZATANA, 2007; CAMACHO et al., 2016). Todavia, o potencial de desinfecção dessa substância se comportou menos efetivo do que o demonstrando pela TFD quando confrontado os dois grupos. Esse resultado não foi congruente com o estudo realizado por Najafi et al. (2016), o qual observou melhor efeito da Clorexidina 0,12% em detrimento da TFD com Curcumina 10% na comparação entre os grupos. Contudo, atribui-se essa discordância ao fato do presente estudo ter caráter preliminar, necessitando de um maior número de amostras para gerar resultados mais contundentes a este respeito.

Além da avaliação quantitativa do número absoluto de microrganismos eliminados com a terapêutica adotada, o presente trabalho também buscou identificar e quantificar dois agentes bacterianos específicos envolvidos na pneumonia associada à ventilação mecânica, sendo eles *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter spp*. Houve redução mais expressiva dos agentes infecciosos após a terapia fotodinâmica para ambas as bactérias. Segundo Barbosa et al. (2010), devido à riqueza microbiana presente no biofilme, inúmeros patógenos podem ser aspirados por pacientes em assistência ventilatória mecânica e, consequentemente, causarem a PAVM. Conduto, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter spp* se apresentam como duas das mais relevantes bactérias envolvidas nesta pneumonia, justificando a importância da investigação da flora bucal desses pacientes. Dessa maneira, contribuindo para repercussões relevantes quanto o entendimento das infecções nosocomiais, bem como, da descontaminação oral em UTI. (BARBOSA, et al., 2010; CRUZ et al., 2014).

A colonização por *Pseudomonas aeruginosa* demonstrou redução no número de unidades formadoras de colônias (UFC) quando submetida à terapia fotodinâmica com Curcumina 10% de 50%, já frente à associação entre TFD e Clorexidina 0,12% apresentou

89,5% menos colônias. Contudo, no momento em que foi tratada apenas com terapia fotodinâmica houve a eliminação temporária desse agente microbiano. Resultado importante quando confrontado com o controle. Esse dado está de acordo com Orlandi et al. (2015), Garcez et al. (2013) e Sethupathy et al (2016). Atribui-se tal resultado ao potencial inibitório do mecanismo bacteriano realizado pela Curcumina 10% contra esta bactéria. Tal potencial se baseia na detecção de quórum microbiano. Segundo Sethupathy et al. (2016), a análise microscópica de luz também confirmou o efeito antibiótico da Curcumina contra a cepa de referência, comprovando a efetividade antimicrobiana da Curcumina nessa classe de patógenos. Considerando que o potencial de ação antimicrobiano dessa substância aumenta substancialmente quando fotoativada, o efeito antibacteriano expressivo contra a *Pseudomonas aeruginosa* pode ser ainda mais significativo com uso da TFD. Além disso, a curcumina foi relatada por sua capacidade de aumentar a susceptibilidade de isolados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* à ação de outros fármacos por meio da atividade de inibição da bomba de fluxo, o que indica sua relevância no tratamento deste agente infeccioso de grande resistência antibiótico e envolvido na instauração da PAVM. (ORLANDI, et al., 2015; GARCEZ, et al., 2013; SETHUPATHY, 2016; ARAÚJO et al., 2012; CARMELLO et.al, 2015; CARVALHO et al., 2006).

Observou-se também que houve recolonização microbiana por *Pseudomonas aeruginosa*, após 3 horas da sua eliminação no presente estudo. Tal informação pode ser imputada a uma possível recontaminação pelo meio. Este agente infeccioso é capaz de colonizar os mais variados ambientes, devido a sua versatilidade catabólica e plasticidade genética, demonstrando potencial de virulência importante. Ademais, essa bactéria é recorrentemente encontrada em unidades de terapia intensiva, sendo um dos principais microrganismos envolvidos na pneumonia associada à ventilação mecânica. (ORLANDI, et al., 2015, ROCHA et al., 2008; CARVALHO et al., 2011; BARBOSA et al., 2010).

