

TERAPIA FOTODINÂMICA EM ADOLESCENTES COM HALITOSE, UMA NOVA PROPOSTA DE TRATAMENTO – ESTUDO PILOTO

Lopes RG*, Santi MESO*, Mota ACC*, Deana AM*, Prates RA*, França CM*, Fernandes KPS*, Ferrari RAM*, Bussadori SK*

*Universidade Nove de Julho, São Paulo, Brasil
e-mail: sandra.skb@gmail.com

Resumo: Halitose é considerado um problema comum que afeta grande parte da população mundial, pode apresentar origem sistêmica (10%) ou oral (90%). O mau odor é provocado principalmente por compostos sulfurados voláteis (CSV), produzido pela ação de bactérias Gram-negativas, no entanto recentemente foi associada a bactérias Gram-positivas anaeróbias que também produzem sulfidretos (SH₂) na presença de aminoácidos como a cisteína. Na terapia fotodinâmica o efeito antimicrobiano fica confinado apenas às áreas cobertas pelo corante e irradiadas pela luz. O objetivo deste estudo piloto foi avaliar o efeito antimicrobiano da terapia fotodinâmica em adolescentes com halitose, pela análise da concentração de CSV, mensurado por monitor de sulfeto (Halimeter®). Nesse estudo 5 adolescentes entre 14 e 16 anos foram avaliados por meio de monitor de sulfeto, antes e depois do tratamento, na terapia fotodinâmica foi utilizado azul de metileno 0,005% no terço médio e dorso de língua, com nove pontos de irradiação de laser vermelho (660nm), energia de 9 J, potência de 100 mW, durante 90 segundos. A concentração de CSV reduziu em 31,8% quando comparada as medidas inicial e final. A redução estatisticamente significativa (p=0,0091), mostra ausência de halitose após tratamento proposto (média 58,2 ppb). A terapia fotodinâmica mostrou ser um tratamento rápido e eficiente contra o mal hálito em adolescentes, com efeito imediato na diminuição da produção de CSV.

Palavras-chave: halitose, terapia fotodinâmica, laser, adolescentes.

Abstract: Halitosis is a common problem that affects a large portion of the population worldwide. The origin of this condition is oral in 90% of cases and systemic in 10% of cases. The foul odor is caused mainly by volatile sulfur compounds (VSC) produced by Gram-negative bacteria. However, it has recently been found that anaerobic Gram-positive bacteria also produce hydrogen sulfide (H₂S) in the presence of amino acids, such as cysteine. In photodynamic therapy, the antimicrobial effect is confined to areas covered by the photosensitizing dye. The aim of the pilot study was to evaluate the antimicrobial effect of photodynamic therapy on halitosis in adolescents through the analysis of VSCs measured using a sulfide meter (Halimeter®). Five adolescents aged 14 to 16 years were evaluated using a sulfide meter before and after photodynamic

therapy, which involved the use of methylene blue 0.005% on the middle third and posterior thirds of the dorsum of the tongue and nine points of laser irradiation in the red band (660 nm) with an energy dose of 9 J, power output of 100 mW and 90-second exposure time. A 31.8% reduction in the concentration of VSC was found in the comparison of the initial and final readings. The statistically significant reduction (p = 0.0091) led to an absence of halitosis following treatment (mean: 58.2 ppb). Photodynamic therapy proved to be fast, effective treatment for bad breath in adolescents, with an immediate reduction in the production of VSCs.

Keywords: halitosis, photodynamic therapy, laser, adolescent.

Introdução

A Halitose é um termo utilizado para definir o odor desagradável que emana da boca, podendo apresentar origem local ou sistêmica [1]. É considerado um problema comum que afeta grande parte da população mundial, com impacto direto na qualidade de vida [2]. Estudos sobre etiologia da halitose mostram que 2% dos casos estão relacionados a alterações endocrinológicas e gastrointestinais, 8% por alterações respiratórias e otorrinolaringológicas, 90% dos casos estão diretamente ligados às condições da cavidade oral [3].

