

Estudo *in vitro* da aplicação do diodo emissor de luz nos fungos *trichophyton* e *malassezia*

In vitro application of light emitting diode in fungi trichophyton and malassezia

Cássia Alves de Carvalho¹, João Paulo Arruda de Oliveira², Sávía Denise Silva Carlotto Herrera³, Adriana Arruda Barbosa Rezende⁴, Rodrigo Disconzi Nunes⁵, Cláudio Franco Muniz⁶

RESUMO

Introdução: Os fungos são agentes causadores de doenças humanas, destacando-se as leveduras do gênero *Malassezia* e os Dermatofitos. Na fisioterapia utilizam-se como antimicrobiano e antiinflamatório os diodos semicondutores de luz fotoestimulante como LED (Light Emitting Diode) e LASER (Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation). **Objetivo:** Avaliar os efeitos do Laser 660nm nos fungos *Malassezia spp* e *Trichophyton*. **Material e Método:** Dividiu-se em Grupo A: 10 placas *Thichophyton* e Grupo B: 10 placas *Malassezia spp*, e 01 controle para cada grupo. Após oito dias da repicagem, iniciou-se aplicação do LASER 660nm, modulado a 3J, frequência de 129 mW/cm², pontual, sendo dez aplicações com intervalo de 24 horas. Fotografava-se após cada aplicação para mensuração em Autocad®. **Resultados:** A área das colônias comparadas no

período pré (T0) e pós-aplicação (T1) do equipamento, observou-se em GA uma área T0 com média de colonização de 15,34 cm² ± 1,30, e T1 de 12,17 cm² ± 2,35. Diante disso, a média comparando T0 e T1 foi significativamente menor (p= 0,0006). No GB, a média de T0 foi de 5,25 cm² ± 4,21 e T1 de 1,78 cm² ± 1,79. Assim, é estatisticamente menor (p= 0,002) a comparação da média da Área T0 e T1. Não houve comparação das placas controle, pois CA reduziu (p=0,0209) inferindo não ser proveniente da aplicação do equipamento, e CB aumentou visivelmente mas não estatisticamente (p= p=0,3268). **Conclusão:** O LASER 660nm reduziu significativamente os Fungos *Trichophyton* (p=0,0006) e *Malassezia spp* (p=0.002). Entretanto, sugere-se novos estudos com números maiores de placas controle. **Descritores:** Lasers. *Malassezia*. *Trichopyton*.

ABSTRACT

Introduction: The fungi are causative agents of human diseases, especially of the genus *Malassezia* yeasts and dermatophytes. In physical therapy are used as antimicrobial and anti-inflammatory semiconductor diodes stimulating photo light as LED (Light Emitting Diode) and LASER (Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation). **Objective:** To evaluate the effects of 660nm Laser fungi *Malassezia and Trichophyton*. **Method:** We divided into Group A: 10 Thichophyton plates, Group B: 10 plates *Malassezia*, and 01 control for each group. After eight days of subculture, began implementation of 660nm laser, modulated at 3J, frequency of 129 mW / cm², punctual, ten times with an interval of 24 hours. Was photographed after each application to measure Autocad®. **Results:** The area of the colonies

compared to pre (T0) and post-implementation period (T1) of the equipment, it was observed in GA a T0 area with average colonization of 15.34cm² ± 1.30, and T1 12, 17cm² ± 2.35. Therefore, comparing the average T0 and T1 was significantly lower (p = 0.0006). In GB, the average T0 was 5.25cm² ± 4.21 and T1 was 1.78cm² ± 1.79. Thus, it is statistically lower (p = 0.002) compared to the area of T0 and T1 average. There was no comparison of control boards, for CA decreased (p=0.0209) not be inferred from the application of the equipment, and CB noticeably increased but not statistically (p=0.3268). **Conclusion:** 660nm laser reduced significantly the fungi *Trichophyton* (p = 0.0006) and *Malassezia* (p = 0.002). However, it is suggested that further studies with larger numbers of plaque control. **Descriptors:** Lasers. *Malassezia*. *Trichopyton*

¹ Graduada em Fisioterapia pelo Centro Universitário UnirG. Gurupi-TO, Brasil. Email: cassiaalvescarvalho@hotmail.com

² Graduado em Fisioterapia pelo Centro Universitário UnirG. Gurupi-TO, Brasil. Email: joaopaulo.arruda@hotmail.com

³ Fisioterapeuta. Especialista em Fisioterapia Respiratória pela UNOPAR. Coordenadora do Curso de Fisioterapia (UnirG). Prof^a. Assistente do Centro Universitário UnirG. Gurupi-TO, Brasil. Email: saviadenise@hotmail.com

⁴ Fisioterapeuta. Mestre em Motricidade Humana pela Universidade Castelo Branco, Rio de Janeiro (RJ). Prof^a. Adjunta do Centro Universitário UnirG. Gurupi-TO, Brasil. Email: drikas.arruda@hotmail.com

⁵ Fisioterapeuta. Mestre em Ciências da Saúde pela Universidade Federal de Goiás – Goiânia (GO). Prof^o. Adjunto I do Centro Universitário UnirG, Gurupi (TO). Email: rodrigodisconzi@yahoo.com.br

⁶ Biólogo. Mestre em Ecologia / Universidade Federal de Uberlândia/MG. Prof^o. Adjunto II dos Cursos de Fisioterapia e Medicina do Centro Universitário UnirG – Gurupi (TO). Email: cfmuniz@gmail.com