O presente trabalho demonstrou ainda a eliminação total da bactéria *Acinetobacter spp* prontamente à aplicação da terapia fotodinâmica. Este agente microbiano não foi identificado nas 12 horas seguintes do estudo no grupo TFD. O comportamento antimicrobiano se torna ainda mais relevante quando confrontado com o grupo CONTROLE, tratado apenas com Clorexidina 0,12%, o qual apresentou crescimento sistemático ao longo do estudo. Tal resultado segue o raciocínio obtido no estudo de Rágas et al. (2010), embora este não tenha testado a Curcumina 10% como fotossensibilizador. A escassez de estudos

sobre a ação antimicrobiana da TFD nesse patógeno dificulta a correlação do efeito que determinou os resultados encontrados. Contudo, sugere-se que o estresse oxidativo, bem como a ação antibacteriana da Curcumina 10% sejam responsáveis por tal ação, necessitando de mais trabalhos a esse respeito para afirmar com maior confiabilidade.

Apesar da relevância dos resultados obtidos com este estudo pioneiro e preliminar, trabalhos mais amplos envolvendo este campo são necessários. A avaliação de um maior número de pacientes, adequação das coletas correspondentes entre os grupos para posterior análise intergrupos, a utilização de um contador de colônias, bem como a avaliação de uma maior quantidade de microrganismo envolvidos na pneumonia associada à ventilação mecânica são aspectos importantes para permitir uma análise estatística significativa e contundente em relação as respostas observadas. Elevando, dessa maneira, a confiabilidade e abrangência dos resultados discutidos.

7 CONCLUSÃO

Diante da metodologia utilizada, este estudo preliminar evidencia que a terapia fotodinâmica, utilizando Curcumina 10% e LED na cor azul é capaz de promover descontaminação da cavidade bucal nos pacientes sob assistência ventilatória mecânica em unidades de terapia intensiva. Os resultados encontrados indicam ação antimicrobiana expressiva tanto na análise quantitativa dos agentes microbianos, quanto na avaliação qualitativa específica para *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter spp.* Dessa maneira, demonstrando a viabilidade de execução de pesquisas científicas mais amplas nesse universo, a fim de apresentar uma maior abrangência dos resultados.

8 REFERÊNCIAS

ANDRADE, M. C; RIBEIRI, A. P. D; DOVIGO, L. N; BRUNETTI, I. L; GIAMPAOLO, E. T; BAGNATO, V. S; PARAVARINA, A. C. Effect of diferente pre-irradiation times on curcumin mediated photodynamictherapy against planktonic cultures and biofilms of *Candida* spp. ELSEVIER Archivesof Oral Biology, São Paulo, v. 58, n. 2, p. 200-210, 2013.

ARAÚJO, N. C; FONTANA, C. R; GERBI, M. E; BAGANATO, V. S. Overall-mouth disinfection by photodynamic therapy using curcumin. Photomed Laser Surg, v. 30, n. 2, p. 96-101, 2012.

ARAÚJO, R. J. G; VINAGRE, N. P. L; SAMPAIO, J. M. S. Avaliação sobre a participação de cirurgiões-dentistas em equipes de assistência ao paciente. Acta Health, Maringá, v. 31, n. 2, p.153-7, 2009.

BARBOSA, J. C; LOBATO, P.S; MENESES, S.A; MENEZES, T.O; PINHEIRO, HH. Perfil dos pacientes sob terapia intensiva com pneumonia nosocomial: principais agentes etiológicos. Rev. Odonto, São Paulo, v. 39, n. 4, p. 201-206, 2010.

BERALDO, C. C; ANDRADE, D. Higiene bucal com clorexidina na prevenção de pneumonia associada à ventilação mecânica. J. Bras. Pneumologia, São Paulo, v. 34, n. 9, p. 707-14, 2008.

CAMACHO-AFONSO, F; SALMERON-LOZANO, P; MARTINEZ, B. Y. Effects of photodynamic therapy, 2 % chlorhexidine, triantibiotic mixture, propolis and ozone on root canals experimentally infected with *Enterococcus faecalis*: an in vitro study. Springer, Japan, v. 27, n. 16, p. 271-274, 2016.

CAMPOS, M. L. G; SALLUM, A. W; MARQUES, M. R. - Ação da curcumina na terapia fotodinâmica e suas implicações na periodontite: estudo experimental em ratos, Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba, 2013.

