

AVALIAÇÃO *IN VITRO* DO EFEITO DA TERAPIA FOTODINÂMICA EM SUSPENSÃO DE *Enterococcus faecalis*

Castro, M.R.;¹ Brasil, C.O.;² Khouri, S.;³ Arisawa, E.A.L.⁴

^{1,2,3,4}UNIVAP/Departamento Microbiologia, Av. Shishima Hifumi, 2911 CEP:12244-000 - São José dos Campos – SP, marisarcsjc@yahoo.com.br

Resumo - A proposta deste estudo foi avaliar a ação da terapia fotodinâmica sobre culturas de *Enterococcus faecalis in vitro*. Trinta tubos de ensaio contendo caldo BHI (*brain heart infusion – Difco*, EUA) foram inoculados com cepa padrão de *Enterococcus faecalis*. Nesses tubos testou-se a ação isolada do hipoclorito de sódio 1 %, do laser AsGaAl, do corante azuleno 25 %/Endo-PTC e da terapia fotodinâmica. O hipoclorito de sódio 1 % mostrou-se eficaz na eliminação dos microorganismos, a terapia fotodinâmica apenas reduziu o número de bactérias. O laser ou o corante utilizados de forma isolada não exerceram nenhuma atividade inibidora do crescimento bacteriano.

Palavras-chave: terapia fotodinâmica, laser de AsGaAl, *Enterococcus faecalis*

Área do Conhecimento: Microbiologia e Laser

Introdução

Mais de trezentas espécies bacterianas são reconhecidas atualmente na microbiota normal da cavidade oral, sendo potenciais infectantes dos canais radiculares. Entretanto, apenas um grupo restrito de espécies, é capaz de colonizar o canal radicular, com cerca de cinquenta e seis gêneros bacterianos. Vários fatores promovem a seleção das bactérias dos canais radiculares, dentre eles se incluem fatores nutricionais, pH, temperatura, resistência do hospedeiro, presença de agentes microbianos, dentre outros. Estes fatores tendem a favorecer o crescimento de espécies anaeróbias (GOMES, 2002).

As bactérias anaeróbias facultativas, como *Enterococcus faecalis*, podem compor uma parte significativa na microbiota de lesões endodônticas e, geralmente, estas bactérias são mais resistentes à atividade antimicrobiana do que as aeróbias estritas, podendo persistir em canais radiculares e no interior dos túbulos dentinários após terapia endodôntica (GOMES, 2002).

A terapia fotodinâmica consiste na associação de um agente fotossensibilizante, normalmente exógeno, e uma fonte de luz, com o objetivo de provocar a morte microbiana. Em Endodontia, o efeito desta terapia vem sendo testado frente a espécies resistentes ao tratamento convencional. A associação do azuleno 25% ao endo PTC é facilmente removida do canal por irrigação com solução salina, água ou hipoclorito de sódio o que afastaria o risco de manchamento do dente. A

banda de absorção desse corante é ressonante com o comprimento de onda (685nm) emitido pelo laser AsGaAl. (GARCEZ et al., 2003).

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar a ação da terapia fotodinâmica sobre culturas de *Enterococcus faecalis*.

Materiais e Métodos

A cepa padrão de *Enterococcus faecalis* (ATCC 10100) foi inoculada em trinta tubos de ensaio contendo 1,2 ml de caldo BHI (*brain heart infusion – Difco*, EUA), de acordo com a escala 1,0 de Mac Farland. Posteriormente, as culturas foram incubadas por 24 horas em estufa a 37° C. Após esse período, amostras da cultura (200 µl) dos trinta tubos foram plaqueadas em ágar BHI (*brain heart infusion – Difco*, EUA) para confirmação do crescimento bacteriano (células viáveis). Em seguida, dez desses tubos (Grupo 1) foram irradiados por 3 minutos com o laser diodo de AsGaAl com 685 nm de comprimento de onda e amostras de 200 µl foram colhidas e plaqueadas para observação da ação isolada do laser sobre os microorganismos. Outros dez tubos (Grupo 2) receberam 1 ml de solução de hipoclorito de sódio 1 % por 15 minutos e amostras de 200 µl foram colhidas e plaqueadas para verificação da ação dessa substância sobre as bactérias. Em seguida, nos dez tubos restantes foi adicionado 1 ml, por tubo, da pasta azuleno 25%/Endo-PTC. Realizou-se a mistura no vortex e após 5 minutos amostras de 200µl foram colhidas e plaqueadas, no intuito de se observar a ação isolada do fotosensibilizador

(Grupo 3). Cada tubo foi então irradiado com o laser AsGaAl de 35 mW por três minutos, sendo um minuto no fundo do tubo e trinta segundos em quatro pontos contornando as paredes laterais do mesmo. Em seguida, os tubos foram novamente colocados no vortex e amostras de 200µl foram colhidas, plaqueadas e incubadas (Grupo 4).

Resultados

Em todas as placas semeadas para a confirmação da contaminação bacteriana houve crescimento (controle).

No Grupo 1 o crescimento das colônias foi semelhante ao observado nas placas de controle.

No Grupo 2 verificou-se ação bactericida do hipoclorito de sódio 1 % em todas as placas.

No Grupo 3 não se observou inibição do crescimento bacteriano.

No Grupo 4 onde foi realizada a terapia fotodinâmica houve ação bacteriostática.

Discussão

D'ARCANGELO et al., 1999 testaram o efeito do hipoclorito de sódio em quatro concentrações diferentes: 5, 3, 1 e 0,5 % sobre cepas de *Enterococcus faecalis* nos tempos de 10, 20 ou 30 minutos de contato, obtendo efeito bactericida nos diversos tempos e concentrações. Neste estudo a concentração de 1 % também eliminou todas as bactérias após 15 minutos de contato.