ENDEREÇO PARA A CORRESPONDÊNCIA

Sávía Denise S.C Herrera. Av. Rio de Janeiro nº 1584, CEP: 77403-090. Gurupi (TO).
Email: saviadenise@hotmail.com

INTRODUÇÃO

Os fungos são um dos principais agentes etiológicos causadores de doenças humanas. Diversos estudos têm mostrado que cerca de 50 a 100% dos indivíduos clinicamente saudáveis são portadores de leveduras, principalmente nas regiões do corpo ricas em glândulas sebáceas.¹⁻⁴

As leveduras do gênero *Malassezia* ganharam uma atenção especial a partir da década de 1980 em virtude das formas recidivas de dermatite seborréica em indivíduos imunossuprimidos e em neonatos prematuros que eram submetidos à alimentação parenteral.⁵ Durante muitas décadas, o gênero *Malassezia* foi limitado por apenas duas espécies, sendo uma lipodependente e outra não, representadas respectivamente pela *M. furfur* e *M. pachydermatis*.⁶ Sendo que em 1996, estudos genotípicos, associados a características fenotípicas, permitiram que fossem identificados mais espécies distintas, denominadas *M. sympodialis*, *M. slooffiae*, *M. restricta*, *M. globosa* e *M. obtusa*,⁷ *M. dermatis*, *M. nana*, *M. japônica*, *M. yamatoensis*, totalizando 11 espécies.⁷⁻⁸ Essas leveduras podem causar diferentes tipos de infecções cutâneas superficiais como a pitiríase versicolor, dermatite seborréica, foliculites, dermatite atópica e eventualmente pode ocorrer disseminação.⁹⁻¹⁰

A dermatite seborréica (DS) é uma infecção causada pela espécie *Malassezia spp.* É uma doença inflamatória crônica comum, que acomete cerca de 1 a 3% da população dos EUA, sendo que destes 3 a 5% são adultos jovens. A maior prevalência está entre os indivíduos HIV positivos que varia de 20 a 83%.¹¹ Há dois picos de incidência: um nos recém-nascidos de até três meses de vida e o outro pico em indivíduos na fase adulta entre 30 a 60 anos. A doença apresenta-se na forma bimodal (ao nascimento e na fase pós-puberal), sugerindo que ela esteja relacionada com os hormônios sexuais. O homem é acometido com maior frequência e em todas as faixas etárias e não há predileção racial.¹² A DS caracteriza-se pelo desenvolvimento de placas eritematosas com a presença de escamas amarelo-cinzentas que surgem com maior frequência na face, couro cabeludo, peito e costas. Uma variante mais suave é a caspa, manifestada pela descamação do couro cabeludo.¹¹

Os dermatófitos são outros tipos de fungos que causam micoses cutâneas, preferencialmente na pele, cabelos e unhas,

promovendo a invasão desses tecidos e usando como substrato a queratina. São classificados em três gêneros: *Trichophyton*, *Microsporum* e *Epidermophyton*.¹³⁻¹⁴ De acordo com o seu habitat são classificados em antropofílicos que parasitam na queratina humana, os geofílicos que desenvolvem-se sobre a queratina presente no solo, originária do homem e/ou dos animais, ou pode ser por produtos da degradação dessa queratina; e os zoofílicos que parasitam a queratina animal.¹⁵ O gênero *Trichophyton* é composto por várias espécies, sendo que a principal é o *Trichophyton rubrum*. Porém, vêm se tornando um fenômeno mundial o crescente isolamento de *T. tonsurans*.¹³⁻¹⁴ Essa espécie pode causar dermatofitoses associadas a pele e as unhas, porém, é isolada principalmente em crianças de idade escolar com infecções no couro cabeludo.^{13-14,16}

Dentre os recursos fisioterapêuticos, o LASER (Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation – Amplificação da Luz por emissão estimulada de radiação) é um dos equipamentos mais utilizados na dermatofuncional. Apresenta comprimento de onda específico e seu espectro de luz pode variar do infravermelho ao ultravioleta.¹⁷ Além disso, essa radiação eletromagnética possui característica de ser monocromática, coerência, pois possui relação de fases bem definidas e também colimada propagando-se como um feixe com baixa dispersão.¹⁸

Os lasers apresentam características de baixa potência, pois possuem baixa energia, sem potencial fototérmico, utilizados para biomodulação, sendo que seus efeitos terapêuticos podem ser evidenciados em diferentes tecidos biológicos. Os equipamentos mais utilizados estão na faixa do vermelho (632 a 780 nm). A aplicação do Laser têm sido demonstrados em estudos *in vitro* e *in vivo*, por incluírem ações trófico-regenerativos, antiinflamatórios e analgésicos.¹⁹⁻²⁰ Para inativação de fungos, usa-se geralmente parâmetros de irradiação maiores que os necessários para matar bactérias, possibilitando uma melhor análise dos efeitos sub-letais da terapia fotodinâmica.²¹

Diante disso, o objetivo geral foi avaliar os efeitos *in vitro* da aplicação do Laser 660nm nos fungos *Malassezia spp* e *Trichophyton*.

