

## Redução microbiana em periodontite após terapia fotodinâmica

Yamada Jr, A. M.<sup>a</sup>; Suzuki, L. C.<sup>a</sup>; Prates, R. A.<sup>a</sup>; Cai, S.<sup>b</sup>; Ribeiro, M. S.<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Centro de Lasers e Aplicações – IPEN- CNEN/SP, Brasil

<sup>b</sup>Laboratório de Microbiologia Oral- ICB/USP, São Paulo, Brasil

### Introdução:

A doença periodontal é uma infecção que afeta os tecidos periodontais tais como a gengiva, o cemento, o ligamento periodontal e o osso de suporte. Trata-se de uma infecção local e relativamente superficial, causada por uma microbiota específica organizada em biofilme na superfície do elemento dental.

Na microbiota da periodontite, microorganismos como o *Actinobacillus actinomycetemcomitans* estão presentes e possuem um papel importante no seu desenvolvimento. O *A. actinomycetemcomitans* sintetiza uma leucotoxina que destrói neutrófilos e monócitos e uma substância que inativa as células T supressoras. Os dois fatores podem prejudicar a defesa antibacteriana gengival. Além disso, produz fatores que reduzem a proliferação de fibroblastos e células endoteliais e epiteliais, afetando assim a capacidade de resposta do periodonto à irritação<sup>1</sup>. Quando a curetagem e aplainamento da superfície dental não solucionam o processo inflamatório, o uso de terapia antibiótica e agentes anti-sépticos locais são também considerados. Entretanto, o uso de tais agentes por um longo período de tempo pode selecionar microrganismos resistentes<sup>2</sup>.

Na Medicina e na Odontologia, lasers em baixa intensidade vêm sendo utilizados com propósitos antimicrobianos quando associados a fotossensibilizadores, geralmente exógenos, provocando morte microbiana. Este processo é conhecido por Terapia Fotodinâmica ou PDT.

O objetivo deste trabalho foi comparar a ação fotodinâmica antimicrobiana do azul de metileno (AM)<sup>3,4</sup> associado ou não à remoção mecânica de placa em periodontite induzida em ratos. Foram realizadas análises microbiológicas frente a *Actinobacillus sp.* e bactérias anaeróbias totais.

### Materiais e Métodos:

Foram selecionados 24 ratos machos (*Rattus norvegicus*, albinus, Wistar), adultos, com massa corpórea semelhante de aproximadamente 300 g. Os animais foram mantidos em mini-isoladores individuais em um regime 12h/12h de claro e escuro. Inicialmente os animais foram submetidos a uma antibioticoterapia. Foi administrada ampicilina 50mg em suspensão junto com a água dos animais durante cinco dias. Após três dias, foi iniciada a indução da doença periodontal. A indução foi elaborada através do uso de ligaduras de algodão contaminadas com

*A. actinomycetemcomitans* ao redor dos segundos molares da maxila de doze animais por um período de 15 dias<sup>5</sup>. Após este período, observou-se clinicamente a presença da doença e então os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos: Grupo RM (n=12) – remoção mecânica de placa e Grupo RM + PDT (n=12) - remoção mecânica de placa + terapia fotodinâmica.

A remoção mecânica de placa foi realizada com o auxílio de uma escova dental com movimentos vibratórios por 20 s. As cerdas foram posicionadas a 45° em relação ao dente. Para a PDT, o azul de metileno a 0,01% foi aplicado topicamente e deixado por cinco minutos (tempo de pré-irradiação) diretamente nas bolsas periodontais, que depois deste período foram irradiadas com um laser de emissão vermelha,  $\lambda = 660\text{nm}$ ,  $P = 100\text{ mW}$ ,  $\Delta t = 60\text{ s}$  e  $E = 6\text{ J}$  (DMC equipamentos, São Carlos, SP, Brasil). O fotossensibilizador foi removido do local com irrigação de soro fisiológico (NaCl 0,9%).

Foram realizadas coletas microbiológicas antes e imediatamente após tratamento. Pontas de papel estéreis foram inseridas até o fundo das bolsas periodontais. As pontas permaneceram 20 s nos sítios, sendo removidas e colocadas imediatamente em um frasco contendo meio de transporte (VMGAIH). Estas coletas foram processadas em TSBV (*tryptic soy agar* com bacitracina e vancomicina), meio seletivo para *Actinobacillus sp.* e em ágar Brucella, para a contagem de bactérias anaeróbias totais.

Os dados obtidos foram convertidos em UFC/mL e submetidos à análise estatística teste-t com nível de significância de 5%.