CARMELLO, J. C; PAVARINA, A. C; OLIVEIRA, R; JOHANSSON, B. Genotoxic effect of photodynamic therapy mediated by curcumin on *Candida albicans*. Journal sinvesting in Science. Buffalo, NY, USA, v. 15, n. 4, p. 100-193, 2015.

CARMO, N. E; SOUZA, P. C; AZEVEDO; F. Pneumonia associada à ventilação mecânica: análise de fatores epidemiológicos na confecção de estratégias de profilaxia terapêutica. Rev. Bras. Ter. Intensiva, São Paulo, v. 18, n. 4, p.344-350, 2006.

CARVALHO, A. S; NAPIMOMGA, M. H; COELHO-CAMPOS, J; SILVA, F.V .J; THEDEI, G. Photodynamictherapy reduces boner esorption and decreases inflammatory response in an experimental rat periodontal diseasemodel. Photomed Laser Surgery, USA, v. 11, n. 11, p. 735-740, 211

CARVALHO, C. R. R. Pneumonia associada à ventilação mecânica. J. Bras. Pneumol, São Paulo, v. 32, n. 4, p. xx-xxi, 2006.

Conselho Nacional de Saúde (Brasil). Resolução nº 466, Brasília, 2012. Disponível em: http://www.conselho.saude.gov.br/web_comissoes/conep/index.html. Acesso em de 13.02.2017.

CRUZ, M. K; MORAIS, T. M. N; TREVISANI, D. M. Avaliação clínica da cavidade bucal de pacientes internados em unidade de terapia intensiva de um hospital de emergência. Rev. Bras. Ter. Intensiva, Espírito Santo, v. 26, n. 4, p. 379-383, 2014.

DOVIGO, L. N; PAVARINA, A. C; CARMELLO, J. C; MACHADO, A. L; BRUNETTI, I. L; BAGNATO, V. S. Susceptibility of clinical isolates of *Candida* to photodynamic effects of curcumin. Lasers in Medical Science, São Paulo, v. 43, p. 9, p. 927-934, 2011.

ECEL. Manual de instruções fotopolimerizador EC450 (LED). Cap2. Ficha técnica. Especificações técnicas do LED ECEL 450. Disponível em www.ecel.ind.br/novo-ec450/#tab-id-2. Data 14.02.2017 às 01:20.

FONTANA, C.R; LERMAM, M.A; PATEL, N; GRECCO, C; COSTA, C.A; AMIJI, M.M; BAGNATO, V.S; SOUKOS, N.S. Safety assessment of oral photodynamic therapy in rats. *Lasers in Medical Sciences*. v. 28, n. 2, p. ,479-486, 2015.

GARCEZ, A. S; NUNEZ, S. C; AZAMBUJA, N; FREGNANY, E. R; RODRIGUEZ, H. M. H; HAMBLIM, M. R; SUSUKI, H; RIBEIRO, M. S. Effects of Photodynamic Therapy on Gram-Positive and Gram-Negative Bacterial Biofilms by Bioluminescence Imaging and Scanning Electron Microscopic Analysis. *Photomedicine and Laser Surgery*, São Paulo, v. 31, n. 11, p. 519-525, 2013.

HEGGE, A. B; ANDERSON, T; MELVIK, J.E; BRUZELL, E; KRISTENSE, S; TONNSEN, H. H. Formulation and bacterial phototoxicity of curcumin loadedalgin ate foams for wound treatment applications: studies on curcumin and curcuminoides XLII. *J PharmSci.USA*, v. 100, n. 1, p. 174-185, 2011.

HENDERSON, B. W; Dougherth, T .J. How Does Photodynamic Therapy Work. *Photochemistry & Photobiology*. Buffalo, NY, USA, v. 55, n. 1, p. 145-147, 1992.

INADA, N. M. Photodiagnosis and treatment of condyloma a cumin atum using 5-aminolevulinic acid and photo dynamic devices. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. Laser and Medical Science, Londo, UK, v. 9, n. 1, p. 60-68, 2012.

KURACHI, C; MORIYAMA, L. T; BAGNATO, V. S. Estratégias para otimização da terapia fotodinâmica no tratamento do câncer de pele não-melanoma. *Jornal brasileiro de laser*. São Paulo, v. 13, n. 2, p. 13-17, 2010.