MATERIAL E MÉTODO

A pesquisa experimental *in vitro* foi desenvolvida no Laboratório de Microbiologia do

Centro Universitário UnirG, no mês de maio de 2013, com os Fungos *Malassezia spp* cedido pelo responsável deste laboratório e com o Dermatofito *Trichophyton* cedido por um laboratório da cidade de Gurupi-TO. Em relação ao aspecto ético da pesquisa, esse trabalho não precisou ser submetido à apreciação de um comitê de ética e pesquisa, devido o mesmo se tratar de uma pesquisa *in vitro*.

Foram repicadas as cepas em vinte placas com o *Trichophyton* e vinte placas com o *Malassezia spp*, sendo que apenas onze placas de cada fungo ficaram aptas à aplicação do procedimento. Dessa forma, dez receberam a intervenção e uma usada como controle para cada grupo. Assim, o estudo contou com duas amostras, o *Trichophyton* representando o Grupo A (GA) e seu controle (CA) e *Malassezia spp*, o Grupo B (GB) e seu controle (CB). A repicagem realizou-se com alça de platina em anel. Para o crescimento do fungo *Trichophyton* foi utilizado o Ágar Sabouraud Dextrosado autoclavado a 220 °C em uma autoclave vertical da marca Phoenix e para o fungo *Malassezia spp* além do mesmo Ágar, foi utilizado 1% de óleo de oliva.

Após oito dias de crescimento das culturas nas placas semeadas e encubadas em incubadora da Marca Quimis® modelo Q – 316 M2 a 37° C, foram mensuradas com régua, delimitadas e devidamente identificadas com caneta pincel.

O procedimento foi realizado em capela com equipamento da marca ELITE®, sendo aplicado dez vezes, com intervalo de vinte e quatro horas entre cada aplicação.

Foi aplicado o LASER de 660nm, modulado a 3J, com frequência de 129 mW/cm², de forma pontual, totalizando quatro pontos em cada placa, sendo que cada ponto foi equivalente a trinta segundos.²²

Após 24 horas de cada aplicação, as placas foram devidamente fotografadas para possibilitar

uma possível comparação da evolução dos fungos frente à terapia fotodinâmica.

As imagens obtidas foram organizadas e analisadas por um programa eletrônico Autocad®, que mensurou as áreas em cm² cultivadas de cada placa, antes e após a aplicação do equipamento.

Análise estatística dos dados

Para análise estatística do Grupo A, foi realizada a comparação entre as médias da área de cobertura inicial versus a final das aplicações, para verificar se existe diferença estatisticamente significativa entre as duas áreas. O teste utilizado foi o t de Student, com nível de significância de $p < 0,05$. Para o Grupo B, foi utilizada a comparação entre as medianas da área de cobertura antes e depois da aplicação, para também verificar se houve diferença estatisticamente significativa entre ambas. O teste utilizado foi o de Wilcoxon, com nível de significância de $p < 0,05$.

RESULTADOS

A análise estatística foi realizada comparando-se a área das colônias das placas no período pré e pós-aplicação do protocolo.

Foram analisadas vinte e duas placas colonizadas, sendo dois do grupo controle, uma de cada grupo de fungo, dez placas do Grupo A, contendo o fungo *Trichophyton* e dez do Grupo B com a *Malassezia spp*.

As tabelas e as figuras abaixo demonstram a área de cobertura (cm²) no T0 que equivale a antes do início das aplicações, a área de cobertura (cm²) no T1 equivalente ao tempo após as 10^a aplicações e a variação em (cm²) entre os dois períodos, dos Grupos A e B respectivamente.

Tabela 1: Medida da área de cobertura das placas do grupo A.

	Área cobertura (cm ²) - T0	Área cobertura (cm ²) - T1	Varição (cm ²) (T0 - T1)
Controle	14,6111	3,7222	10,8889
Placa 1	15,6256	14,7645	0,8611
Placa 2	13,3441	9,3720	3,9721
Placa 3	14,7777	9,0935	5,6842
Placa 4	14,9697	14,5015	0,4682
Placa 5	13,9162	10,0172	3,8990
Placa 6	15,9348	11,2297	4,7051
Placa 7	14,6973	13,7485	0,9488

Placa 8	17,7822	14,5553	3,2269
Placa 9	16,6736	11,1627	5,5109
Placa 10	15,6304	13,2741	2,3563

Legenda: Mostra a área de cobertura em cm² no T0=Tempo zero – antes do início das aplicações, no T1=Tempo após 10^a aplicações e a variação entre (T0-T1) no Grupo A.

Tabela 2: Medida da área de cobertura das placas do grupo B.

	Area cobertura (cm ²) - T0	Area cobertura (cm ²) - T1	Varição (cm ²) (T0 - T1)
Controle	8,1521	13,74	-5,5879
Placa 1	1,3853	1,2346	0,1507
Placa 2	1,8664	0,5754	1,2910
Placa 3	4,5401	3,0398	1,5003
Placa 4	13,7722	6,0357	7,7365
Placa 5	1,4459	1,0969	0,3490
Placa 6	4,2117	3,1002	1,1115
Placa 7	9,5709	1,1534	8,4175
Placa 8	5,7016	0,8268	4,8748
Placa 9	8,5732	0,4275	8,1457
Placa 10	1,4744	0,3429	1,1315

Legenda: Mostra a área de cobertura em cm² no T0=Tempo zero – antes do início das aplicações, no T1=Tempo após 10^a aplicações e a variação entre (T0-T1) no Grupo B.