A ação bacteriostática da terapia fotodinâmica verificada neste trabalho coincide com os resultados obtidos por SILBETRT et al., 2000, numa pesquisa na qual utilizaram o corante azul de metileno 0,01 % e irradiação de 4 minutos com o laser He-Ne.

A potência de saída do laser utilizado, verificada com o medidor MELLE'S GRIOT®, foi de 35 mW. De acordo com a literatura, esta potência aplicada por 3 minutos deveria ter ação bactericida. Entretanto, o efeito alcançado foi apenas bacteriostático; o que talvez se justifique pelo fato de que algumas áreas dos tubos de ensaio possam não ter sido atingidas pela luz, restando células viáveis.

Conclusão

Conclui-se pelos resultados obtidos que a solução de hipoclorito de sódio 1 % apresentou efeito bactericida enquanto a terapia fotodinâmica foi capaz apenas de diminuir o número de células

viáveis, exercendo portanto, efeito bacteriostático em culturas de *Enterococcus faecalis*.

Referências

ABOU-RASS, M; BOGEN, G. Microorganisms in Closed Periapical Lesions. **International Endodontic Journal**. v.31, p.39-47, 1998.

ACKROYD, R; KELTY, C; BROWN, N; REED, M. The History of Photodetection and Photodynamic Therapy. **Photochemistry and Photobiology**. v.74, n.5, p.656-669, 2001.

D'ARCANGELO, C; VARVARA, G; DE FAZIO, P. An Evaluation of the Action of Different Root Canal Irrigants on Facultative Aerobic-Anaerobic, Obligate Anaerobic, and Microaerophilic Bacteria. **Journal of Endodontics**. v.25, n.5, p.351-353, 1999.

GARCEZ, A.S; Laser em baixa intensidade associado à fotossensibilizador para redução bacteriana intracanal comparado ao controle químico. 2002. 91p. Dissertação (Mestrado Profissionalizante em Lasers em Odontologia) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, 2002.

GARCEZ, A.S; SOUZA, F.R; NUÑEZ, S.C; KATHER, J.M; RIBEIRO, M.S. Terapia fotodinâmica em odontologia – laser de baixa potência para redução microbiana. **Revista da APCD**.v.57, n.3, 2003.

GOMES, B.P.F.A. Endodontia. Micrororganismos: quais são, onde estão, que danos causam?, In: **Endodontia: Trauma**. São Paulo: Artes Médicas, 2002. cap.5, p.77-97.

KÖNIG, R; TESCHKE, M; SIGUSCH, B; GLOCKMANN, E; EICK, S; PFISTER, W. Red Light Kills Bacteria Via Photodynamica Action. **Celular and Molecular Biology**. v.46, n.7, p.1297-1303, 2000.

LIMA, K.C; FAVA, L.R.G; SIQUEIRA JÚNIOR, J.F. Susceptibilities of *Enterococcus faecalis* Biofilms to Some Antimicrobial Medications. **Journal of Endodontics**. v.27, n.10, p.616-619, 2001.

LOVE, R.M. *Enterococcus faecalis* – A Mechanism for its role in endodontic failure. **International Endodontic Journal**. v.34, p.399-405, 2001.

MACHADO A.E.H. Terapia Fotodinâmica: Princípios, Potencial de Aplicação e Perspectivas. **Química Nova**. v.23, n.2, p.237-243, 2000.

NAVRATIL, L; KYMPLOVA, J. Contraindications in noninvasive Laser Therapy: Truth and Fiction. **Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery**. v.20, n.6, p.341-343, 2002.

NICOLA, J.H; NICOLA, E.M.D. Wavelength, Frequency, and Color: Absolute or Relative Concepts? **Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery**. v.20, n.6, p.307-311, 2002.

OKAMOTO, H.; IWASE, T.; MORIOKA, T. Dye-Mediated Bactericidal Effect of He-Ne Laser Irradiation on Oral Microorganisms. **Lasers in Surgery and Medicine**. V.12, p.450-458, 1992.

PAIVA, J.V. e ANTONIAZZI, J.H. Endodontia. Bases para a prática clínica. 2ª edição. Artes Médicas – SP, 1993.

SIBATA, C.H; COLUSSI, V.C; OLEINICK, N.I; KINSELLA, T.J. Photodynamic therapy: a new concept in medical treatment. **Brazilian Journal of Medical Biological Research**. v.33, p.869-880, 2000.

SILBERT, T; BIRD, P.S; MILBURN, G.J. Disinfection of root canals by laser dye photosensitization. **J Dent Res**. v.79, n.SI, p.569, may. 2000.

SIQUEIRA JÚNIOR, J.F; LIMA, K.C; MAGALHÃES, F.A.C; LOPES, H.P; UZEDA, M. Mechanical Reduction of the Bacterial Populations in the Root Canal by Three Instrumentation Techniques. **Journal of Endodontics**. v.25, n.5, p.332-335, 1999.

TUNÉR, J; HODE, L. It's All in the Parameters: A Critical Analysis of Some Well-Known Negative Studies on Low-Level Laser Therapy. **Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery**. v.16, n.5, p.245-248, 1998.

ZANIN, I.C.J; BRUGNERA JUNIOR, A; ZANIN, F; GONÇALVES, R.B. Terapia Fotodinâmica na Odontologia (T.F.D.). **RGO**. v.51, n.3, p.179-182, jul/ago/set. 2003.