LEITE, D. P. V; PAOLLILO, F. R.; PARMESANO, T. N; FONTADA, C. R; BAGNATO, V. S. Effects of photodynamic therapy with blue light and curcumin as mouth rinse for oral disinfection: A randomized controlled trial. 2014, Pp. 627-632.

MORAIS, T. M; SILVA, A. Histórico da odontologia em ambiente hospitalar. In: Tereza Márcia Moraes. Fundamentos da odontologia em ambiente hospitalar \ UTI. Elsevier, Rio de Janeiro, v. 1, n.4. p. 1-17, 2015.

MORAIS, T. M. N; SILVA, A; AVI, A. L. R. O; SOUZA, P. H. R; KNOBEL, E; CAMARGO, L. F. A. A importância da atuação odontológica em pacientes internados em unidade de terapia intensiva. Revista Brasileira de Terapia Intensiva, São Paulo, v.18, n. 4, p. 412-417, 2006.

NAJAFI, S; KHAYAMZADEH, M; PAKMEJAD, M; POURSEPANJ, G; FARD, M. J. K; BAHADOR, A. An in vitro comparasion of antimicrobial effects of curcumin-based photodynamic therapy and chorhexidine, on *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Journal of Laser in Medical Sciences, Iran, v.7, n. 1, p. 21-25, 2016.

ORLANDI, V. T; BOLOGNESE, S; CHICAROLI, L; NIELSEN, T. T; BARBIERI. Pigments influence the tolerance of *Pseudomonas aeruginosa* photophotodynamically induced oxidative stress. Microbiology, Italy, v. 61, n 1. P. 2298-2309, 2015.

PASCHOAL, M. A; TONON, C. C; SPOLIDÓRIO, D. M. P; BAGNATO, V. S.; GIUTI, J. S. M.; PINTO, L. S. Photodynamic potencial of curcumin and blue LED against *Streptococcus mutans* in a platonic culture.

PASETTI, L. A; LEÃO, M.T.C; ARAKI, L.T. Odontologia Hospitalar. A Importância do Cirurgião-Dentista na Unidade de Terapia Intensiva. Rev. Odontologia (ATO), Bauru, SP, v.13, n. 4, p. 210-26, 2013.

PERUSSI, J. R. Inativação fotodinâmica de microorganismos. Química Nova, São Paulo, v. 30, n. 4, p 1-7, 2007.

PIZZO, P; SCAPIN, C; VITADELLO, M; FLOREAN, C; GORZA, L. Grp acts as a mediator of curcumin-induced antioxidante defence in myogenic cells. J Cell Mol Med, Italy, v. 14, n. 4, p. 970-978, 2010.

RAGAS, X; DAI, T; TEGOS, G. T; AGUT, M; NOMELL, S; HAMBLIN, M. R. Photodynamic Inactivation of *Acinetobacter baumannii* Using Phenothiazinium Dyes: In Vitro and In Vivo Studies. *Lasers Surg Med*, USA, v. 42, n. 5, p. 384-390, 2010.

ROCHA, L. A; VILELA, C. A; CEZÁRIO, R. C. Ventilator-associated pneumonia in an adult clinical-surgical intensive care unit of a Brazilian university hospital: incidence, risk factors, etiology, and antibiotic resistance. *Bras J Infect Dis*, v. 12, n. 1, p. 80-85, 2008.

SHAMSOULMOLOUK, N; KHAYAMZADEH, M; PAKNEJAD, M; POURSEPANJ, G; FARD, M. J. K; BAHADOR, A. An in vitro comparison of antimicrobial effects of curcumin-based photodynamic therapy and chlorhexidine, on *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *Journal of lasers in medical sciences*. India, v. 3, n. 1, p. 21-25, 2016.

SANTOS, P. S. S; MELLO, W. R; WAKIN, R. C. S; PASCHOAL, M.A.G. Uso de solução bucal com sistema enzimático em pacientes totalmente dependentes de cuidados em Unidade de Terapia Intensiva. *Rev. bras. ter. Intensiva*. São Paulo, v. 20, n. 2, p. 154-159, 2009.