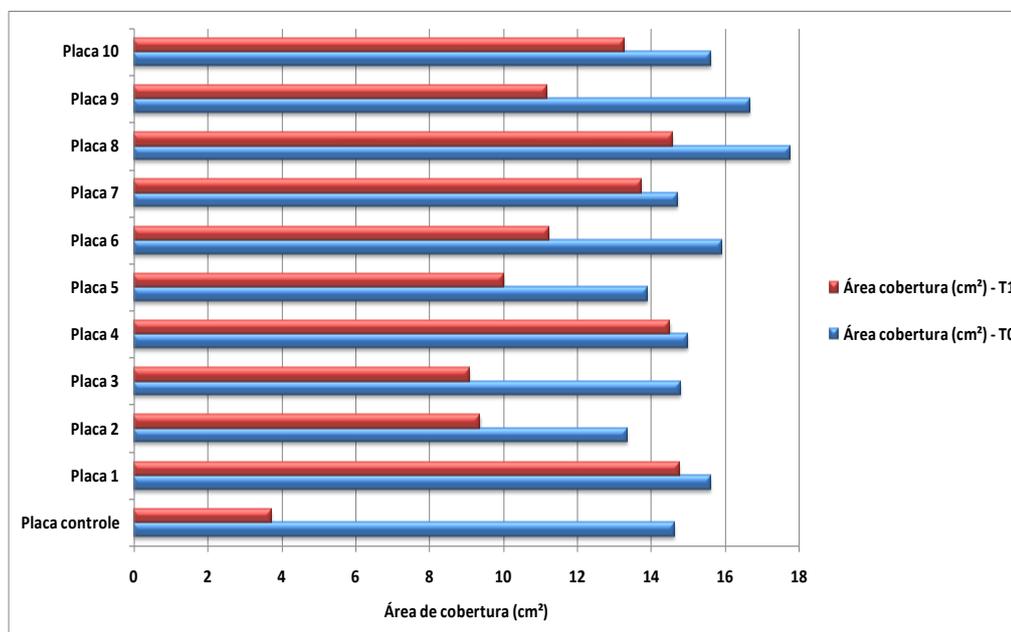


Figura 1: Comparação entre as médias de área cobertura T0 versus área cobertura T1 para verificar se existe diferença estatística significativa entre as duas áreas. Teste t de Student, com nível de significância de $p < 0,05$. Grupo A.

Com base na Figura 1, é possível analisar a área de cobertura T0 na qual obteve-se uma média de colonização de $15,34 \text{ cm}^2 \pm 1,30$, em contrapartida a área de cobertura T1 apresentou

média de $12,17 \text{ cm}^2 \pm 2,35$. Diante disso, a média da área de cobertura antes das aplicações comparadas após as 10^a aplicações é estatisticamente menor, obtendo-se valor de $p=$

0,0006. A placa controle não fez parte das comparações.

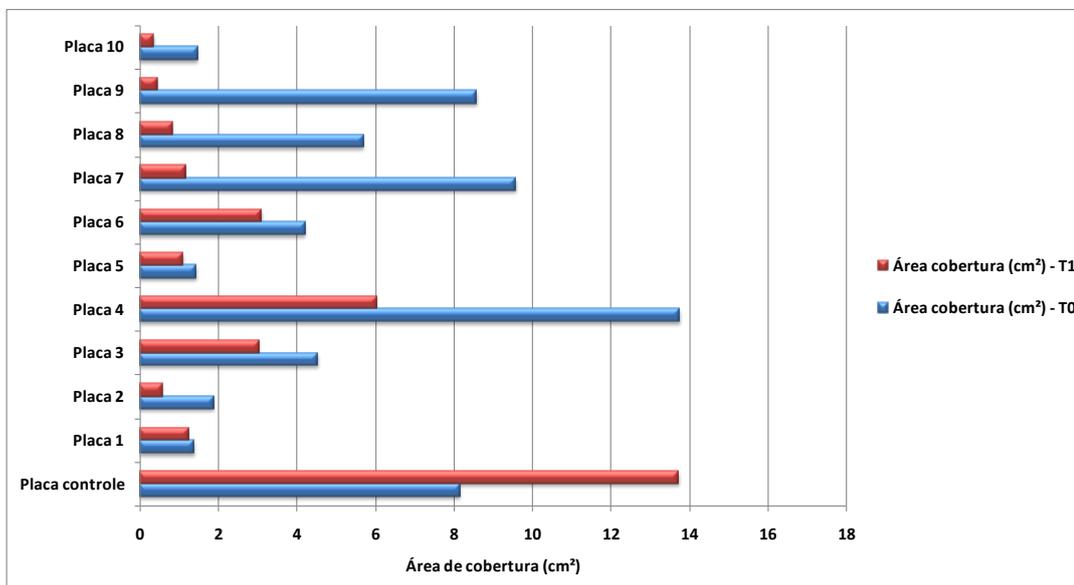


Figura 2: Comparação entre as medianas de área cobertura T0 versus área cobertura T1 para verificar se existe diferença estatística significativa entre as duas áreas. Teste de Wilcoxon, com nível de significância de $p < 0,05$. Grupo B.

