

# EFEITOS DA TERAPIA FOTODINÂMICA ASSOCIADA A H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> EM BIOFILME DE BACTÉRIAS GRAM+

Julio Cesar da Silva Almeida e Aguinaldo Silva Garcez Segundo  
Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN

## INTRODUÇÃO

A terapia fotodinâmica (PDT) antimicrobiana é uma promissora alternativa para sanificação de tecidos infectados. Diversos trabalhos na literatura mostram que a PDT antimicrobiana pode ser utilizada em várias áreas da saúde como dermatologia, odontologia e veterinária<sup>1,2</sup>. Entretanto, esta modalidade terapêutica apresenta diferenças quanto à sua eficiência sobre diferentes microrganismos, como bactérias Gram positivas, Gram negativas, vírus, fungos e principalmente sobre biofilme [1,3]. A associação de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e PDT pode aumentar a eficiência de ambos os tratamentos, principalmente em infecções provocadas por biofilme microbiano.

## OBJETIVO

O objetivo deste trabalho é investigar o efeito antimicrobiano existente na associação da terapia fotodinâmica em presença do peróxido de hidrogênio na redução microbiana de bactérias Gram positivas em biofilme.

## METODOLOGIA

Biofilme da bactéria *Enterococcus faecalis* foi crescido a 37° C, em amostras de hidroxiapatita por 72 hs sob agitação constante em meio de Cultura BHI. 15 amostras foram divididas em 3 grupos (n=5) e submetidas a PDT, nas seguintes situações. O grupo 1 controle recebeu 10 µl de uma solução aquosa de azul de metileno (AM) a 150 µM por 2 minutos como tempo de pré-irradiação e foi irradiado com um laser de diodo de 660nm, 40 mW e energia

total de 12J. O grupo 2 recebeu uma solução de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 1M por 1 minuto para pré-tratamento do biofilme e uma solução aquosa de AM a 150 µM por outro 1 minuto como tempo de pré-irradiação e foi então irradiado com o laser descrito acima. O grupo 3 recebeu uma solução de AM dissolvido em H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 150µM por 2 minutos seguido da irradiação laser. Foram realizadas coletas microbiológicas de cada amostras que foram colhidas com cones de papel absorvente deixado em contato com a amostra por 1 minuto. As amostras foram submetidas a análise microbiológica por diluição seriada e crescidas em placas BHI por 24hs a 37° C para análise contagem das unidades formadoras de colônias.

## RESULTADOS

Todos os grupos apresentavam formação de extenso biofilme aderido a hidroxiapatida após as 72hs de crescimento em estufa (figura 1). Todos os métodos de tratamento foram efetivos em produzir redução bacteriana nas amostras contaminadas com biofilme (figura 2). A redução microbiana no grupo 1 – Controle onde foi realizada a PDT sem a presença do peróxido de hidrogênio, foi de aproximadamente 1,5 logs, no grupo 3 onde o fotossensibilizador foi dissolvido em solução de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a redução foi de 2 logs, entretanto no grupo 2 que recebeu primeiro a solução de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e na sequencia a PDT a redução foi de 3 logs. (figura 3).

## CONCLUSÕES

Os resultados obtidos mostram que em associação com  $H_2O_2$ , a PDT antimicrobiana tem sua eficiência aumentada, produzindo maior redução microbiana mesmo quando estes se encontram em biofilme.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

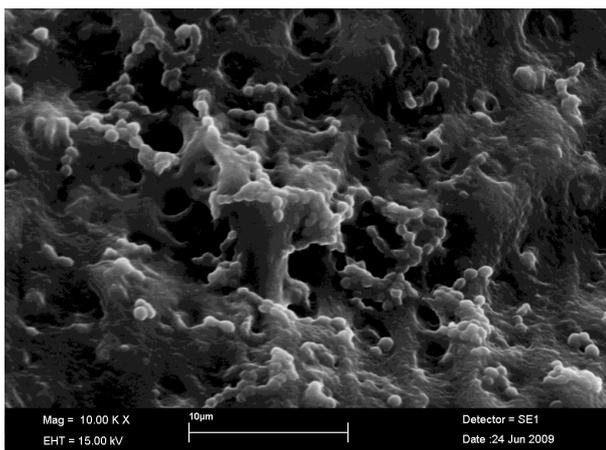
[1] Garcez AS, Ribeiro MS, Tegos GP, Núñez SC, Jorge AO, Hamblin MR. Antimicrobial photodynamic therapy combined with conventional endodontic treatment to eliminate root canal biofilm infection. *Lasers Surg Med* 2007; 39: 59-66.

[2] Hamblin MR, Hasan T. Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease? *Photochem Photobiol Sci* 2004; 3(5):436-450.

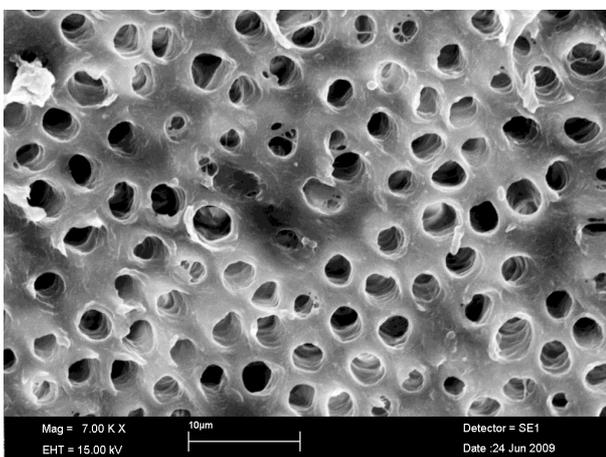
[3] Zanin IC, Lobo MM, Rodrigues LK, Pimenta LA, Höfling JF, Gonçalves RB. Photosensitization of in vitro biofilms by toluidine blue O combined with a light-emitting diode. *Eur J Oral Sci.* 2006 Feb;114(1):64-9

## APOIO FINANCEIRO AO PROJETO

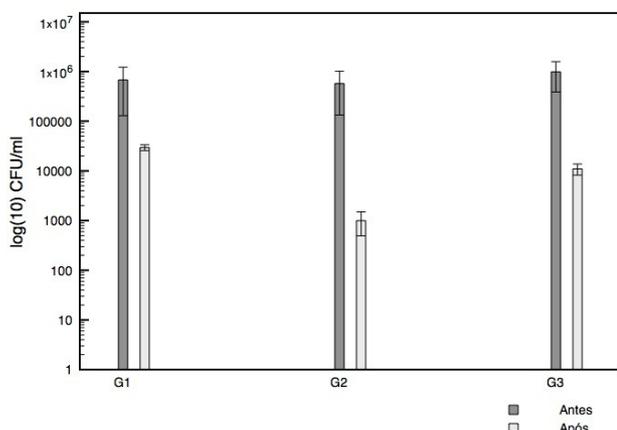
CNPQ



**Figura 1:** Biofilme de *E faecalis* crescido sobre amostra de hidroxiapatita por 72hs em estufa a 37°.C sob agitação



**Figura 2:** imagem do grupo 1 controle mostrando a redução microbiana após PDT. Podemos notar a visualização dos túbulos dentinários antes obstruídos pelo biofilme.



**Figura 3:** redução microbiana em cada um dos grupos tratados.