SETHUPATHY, S; PRASSATH, G. K; ANATHI, S; MAHALINGAM, S; PANDIAN, S. K. Proteomic analysis reveals modulation of iron homeostasis and oxidative stress response in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 by curcumin inhibiting quorum sensing regulated virulence factors and biofilm production. *Journal of Proteomics*, India, v. 15, n. 5, p. 112-126, 2016.

SREEDHAR, A; SAKAR, I; RAJAN, P; PAI, P; MALAGI, S; KAMATH, V; BARMAPPA, R. Comparative evaluation of the efficacy of curcumin gel with and without photo activation as an adjunct to scaling and root planing in the treatment of chronic periodontitis: A Split mouth clinical and microbiological study. *Journal of Natural Science*, India, v. 189, n. 71, p. 184-188, 2017.

TOLEDO, M. E; OLIVEIRA, S. S. Estudo das propriedades estruturais da Curcumina no vácuo usando dinâmica molecular de car-parrinello. *Scientific-A*, Anápolis, v.1, n. 2, p. 35-43, 2007.

ZANATTA, F. B.; ROSING, C. K. Chlorhexidine action's mechanisms and recent evidences of it's efficacy over supragingival biofilm contexto. Official Journal of the society of nippon dental university, Japan, v. 16, n. 6, p. 271-274, 2016.

APÊNDICE A- PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE
ARACAJÚ/ UNIVERSIDADE
FEDERAL DE SERGIPE/ HU-



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: DESCONTAMINAÇÃO ORAL COM TERAPIA FOTODINÂMICA EM PACIENTES SOB VENTILAÇÃO MECÂNICA

Pesquisador: Ismário Silva de Meneses

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 60933316.9.0000.5546

Instituição Proponente: FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.849.077

Apresentação do Projeto:

Em Unidades de Terapia Intensiva (UTI) as infecções respiratórias podem variar entre 20 a 40% de incidência, e a mortalidade pode chegar a 80% dos infectados. A Pneumonia Associada à Ventilação Mecânica (PAVM) representa uma das principais infecções de âmbito hospitalar, comum aos pacientes em UTI com o agravante da higiene oral geralmente deficiente, propiciando destarte a formação de um biofilme com prevalência de

microrganismos patogênicos, especialmente os respiratórios. A Terapia Fotodinâmica (TFD) vem sendo utilizada como antimicrobiano tópico, a qual consiste no uso de um fotossensibilizador que se liga a uma célula alvo e é ativado por uma luz visível, geralmente do tipo laser de baixa intensidade ou diodo emissor de luz (LED).

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

- Avaliar a possibilidade da descontaminação da cavidade oral, em especial a diminuição dos microrganismos que podem ser encontrados na cavidade oral e comumente envolvidos na PAVM, utilizando para isso a curcumina a 10% como fotossensibilizador e um LED na cor azul como fonte de luz.

Objetivo Secundário:

APÊNDICE B- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Esclarecimentos:

Este é um convite para participar do projeto de pesquisa intitulado "DESCONTAMINAÇÃO ORAL COM TERAPIA FOTODINÂMICA EM PACIENTES SOB VENTILAÇÃO MECÂNICA". Realizado pelo núcleo de pós-graduação em odontologia da Universidade Federal de Sergipe (UFS) em parceria com Fundação de Beneficência Hospital de Cirurgia. O presente estudo tem como pesquisadora responsável a Profª Drª Maria Amélia Gonzaga Ribeiro, bem como pesquisadores executoras, o monitorando Iamário Silva de Menezes, Cirurgião Dentista, e a graduanda Érika Souza de Matos.

Tal pesquisa avaliará a possibilidade da descontaminação da cavidade bucal, em especial a diminuição dos microrganismos comumente envolvidos na Pneumonia Associada à Ventilação Mecânica, a exemplo do *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacteriaceae*, *Acinetobacter* spp. e outros multirresistentes, utilizando a Terapia Fotodinâmica. Através de duas coletas de amostras do biofilme bucal para exame laboratorial, uma antes e outra após a aplicação de um corante denominado Curcumina (150µg/ml) e aplicação de uma luz azul através de um aparelho de LED (diodo emissor de luz) uma única vez cada. Serão feitas fotografias da cavidade bucal onde não será permitida a identificação da face do paciente.