Com base na Figura 2, é possível analisar a área de cobertura T0 na qual obteve-se uma média de colonização de $5,25 \text{ cm}^2 \pm 4,21$, em contrapartida a área de cobertura T1 apresentou média de $1,78 \text{ cm}^2 \pm 1,79$. Diante disso, a

média da área de cobertura antes das aplicações comparadas após as 10^a aplicações foi estatisticamente menor, obtendo-se valor de $p=0,002$. A placa controle não fez parte das comparações.

DISCUSSÃO

A terapia por meio de luz é uma das mais antigas modalidades terapêuticas, utilizadas no tratamento de diversas alterações na condição de saúde. A Administração Nacional do Espaço e da Aeronáutica (NASA), desenvolveu LEDs para realizar experimento com crescimento de plantas no espaço, mas observaram que esses diodos emitiam uma radiação promissora em tecidos corporais, capazes de promover cicatrização de feridas, crescimento tecidual, redução do risco de infecção, diminuindo o custo com o tratamento, além de outras vantagens. Pesquisas *in vitro* com o uso da terapia fotodinâmica, obtiveram resultados como o aumento no crescimento celular de 140 a 200% de fibroblastos de ratos, osteoblastos e células musculares esqueléticas e aumento de 155 a 170% de células epiteliais humanas.²³ Outras pesquisas mostraram diminuição do tamanho de feridas de até 36%; diminuiu o tempo de

cicatrização de feridas; produziu melhora maior que 40% em lesão muscular por treinamento físico; além da redução de 47% da dor em crianças que sofriam de mucosite oral.²⁴

Estudos recentes mostraram a eficácia da irradiação fotodinâmica com comprimentos de ondas 380 e 392,5nm, apresentando efeito antifúngico contra espécies de *Malassezia*, sugerindo que esta ferramenta de luz terapêutica pode servir como uma terapia coadjuvante contra leveduras *Malassezia* relacionados com doenças cutâneas. Estes resultados corroboram com os mesmos presentes no nosso estudo, demonstrando que esta terapia quando aplicada em doenças de pele como a dermatite seborréica causada pelo fungo *Malassezia spp*, produzem efeito satisfatório.²⁵

A fotobioestimulação pela luz vermelha ao infravermelho usando laser de baixa intensidade ou o LED, têm se mostrado muito eficaz no processo de cicatrização de feridas e melhorando a recuperação de lesões isquêmicas. As evidências indicam que os feitos terapêuticos da luz vermelha e infravermelha

resultam, em parte, dos mecanismos de sinalização intracelular que são causados pela interação do citocromo C oxidase da molécula do fotoceptor mitocondrial com a luz vermelha, com isso, propiciando relação entre as ações da luz vermelha e infravermelha no metabolismo oxidativo mitocondrial *in vitro* e *in vivo*.²⁶

Em um artigo de revisão de literatura, sobre a aplicação do LED vermelho e infravermelho no tratamento de vários modelos *in vitro* e *in vivo*, mostrou que a aplicação do LED de baixa intensidade numa faixa de espectro de 630-1000nm, podem proporcionar alterações celulares, aceleração do processo cicatricial de feridas, agir na recuperação de lesões isquêmicas cardíacas, promover efeito fungicida e amenizar a degeneração de nervos ópticos lesionados, atuando na produção e no metabolismo energético mitocondrial.^{22,27}

A partir de um estudo de relato de caso, com aplicação do LED, caracterizou-se a eficácia na cicatrização de úlceras venosa, diminuição na profundidade, desaparecimento da área de necrose, surgimento de ilhas de cicatrização, redução do exsudato, coloração mais clara da ferida, porém uma nova lesão surgiu na parte superior da ferida.²⁸ Corroborando com Santos et al.²⁹, que fez o uso do Laser de baixa intensidade 660nm para avaliar o seu efeito relacionado a velocidade da cicatrização de feridas em doze ratos, contendo dois grupos, um controle e outro experimental durante dezoito dias, onde foram observados que entre o 8º e o 15º dia o grupo Laser obteve uma redução significativa com ($p < 0,01$) da ferida em relação ao grupo controle.

Estudo recente mostrou os efeitos da terapia fotodinâmica com toluidine azul O e LED com comprimento de onda de 600-670nm, 116mW, e dose de 2,18J/cm², quando aplicados em culturas de células *Streptococcus* mutantes. Obteve-se como resultado a morte de 100% das bactérias com o uso da irradiação e toluidine azul O, demonstrando a eficácia da terapia fotodinâmica na destruição de microorganismos e na prevenção da formação de biofilmes.³⁰

De acordo com estudos epidemiológicos, o *Trichophyton rubrum*, foi considerado o agente mais atuante.³¹⁻³² Estas espécies normalmente correlacionam-se com o hospedeiro infectado por um período de tempo prolongado, aumentando o risco de transmissão para novos hospedeiros.³³ O tratamento convencional, baseia-se no uso de medicamento tópicos, nos casos iniciais e leves, e em casos generalizados se faz uso de medicamentos sistêmicos, como itraconazol e terbinafina. Já na onicomicose grave, nem as drogas tópicas e nem as sistêmicas, são capazes de atingir o local da infecção, contribuindo assim para o insucesso da cura e

consequentemente recidivas da infecção. Diante dessas informações é notório a necessidade de desenvolver novos tratamentos para as infecções causadas por estes fungos.³⁴⁻³⁵