O mau hálito é provocado principalmente por compostos sulfurados voláteis (CSV), produzido pela ação de bactérias Gram-negativas anaeróbias (*Fusobacterium nucleatum*, *Selenomonas*, *Treponema denticola*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella Forsythensis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus* and *Eubacterium*) sobre substratos contendo enxofre encontrados na boca [4]. Os CSV produzidos a partir desse metabolismo são: sulfidreto (SH₂) - encontrados principalmente em dorso lingual - metilmercaptana (CH₃SH) - presentes no sulco gengival - e dimetilsulfeto (CH₃SCH₃) - origem extra-oral [5], e a concentração desses gases é usada como indicador da halitose [1]. Recentemente a bactéria Gram-positiva anaeróbia *Solobacterium moorei* (conhecida como *Bulleidia moorei*) também foi associada a halitose pela produção SH₂ na presença de diferentes suplementações com aminoácidos em especial a cisteína [6]. Pesquisas vêm demonstrando que a presença destas bactérias na cavidade oral podem desencadear além da halitose

problemas sistêmicos como complicações na gravidez, doenças cardiovasculares e principalmente infecção respiratória baixa [7] considerada a terceira causa mais comum de mortalidade [8].

A terapia fotodinâmica (TFD) foi descoberta em 1900 por Oskar Raab and Hermann Von Tappeiner, e na década de 1970 foi inicialmente desenvolvida como uma terapia para tratamento de câncer. Recentemente a TFD antimicrobiana tem sido utilizada como uma alternativa para infecções localizadas [9].

A TFD engloba o uso de um corante sensível a luz (fotossensibilizador) e não tóxico combinado a uma luz visível de comprimento de onda apropriado para coincidir com o espectro de absorção do fotossensibilizador (FS), que após absorver os fótons atinge um estado de excitação reagindo com o oxigênio do meio, formando espécies reativas de oxigênio (ERO). Essa reação fototóxica induz à destruição da célula bacteriana, porém o efeito antimicrobiano fica confinado apenas às áreas cobertas pelo FS e irradiadas pela luz agindo no organismos alvo rapidamente, dependendo da dose de energia de luz e a potência emitida usada [9]. Além disso, de acordo com Wainwright (1998) [10] a resistência bacteriana à TFD é improvável, pois o oxigênio singlete e os radicais livres formados interagem com várias estruturas celulares bacterianas e diferentes caminhos metabólicos.

O tratamento convencional da halitose quando relacionado a alterações orais consiste na redução química dos microrganismos com enxaguatórios, redução mecânica dos nutrientes intra-orais com raspador ou escova lingual, mascaramento do odor e transformação do CSV [3]. Por outro lado a redução da carga bacteriana é dificultada devido as características irregulares da superfície do dorso lingual [11]. Sendo assim, frente aos questionamentos referentes ao tratamento preciso da halitose, bem como a escassez de estudos relacionados diretamente ao efeito da TFD na saburra lingual, o objetivo desse estudo foi avaliar a efetividade da aplicação da TFD em dorso de língua, pela análise do nível de formação de CSV em adolescentes com halitose.

Materiais e métodos

O estudo seguiu as normas de pesquisa em seres humanos com parecer favorável do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Nove de Julho número 037315/2013, e os responsáveis pelos participantes assinaram o termo de consentimento livre após esclarecimentos para autorização da participação na pesquisa, de acordo com a resolução 196/96 do Conselho Nacional Saúde.

Foram avaliados adolescentes de ambos os sexos, matriculados na Clínica de Odontologia da Universidade Nove de Julho – SP, e incluídos nesta pesquisa adolescentes na faixa etária entre 14 e 16 anos, apresentando halimetria com desafio da cisteína acima de 80 ppb [4,5]. Critérios de exclusão do estudo [12]: indivíduos com anomalias dentofaciais, em tratamento

ortodôntico e/ou ortopédico, que usem implante e/ou prótese, com doença periodontal, com dentes cariados, em tratamento oncológico, alterações sistêmicas, otorrinolaringológicas e respiratórias, em tratamento com antibiótico até 1 mês antes da pesquisa, grávidas, [3] e com hipersensibilidade ao FS.

A literatura descreve alguns métodos de mensuração de halitose, como a avaliação organoléptica do ar emanado da cavidade oral [13], por monitor de sulfeto [14] e por cromatografia gasosa considerado hoje padrão ouro na literatura [4,14] mas de alto valor no mercado. Para este estudo foi utilizado o dispositivo portátil Halimeter™, que utiliza um sensor altamente sensível ao SH₂, de fácil utilização e baixo custo. A coleta do ar bucal seguiu as orientações do fabricante [15].