### Resultados e Discussão:

Os resultados microbiológicos obtidos neste experimento mostraram uma grande eficácia da terapia fotodinâmica frente ao *Actinobacillus sp.* Foi obtida uma redução microbiana de 93,5% no grupo RM+PDT, frente a uma redução de 87,7% no grupo RM (figura 1). Quando observado os resultados do número total de anaeróbios, obtivemos uma redução microbiana de 95,2% no grupo RM+PDT e de 87,4% para o grupo RM (figura 2). Os resultados do grupo em que foi utilizada a PDT como coadjuvante ao tratamento convencional mostrou uma redução microbiana estatisticamente significativa em relação ao grupo RM, para os dois ensaios realizados. Estes resultados estão de acordo com o estudo de Chan

11 836

*et al.*, *in vitro*, que apresentou reduções de 95% a 99% frente a estes microorganismos, utilizando o mesmo fotossensibilizador, mesma concentração e os mesmos parâmetros de irradiação<sup>7</sup>. A necessidade do uso de antibióticos sistêmicos para solução dos problemas periodontais<sup>8,9</sup> está cada vez mais freqüente, porém, o uso indiscriminado destes medicamentos podem favorecer o surgimento de bactérias resistentes, o que dificultaria o tratamento futuro de infecções graves<sup>10</sup>. Deste modo, a terapia fotodinâmica pode ser uma promissora alternativa para utilização na Periodontia.

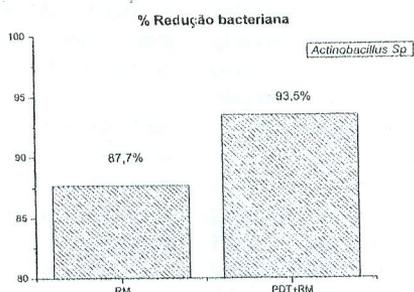


Figura 1: Redução de *Actinobacillus sp.*

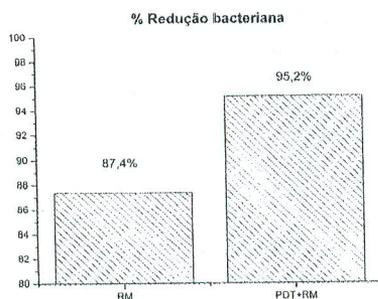


Figura 2: Redução de anaeróbios totais

#### Conclusões:

Os resultados deste estudo indicam que a terapia fotodinâmica como coadjuvante ao tratamento convencional pode ser uma alternativa eficaz de modalidade terapêutica para redução de microorganismos periodontais causadores de periodontite.

#### Agradecimentos:

Os autores agradecem à FAPESP (auxílio 05/01756-5) e CAPES pelo suporte financeiro e à DMC equipamentos Ltda. pelo empréstimo do equipamento.

#### Referências:

- Schreiner HC, Sinatra K, Kaplan JK, Furgang D, Kachlany SC, Planet PJ et al. Tight-adherence genes of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* are required for virulence in a rat model. PNAS 2003; 100:7295-7300.
- Slots, J & Ting, M. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in human periodontal disease: occurrence and treatment. Periodontology 2000. v.20, p.82-121, 1999. 74:119-125.
- Tuite EM, Kelly JM. Photochemical interactions of methylene blue and analogues with DNA and other biological substrates. J Photochem Photobiol B: Biol 1993; 21:103-124.
- Usacheva MN, Teichert MC, Biel MA. The role of the methylene blue and toluidine blue monomers and dimers in the photoinactivation of bacteria. J Photochem Photobiol B: Biol 2003; 71:87-98.
- Gonçalves PF, Nogueira Filho R, Sallum EA, Sallum AW, Nociti Junior FH. Immunosuppressant therapy and bone loss in ligature-induced periodontitis--a study in rats. Pesqui Odontol Bras 2003; 17:46-50.
- Hayek, R.R., Araujo, N.S., Gioso, M.A., Ferreira J., Baptista-Sobrinho, C.A., Yamada Jr., A.M., Ribeiro, M.S., Comparative study between the effects of photodynamic therapy and conventional therapy on microbial reduction in ligature-induced peri-implantitis in dogs, J. Periodontol. 76 (2005) 1275-1281.
- Chan, Y., Lai, C. Bactericidal effects of different laser wavelengths on periodontopathic germs in photodynamic therapy. Laser Med Sci. 2003, Springer, 18:51-55.
- Slots, J., & M. J. Jorgensen. Effective, safe, practical and affordable periodontal antimicrobial therapy: where are we going, and are we there yet? Periodontology 2000. 2002; 28:298-312.
- Sigmund S. Socransky & Anne D. Haffajee. Dental biofilms: Difficult Therapeutic Targets. Periodontology 2000. 2002; 28, 12-55.
- Clay B. Walker, Katherine Karpinia & Pierre Baehni. Chemotherapeutics: antibiotics and other antimicrobials. Periodontology 2000 2004; 36 146-165. Autor apresentador: Aécio M. Yamada Jr. Centro de Lasers e Aplicações - IPEN-CNEN/SP Avenida Lineu Prestes, 2242 Cidade Universitária São Paulo-SP. Telefone 0055 11 3816-9025 r. 217 e-mail - jryamada@uol.com.br