A utilização dos Lasers e LEDs como terapia coadjuvante vem sendo cada vez mais inserida no tratamento das infecções fúngicas. A terapia fotodinâmica, especificamente a vermelha, tem sido utilizada para dermatofitoses devido este espectro de luz não ser absorvido pela hemoglobina e consequentemente penetra mais profundamente nos tecidos vivos, sendo que esta propriedade apresenta grande importância principalmente nos tratamentos de infecções das unhas.³⁶

Sousa³⁷ realizou um estudo comparando a sensibilização letal *in vitro* das bactérias periodontopatogênicas (*fusobacterium nucleatum*, *actinobacillos actinomycetemcomitans* e *prevotella intermedia*), através da utilização de Laser e LED no processo de redução bacteriana com o incremento do fotossensibilizador azul de toluidina. Os resultados estatísticos demonstraram que os grupos com a terapia fotodinâmica apresentaram uma redução bacteriana quando comparados com o grupo controle ($p=0,05$) e concluíram que o corante azul de toluidina associado aos Lasers e ao LED apresentam um excelente potencial quando utilizados na terapia fotodinâmica.

Calzavara-Pinton et al.³⁸ descreveu o sucesso do tratamento bem tolerado de Tinea pedis interdigital com terapia fotodinâmica utilizando 29% de ALA em Eucerin creme e pré-irradiação de 75J/cm² com luz no espectro vermelho com o período de quatro horas. No entanto, quatro pacientes tiveram recidiva da micose após quatro semanas do término da terapia.³⁹

Outro estudo de Watanabe et al.⁴⁰, abordaram dois casos clínicos de Onicomicose, onde foram tratados com a Terapia Fotodinâmica após o tratamento com ureia a 20% por 10 horas, usando creme ALA a 20%. Foi realizado uma pré-irradiação de cinco horas com 100 a 630 J/cm² de laser. O primeiro paciente apresentou melhora clínica e microbiológica após a intervenção de sete sessões. Já o segundo paciente obteve esta melhora após seis sessões. Depois de seis e três meses, respectivamente, não houve recorrência de micoses e ambos os pacientes relataram dor tolerável durante a irradiação.

Sotiriou et al.⁴¹, tratou trinta pacientes com onicomicose usando ALA irradiada pela luz vermelha (570-670nm) a partir de uma fonte de luz não coerente. Este estudo obteve como resultado uma melhora positiva no período de dezoito meses após o início das aplicações,

onde treze pacientes (43,3%) foram curados com apenas três sessões.

Um estudo atual de Amorin et al.⁴², mostrou que a Terapia Fotodinâmica apresenta uma efetiva ação fungicida quando aplicada no *Trichophyton rubrum in vitro* e que o uso do Toluidine Azul O irradiado pelo diodo emissor de luz, pode reduzir o crescimento do fungo. Também demonstraram que uma concentração mais baixa de fotossensibilizador e maior densidade de energia são condições essenciais para se obter um efeito fungicida máxima.

Prates et al.⁴³, afim de investigar os parâmetros de irradiação da terapia fotodinâmica em leveduras, realizou seu estudo com os fungos *Candida Albicans*, *Candida Krusei* e *Cryptococcus neoformans* com duas taxas de fluência 100 e 300mW/cm² comparadas em 3, 6 e 9 minutos, onde a fonte de irradiação utilizada foi o Laser de 660nm. Com isso, concluíram que as células submetidas a esta terapia com taxa de fluência de 100mW/cm², apresentaram inativação moderada e os efeitos foram proporcionais ao tempo de irradiação. Já as células submetidas à fluência de 300mW/cm² apresentaram uma maior inativação microbiana, confirmando que para se ter uma maior eficiência da terapia fotodinâmica é necessário maiores taxas de fluência.

Senna⁴⁴, realizou um estudo com terapia fotodinâmica antimicrobiana no tratamento da estomatite protética, mediada pelo fotossensibilizador azul de metileno utilizando o laser de 660nm com potencia de 100mW por 80 segundos. Vários gêneros da espécie *Candida* foram divididos em dois grupos, sendo o grupo um tratado convencionalmente a base de antifúngico miconazol e o grupo dois recebeu terapia fotodinâmica. Os resultados mostraram que todas as espécies do gênero *Candida* foram susceptíveis a terapia apresentando uma redução de colônias que variou de 2,48 a 3,93 log₁₀.

Com o intuito de avaliar os efeitos do Laser terapêutico na prevenção da mucosite oral em pacientes submetidos ao transplante de medula óssea, Santos et al.⁴⁵, avaliou dezesseis casos sendo considerado grupo de estudo sob laserprofilaxia e vinte e três pacientes sendo considerados grupo controle. Os graus de mucosite foram avaliados de acordo com a escala da Organização Mundial de Saúde (OMS). De acordo com os resultados, foi possível detectar a redução na gravidade, e leve redução da incidência da mucosite oral dos pacientes submetidos a terapia do grupo controle (p=0,1250).