Para evitar alterações na halimetria, os participantes foram instruídos a seguir as seguintes orientações: 48 horas antes da avaliação evitar alimentos com alho, cebola e temperos fortes, consumo de álcool e uso de antisséptico bucal. No dia da avaliação, puderam alimentar-se até no máximo 2 horas antes do exame, abster-se de café, cigarro, balas, goma de mascar, produtos de higiene oral e pessoal como perfume, pós-barba, desodorante, cremes e/ou tônico, e escovação apenas com água [15].

Para a terapia fotodinâmica foi utilizado o aparelho THERAPY XT-EC® (DMC ABC Equipamentos Médicos e Odontológicos, SP, BR), com emissão de LASER vermelho (660nm) e infravermelho (810nm), e ponta afilada para uso odontológico, com diâmetro de 0,094 cm.

Foi realizada uma sessão de TFD com FS azul de metileno (AM) Chimiolux® (DMC ABC Equipamentos Médicos e Odontológicos, SP, BR), na concentração de 0,005% (165 µm), aplicado em terço médio e dorso da língua por 5 minutos, o excesso foi removido com sugador de forma a manter a superfície úmida com o próprio FS. Antes de iniciar a aplicação do LASER o participante e os profissionais presentes utilizaram óculos protetor e o equipamento foi previamente encapado com plástico protetor. Foram irradiados 9 pontos com distância de 1 cm entre os pontos, considerando o halo de espalhamento da luz e efetividade da TFD. Com base em estudos desenvolvidos no tratamento da doença periodontal com a TFD [16] o aparelho estava previamente calibrado com comprimento de onda 660 nm, com energia de 9 J, potência de 100 mW que foram irradiados durante 90 segundos por ponto, fluência de 320 J/cm², irradiância de 3537 mW/cm². Foi utilizado o método de aplicação pontual, em contato direto com a língua.

Os dados foram tabulados e tratados no programa BioEstat 5.0, e testados quanto à sua normalidade utilizando o teste de Shapiro-Wilk e sua análise inferencial foi realizada empregando o teste t para dados pareados. Para todas as análises foi considerado um nível de significância de $\alpha = 0.05$.

Resultados

Foram avaliados 5 participantes, sendo 2 do gênero masculino e 3 do gênero feminino, com média etária de 15 anos. A Tabela 1 apresenta a estatística descritiva das leituras de CSV antes e após o tratamento. Uma vez que os dados expostos apresentam distribuição aproximadamente normal, as diferenças antes e depois do tratamento foram determinadas usando o teste *t* pareado. Embora seja um estudo piloto com tamanho amostral de $n=5$ a força do teste foi superior a 80%.

Uma diferença estatisticamente significativa foi encontrada na halimetria (Figura 1), com média de 85,4 ppb antes do tratamento e 58,2 após o tratamento ($p = 0,0091$).

Tabela 1: Estatística descritiva dos grupos avaliados antes e depois do tratamento.

	Antes	Depois
Média	85,4 ppb	58,2 ppb
Desvio padrão	7,9	11,7
Erro padrão	3,5	5,2
Shapiro-Wilk (p)	0,8625	0,6884

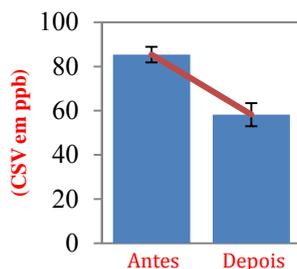


Figura 1. Medidas halimeter antes e depois do tratamento.

Discussão

O tratamento proposto nesse estudo avaliou a efetividade da TFD em adolescentes com halitose pela análise da concentração de CSV mensurado por monitor de sulfeto em sessão única, como forma coadjuvante do tratamento da halitose. A TFD aplicada no dorso lingual eliminou o mal odor pela diminuição da concentração CSVs, dados observados pelo equipamento Halimeter® (altamente sensível ao SH_2) [4]. Apesar da ausência de análise microbiológica, acredita-se que as bactérias presentes no dorso lingual, provenientes da saburra, foram afetadas de alguma maneira pela TFD, uma vez que as mesmas estão associadas à produção de altas concentrações de SH_2 [4,6] principalmente na presença da cisteína, o que demonstram modelos de estudos *in vivo* e *in vitro* [4,17].