A participação é voluntária. O participante ou responsável poderá desistir a qualquer momento, retirando seu consentimento sem que haja nenhuma alteração na conduta terapêutica definida pela equipe que compõe a UTI, prejuízo ou penalidade ao participante. Se durante a leitura deste documento houver alguma dúvida, o responsável pode perguntar aos pesquisadores para compreender perfeitamente do que se trata. Caso ainda ocorram dúvidas após a apresentação da proposta e etapas deste trabalho, ou queiram desistir de participar da pesquisa, basta entrar em contato com os pesquisadores. Os dados obtidos com esse estudo só serão utilizados para fins acadêmicos e publicados e/ou divulgados em periódicos ou qualquer outro meio de divulgação científica. O possível desconforto relacionado ao procedimento é a pigmentação amarelada da cavidade bucal pelo produto, a qual pode ser removida facilmente com a higiene bucal. Não existe nenhum outro risco ou desconforto referenciado na literatura até então. Além disso, o paciente sob ventilação mecânica normalmente está sob sedação, o que provavelmente impedirá a sensação de qualquer desconforto. Alguns contratempos podem ser observados no desenvolvimento do estudo, entretanto, deverão ser evitados no que se refere às expressões de opiniões, aflição e medo pela condição clínica do paciente. Contudo, tais riscos serão mínimos em relação aos benefícios, tais como a possibilidade de diminuir o risco de infecção pulmonar em UTI, que está relacionado com o aumento do tempo de internamento. Além de contribuir com mudanças nas rotinas de atenção à saúde bucal de pacientes em UTI especialmente sob ventilação mecânica. Não há nenhum tipo de despesa com consultas ou exames, bem como não há compensação financeira por participar desta pesquisa.

Todas as informações obtidas serão sigilosas e os nomes não serão identificados em nenhum momento, sendo as informações | amostras armazenadas em local seguro e somente divulgadas preservando o anonimato dos voluntários. Após a elaboração do banco de dados, os documentos serão arquivados em local de acesso

exclusivo dos pesquisadores, e os mesmos serão destruídos após cinco anos.

Caso concorde em autorizar a participação nesta pesquisa, o responsável pelo paciente ficará com uma cópia deste termo, ao passo que a outra permanecerá com os pesquisadores. Caso haja dúvidas posteriores, estas poderão ser esclarecidas diretamente com Iamário Silva de Menezes, CRO-SE 1991, através do Telefone: (79) 99942-7410 ou email iamariomenezes@hotmail.com. As dúvidas em relação à ética desta pesquisa poderão ser questionadas ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Sergipe no endereço Rua Cláudio Batista, S/Nº, Bairro Sãoatório, Aracaju-SE.

Consentimento Livre e Esclarecido

Eu, _____,
natural de _____,
RG: _____, estado civil _____,
morador da rua _____,
cidade (UF) _____,

li e compreendi todas as informações transmitidas sobre a participação voluntária do paciente, a qual sou responsável pelo internamento, neste projeto de pesquisa e autorizo a coleta de amostras biológicas para este fim, bem como a utilização dos dados atuais e progressos a qualquer tempo durante a pesquisa. Afirmo, ainda, ter tido oportunidade de discutir e perguntar, sendo todas as dúvidas esclarecidas satisfatoriamente. Concordo voluntariamente com a participação voluntária do paciente, o qual sou responsável

_____,
RG: _____,
morador da rua _____,
cidade (UF) _____,
e recebi uma cópia assinada deste formulário de consentimento informado. A concordância em participar da pesquisa não retira nenhum dos meus direitos legais, no caso de negligência ou má prática de qualquer pessoa ou instituição envolvida.

Aracaju, ____/____/____

Nome: _____

Assinatura do responsável pelo internamento

Assinatura do pesquisador executor

Testemunha: _____

Testemunha: _____

Após a aprovação para realização desta pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), o pesquisador abaixo nominado vem, por meio deste termo, assumir o compromisso de que a identidade das pessoas envolvidas seja mantida em absoluto sigilo e anonimato. Além disso, vem garantir que todos os dados | amostras do projeto de pesquisa e elaboração de publicações, mantendo-se confidenciais.

Pesquisador responsável