Recentemente Campos⁴⁶, publicou um estudo avaliando a eficácia da terapia fotodinâmica antimicrobiana através da técnica de biospeckle. Foram utilizados microrganismos *Staphylococcus aureus*. Com o método biospeckle foi possível obter a filmagem com duração de vinte segundos em tempo real intercalados de duas horas, até completar um total de vinte e quatro horas, sendo que esta análise foi feita no período de colonização do *S.aureos* e vinte e quatro horas após a aplicação da terapia fotodinâmica. Foi observado que durante e após a aplicação da terapia, ocorreu a inativação das bactérias. Este estudo teve como finalidade incentivar o uso da técnica biospeckle como uma ferramenta para o acompanhamento dos efeitos provocados pela terapia fotodinâmica.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Observou-se que após a aplicação do Laser 660nm nos Fungos *Trichophyton* e *Malassezia spp*, houve uma redução significativa da colonização de ambos os fungos. Quando comparado à evolução das placas controles do Grupo A e B, ambas apresentaram reações distintas. A placa Controle do Grupo A apresentou uma redução extremamente relevante quando observada do início ao final deste estudo, sendo que esta placa obteve o resultado mais evidente quando comparada com as demais placas que foram submetidas as aplicações.

Com base nisso, infere-se que a diminuição da colonização dos fungos *Trichophyton* não se deve a aplicação do LASER e que a aplicação do mesmo implicou na dificuldade de destruição dos fungos, estabelecendo uma certa resistência para que este processo ocorresse de forma mais rápida. Já a placa controle do Grupo B, apresentou um aumento visível quando comparado sua evolução desde o início ao término deste estudo. Este resultado foi satisfatório, comprovando que os fungos que não sofreram nenhuma aplicação da terapia fotodinâmica obtiveram uma proliferação aparente. Já as placas submetidas às aplicações, apresentaram redução significativa, justificando a eficácia da aplicação dos diodos emissores de luz no combate as alterações proporcionadas pelos fungos *Malassezia spp*.

REFERENCIAS

1. Leeming JP, Notman FH, Holland KT. The distribution and ecology of *Malassezia furfur* and cutaneous bacteria on human skin. *J Appl Bacteriol.* 1989;67(1): 47-52.
2. Nakabayashi A, Sei Y, Guillot, J. Identification of *Malassezia* species isolated from patients with seborrheic dermatitis, atopic dermatitis, pityriasis versicolor and normal subjects. *Med Mycol.* 2000;38(5):337-41.
3. Schmidt A. *Malassezia furfur*: a fungus belonging to the physiological skin flora and its relevance in skin disorders. *Cutis.* 1997;59(1): 21-4.
4. Zaitz C, Ruiz LRB, Souza VM. Dermatoses associadas às leveduras do gênero *Malassezia*. *An Bras Dermatol.* 2000;75(2):129-42.
5. Sidrim JJC, Moreira JLB. Fundamentos Clínicos e Laboratoriais da Micologia Médica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999.
6. Kreger-Van Rij Njw. The yeasts: a taxonomic study. 3^o ed. Amsterdam: Elsevier Science Publishers; 1994.
7. Guého E, Midgley G, Guillot J. The genus *Malassezia* with description of four new species. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 1996 May;69(4):337-55.
8. Sugita T, Tajima M, Takashima M, Amaya M, Saito M, Tsuboi R, Nishikawa A. A new yeast, *Malassezia yamatoensis*, isolated from a patient with seborrheic dermatitis, and its distribution in patients and healthy subjects. *Microbiol Immunol.* 2004;48(8):579-83.
9. Ljubojevic S, Skerlev M, Lipozencic J, Juzbasic Ab. The role of *Malassezia furfur* in dermatology. *Clin Dermatol.* 2002 Mar-Apr;20(2): 179-82.
10. Midgley G. The lipophilic yeast: state of the art and prospects. *Med Mycol.* 2000; 38 suppl 1:9-16.
11. Schechtman RC, Midgley G, Hay RJ. HIV disease and *Malassezia* yeasts: a quantitative study of patients presenting with seborrheic dermatitis. *Br J Dermatol.* 1995; 133(5): 694-8.
12. Gupta AK, Madzia SE, Batra R. Etiology and management of Seborrheic dermatitis. *Dermatology.* 2004; 208(2):89-93.
13. Chimelli PAV, Sofiatti AA, Nunes RS, Martins JEC. Dermatophyte agents in the city of São Paulo from 1992 to 2002. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 2003;45(5):259-63.
14. Brilhante RSN, Paixão GC, Salvino LK, Diógenes MJN, Bandeira SP, Rocha MFG, et al. Epidemiologia e ecologia das dermatofitoses na cidade de Fortaleza: o *Trichophyton tonsurans* como importante patógeno emergente da *Tinea capitis*. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2000; 33:417-25.
15. Sanabria R, fariña N, Laspina F, Balmaceda MA, Samudio M. Dermatofitos y hongos leveduriformes productores de micosis superficiales. [acesso 05 jan.2004]. Disponível em: <http://www.una.py/iics/TEMA12.pdf>.
16. Bergerson CL, Fernandes NC. *Tinea capitis*: study of asymptomatic carriers and sick adolescents, adults and elderly who live with children with the disease. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 2001 Mar-Apr;43(2):87-91.
17. Brugnera Junior A, Santos AECG, Bologna ED, Ladalardo TCCG. Atlas de laserterapia aplicada à clínica odontológica. São Paulo: Santos; 2003.
18. Campos BS. Avaliação da eficácia da terapia fotodinâmica antimicrobiana através da técnica de biospeckle. Dissertação (Mestrado em Física) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Física. Maceió; 2013.
19. Brugnera JA, Pinheiro ALB. Lasers na odontologia moderna. São Paulo: Pancast; 2009.
20. Cisneros VJL, Camacho MF. Laser y fuentes de luz pulsada intensa em dermatología y dermocosmética. Madrid: Aula Médica Ediciones; 2000.
21. Prates RA, Silva EG, Suzuki LC, Paula CR, Ribeiro MS. Parâmetros de irradiação influenciam na inativação de leveduras tratadas com terapia fotodinâmica. *Revista Brasileira de Física Médica.* 2010;4(1):53-7
22. Elite - Sistema Múltiplo para Tratamento em Estética. Rev.:02 Data de Revisão:06/03/2012.
23. Barolet D. Light-emitting diodos (led) in dermatology. *Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery.* 2008; 27: 227-38.
24. Whelan HT et al. Effect on nasa light-emitting diode irradiation on wound healing. *Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery.* 2001;19(6):305-14.
25. Wi HS, Na EY, Yun SJ, Lee JB. The antifungal effect of light emitting diode on *Malassezia* yeasts. *J Dermatol Sci.* 2012 Jul;67(1):3-8.
26. Eells JT et al. Mitochondrial signal transduction in accelerates wound by near-infrared light therapy. *Mitochondrion,* 2004; Issue 5-6: 559-67.
27. Desmet, K.D. et al. Clinical and experimental applications of nir-led photobioestimulation. *Photomed Laser Surg.* 2006 Apr;24(2):121-8.
28. Siqueira CPCM et al. Efeitos biológicos da luz: aplicação de terapia de baixa potência empregando LEDs (Light Emitting Diode) na cicatrização da úlcera venosa: relato de caso. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde, Londrina.* 2009;30(1):37-46.