A eficácia da ação da TFD em microorganismo tem sido extensamente investigada usando diferentes

combinações de luz e FS, e o grau de fototoxicidade depende do tipo e concentração do FS e taxa de fluência da luz bem como o gênero das espécies [18]. A maioria dos microorganismos testados mostram ser susceptíveis a TFD, Kormerik conclui em sua pesquisa que a TFD é a melhor opção de tratamento para infecções orais superficiais e localizadas [19]. Em nosso experimento, a hipótese que pode explicar a diminuição da halitose dos pacientes é que a PDT atuou na eliminação direta dos patógenos que colonizavam a região de dorso da língua. Estes microorganismos foram submetidos a altas concentrações de ERO gerados pela irradiação do FS.

A aplicação pontual da TFD apenas na língua corrobora com pesquisa realizada com 2000 pacientes, a qual comprova que 43,4% dos casos de halitose tem origem da saburra lingual quando correlacionados ao teste organoléptico e Halimeter® [20]. Ao longo dos anos, os estudos mostraram redução pequena em longo prazo da quantidade de bactérias presentes na saburra lingual quando utilizado raspador de língua associado ou não a enxagatatórios [21], e isso está relacionado as características irregulares da superfície do dorso lingual [11], o que mostra a necessidade de controle diário da higiene oral para manter baixo o nível de proliferação bacteriana. A penetração da luz emitida e o escoamento do FS não foram afetados pelas papilas linguais posteriores, o tratamento com a TFD teve resultado expressivo e promissor conforme evidenciado, entretanto a associação de ambas técnicas pode possivelmente mostrar melhores resultados, como evidenciam pesquisas com uso da TFD em conjunto com técnicas convencionas de tratamento periodontal [22].

Pela ausência de pesquisas relacionando a TFD à saburra lingual, os parâmetros utilizados nesse estudo foram baseados em artigos de tratamento da doença periodontal associado a TFD [16], onde a utilização do azul de metileno (AM) associado a comprimentos de onda que variaram de 635nm a 670nm obtiveram sucesso para bactérias analisadas (*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis* e *Treponema denticola*) [16], presentes também na saburra lingual.

Considerando que a redução dos CSV está associada a redução das bactérias [4], acredita-se que a facilidade de aplicabilidade da técnica [19] venha favorecer o controle de infecção oral em pacientes jovens na fase puberal onde as intensas transformações hormonais influenciam no processo inflamatório gengival, facilitando a formação de saburra pelo aumento da descamação do epitélio gengival [23]. Ou ainda em adolescentes com respiração oral cuja alterações do fluxo salivar e quantidade de mucina favorecem a formação da saburra lingual e aumento da halitose [14], bem como em crianças com gotejamento nasal posterior, onde estudo realizado com crianças de 5 a 14 anos mostrou significativa correlação entre o mal odor oral e nasal pela influência do gotejamento nasal posterior, causado pelo contato direto do muco dos seios paranasais com o dorso lingual [3].

A técnica escolhida favoreceu o tratamento na região

posterior da língua, no entanto consideramos como algumas limitações do estudo, o tempo de irradiação por ponto que gerou desconforto ao paciente, o que sugere que devam ser realizados mais estudos alterando dose e/ou a fabricação de um equipamento de aplicação única em superfícies maiores, associado a reforços positivos educativos em relação à higienização da língua.

Conclusão

A terapia fotodinâmica aplicada no dorso lingual apresentou resultados positivos e portanto é alternativa conservadora para o tratamento da halitose em adolescentes, principalmente por ser um procedimento rápido e não invasivo. Por se tratar de um estudo inicial para análise apenas do efeito da TFD na concentração de VSC, os resultados encontrados nos motiva ao desenvolvimento de novos estudos para obtermos mais dados sobre esse tratamento inovador para resolução desse problema que afeta boa parte da população.

Referências

- [1] Rosenberg M, McCulloch CA. Measurement of oral malodor: current methods and future prospects. *J Periodontol.* 1992;63(9):776–82.
- [2] Kizhner V, Xu D, Krespi YP. A new tool measuring oral malodor quality of life. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2011;268:1227–32.
- [3] Bollen CML, Beikler T. Halitosis: the multidisciplinary approach. *Int J Oral Sci.* 2012;4(2):55–63.
- [4] Salako NO, Philip L. Comparison of the use of the Halimeter and the Oral Chroma™ in the assessment of the ability of common cultivable oral anaerobic bacteria to produce malodorous volatile sulfur compounds from cysteine and methionine. *Med Princ Pr.* 2011;20(1):75–9.
- [5] Tangerman a, Winkel EG. The portable gas chromatograph OralChroma™: a method of choice to detect oral and extra-oral halitosis. *J Breath Res.* 2008;2(1):017010.
- [6] Haraszthy VI, Gerber D, Clark B, Moses P, Parker C, Sreenivasan PK, et al. Characterization and prevalence of *Solobacterium moorei* associated with oral halitosis. *J Breath Res.* 2008;2(1):017002.
- [7] Silvestri L, Weir I, Gregori D, Taylor D, Van Saene J, Van Saene H. Effectiveness of oral chlorhexidine on nosocomial pneumonia, causative microorganisms and mortality in critically ill patients: a systematic review and meta-analysis. *Minerva Anestesiol.* 2013; [Epub ahead of print]
- [8] Tarzia O. Halitose: um desafio que tem cura. 1st ed. São Paulo: EPUB; 2003.
- [9] Dai T, Fuchs BB, Coleman JJ, Prates RA, Astrakas C, St Denis TG, et al. Concepts and principles of photodynamic therapy as an alternative antifungal discovery platform. *Front Microbiol.* 2012;3:120.
- [10] Wainwright M. Photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT). *J Antimicrob Chemother.* 1998;42:13–28.
- [11] Collins L M, Dawes C. The surface area of the adult human mouth and thickness of the salivary film covering the teeth and oral mucosa. *J Dent Res.* 1987;66(8):1300–2.
- [12] Casemiro LA, Martins CHG, de Carvalho TC, Panzeri H, Lavrador MAS, Pires-de-Souza FDCP. Effectiveness of a new toothbrush design versus a conventional tongue scraper in improving breath odor and reducing tongue microbiota. *J Appl Oral Sci.* 2008;16(4):271–4.
- [13] Rosenberg M. Bad breath, diagnosis and treatment. *Univ Tor Dent J.* 1990;3(2):7–11.
- [14] Motta L J, Bachiega J C, Guedes C C, Laranja L T, Bussadori S K. Association between halitosis and mouth breathing in children. *Clinics.* 2011;66(6):939–42.
- [15] Donaldson AC, Riggio MP, Rolph HJ, Bagg J, Hodge PJ. Clinical examination of subjects with halitosis. *Oral Dis.* 2007;13(1):63–70.
- [16] Giannelli M, Formigli L, Lorenzini L, Bani D. Combined photoablative and photodynamic diode laser therapy as an adjunct to non-surgical periodontal treatment . A randomized split-mouth clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2012;39:962–70.
- [17] Kleinberg I, Codipilly D. Cysteine challenge testing: a powerful tool for examining oral malodour processes and treatments *in vivo*. *Int Dent J.* 2002;3:221–8.
- [18] Hamblin MR, Hasan T. Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease? *Photochem Photobiol Sci.* 2004;3(5):436–50.
- [19] Komerik N, MacRobert AJ. Photodynamic therapy as an alternative antimicrobial modality for oral infections. *J Environ Pathol Toxicol Oncol.* 2006;25(1-2):487–504.
- [20] Quirynen M, Dadamio J, Van den Velde S, De Smit M, Dekeyser C, Van Tornout M, et al. Characteristics of 2000 patients who visited a halitosis clinic. *J Clin Periodontol.* 2009;36(11):970–5.
- [21] De Boever E H, Loesche W J. Assessing the contribution of anaerobic microflora of the tongue to oral malodor. *J Am Dent Assoc.* 1995;126(10):1384–93.
- [22] Kara C, Demir T, Orbak R, Tezel A. Effect of Nd:YAG laser irradiation on the treatment or oral malodour associated with chronic periodontitis. *Int Dent J.* 2008;58:151-8.
- [23] Demir T, Orbak R, Tezel A, Canakç V, Kaya H. The changes in the T-lymphocyte subsets in a population of Turkish children with puberty gingivitis. *Int J Paediatr Dent.* 2009;19(3):206–12.