29. Santos CFR et al. Cicatrização de feridas cutâneas em ratos após terapia Laser de baixa intensidade (660nm). Revista Vozes dos Vales. 2013; 3:1-13.
30. Belivacqua IM et al. The impact of photodynamic therapy on the viability of streptococcus mutans in a planktonic culture. Photomedicine and Laser Surgery. 2007; 25(6):513-18.
31. Aquino VR, Constante CC, Bakos L. Frequência das dermatofitoses em exames micológicos em Hospital Geral de Porto Alegre, Brazil. An Bras Dermatol. 2007; 82: 239-44.
32. Rezende C, Borsari GP, Silva ACF, Cavalcanti FR. Estudo epidemiológico das dermatofitoses em instituições públicas da cidade de Barretos, São Paulo, Brazil. RBAC. 2008; 40:13-6.
33. Dahdah M, Scher RK. Dermatophytes. Curr Fungal Infect Rep. 2008; 2: 81-86.
34. Gupta AK, Cooper EA. Update in antifungal therapy of dermatophytosis. Mycopathologia. 2008;166:353-67.
35. Manzano-Gayosso P, Mendez-Tovar LJ, Hernandez-Hernandez F, Lopez-Martinez R. Antifungal resistance: an emerging problem in Mexico. Gac Med Mex. 2008 Jan-Feb;144(1):23-6.
36. Soares BM, Da Silva DL, Sousa GR, Amorim JC, De Resende MA, Pinotti M et al. *In vitro* photodynamic inactivation of Candida spp. growth and adhesion to buccal epithelial cells. J Photochem Photobiol B. 2009 Jan 9;94(1):65-70.
37. Gerdal Roberto de Souza. Análise comparativa da emissão de luz por LED e Lasers emitindo no vermelho no espectro eletromagnético na redução de bactérias periodontopatogênicas. Estudo *in vitro*. [Tese de doutorado em engenharia mecânica]. Belo Horizonte, MG; 2007.
38. Hamblin Mr, Demidova Tn. Mechanisms of low level light therapy. Proc SPIE. 2006; 6140: 1–12.
39. Calzavara-Pinton Pg, Venturini M, Capezzeria R, Sala R, Zane C. Photodynamic therapy of interdigital mycoses of the feet with topical application of 5-aminolevulinic acid. Photodermatol Photoimmunol Photomed. 2004 Jun;20(3):144-7.
40. Watanabe D, Kawamura C, Masuda Y, Akita Y, Tamada Y, Matsumoto Y. Success treatment of toenail onychomycosis with photodynamic therapy. Arch Dermatol. 2008 Jan;144(1):19-21.
41. Sotiriou T, Koussidou-ermonti G, Chaidemenos Z, Apalla D, Ioannides D. Photodynamic therapy for distal and lateral subungual toenail onychomycosis caused by Trichophyton rubrum: preliminar y results of a single-centre open trial. Acta Derm Venereol. 2010 Mar;90(2):216-7.
42. Amorim JCF et al. Phototoxic action of light emitting diode in the *in vitro* viability of Trichophyton rubrum. An Bras Dermatol. 2012; 87(2):205-5.
43. Prates RA et al. Parâmetros de irradiação influenciam na inativação de leveduras tratadas com terapia fotodinâmica. Revista Brasileira de Física Médica, 2010;4(1):53-57.
44. Senna AM. Terapia fotodinâmica antimicrobiana no tratamento de estomatite protética. [Tese de doutorado em ciências na área de tecnologia nuclear]. São Paulo; 2012.
45. Santos PSS et al. Prevenção da mucosite oral utilizando laser-terapêutico. Arqui. Med. Hosp Fac Cienc Med Santa Casa São Paulo. 2010;55(1):7-11.
46. Campos BS. Avaliação da eficácia da terapia fotodinâmica antimicrobiana através da técnica de biospeckle. [Dissertação de Mestrado em Ciências]. Maceió; 2013.